

NO TPLA-REAGENS

TILTENKT BRUK

Beregnet til kvantitativ bestemmelse av antistoffer mot *Treponema pallidum* på Hitachi 9000 klinisk analysator, SK500/Biolis 50i klinisk analysator og flere andre automatiske kliniske analysatorer.

SAMMENDRAG

Syfilis er en kronisk infeksjon som er forårsaket av *Treponema pallidum* som kan smitte ved fødselen eller gjennom seksuell kontakt. Den kjennetegnes ved episoder med aktiv sykdom som er avbrutt av latensperioder¹.

Det finnes typer serologiske tester for syfilis, ikke-treponema antistofftest og treponema antistofftest. De mest brukte ikke-treponema antistofftestene for syfilis er hurtigtest for plasmareagin (RPR) og laboratorietester for veneriske sykdommer (venereal disease research laboratory – VDRL), begge måler antistoffer mot et kardiolipin-lecitin-kolesterol-antigenkompleks. Treponema-tester måler antistoffer mot native (Nichols strain) eller rekombinante *T. pallidum* antigener.¹ Dette automatiske assayet er basert på et immunologisk lateks-agglutinasjon testprinsipp.

PRINSIPP

Polystyrenlateks som er belagt med antigenkomponenter som er hentet fra *Treponema pallidum* (Nichols strain), eksponeres for testprøven under bestemte forhold, for å sette i gang dannelse av anti-Treponema antistoffer-lateksaggregat. Økt turbiditet på grunn av dannelsen av dette aggregatet (endringen i turbiditeten), i forhold til nivået før eksponeringen, måles for å bestemme titer for anti-Treponema i testprøven.

REAGENSER

Sammensetning

Komponent	Ingredienser	Konsentrasjon
Reagens 1	Bovint serumalbumin Natriumazid Buffer (pH 7,2-7,4)	10 % <0,1 %
Reagens 2	Latekspartikler belagt med <i>Treponema pallidum</i> -avledet antigen Bovint serumalbumin Natriumazid Buffer (pH 7,2-7,4)	≤ 3,5 mg/ml 1 % <0,1 %

Forholdsregler og advarsler

- Til in vitro diagnostisk bruk.
- Ikke bruk reagensene etter utløpsdatoen trykket på etikettene.
- Advarsel:** Alle prøver som brukes i testen skal betraktes som potensielt smittsomme. Generelle forholdsregler som gjelder for institusjonen må anvendes ved håndtering og avhending av materiale under og etter testing.²
- TPLA-reagenser skal bare brukes sammen med TPLA-kalibreringssett.
- Advarsel:** Unngå å fryse reagenser.
- Advarsel:** Reagens 1 og 2 inneholder <0,1 % natriumazid som konserveringsmiddel. Natriumazid kan reagere med bly- og kobberør, og føre til at potensielt eksplosive metallazider dannes. Skyll med rikelige mengder vann når du avhender materialet..
- Advarsel:** Ikke slå sammen reagenser i et sett – eller mellom reagenssett.
- Avhending av alle avfallsmaterialer skal skje i samsvar med lokale forskrifter.

Klargjøring

Reagens 1: Flytende, klar til bruk.

Reagens 2: Flytende, klar til bruk.

Vend på den for å blande den før bruk. Unngå å danne skum.

Lagring og stabilitet

En uåpnet reagens er stabil fram til utløpsdatoen som vises på etiketten, når den oppbevares ved 2 – 8 °C.

Etter åpning, med hette på, er reagensen stabil i opptil 4 uker ved 2 – 8 °C.

IKKE FRYSE

Stabilitet innsatt

Reagensene er stabile, åpne i Hitachi 9000-analysatorene i 4 uker ved 2 – 8 °C.

Indikasjoner på forringing

Dersom man ser turbiditet eller mikrobiell vekst i noen av

reagensene, kan dette indikere forringing. Manglende evne til å gjenopprette kontrollverdiene.

PRØVETAKING OG PREPARERING

Serum litiumheparin eller EDTA-2K er de anbefalte innsamlingsmediene. Bruk standard prøvetaking og prepareringsmetoder.³

Hvis de ikke analyseres med en gang, kan serum- eller plasmaprøver lagres ved 2 – 8 °C i 1 uke, eller ved 15 – 25 °C i 1 dag.⁴ Hvis prøvene må lagres i mer enn én uke, kan de lagres ved -20 °C eller lavere i inntil 4 uker.⁴

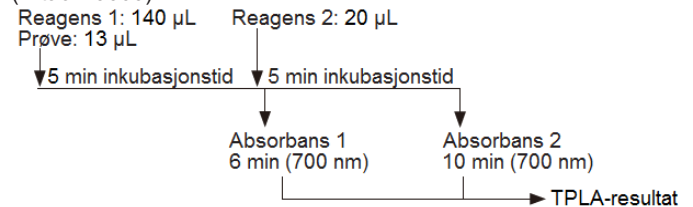
Hvis prøvene har vært nedfrosset, sentrifuger dem ved 15000xg i 10 minutter før måling. Prøvene kan fryses og tines opp en gang.⁴

PROSEDYRE

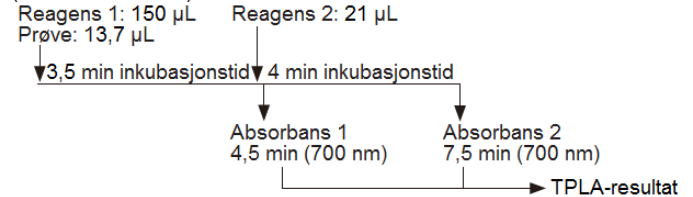
Assay

Nedenfor gis det to eksempler på prosedyren for TPLA-assay for Hitachi 9000 automatisk klinisk analysator og SK500/Biolis 50i automatisk analysator. Alle analysatorens anvendelser skal valideres. Sekisui Diagnostics har anvendelser for flere automatiske analysatorer tilgjengelig på forespørsel. Ytelsen til anvendelser som ikke er validert av Sekisui, må defineres og valideres av brukeren.

(Hitachi 9000)



(SK500 / Biolis 50i)



Materialer som følger med

TPLA-reagenser 1 og 2 kreves for å måle antistoffer mot *Treponema pallidum*. TPLA-reagensene er pakket og selges som sett.

Beskrivelse	Konfigurasjon	Katalognummer
TPLA-reagens 1	1 x 60 ml	486647
TPLA-reagens 2	1 x 60 ml	

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Beskrivelse	Konfigurasjon	Katalognummer
TPLA-kalibreringssett	5 nivåer x 2 ml	515132
TPLA kontrollsett	Nivå A 1 x 3 ml	515149
	Nivå B 1 x 3 ml	

* Analysator som er i stand til å kjøre to-reagenskjemi..

Kalibrering

Man skal bare bruke TPLA-kalibrator til å kalibrere TPLA-assay. Verdiene til TPLA-kalibratorene som finnes på etikettene på hetteglassene til kalibratoren, kan spores til en intern standard.

Kalibreringsfrekvensen må bestemmes av brukeren.

Kvalitetskontrollverdiene skal være innenfor de forventede områdene.

Kvalitetskontroll

Påliteligheten til testresultatene bør overvåkes jevnlig ved bruk kvalitetskontrolløsninger eller serumbassenger som på rimelig måte representerer ytelsen man har med pasientprøver. Kontrolløsninger eller serumbassenger bør brukes for å overvåke at reagensene fungerer som de skal og at korrekte prosedyrer følges. Et akseptabelt område for hvert parti kontrolløsning skal fastsettes av laboratoriet. Hvis kontrollverdiene ikke ligger innenfor det forventede området, følg vanlige feilsøkningsprosedyrer. Hvis det skulle være nødvendig med hjelp, kontakt den lokale distributøren.

Kvalitetskontrollkravene bør etableres i samsvar med lokale, nasjonale og/eller internasjonale forskrifter eller krav.

RESULTATER

Resultatene uttrykkes i titerenheter (T.U.). T.U. er basert på *Treponema pallidum* hemagglutinasjons-assay (TPHA). 1280 T.U. is tilsvaret en titer på 1:1280 TPHA.

For å konvertere fra T.U. (Titerenheter) til mIU, multipliser T.U. - enheter med 2.

Begrensninger / interfererende stoffer

Kriterium: Gjenoppretting innen $\pm 20\%$ av utgangsverdien. Alle studiene ble utført på Hitachi 9000 automatiske kliniske analysator.

Lipemi: Det ble ikke observert noen lipemisk interferens opp til 0,25 % (intralipid) i prøver med syfiliske anti-lipide antistoffer på cirka 80 T.U. Hvis du har mistanke om at prøven er lipemisk, sentrifuger den ved 15000xg i 10 minutter før måling.

Chyle (formazin-turbiditetstenhet): Det ble ikke observert noen signifikant interferens opp til 1450 formazin-grad i prøver med syfiliske anti-lipide antistoffer på cirka 80 T.U. Prøver som overskrider 1450 formazin-grad, skal sentrifugeres ved 15000xg i 10 minutter før måling.

Hemoglobinkonsentrasjon på opptil 490 mg/dL (75,7 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfiliske anti-lipide antistoffer på 80 T.U.

Ukonjugert bilirubinkonsentrasjon på opptil 18,5 mg/dL (316,4 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfiliske anti-lipide antistoffer på 80 T.U.

Ukonjugert bilirubinkonsentrasjon på opptil 18,5 mg/dL (316,4 $\mu\text{mol/L}$) interfererte ikke i prøver med nivåer av syfiliske anti-lipide antistoffer på 80 T.U. Revmatoid faktor ble testet til 500 IU/ml og dette påvirket ikke ytelsene til Roche Hitachi H9000 klinisk analysator.

Serum- og plasmaprøver fra pasienter i de tidlige stadiene av antistoffproduksjon, på grunn av svekket immunfunksjon, inneholder små mengder antistoff og kan teste negativt.

En uspesifikk immunrespons kan forekomme i serum fra pasienter med autoimmune sykdommer. Testresultatene skal vurderes basert på andre testresultater og kliniske symptomer.

Serumprøver fra pasienter som får blodprodukter som inneholder immunglobulin, kan teste positivt. Vurder testresultatet grundig.

På grunn av det store spekteret av prøvekonsentrasjoner som er mulig, må vask av prøvesonden være tilstrekkelig til å forhindre prøveoverføring.

Forventede verdier

En måling på 10 T.R. eller høyere, indikerer at prøven er positiv for antistoffer.

Et positivt testresultat skal vurderes basert på følgende tester, og bør evalueres sammen med andre testresultater og kliniske symptomer. En endelig syfilisdiagnose bør stilles av en lege. Resultater som ikke samsvarer med de kliniske symptomene, bør testes på nytt.

Hvert enkelt laboratorium må bekrefte referanseintervallene for den pasientpopulasjonen de betjener.

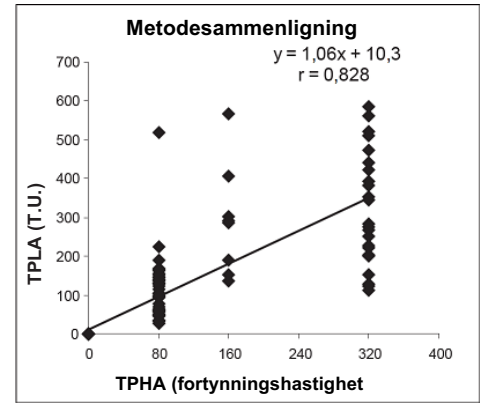
SPESIFIKKE YTELSESEGENSKAPER

Metodesammenligning

Sammenlignende ytelsesstudier ble utført ved bruk av TPLA-reagens på Roche Hitachi 7050-analysatoren og en kommersielt tilgjengelig test for *reponema pallidum* hemagglutineringsmetoden (TPHA). 171 serumprøver, med positive TPLA-prøvekonsentrasjoner mellom 27 og 585 T.U.

Regresjonsanalysen vises under:

Sekisui Diagnostics TPLA vs. en eksisterende TPHA-testmetode (n = 171)	
Stigningstall	1,06
Intercept (T.U.)	10,3
Korrelasjonskoeffisient (r)	0,828



Presisjon

Innen-seriepresisjonen i TPLA-reagenset ble bestemt ved bruk av 3 nivåer av positive serumprøver og 1 negativ serumprøve i henhold til intern protokoll. Prøvene ble målt 10 ganger ved bruk av 3 partier med reagenser på Hitachi 7180 automatisk klinisk analysator.

Den totale presisjonen til TPLA-reagenset ble bestemt ved bruk av 1 negativ kontroll og 2 positive kontrollprøver i henhold til intern protokoll, målt 2 ganger hver dag i 21 dager på Hitachi H9000 automatisk klinisk analysator.

Innen-seriepresisjon

Prøver	Gjennomsnitt (T.U.)	Standardavvik (T.U.)	CV (%)
Humant serum 1	0,0	0,0	–
Humant serum 2	28,8	1,1	3,7
Humant serum 3	77,4	2,0	2,5
Humant serum 4	190,9	8,4	4,4

Mellom-seriepresisjon

Prøve/kontroll	Gjennomsnitt (T.U.)	Standardavvik (T.U.)	CV (%)
Humant serum	0,0	0,0	–
TPLA-kontroll nivå A	26,5	1,4	5,2
TPLA-kontroll nivå B	80,3	3,6	4,5

En positiv kontroll målt 42 ganger ga en CV på $\leq 15\%$.

Deteksjonsgrense (LoD)

Deteksjonsgrensen er den faktiske konsentrasjonen der et observert testresultat ligger 2.0 SD over resultatet for den laveste kalibratoren (kalibrator 1). Deteksjonsgrense ble etablert ved bruk av kalibratormålinger 1 og 10 med TPLA-reagens på Roche Hitachi H9000 klinisk analysator.

Deteksjonsgrensen er definert som: 4,6 T.U.

Spesifisitet

Det ble ikke observert noen High-Dose-Hook-Effect ved analyttkonsentrasjoner på opptil 362 T.U. på Hitachi H9000 klinisk analysator.

Et negativt resultat som ikke samsvarer med de kliniske tegnene, kan forekomme hos pasienter med hyperglobulinemi. I slike tilfeller kan prøven fortynnes med 0,9 % NaCl-løsning og kjøres på nytt.

Linearitet

TPLA-metoden er lineær fra 5 T.U. til 250 T.U. på Roche Hitachi H9000 klinisk analysator.

Prøver over 250 T.U. kan fortynnes med 0,9 % NaCl-løsning. Multipliser resultatet med fortynningsfaktoren for å finne TPLA-konsentrasjonen for prøven.

Andre ytelsesstudier

Kryssreaktivitet (analytisk spesifisitet)

Prøver som inneholder potensielt interfererende stoffer, ble analysert for kryssreaktivitet. Prøver som ble testet med Sekisui Diagnostics TPLA-assay var:

- fra pasienter med kollagenose og pasienter som gjennomgår dialyse
- fra gravide kvinner

Prøve	Antall	TPLA-reaktiv	Takt
Kollagenose-pasienter	28	0	0 %
Gravide kvinner	26	0	0 %
Dialysepasienter	50	0	0 %

Klinisk sensitivitet^{5,6,7}

Totalt ble 268 utvalgte bekreftede syfilis-positive prøver i ulike stadier av sykdommen testet med Sekisui Diagnostics TPLA-assay. Følsomheten ble funnet å være 100 %

Syfilis-positive prøver	TPLA		
	Antall	Positiv	Negativ
268	268	268	0

Klinisk spesifisitet^{4,5,6}







Totalt 3427 syfilis-negative prøver ble testet med Sekisui Diagnostics TPLA-assay. Spesifisiteten for disse prøvene var 99,6 %.

Syfilis-positive prøver	TPLA		
	Antall	Positiv	Negativ
268	3427	13	3414

Referanser

1. Longo, DL, Fauci, AS, Kasper DL, Hauser SL, Jameson JL og Loscalzo J. Eds Harrison's Online-Harrison's Principles of Internal Medicine. 18e. Part 8. Infectious Diseases. McGraw-Hill
2. Richardson JH og Barkley WE, red. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, U.S. Dept. of Health and Human Services, Public Health Service, HHS Publication Nr. (CDC) 84-8395, Washington, DC: 1984.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute, Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens: Approved Guideline [Godkjente retningslinjer]. CLSI Document H18-A, Wayne, PA: 1990.
4. Shibasaki M et al. An Automated Measurement of Anti-Treponema Antibody Titer by MEDIACE TPLA, a Latex Agglutination Test using Hitachi 7170 Automatic Analyzer. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1996; 19 (4):635-639.
5. Osato K et al. Clinical Evaluation of Latex Agglutination Test Kits for Detecting Anti-syphilitic Lipoidal Antibodies and Anti-treponemal Antibodies. Japanese Journal of Sexually Transmitted Diseases 2002; 13 (1): 124-130
6. Osato K et al. Clinical Evaluation of Automated Latex Agglutination Test Kits (TPLA) for Syphilis Diagnosis. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1991; 14 (4):739-743.
7. Kataniwa Y et al. Clinical Evaluation of Latex Reagent Samedia TPLA for Diagnosis of Syphilis. The Journal of Clinical Laboratory Instruments and Reagents 1991; 14 (4):735-73.
8. Data lagret hos SEKISUI.

Symboldefinisjoner

REF Katalognummer	IVD Til in vitro diagnostisk bruk
 Temperaturgrense	 Produsert av
 Bruk innen	 Se bruksanvisningen
LOT Batch-kode	 Advarsel, les den medfølgende dokumentasjonen
EC REP Autorisert representant i Det europeiske fellesskapet	 Biologiske risikoer



SEKISUI MEDICAL CO., LTD.
1-3, Nihonbashi 2 -chome, Chuo-ku
Tokyo, 103-0027, Japan



Medical Device Safety Service GmbH (MDSS)
Schiffgraben 41
30175 Hannover, Tyskland



April 2019 KI486647. 05

Navnet SEKURE og Sekure-logoen er registrerte varemerker som tilhører Sekisui Diagnostics, LLC.