

## TPHA MonlabTest®



### Determinación cualitativa de anticuerpos anti-*Treponema pallidum*

**IVD** Para uso profesional de diagnóstico in vitro.  
Conservar a 2 - 8°C.

#### PRINCIPIO DEL METODO

TPHA (*Treponema Pallidum Haemagglutination*) es una prueba de hemoaglutinación indirecta en microplaca para la detección cualitativa y semicuantitativa de anticuerpos específicos anti-*Treponema pallidum* en suero humano. Los hematíes de ave estabilizados y sensibilizados con una solución antigénica de *T. pallidum*, aglutinan en presencia de anticuerpos anti-*T. pallidum* mostrando unos patrones de aglutinación característicos.

#### SIGNIFICADO CLINICO

La sífilis es una enfermedad venérea provocada por la infección con *T. pallidum*. La transmisión del microorganismo se produce por contacto directo a través de una lesión productiva. El periodo de incubación es aproximadamente de 20 días y la enfermedad progresa a través de 3 fases distintas con sintomatología diferente. Los anticuerpos anti-*Treponema* aparecen a partir de la primera fase y pueden permanecer en un 85-90% de pacientes tratados a pesar de haber superado la enfermedad.

#### REACTIVOS

<b>R1: Células Test (TC)</b>	Hematíes de ave estabilizados y sensibilizados con antígenos de <i>T. pallidum</i> (Nichols), Conservante., pH, 7,2.
<b>R2: Células Control (CC)</b>	Suspensión estabilizada de hematíes de ave, Conservante., pH, 7,2.
<b>R3: Diluyente (DIL)</b>	Tampón fosfato, extracto de <i>T. pallidum</i> (Reiter), Conservante., pH 7,2
<b>Control +</b>	Suero inmune humano prediluido 1:20. Conservante.
<b>Control -</b>	Suero de animal, Conservante.

#### PRECAUCIONES

Todos los componentes de origen humano han resultado ser negativos para el antígeno HBs, HCV y para el anti-HIV (1/2). Sin embargo, deben tratarse con precaución como potencialmente infecciosos.

#### CALIBRACION

La sensibilidad del reactivo es trazable al 1º Patrón Internacional de Sífilis de OMS.

#### CONSERVACION Y ESTABILIDAD

Todos los componentes del kit son estables hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta del vial, cuando se mantienen los viales bien cerrados a 2-8°C, y se evita la contaminación durante su uso. No congelar: la congelación de los reactivos altera irreversiblemente la funcionalidad de éstos.

Conservar los viales de las Células Test y Control siempre en posición vertical. La conservación en posición horizontal puede ocasionar la aparición de agregados celulares.

**Indicadores de deterioro de los reactivos:** Presencia de partículas agregados y turbidez.

#### MATERIAL ADICIONAL

- Placas de microtitulación con fondo en "U".
- Pipetas de 25-75 µL.

#### MUESTRAS

Suero fresco o plasma. Estable 8 días a 2-8°C o 3 meses a -20°C. Las muestras con restos de fibrina deben ser centrifugadas antes del usar. No utilizar muestras altamente hemolizadas o lipémicas.

#### PROCEDIMIENTO

##### Método cualitativo

1. Atemperar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente.
2. Preparar una dilución 1:20 de la muestra en Diluyente (10 µL suero + 190 µL Diluyente).
3. Pipetear en pocillos adyacentes de una placa de microtitulación<sup>(Nota1):</sup>

Muestra 1/20 o Controles (µL)	25	25
Células Control (µL)	75	--
Células Test (µL)	--	75

4. Agitar suavemente la placa hasta la completa homogenización de las mezclas.
5. Cubrir la placa e incubar a temperatura ambiente durante 45-60 min. <sup>(Nota 2)</sup>.
6. Examinar macroscópicamente los patrones de aglutinación de las células.

##### Método semi-cuantitativo

1. Realizar diluciones dobles a partir de la dilución 1:20 de la muestra en Diluyente.
2. Ensayar cada dilución como se describe en el método cualitativo.

#### LECTURA E INTERPRETACION

Los resultados deben ser leídos comparando los patrones de aglutinación de las Células Test con los de las Células Control (Nota 3). Los resultados se evalúan de acuerdo con los siguientes criterios:

Grado de aglutinación	Lectura	Resultado
Capa de células lisas que recubre por completo el fondo del pocillo, algunas veces con los bordes replegados	4+	Reactivo
Capa de células cubriendo parte del fondo del pocillo	3+	Reactivo
Capa de células rodeada por un círculo rojo	2+	Reactivo
Capa de células cubriendo menos área y rodeadas por un círculo rojo	1+	Reactivo
Botón de células con un pequeño orificio en el centro	±	Límite
Botón compacto y definido de células, a veces con un pequeño orificio en el centro	-	Negativo

El Control Negativo no debe mostrar aglutinación con Células Test ni con Células Control.

El Control Positivo solo debe mostrar aglutinación con las Células Test.

Cualquier aglutinación mostrada con las Células Control, indica la presencia de anticuerpos inespecíficos y no debe interpretarse.

Las muestras con resultado límite deben ser reensayadas e interpretadas como negativas si se produce el mismo patrón de aglutinación.

Las muestras positivas deben ser tituladas según el procedimiento semicuantitativo. Se define el título como la dilución mayor que da resultado reactivo.

El diagnóstico clínico no debe realizarse únicamente con los resultados de un único ensayo, sino que debe considerarse al mismo tiempo los datos clínicos del paciente.

#### CONTROL DE CALIDAD

Se recomienda utilizar el control positivo y negativo para controlar la funcionalidad del reactivo, así como modelo de comparación para la interpretación de los resultados.

Todo resultado distinto al resultado que da el control negativo, se considerará positivo.



### CARACTERÍSTICAS DEL METODO

- Sensibilidad analítica:** determinación correcta del título del Material de Referencia en las condiciones descritas en el ensayo (ver calibración).
- Efecto prozona:** No se observa efecto prozona hasta títulos  $\geq 1/163840$  (Nota 4).
- Sensibilidad diagnóstica:** 99,5 %
- Especificidad diagnóstica:** 100 %.

### INTERFERENCIAS

Bilirrubina (20 mg/L), hemoglobina (10 g/L), lípidos (10 g/L) y factores reumatoideos (300 UI/mL), no interfieren. Otros sustancias pueden interferir<sup>5</sup>.

### NOTAS

- Mezclar vigorosamente o con el agitador vortex los viales de Células Test y Control inmediatamente antes de usar.
- Mantener la microplaca alejada de fuentes de vibración, calor y luz solar directa.
- El patrón de aglutinación de las Células Control no debe tomarse como modelo para la interpretación de resultados negativos, ya éstas producen botones más compactos que con las Células Test.
- Los sueros con elevado título de anticuerpos pueden mostrar patrones de aglutinación con los bordes muy replegados.

### LIMITACIONES DEL METODO

- El ensayo de TPHA presenta determinadas inespecificidades con anticuerpos de otras especies de treponemas patógenos. Es recomendable que todos los resultados positivos se confirmen con técnicas alternativas como FTA-Abs.
- Se han descrito reacciones falsamente positivas en muestras de pacientes con mononucleosis, lepra, borreliosis, enfermedades autoinmunes y drogadicción.
- La prueba de TPHA no es útil para controlar la eficacia del tratamiento, ya que el nivel de anticuerpos permanece mucho tiempo después de la curación de la enfermedad.











### BIBLIOGRAFIA

- Paris hamelin et al. Feuilles de Biologie 1983; 24(133): 35-42.
- Tomizawa T et al. Jap L Med Sci Biol 1966; 19: 305-308.
- Tomizawa T et al. Jap L Med Sci Biol 1969; 22: 341.
- Sandra A Larsen et al. A manual of Test for Syphilis American Public Health Association 1990: 1-192.
- Young DS. Effects of drugs on clinical laboratory test, 4<sup>th</sup> ed AACC Press, 1995.

### PRESENTACION

Ref.: MO-165024 100 test	Células Test (TC) : 1 x 7,5 mL Células Control (CC):1 x 7,5 mL Diluyente (DIL):2 x 10 mL Control +:1 x 1 mL Control - :1 x 1 mL
--------------------------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### SIMBOLOS UTILIZADOS PARA COMPONENTES Y REACTIVOS IVD

	Fabricante		Uso de diagnóstico <i>in vitro</i>
	No reutilizar		Consultar las instrucciones de uso
	Contiene suficiente para <n> test		Mantener seco
	Código		Límite de temperatura
	Número de lote		Fecha de caducidad