

RPR-DAT



REF 26030

DIESSE Diagnostica
Senese S.p.A.
Strada dei Laghi, 39
53035 Monteriggioni (Siena)
Italy



	Capitolo Section
Modifiche introdotte nella revisione corrente Changes introduced in the current revision	5 – 8



RPR-DAT

Test non-treponemico per la determinazione qualitativa e semiquantitativa delle reagine in siero applicabile allo strumento AUTO-DAT.

Solo per uso diagnostico in vitro

1. UTILIZZAZIONE

Test non-treponemico per la determinazione qualitativa e semiquantitativa delle reagine in siero.

2. INTRODUZIONE

L'infezione da *Treponema pallidum* sollecita una complessa risposta anticorpale. I tests non treponemici si basano sulla rivelazione delle reagine, una classe di anticorpi presente nella sifilide e talvolta anche in altre patologie acute e croniche. Le reagine compaiono nel siero dopo circa 4-6 settimane dall'infezione o 1-3 settimane dopo la comparsa della lesione sifilitica.

Come antigene viene usato un estratto purificato di cuore di bue (cardiolipina) addizionato di lecitina e colesterolo. I tests non treponemici vengono routinariamente utilizzati nella sierologia della sifilide, grazie alla loro praticità e riproducibilità, sebbene essi non offrano talvolta una specificità del 100%.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il siero in esame viene fatto reagire con la sospensione colloidale di cardiolipina, lecitina e colesterolo miscelata a microparticelle per effettuare il test in tecnica semiautomatica sullo strumento AUTO-DAT.

L'analisi viene effettuata tramite un'elaborazione software dell'immagine dell'agglutinato, che si ottiene in pozzetti di micropiastre, e che è memorizzata all'interno dello strumento. In caso di guasto dello strumento il reattivo può essere impiegato in tecnica manuale.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Qualunque materiale di origine biologica deve essere considerato potenzialmente infetto. Tutti i reagenti e i campioni devono essere maneggiati secondo le norme di sicurezza normalmente adottate in laboratorio.

Smaltimento dei residui: i campioni ed i reagenti usati devono essere trattati come residui infetti, quindi smaltiti in accordo alle disposizioni di leggi vigenti.

Avvertenze per la sicurezza personale

1. Non pipettare con la bocca.

2. Usare guanti monouso e protezione per gli occhi nel maneggiare i campioni e durante la prova.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Scheda di Sicurezza (disponibile su richiesta).
5. Eventuali versamenti di materiali potenzialmente infetti devono essere rimossi immediatamente con carta assorbente e la zona inquinata dovrà essere decontaminata, per esempio con sodio ipoclorito all'1%, prima di proseguire il lavoro. Se è presente un acido, il sodio ipoclorito non deve essere usato prima che la zona sia stata asciugata.

Tutti i materiali utilizzati per decontaminare eventuali versamenti accidentali, compresi guanti, devono essere scartati come rifiuti potenzialmente infetti.

Non mettere in autoclave materiali contenenti sodio ipoclorito.

Avvertenze analitiche

Prima dell'uso, portare i dispositivi da utilizzare a temperatura ambiente (18-30°C).

1. Dopo l'uso riporre i reagenti a 2-8°C.
2. Non utilizzare i reagenti dopo la data di scadenza.
3. Evitare l'inquinamento microbico dei reagenti poiché ciò riduce la validità del prodotto e può dare luogo a risultati errati.
4. Non modificare la Procedura, né sostituire i reagenti con quelli di altri produttori o da altri lotti, a meno che non sia specificamente riportato che il reagente è intercambiabile fra lotti.
5. Non utilizzare sieri lipemici.

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono sufficienti per 500 determinazioni in automazione con AUTO-DAT.

ANTIGEN

ANTIGENE

2 x 4 mL

Contenuto: l'antigene è composto da una miscela stabilizzata di cardiolipina, colesterolo, lecitina e microparticelle di carbone.

Attenzione: Conservare le fiale in posizione verticale. Portare a temperatura ambiente prima dell'uso. Non agitare vigorosamente.

CONTROL +

CONTROLLO POSITIVO

1 x 0.5 mL

Contenuto: Siero umano reattivo per la sifilide, diluito in soluzione proteica con sodio azide 0.09%.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL -

CONTROLLO NEGATIVO/SAMPLE DILUENT

1 x 4 mL

Contenuto: Siero Umano contenente Proclin e Gentamicina come conservanti.
Liquido, pronto all'uso.

PORTARE I REAGENTI A TEMPERATURA AMBIENTE PRIMA DELL'USO

MT PLATE

6 MICROPIASTRE FONDO PIATTO (8x12)

ALTRO MATERIALE RICHIESTO MA NON FORNITO

- Strumento AUTO-DAT (REF 26000)
- Agitatore ruotante
- Micropipetta a volume variabile
- Agitatore per piastre
- CHORUS NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT REF 83607

6. MODALITÀ DI CONSERVAZIONE E STABILITÀ DEI REAGENTI

I reagenti devono essere conservati a 2/8°C.

Dopo il primo utilizzo le micropiastre devono essere conservate a temperatura ambiente.

La data di scadenza è stampata su ogni componente e sull'etichetta esterna della confezione.

La stabilità dei reagenti non cambia dopo apertura del flacone, purché l'utilizzatore faccia attenzione a mantenere il prodotto al riparo da possibile contaminazione microbica.

7. TIPO DI CAMPIONE E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero fresco o scongelato; il campione fresco può essere mantenuto per 5 giorni a 2/8°C.

Per conservazioni più lunghe congelare a -20°C; il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti.

Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.

8. PROCEDIMENTO

APPLICAZIONE STRUMENTALE CON AUTO-DAT

TEST DI SCREENING

1. Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente. Risospendere il reattivo.
2. Aspirare 25 µl di siero in esame e deporlo sul fondo del pozzetto della piastra. Fare attenzione a non trasferire alcun elemento cellulare. **Evitare la formazione di bolle.**
3. Ripetere queste fasi per ciascun campione in esame.
4. Distribuire 15 µl dell'antigene in ciascun pozzetto. **Evitare la formazione di bolle.**
5. Verificare che la miscela campione-antigene sia distribuita **uniformemente sul fondo del pozzetto**. Altrimenti provvedere con colpetti laterali alla piastra e/o battendo dolcemente la stessa sul piano di lavoro.
6. Porre le piastre nello strumento AUTO-DAT e seguire le istruzioni sul tablet.

7. Al termine dell'analisi estrarre le piastre dallo strumento AUTO-DAT e coprire con il copripiastra i pozzetti in cui è avvenuta la reazione. I pozzetti non utilizzati in precedenza e non coperti potranno essere usati per successive analisi.

NOTA: Lasciare un pozzetto della strip per il Controllo Negativo ed uno per il Controllo Positivo, da testare esattamente come i campioni in esame.

TEST SEMIQUANTITATIVO

Da effettuare sui campioni risultati reattivi al test di screening.

1. Aggiungere 25 µl di Negative Control/Sample Diluent ad ogni pozzetto della piastra.
2. Aggiungere 25 µl del campione risultato positivo al primo pozzetto.
3. Effettuare diluizioni a raddoppio, mescolando accuratamente prima di trasferire ad ogni step, come riportato nel seguente schema. **Evitare la formazione di bolle.**

Strip 1x8	A	B	C	D	E	F	G
Sample Diluent (µl)	25	25	25	25	25	25	25
Siero (µl)	25						
Mescolare e trasferire (µl)							
Diluizione/Titolo	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128

4. Riprendere il procedimento del test di screening dal punto 4 al punto 7.

Il titolo sarà dato dall'ultima diluizione trovata reattiva con lo strumento.

TECNICA MANUALE

1. Preparare i campioni come descritto nel test di screening (Punti 1-5).
2. Miscelare reattivo e campione per 1 min in agitatore per piastre alla massima velocità.
3. Porre le piastre su un agitatore ruotante per 10 minuti a 100 ± 4 rpm.
4. Analizzare il risultato ottenuto.

9. VALIDAZIONE DEL TEST SU AUTO-DAT

Utilizzare i controlli forniti ad ogni seduta.

Procedere come descritto nel paragrafo "APPLICAZIONE STRUMENTALE CON AUTO-DAT".

Se il risultato è diverso dall'atteso, contattare il Scientific Support:

Tel: 0039 0577 319554
Fax: 0039 0577 366605
email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

APPLICAZIONE STRUMENTALE CON AUTO-DAT

Alla fine del test lo strumento stamperà i risultati non reattivi (N), dubbi (D), reattivi (P).

È consigliabile verificare visivamente i risultati ottenuti per conferma del referto.

TECNICA MANUALE

Alla fine del test il campione sarà:

REATTIVO: la presenza di aggregati neri ben visibili è tipica di un campione reattivo.

Il Controllo Positivo deve dare agglutinazione evidente.

NON REATTIVO: nessuna formazione di aggregati.

Il Controllo Negativo non deve dare formazione di aggregati.

NOTA: Tutti i campioni che danno risposta positiva dovrebbero essere sottoposti al test semiquantitativo (sopra descritto).

ATTENZIONE: la mancata aggiunta dell'antigene al campione genera risultati falsi positivi.

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Si possono verificare talvolta delle reazioni biologiche falso-positive con test reaginici, ad esempio nei casi di abuso di farmaci, o in certe patologie quali lupus eritematoso, mononucleosi, malaria, lebbra.

È stato osservato occasionalmente un fenomeno di pro-zona: si ha un'inibizione completa o parziale della reattività con campione intero mentre la reattività massima si ha con campione diluito. Questo fenomeno può quindi portare ad un risultato debolmente positivo nel test qualitativo mentre si avrà una forte reazione nel test quantitativo dopo diluizione. Per questo motivo, tutti quei campioni che risultano dubbi o reattivi dovrebbero essere dosati anche con la procedura semiquantitativa.

Nell'esperienza su sieri umani non si è verificato il fenomeno fino a titoli 1/64.

12. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 159 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Totale
Diesse	+	48	1	49
	-	1	109	110
	Totale	49	110	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica):

98.0% CI95%: 89.2-99.6

Percent Negative Agreement: (~Specificità Diagnostica):

99.1% CI95%: 95.0-99.8

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.98.

13. BIBLIOGRAFIA

1. Manual of Tests for Syphilis. Public Health Service, Publication no. 411 (1969).
2. Portnoy J., Bossak H.W. et al. Public Health Reports 76, 933 (1961).
3. March R.W. et al. Abstracts of Ann. Meeting of Am. Soc. Microbiol. p. 93 (1974).
4. Bossak H.N., Harris A.D. and Olansky S. Brit. J. Ven. Dis. 231, 33 (1955).
5. Dyckman J.D., Storms S. and Huber T.W. J. Clin. Microbiol. 12, 629 (1980).
6. Fiumara N.J. JAMA 243, 2500 (1980).
7. Garner M.F., Backhouse J.L. et al. J. Clin. Path. 26, 258 (1973).
8. Hicks C.B. et al. Ann. Int. Med. 107, 492 (1987).
9. Luger A.F.H. in "Immunological Diagnosis of sexually transmitted disease (Clinical and Biochemical analysis; 23)". New York, N.Y. Dekker, 1988, 249.

DIESSE

INSTRUCTIONS FOR USE

RPR-DAT

Non-treponemal test for the qualitative and semi-quantitative determination of reagins in serum to be applied on the AUTO-DAT instrument.

For In Vitro Diagnostic Use Only

1. INTENDED USE

Non-treponemal test for the qualitative and semi-quantitative determination of reagins in serum.

2. INTRODUCTION

Infection with *Treponema pallidum* gives rise to a complex antibody response. Non treponemal tests are based on the detection of reagins, an antibody class present in syphilis and occasionally in other acute and chronic conditions. Reagins can be detected in the serum about 4-6 weeks after infection, or 1-3 weeks after appearance of the chancre. Purified beef heart extract (cardiolipin) fortified with lecithin and cholesterol, is used as antigen for reagin tests. Non treponemal tests are routinely used in syphilis serology because of their practical advantages and reproducibility, even though they are not always 100% specific.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The serum sample reacts with the colloidal suspension of cardiolipin, lecithin and cholesterol mixed with microparticles to perform the semi-automated test on the AUTO-DAT instrument.

The analysis is carried out through a software processing of the agglutinate image, which is obtained in microplate wells, and which is stored in the instrument.

In case of malfunction of the instrument the reagent can be used with manual procedure.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE ONLY

All material of biological origin must be considered potentially infectious. All reagents and samples must be handled in accordance with the safety precautions adopted in the laboratory.

Waste disposal: serum samples and reagents once used must be treated as infectious residuals and eliminated according to law.

Health and Safety Information

1. Do not pipette by mouth.
2. Wear disposable gloves and eye protection while handling specimens and performing the assay.
3. Wash hands thoroughly when finished.

4. Consult the relative Material Safety Data Sheet (available on request) for all the information on safety concerning the reagents contained in the kit.
5. Spillage of potentially infectious materials should be removed immediately with adsorbent paper tissue and the contaminated area swabbed with, for example, 1% sodium hypochlorite before work is continued. Sodium hypochlorite should not be used on acid-containing spills unless the spill area is first wiped dry. Materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Bring the device to room temperature (18-30°C) before use.

1. After use, and return reagents to 2-8°C.
2. Do not use the reagents after the expiry date.
3. Microbiological contamination of reagents must be avoided as this may reduce the life of the product and cause erroneous results.
4. Do not modify the Test Procedure. Do not substitute reagents using reagents from other suppliers or other lots, unless it is specifically indicated that the reagent is interchangeable between lots.
5. Do not use lipemic sera

5. KIT CONTENTS AND REAGENT PREPARATION

Reagents are sufficient for 500 determinations in automation with AUTO-DAT.

ANTIGEN

ANTIGEN

2 x 4 mL

Contents: the antigen is composed of a stabilised mixture of cardiolipin, cholesterol, lecithin and carbon microparticles.

Attention: Store in an upright position when not in use. Bring to room temperature before use. Do not shake too vigorously.

CONTROL +

POSITIVE CONTROL

1 x 0.5 mL

Contents: Human serum, reactive for syphilis, diluted in a protein solution with sodium azide 0.09%.

Liquid, ready for use.

CONTROL -

NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT

1 x 4 mL

Contents: Human serum containing Proclin and Gentamicin as preservatives.

Liquid, ready for use.

BRING THE REAGENTS TO ROOM TEMPERATURE BEFORE USE.

MT PLATE

6 FLAT BOTTOM MICROPLATES (8x12)

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- AUTO-DAT Instrument (REF 26000)
- Rotating mixer
- Micropipette with variable volume
- Microplate mixer

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C

After the first use, the microplate must be stored at room temperature.

The expiry date is printed on each component and on the kit label.

The stability of the reagents does not change after opening the bottle, provided that the user is careful to keep the product safe from possible microbial contamination.

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of fresh or defrosted serum. Fresh serum may be stored at 2/8°C for 5 days.

For longer storage, freeze at -20°C; it can be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Use immediately after thawing.

8. ASSAY PROCEDURE**INSTRUMENTAL APPLICATION WITH AUTO-DAT****SCREENING TEST**

1. Bring reagents and samples to room temperature. Resuspend the reagent.
2. Draw up 25 µl of serum and drop on the bottom of the microplate well. Take care not to transfer any cellular elements. **Avoid the formation of bubbles.**
3. Repeat these steps for each sample to be tested.
4. Distribute 15 µl of antigen in each well. **Avoid the formation of bubbles.**
5. Verify that the sample-antigen mix is **evenly distributed on the bottom of the well**. If not, tap the plate on the side and / or gently tap it on the work surface.
6. Place the plates in the AUTO-DAT instrument and follow the instructions on the tablet.
7. At the end of the analysis, extract the plates from the AUTO-DAT instrument and, using the adhesive film, cover the wells in which the reaction occurred. Wells not previously used and not covered can be used for further analysis.

NOTE: Leave one strip microwell for Negative Control and one for Positive Control, to be tested exactly as the analyzed samples.

SEMIQUANTITATIVE TEST

To be carried out on the samples reactive to the screening test.

1. Add 25 µl of Negative Control/Sample Diluent to each well of the plate.

2. Add to the first well 25 µl of the sample that gave positive result.
3. Make doubling dilutions, mixing thoroughly before transferring to each step, as shown in the following scheme. **Avoid the formation of bubbles.**

Strip 1x8	A	B	C	D	E	F	G
Sample Diluent (µl)	25	25	25	25	25	25	25
Serum (µl)	25						
Mix and transfer (µl)							
Dilution/Titer	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128

4. Follow the procedure described for the screening test from step 4 to step 7.

The titer will be given by the last dilution found reactive with the instrument.

MANUAL PROCEDURE

1. Prepare samples as described for the screening test (points 1-5).
2. Mix reagent and sample for 1 minute with a microplate mixer at maximum speed.
3. Place the plates on a rotating mixer for 10 minutes at 100 ± 4 rpm.
4. Analyze the obtained result.

9. TEST VALIDATION ON AUTO-DAT

Use the controls provided at each session.

Proceed as described in the paragraph "INSTRUMENTAL APPLICATION WITH AUTO-DAT".

If the result is different from the expected, contact the Scientific Support:

Tel: 0039 0577 319554
 Fax: 0039 0577 366605
 email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE TEST**INSTRUMENTAL APPLICATION WITH AUTO-DAT**

At the end of the test the instrument will print the results as non-reactive (N), doubtful (D), reactive (P).

It is advisable to visually verify the obtained results for confirmation.

MANUAL PROCEDURE

Once the test is finished, the sample will be:

REACTIVE: the presence of clearly visible black aggregates is typical of a reactive sample.

The Positive Control must give evident agglutination.

NON-REACTIVE: No aggregate formation.

The Negative Control must not give aggregate formation.

NOTE: Any sample giving a reactive result should be tested in the semi-quantitative method (as described above).

ATTENTION: failure to add the antigen to the sample causes false positive results.

11. LIMITATIONS

Biological false-positive reactions occur occasionally with cardiolipin antigens, e.g. in cases of drug abuse, or in certain diseases such as lupus erythematosus, mononucleosis, malaria, leprosy.

A pro-zone reaction is sometimes found: complete or partial inhibition of reactivity occurs with undiluted sample and maximum reactivity is found with diluted sample. This can lead to a weakly positive result in the qualitative test, whereas a strong reaction will be found in the quantitative test after dilution. For this reason, all specimens that give doubtful or reactive results should be also tested in the semi-quantitative procedure.

On human sera the phenomenon has not been experienced up to titers of 1/64.

12. METHOD COMPARISON

In an experimentation, 159 samples were analyzed with Diesse kit and with another commercial kit. The experimental data are summarized below:

		Reference		
		+	-	Total
		48	1	49
Diesse	+	48	1	49
	-	1	109	110
	Totale	49	110	159

Percent Positive Agreement (Diagnostic Sensitivity):

98.0% CI95%: 89.2-99.6

Percent Negative Agreement: (Diagnostic Specificity): 99.1%

CI95%: 95.0-99.8

The agreement between the two methods is excellent with a with a Cohen's Kappa of 0.98.

13. REFERENCES

1. Manual of Tests for Syphilis. Public Health Service, Publication no. 411 (1969).
2. Portnoy J., Bossak H.W. et al. Public Health Reports 76, 933 (1961).
3. March R.W. et al. Abstracts of Ann. Meeting of Am. Soc. Microbiol. p. 93 (1974).
4. Bossak H.N., Harris A.D. and Olansky S. Brit. J. Ven. Dis. 231, 33 (1955).
5. Dyckman J.D., Storms S. and Huber T.W. J. Clin. Microbiol. 12, 629 (1980).
6. Fiumara N.J. JAMA 243, 2500 (1980).
7. Garner M.F., Backhouse J.L. et al. J. Clin. Path. 26, 258 (1973).
8. Hicks C.B. et al. Ann. Int. Med. 107, 492 (1987).
9. Luger A.F.H. in "Immunological Diagnosis of sexually transmitted disease (Clinical and Biochemical analysis; 23)". New York, N.Y. Dekker, 1988, 249.



INSTRUCTIONS POUR L'UTILISATION

RPR-DAT

Test non tréponémique pour la détermination qualitative et semi-quantitative des réagines sériques ou plasmatiques applicable à l'instrument AUTO-DAT.

Pour diagnostic in vitro seulement

1. UTILISATION

Test non tréponémique pour la détermination qualitative et semi-quantitative des réagines dans le sérum ou le plasma.

2. INTRODUCTION

L'infection à *Treponema pallidum* appelle une réponse anticorps complexe. Les tests non tréponémiques sont basés sur la détection des réagines, une classe d'anticorps présents dans la syphilis et parfois aussi dans d'autres maladies aiguës et chroniques. Les réactions apparaissent dans le sérum environ 4 à 6 semaines après l'infection ou 1 à 3 semaines après l'apparition de la lésion syphilitique.

Comme antigène, on utilise un extrait purifié du cœur du taureau (cardiolipine) avec de la lécithine et du cholestérol. Les tests non tréponémiques sont couramment utilisés dans la sérologie de la syphilis, en raison de leur caractère pratique et de leur reproductibilité, bien qu'ils n'offrent parfois pas une spécificité de 100%.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le sérum testé est mis à réagir avec la suspension colloïdale de cardiolipine, de lécithine et de cholestérol mélangée à des microparticules afin de réaliser le test semi-automatique sur l'instrument AUTO-DAT.

L'analyse est effectuée au moyen d'un logiciel de traitement de l'image d'agglutination obtenue dans des puits de microplaques et stocké à l'intérieur de l'instrument.

En cas de défaillance de l'instrument, le réactif peut être utilisé en technique manuelle.

4. PRÉCAUTIONS

POUR DIAGNOSTIC IN VITRO SEULEMENT.

Tout matériel d'origine biologique doit être considéré comme potentiellement infecté. Tous les réactifs et les échantillons doivent être manipulés conformément aux normes de sécurité normalement adoptées par le laboratoire.

Élimination des résidus: les échantillons et les réactifs utilisés doivent être traités comme des résidus infectés, puis éliminés conformément aux dispositions de la législation en vigueur.

Avertissements pour la sécurité personnelle

1. Ne pas pipeter avec la bouche.
2. Utiliser des gants jetables et des lunettes de protection lors de la manipulation des échantillons et pendant le test.
3. Laver soigneusement les mains une fois le test est terminé.
4. À propos des caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, reporter à la fiche des données de sécurité (disponible sur demande).
5. Déversements éventuels de matériel potentiellement infecté doit être immédiatement éliminé avec du papier absorbant et la zone polluée doit être décontaminée, par exemple avec de l'hypochlorite de sodium à 1%, avant de poursuivre le travail. Si un acide est présent, l'hypochlorite de sodium ne doit pas être utilisé avant que la zone ne sèche.

Tous les matériaux utilisés pour décontaminer tout déversement accidentel, y compris les gants, doivent être jetés comme déchets potentiellement infectieux.

Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Informations analytiques

Avant l'utilisation, amener les appareils à utiliser à température ambiante. (18-30°C).

1. Après l'usage amener les réactifs à 2-8°C.
2. Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
3. Éviter la contamination microbienne des réactifs car cela réduirait la validité du produit et pourrait donner des résultats incorrects.
4. Éviter la contamination microbienne des réactifs car cela réduirait la validité du produit et pourrait donner des résultats incorrects.

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les réactifs sont suffisants pour 500 déterminations dans l'automatisation avec AUTO-DAT.

ANTIGEN

ANTIGÈNE

2 x 3.5 mL

Contenu: l'antigène est composé d'un mélange stabilisé de microparticules de cardiolipine, de cholestérol, de lécithine et de carbone.

Avertissement: Conservez les flacons debout. Ramener à la température ambiante avant utilisation. Ne pas secouer vigoureusement.

CONTROL +

CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.5 mL

Contenu: Sérum humain réactif pour la syphilis, dilué dans une solution de protéines contenant 0.09% d'azote de sodium.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL -

CONTRÔLE NEGATIF/SAMPLE DILUENT

1 x 4 mL

Contenu: sérum humain contenant de la Procline et de la Gentamicine comme conservateurs.

Liquide, prêt à l'emploi.

AMENER LES REACTIFS A LA TEMPERATURE AMBIANTE AVANT L'UTILISATION

6 MICROPLAQUES FOND PLAT (8x12)

AUTRE MATÉRIEL NÉCESSAIRE MAIS NON FOURNI

- Outil AUTO-DAT (REF 26000)
- Agitateur rotatif
- Micropipette à volume variable
- Agitateur pour plaques

6. MÉTHODES DE CONSERVATION ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8°C.

La date de péremption est imprimée sur chaque composant et sur l'étiquette extérieure de l'emballage.

La stabilité des réactifs ne change pas après l'ouverture du flacon, à condition que l'utilisateur fasse attention à maintenir le produit à l'abri d'une éventuelle contamination microbienne.

7. TYPES D'ÉCHANTILLONS ET CONSERVATION

Le type d'échantillon est le lactosérum frais ou décongelé; l'échantillon frais peut être conservé pendant 5 jours à 2/8°C. Pour un stockage plus long, congeler à -20°C; l'échantillon peut subir jusqu'à 3 décongelations maximum. Évitez d'utiliser des auto-congélateurs à dégivrage pour conserver les échantillons.

8. PROCÉDURE

APPLICATION INSTRUMENTALE AVEC AUTO-DAT

TEST DE DÉPISTAGE

1. Amener les réactifs et les échantillons à la température ambiante. Remettre en suspension le réactif.
2. Prélevez 25 µl de sérum à tester et placez-le au fond de la plaque. Veillez à ne transférer aucun élément cellulaire. **Éviter la formation de bulles.**
3. Répétez ces étapes pour chaque échantillon considéré.
4. Étaler 12.5 µl d'antigène dans chaque puit. **Éviter la formation de bulles.**
5. Vérifier que le mélange échantillon-antigène est réparti **uniformément au fond du puit.** Si ce n'est pas le cas, donner des petits coups sur le côté de la plaque et/ou tapoter la doucement sur la surface de travail.

6. Placer les plaques dans l'outil AUTO-DAT et suivre les instructions fournies sur la tablette.
7. À la fin de l'analyse, retirer les plaques de l'instrument AUTO-DAT et couvrir les puits dans lesquels la réaction s'est produite avec le couvercle de la plaque. Les puits non utilisés auparavant et non couverts peuvent être utilisés pour une analyse plus approfondie.

NOTE: laisser un puits dans la bande pour le contrôle négatif et un puits pour le contrôle positif, à tester exactement comme les échantillons analysés.

TEST SEMI-QUANTITATIF

À effectuer sur les échantillons réagissant aux résultats du test de dépistage.

1. Ajouter 25 µl de Negative Control/Sample Diluent dans chaque puits de la plaque.
2. Ajouter 25 µl de l'échantillon de résultat positif dans le premier puits.
3. Faire des dilutions en doublant, en mélangeant soigneusement avant de passer à chaque étape, comme indiqué dans le schéma suivant. **Éviter la formation de bulles.**

Strip 1x8	A	B	C	D	E	F	G
Sample Diluent (µl)	25	25	25	25	25	25	25
Sérum (µl)	25						
Mélanger et transférer (µl)							
Dilution/Titre	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128

4. Reprendre la procédure de test de dépistage de l'étape 4 à l'étape 7.

Le titre sera donné par la dernière dilution trouvée réactive avec l'instrument.

TECHNIQUE MANUELLE

1. Préparer les échantillons comme décrit dans le test de dépistage (étapes 1-5).
2. Mélanger le réactif et l'échantillon pendant 1 min avec l'agitateur pour plaques à la vitesse maximale.
3. Placer les plaques sur un agitateur rotatif pendant 10 minutes à 100 ± 4 tr/min.
4. Analyser le résultat obtenu.

9. VALIDATION DU TEST SUR AUTO-DAT

Utiliser les contrôles fournis à chaque session.

Procéder comme décrit au paragraphe "APPLICATION INSTRUMENTALE AVEC AUTO-DAT".

Si le résultat est différent de celui attendu, contactez le support scientifique:

Tel: 0039 0577 319554
 Fax: 0039 0577 366605
 email: scientificsupport@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

APPLICATION INSTRUMENTALE AVEC AUTO-DAT

À la fin du test, l'instrument imprimera les résultats non réactifs (N), douteux (D) et réactifs (P). Il est conseillé de vérifier visuellement les résultats réactifs et douteux pour confirmation.

TECHNIQUE MANUELLE

A la fin du test, l'échantillon sera :

RÉACTIF : la présence d'agrégats noirs clairement visibles est typique d'un échantillon réactif. Le contrôle positif doit donner une agglutination claire.

NON RÉACTIF : pas de formation d'agrégats. Le contrôle négatif ne doit pas permettre la formation d'agrégats.

NOTE : Tous les échantillons donnant une réponse positive doivent être soumis au test semi-quantitatif (décrit ci-dessus).

ATTENTION: si l'antigène n'est pas ajouté à l'échantillon, on obtient de faux résultats positifs.

11. LIMITES DU TEST

Parfois, des réactions biologiques faussement positives peuvent survenir avec des tests reaginiques, par exemple en cas d'abus de drogues ou de certaines maladies telles que le lupus érythémateux, la mononucléose, le paludisme, la lèpre. On a parfois observé un phénomène de pro-zone: il y avait une inhibition complète ou partielle de la réactivité avec un échantillon entier, tandis que la réactivité maximale était avec un échantillon dilué. Ce phénomène peut donc conduire à un résultat faiblement positif dans le test qualitatif, alors qu'il y aurait une forte réaction dans le test quantitatif après dilution. Pour cette raison, tous les échantillons douteux ou réactifs doivent être dosés même avec la procédure semi-quantitative.

D'après l'expérience des sérums humains, le phénomène ne s'est pas produit jusqu'à 1/64 des titres.

12. ÉTUDES DE COMPARAISON

Dans un essai, 159 échantillons ont été analysés avec le kit Diesse et avec un autre kit commercial.

Les données expérimentales sont résumées ci-dessous:

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	48	1	49
	-	1	109	110
	Total	49	110	159

Percent Positive Agreement (~Sensibilité Diagnostique):

98.0% CI95%: 89.2-99.6

Percent Negative Agreement (~Spécificité Diagnostique):

99.1% CI95%: 95.0-99.8 Le degré de concordance entre les deux méthodes est excellent avec une valeur de K (coefficient de Cohen) de 0.98.

13. BIBLIOGRAPHIE

- Manual of Tests for Syphilis. Public Health Service, Publication no. 411 (1969).
- Portnoy J., Bossak H.W. et al. Public Health Reports 76, 933 (1961).
- March R.W. et al. Abstracts of Ann. Meeting of Am. Soc. Microbiol. p. 93 (1974).
- Bossak H.N., Harris A.D. and Olansky S. Brit. J. Ven. Dis. 231, 33 (1955).
- Dyckman J.D., Storms S. and Huber T.W. J. Clin. Microbiol. 12, 629 (1980).
- Fiumara N.J. JAMA 243, 2500 (1980).
- Garner M.F., Backhouse J.L. et al. J. Clin. Path. 26, 258 (1973).
- Hicks C.B. et al. Ann. Int. Med. 107, 492 (1987).
- Luger A.F.H. in "Immunological Diagnosis of sexually transmitted disease (Clinical and Biochemical analysis; 23)". New York, N.Y. Dekker, 1988, 249.

	EN ES IT	Date of manufacture Fecha de fabricación Data di fabbricazione	FR GR PT	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico
	EN ES IT	Use By Fecha de caducidad Utilizzare entro	FR GR PT	Utiliser jusqu'à Ημερομηνία λήξης Prazo de validade
	EN ES IT	Caution, consult accompanying documents Atención, ver instrucciones de uso Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída
	EN ES IT	Manufacturer Fabricante Fabbicante	FR GR PT	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante
	EN ES IT	Contains sufficient for <n> tests Contenido suficiente para <n> ensayos Contenuto sufficiente per "n" saggi	FR GR PT	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para "n" ensaios
	EN ES IT	Temperature limitation Límite de temperatura Limiti di temperatura	FR GR PT	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura
	EN ES IT	Consult Instructions for Use Consulte las instrucciones de uso Consultare le istruzioni per l'uso	FR GR PT	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização
	EN ES IT	Biological risks Riesgo biológico Rischio biologico	FR GR PT	Risques biologiques Βιολογικοί κίνδυνοι Risco biológico
	EN ES IT	Catalogue number Número de catálogo Numero di catalogo	FR GR PT	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo
	EN ES IT	In Vitro Diagnostic Medical Device Producto sanitario para diagnóstico in vitro Dispositivo medico-diagnostico in vitro	FR GR PT	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	EN ES IT	Batch code Código de lote Codice del lotto	FR GR PT	Code du lot Αριθμός Παρτίδας Código do lote
	EN ES IT	CE marking of conformity Marcado CE de conformidad Marcatura CE di conformità	FR GR PT	Marquage de conformité CE Σημανση συμμορφωσης CE Marcação CE de conformidade