



Інструкція

з використання діагностикуму для виявлення
атитіл до блідої спірохети в сироватці та плазмі крові людини
ТРНА-тест

IN VITRO

Зберігати при 2-8°C

Тільки для професійного використання.

Набір розрахований на 100 визначень з урахуванням холостих проб при витраті робочого розчину відповідно цієї методики.

Принцип методу

В ТРНА-тесті використовується реакція непрямой гемаглютинації для якісного та напівкількісного виявлення специфічних антитіл до блідої спірохети в сироватці та плазмі крові людини. Використовуються стабілізовані пташині еритроцити, сенсibiliзовані розчином з антигеном блідої спірохети, які аглютинують в присутності відповідних антитіл.

Інтенсивність аглютинації прямо пропорційна кількості антитіл.

Клінічне значення

Сифіліс - це венеричне захворювання, що викликається інфікуванням блідою спірохетою. Передача організму відбувається при безпосередньому контакті або через продуктивну травму. Інкубаційний період складає приблизно 20 d (доб) і хвороба прогресує через три окремі фази з різною симптоматикою. Антитіла до блідої спірохети з'являються з першої фази захворювання вони можуть залишатися в 85-90% пацієнтів, незважаючи на закінчення хвороби.

Клінічний діагноз не повинен базуватися тільки на основі тесту, необхідно враховувати клінічні та інші лабораторні дані.

Склад набору

1. Реагент 1. Тестові клітини. Еритроцити птиці сенсibiliзовані антигеном T.pallidum.
2. Реагент 2. Контрольні клітини. Еритроцити птиці.
3. Реагент 3. Розчинник. Фосфатний буфер, екстракт T. Pallidum (Reiter).
4. Реагент 4. Позитивний контроль. Імунна людська сироватка розведена 1:20.
5. Реагент 5. Негативний контроль.
6. Інструкція з використання
7. Паспорт

Матеріал для дослідження

Використовуйте свіжу, вільну від домішок сироватку або плазму крові. Зберігайте зразки не більше 48 h (год) при 4-10°C. Довгострокове зберігання допускається в замороженому вигляді при температурі -20°C. Повторне заморожування-відтавання не допускається.

Не використовуйте мутні, хильозні та гемолітичні зразки.

Перелік необхідного устаткування

Автоматичні дозатори фіксованого або варіабельного об'єму 10-100 μl (мкл).

Мікропланшет для титрування з U-дном.

Підготовка реагентів

Всі реагенти готові до використання. Перед використанням набір витримайте при кімнатній температурі протягом 30 min (хв), обов'язково перемішайте P1 та P2 енергійно або на вортексі.

Підготовка зразків

Розведіть зразок в 20 разів за допомогою P3 (10 μl (мкл) зразка + 190 μl (мкл) P3).

Контролі не потребують розведення.

Проведення дослідження**1. Якісне визначення**

1. Доведіть зразки до кімнатної температури.
2. Піпетувати в сусідні лунки мікропланшета для титрування.

Зразок або контролю, μl (мкл)	15	15
Тестові клітини	45	-
Контрольні клітини	-	45

3. Обережно струсити планшет до повної гомогенізації сумішей.
4. Накрити і інкубувати при кімнатній температурі протягом 45-60 min (хв).
Увага! Під час інкубування тримайте планшет подалі від джерела тепла, прямих сонячних променів, та джерел вібрації (центрифуг, холодильників).
5. Оцініть макроскопічно аглютинацію клітин. При закритому планшеті результат стабільний на протязі 24 h (год).

2. Напівкількісне визначення

1. Виконати подвійні послідовні розведення за допомогою РЗ зразка, розведеного в 20 разів.
2. Провести дослідження кожного розведення, як зазначено в якісному визначенні.

Оцінка результатів дослідження

Оцініть результати шляхом порівняння утворених конгломератів з тестовими клітинами та з контрольними клітинами.

Результати оцінюються відповідно до таблиці:

Ступінь аглютинації	Оцінка	Результат
Гладкий шар клітин покриває все дно лунки планшета, іноді з відігнутими краями	4+	Позитивний
Гладкий шар клітин частково покриває дно лунки	3+	Позитивний
Гладкий шар клітин оточений червоним кільцем	2+	Позитивний
Гладкий шар клітин займає меншу площу і оточений червоним кільцем меншого діаметра	1+	Позитивний
Шар клітин на дні лунки має отвір посередині	+/-	Сумнівний
Чіткі компактні клітинні конгломерати, іноді з отворами в середині	-	Негативний

Позитивні та негативні контролю рекомендуються для моніторингу виконання процедури, а також порівняльної моделі для кращої інтерпретації результату.

Негативний контроль не повинен давати аглютинацію ні з тестовими клітинами, ні з контрольними клітинами. Всі результати, відмінні від результату негативного контролю, треба розглядати як позитивні.

Позитивний контроль повинен давати аглютинацію тільки з тестовими клітинами.

Аглютинація, отримана від взаємодії з контрольними клітинами, говорить про присутність специфічних антитіл і не може бути інтерпретована. Зразки з сумнівною реакцією повинні бути повторно протестовані і в разі отримання такого ж результату розцінюватися як негативні.

Позитивні зразки повинні тестуватися, як описано в методиці для напівкількісного визначення. При напівкількісному визначенні оцінку проводять згідно з останнім титром сироватки, який дав позитивний результат.

Аглютинація з контрольними клітинами не може бути використана як контроль негативного результату, оскільки контрольні клітини демонструють більш компактні конгломерати, ніж тестові клітини.

Сироватка з високим рівнем антитіл може давати аглютинацію з дуже відігнутими краями.

Референтні величини

Нормальні показники - аглютинація відсутня.

Обмеження тесту

ТРНА-тест не може розрізнити антитіла анти-*T. pallidum* від антитіл до інших патогенних трепонем. Рекомендується, щоб всі позитивні результати були підтверджені альтернативними тестуванням.

Помилково позитивні результати були описані з зразками пацієнтів з мононуклеозом, лепрою, бореліозом, аутоімунними захворюваннями та наркотичною залежністю.

ТРНА-тест не є корисним для визначення ефективності терапії, оскільки рівень антитіл залишається тривалий час після того, як захворювання було клінічно вилікувано і тест залишається позитивним.

Зберігання та стабільність

Усі компоненти набору стабільні до закінчення терміну придатності, зазначеного на етикетці, якщо зберігати його щільно закритим при 2-8°C. Під час використання реагентів запобігати забруднення та потрапляння прямих сонячних променів.

Не допускається замороження!

Вимоги безпеки та утилізації

1. Уникати потрапляння в рот, очі та на шкіру. В разі потрапляння, промити великою кількістю води та звернутися за консультацією до лікаря.
2. Використовувати засоби індивідуального захисту при роботі з набором.
3. Знезараження та утилізація реагентів, сироваток, тестових слайдів чи скляних пластин проводити згідно з чинним законодавством.


Транспортування

Набори транспортують всіма видами закритого транспорту при температурі до 25°C.








Допускається транспортування при середньодобовій температурі 37°C не більше 72 h (год).

Гарантії виробника

1. Виробник гарантує відповідність якості наборів вимогам ТУ при додержанні споживачем умов зберігання.
2. Гарантійний термін зберігання становить 12 mth (міс) з дня виготовлення набору.

 ТОВ «Лабораторія Гранум», Україна, 61001, м. Харків, вул. Франківська, 14,
тел/факс: (057) 752-32-31, електронна адреса: granumlab@gmail.com

Символи на продукції

 Виробник	Виготовлено: Дата виробництва	Придатно до: Термін придатності	Серія: Номер
серії  Виріб медичний для діагностики in vitro	 Консультуйтеся з інструкцією із використання		
 Берегти від сонячного світла	 Знак відповідності Технічним регламентам	 Температурне	
обмеження  Засторога. Зверніться до інструкції з використання для отримання інформації щодо застережень, попереджень, запобіжних заходів			