



Mast Group Ltd.
Mast House, Derby Road, Bootle
Liverpool, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom
Tel: + 44 (0) 151 472 1444
Fax: + 44 (0) 151 944 1332
email: sales@mastgrp.com
Web: www.mastgrp.com

Mast Diagnostica GmbH
Feldstrasse 20
DE-23858 Reinfeld
Germany
Tel: + 49 (0) 4533 2007 0
Fax: + 49 (0) 4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mastgrp.com

Mast Diagnostic
12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France
Tél: + 33 (0) 3 22 80 80 67
Fax: + 33 (0) 3 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mastgrp.com



MAST-TPHA

Uso previsto

HA101. Un líquido estable para el ensayo de la hemoaglutinación de *Treponema pallidum* para el serodiagnóstico de sífilis.

SOLAMENTE PARA USO DIAGNOSTICO *IN VITRO*

Contenido

MAST-TPHA contiene los siguientes componentes para los exámenes HA101-200 (HA102-2000 exámenes):

1. Muestra de diluyente, preparada para usar. 2x 20ml. Contiene fosfato protegido pH 7.2 y suero de conejo 'normal'.
2. Células para examen, listas para usar 2x 8.5ml cada una de una suspensión de eritrocitos morenos de pollo sensibles con antígenos de *T. pallidum* (cepa Nichol) en una base de fosfato protegida con componentes de células de *T. pallidum* (cepa Reiter).
3. Células Control, listas para usar. 2x 8.5ml cada suspensión de eritrocitos morenos de pollo no sensibles en una base de fosfato protegida con componentes de células de *T. pallidum* (cepa Reiter).
4. Control Positivo, listo para usar. 1x 2ml de suero humano diluido con anticuerpos específicos de *T. pallidum*. Proporcionado diluido a 1:20 y tienen un título de 1:2560 +/- en una dilución doble.
5. Control Negativo, listo para usar 1x 2ml de suero humano negativo diluido para *T. pallidum*.
6. Folleto de instrucciones.

Los apartados de arriba del 1-5 todos contienen el 0.095% de sodio azido como preservativo.

Estabilidad y almacenamiento

Almacenar sin abrir a 2 a 8°C hasta la fecha de caducidad mostrada en la etiqueta del envase. Una vez abierta, MAST-TPHA debe ser almacenada a 2 a 8°C y puede ser usada hasta la fecha de caducidad dada en la etiqueta del envase.

No volver a congelar los reagentes.

Las muestras deben ser almacenadas a 2 a 8°C hasta un máximo de 48 horas antes del examen. Si se requiere almacenamiento por más tiempo, almacenar a menos 20°C hasta un máximo de 1 año. Las muestras derretidas deben mezclarse antes de volver a examinar.

Advertencias y precauciones

Los reagentes MAST-TPHA contienen material de origen humano y han sido examinados y confirmados negativos para los anticuerpos de HCV, HIV I y HIV II, y HBsAg mediante procedimientos a nivel de donante simple. Debido a que ningún examen puede ofrecer seguridad completa de que los productos derivados de fuente humana no transmitirán agentes infecciosos, se recomienda que los reagentes de este kit ser manejados con debido cuidado y atención durante su uso y desecho. No ingerir.

Los reagentes MAST-TPHA no contienen sustancias peligrosas como se define por las regulaciones de Químicos de UK actuales (Información de sustancias peligrosas y empaquetado para dispensar).

Todos los reagentes, deberían sin embargo, ser tratados como potenciales materiales biológicos en uso y desecho. Observar las precauciones de seguridad y utilizar técnicas asépticas. Debe ser utilizado solo por personal de laboratorio cualificado y con experiencia. Antes del desecho, esterilizar todo el material biológico.

El preservativo de sodio azido puede ser tóxico si se ingiere y puede reaccionar con las cañerías de plomo y cobre formando sales altamente explosivas. Desechar siempre tirando de la cisterna con gran cantidad de agua. Referirse a alaja de seguridad del producto.

Los exámenes de hemoaglutinación son sensibles a los efectos del calor, la luz directa y la vibración. Mantener alejados de dichas fuentes durante los periodos de incubación al examinar. No dejar que la saliva contamine las muestras o reagentes ya que esto puede causar resultados erróneos. Usar una tira desechable por separado, para cada muestra de examen para prevenir la contaminación cruzada.

Reemplazar las tapas en todos los reagentes inmediatamente después de su uso.

No dejar que el reagente funcione hacia abajo en los laterales del agujero. Antes de empezar el ensayo llevar todos los reagentes a temperatura ambiente (20°C a 25°C). Suavemente mezclar todos los reagentes con una suave inversión o mediante remolinos. No usar componentes del kit que estén dañados o contaminados.

Los componentes del kit están relacionados y no deberían ser intercambiados entre las hornadas.

Materiales requeridos pero no proporcionados

Microdilutores o micropipetas capaces de repartir 25, 75 y 100µl.
Placas de microtitulo con agujero rígidas U e.j. Dynatech M24A.

Recogida de muestras y preparación

El examen es solamente designado para el uso con suero y muestras CSF. No se debe usar plasma. Obtener una muestra de sangre venosa del paciente se forme un coágulo y retraiga. Centrifugar la sangre coagulada y recoger el suero claro. No usar suero bemoilizado, contaminado o lipémico para examinar. Las muestras de suero deben ser completamente resuspendidas antes de su uso. Las muestras no requieren ningún tratamiento previo. No congelar-descongelar las muestras repetidamente, ya que esto puede causar falsos resultados.

Procedimiento

A. Preparación del reagente

1. Dejar que los reagentes MAST-TPHA equilibren a temperatura ambiente antes de su uso.
2. Resuspender completamente las Células de Examen y Control antes de su uso. No inducir a que forme espuma.

B. Procedimiento (screening) cualitativo

Cada examen requiere 4 agujeros de una placa microtitulo.

1. Dispensar la muestra de diluyente en la placa de microtitulación como sigue:
 - 25µl en las filas 1,3 & 4 y 100µl en la fila 2.
2. Dispensar 25µl de cada muestra en un agujero de la fila 1.
 - Mezclar bien y transferir 25µl de la fila 1 a la fila 2.
 - Mezclar bien y transferir 25µl de la fila 2 a la fila 3.
 - Mezclar bien y desechar 25µl de la fila 3.
 - Transferir 25µl de la fila 2 a la fila 4.
 - Mezclar bien y desechar 25µl de la fila 4.
3. Añadir 75µl de Células de Control mezcladas al agujero de la fila 3.
4. Añadir 75µl de Células de examen mezcladas al agujero de la fila 4.
5. Dar una palmadita en la placa para mezclar suavemente.
La dilución de muestra final en las filas 3 y 4 es 1/80.
6. Cubrir y dejar solidificar a temperatura ambiente durante 45 a 60 minutos (alternativamente las placas pueden ser dejadas durante toda la noche).
7. Examinar para ver los patrones de aglutinación.

Nota: Los kit de control están prediluidos y deberían ser añadidos directamente en los agujeros individuales en la fila 3 y 4 (no se requiere diluyente).

C. Procedimientos de dilución alternativos para métodos de screening en un agujero

1. Dispensar 190µl de diluyente en la fila 1.
2. Dispensar 10µl de muestra en la fila 1 y mezclar.
3. Desechar 150µl de la fila 1.
4. Añadir 25µl de la fila 1 a la fila 2.
5. Añadir 75µl de las Células de Examen bien mezcladas a la fila 1.
6. Añadir 75µl de Células de Control mezcladas al agujero de la fila 2.
7. Dar una palmadita en la placa para mezclar suavemente.
8. La muestra de dilución final en las filas 1 y 2 es 1/80.
9. Cubrir y dejar solidificar a temperatura ambiente de 45 a 60 minutos (alternativamente las placas pueden ser dejadas durante toda la noche).
10. Examinar para ver los patrones de aglutinación.

D. Procedimientos cuantitativos.

Se pretende cuantificar rutinariamente los resultados positivos, el procedimiento de screening puede ser modificado omitiendo las Células de Control y preparando solamente una dilución final. La mayoría de las muestras darán resultados negativos o genuinamente positivos, y las Células de Control deben ser usadas en el procedimiento cuantitativo de abajo.

1. Preparar diluciones en una placa microtitulación como sigue:
 - Para cada muestra, dispensar 25µl de diluyente en cada agujero en una columna de la placa. Para controles de titulación el dispensado debe comenzar desde la fila 3.
 - Transferir 25µl de la fila 2 de la placa de screening original de la fila 1 de la placa cuantitativa.
 - Mezclar y desechar 25µl.
 - Transferir 25µl de la fila 2 de la placa de screening original a la fila 2 de la placa cuantitativa.
 - Preparar 25µl doblando las diluciones de la fila 2 a la fila 8 (para diluciones dobles de control debería de comenzar en la fila 3).
 2. Añadir 75µl de Células de Control bien mezcladas a la fila 1.
 3. Añadir 75µl de Células de examen bien mezcladas a las filas desde la 2 a la 8.
 4. Mezclar golpeando suavemente. La muestra final de dilución en las filas 1 y fila 2 es de 1/80.
 5. Cubrir y dejar solidificar de 45 a 60 minutos a temperatura ambiente (o durante la noche).
- Nota: Los kit de control están prediluidos y deberían añadirse directamente 25µl en los agujeros individuales de las filas 1, 2 y 3 con diluciones dobles comenzando desde la fila 3 (no se requiere diluyente en la fila 1 o fila 2).

Interpretación de resultados

Procedimiento de screening

Las células aglutinadas forman una capa suave, en el fondo del agujero. Las células no aglutinadas forman un botón compacto en el centro del agujero. Las células débilmente aglutinadas forman un anillo patrón característico o un mantel de células rodeando un círculo rojo.

Las células aglutinadas forman una capa lisa sobre el fondo del agujero. Las células no aglutinadas forman un botón compacto en el centro del agujero. Las células aglutinadas débilmente forman un anillo patrón característico o un mantel de células rodeado por un círculo rojo.

La aglutinación de las Células de Examen pero no de las Células de Control indica la presencia de un anticuerpo específico a *T. pallidum*. La ausencia de aglutinación con las Células de Examen indica que el anticuerpo específico a *T. pallidum* está ausente o por debajo del límite de detección. El patrón de Células de Control no debería usarse como indicador de patrón negativo con Células de Examen ya que estas producen botones compactos de células. La aglutinación de las Células de Control así como de las Células de Examen indica la presencia de anticuerpos anti células. En este caso el examen no es válido y debería ser repetido.

Si el examen no es válido debería ser repetido después de llevar a cabo una primera absorción de un suero de examen. Para conseguir esta dilución, diluir ¼ del suero de examen con Células de Control y dejar solidificar a temperatura ambiente durante 45-60 minutos. Después de Centrifugar la muestra (1000rpm/5mins) diluir 1/5 del sobrante en el Diluyente. Examinar esta dilución directamente, sin otra dilución posterior, usando suspensiones de Examen y Control. Un examen FTA ABS confirmatorio es también recomendado.

Procedimiento cuantitativo

Interpretar los resultados por el procedimiento de screening. El título es la dilución más alta que muestra aglutinación. El suero de Control Positivo debería dar un título de 1/2560 ± una dilución doble. La dilución de inicio para el procedimiento cuantitativo es 1/80. Títulos de 1/164,000 han sido detectados sin efecto propone (Hook).

Limitaciones de uso

El examen ha sido validado para el uso con suero o muestras CFS.

No volver a usar este producto.

Ningún examen de aglutinación serológica puede discriminar entre anticuerpos debido a la infección con *T. pallidum* y anticuerpos debido a la infección con otros treponemas patogénicos por ej. *T. pertenue* y *T. carateum*.

Ningún otro factor interferente ha sido identificado, sin embargo, todas las muestras positivas deben ser confirmadas e.j. con el procedimiento FTA-ABS, conjuntamente con otros hallazgos clínicos. Un resultado bajo o positivo sospechoso debe ser vuelto a examinar.

El diagnóstico no debe hacerse solamente basado en los hallazgos de un ensayo clínico. Cuando se haga una Interpretación de un examen se recomienda firmemente tomar todos los datos clínicos en consideración.

El examen dará un resultado negativo en casos de una temprana y active Sífilis o en una tardía y latente Syphilis.

Para completar el perfil de resultados, se recomienda que un examen RPR o un antígeno VDRL/carbon se lleve a cabo en la muestra del paciente, ya que estos exámenes detectarán la Sífilis activa.

Control de calidad

Los conjuntos de control o las muestras de nivel de valor conocido deberían ser examinadas con cada examen que se lleve a cabo. El conjunto negativo de control debería dar un resultado negativo tras 45 minutos. El conjunto de control positivo debería dar un resultado negativo tras 45 minutos. Si los niveles de controles o muestras conocidas de usuarios no dan los resultados esperados, los resultados de los exámenes deberían de considerarse inválidos.

Referencias

Bibliografía disponible si se requiere.