

**RPR-DAT
ADVANCED**



DIESSE

REF 26031

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





ISTRUZIONI PER L'USO

RPR-DAT ADVANCED

Solo per uso diagnostico in vitro

1. DESTINAZIONE D'USO

RPR-DAT ADVANCED (REF 26031) è un test non treponemico di agglutinazione per la rilevazione qualitativa e semi-quantitativa delle reagine nel siero umano da applicare allo strumento AUTO-DAT (REF 26001).

Poiché i test non treponemici si basano sulla rilevazione delle reagine, una classe di anticorpi presente nella Sifilide (malattia causata dall'infezione da *Treponema pallidum*), il kit è destinato a determinare l'esposizione all'infezione da *Treponema pallidum* e ad essere utilizzato come ausilio nella sua diagnosi.

Il test non è destinato a essere utilizzato per rilevare l'esposizione all'infezione da *Treponema pallidum* nel sangue, componenti del sangue, cellule, tessuti, organi o qualsiasi loro derivato al fine di valutare la loro idoneità per trasfusioni, trapianti o somministrazione cellulare.

Deve essere utilizzato esclusivamente da personale professionale di laboratorio.

2. INTRODUZIONE

La Sifilide, causata dalle spirochete di *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*), è un'infezione cronica con molte manifestazioni cliniche diverse che si verificano in fasi distinte. Generalmente, questa malattia infettiva sistemica viene contratta tramite contatto sessuale diretto e presenta lesioni contenenti treponemi. Gli unici ospiti conosciuti sono gli esseri umani.

Sono disponibili molti test per la diagnosi diretta e indiretta della sifilide, ma non esiste ancora un unico test ottimale.

I metodi diagnostici diretti includono l'individuazione del *T. pallidum* attraverso l'esame microscopico del fluido o degli strisci delle lesioni, l'esame istologico dei tessuti o i metodi di amplificazione dell'acido nucleico come la reazione a catena della polimerasi (PCR).

La diagnosi indiretta si basa su test sierologici per il rilevamento di anticorpi. I test sierologici rientrano in due categorie:

1. test non treponemici di screening
2. test treponemici di conferma

I test non treponemici si basano sulla rilevazione delle reagine, una classe di anticorpi presente nella sifilide e occasionalmente in altre condizioni acute e croniche. Le reagine possono essere rilevate nel siero circa 4-6 settimane dopo l'infezione, o 1-3 settimane dopo la comparsa del sifiloma primario.

L'estratto purificato di cuore di manzo (cardiolipina) fortificato con lecitina e colesterolo, è usato come antigene per i test della reagine. I test non treponemici sono usati abitualmente nella sierologia della sifilide per i loro vantaggi pratici e la loro riproducibilità, anche se non sono sempre specifici al 100%.

Poiché il prodotto RPR-DAT ADVANCED è un test non treponemico, basato sul principio della flocculazione, è destinato

a determinare l'esposizione all'infezione da *Treponema pallidum* come ausilio nella diagnosi relativa.

3. PRINCIPIO DEL METODO

Il test si basa sul principio della flocculazione.

Il campione di siero viene fatto reagire nel pozzetto di micropiastre con una sospensione colloidale di cardiolipina, lecitina e colesterolo miscelata a microparticelle di carbone.

In presenza di anticorpi (reagine), che agglutinano l'antigene, si forma un aggregato (reazione positiva). La reazione è negativa nel caso in venga visualizzato un cerchio all'interno del pozzetto. Il test è applicato allo strumento AUTO-DAT (REF 26001), che cattura l'immagine della reazione avvenuta, la analizza, fornisce e stampa un risultato calcolato sulla base di uno specifico algoritmo.

4. PRECAUZIONI

SOLO PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO.

Questo kit contiene materiali di origine umana che sono stati testati e trovati negativi con test sia per la ricerca di HBsAg che per quella degli anticorpi anti-HIV-1, anti-HIV-2 ed anti-HCV. Poiché nessun test diagnostico può offrire una completa garanzia sull'assenza di agenti infettivi, qualunque materiale di origine umana 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.
3. Lavare accuratamente le mani una volta terminato il test.
4. In merito alle caratteristiche di sicurezza dei reagenti contenuti nel kit consultare la Schede di Sicurezza (disponibile sul sito DIESSE: www.diesse.it)
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 reagenti a temperatura ambiente (18-30°C).

1. Il test deve essere utilizzato insieme allo strumento AUTO-DAT (REF 26001), seguendo rigorosamente le Istruzioni per l'Uso ed il Manuale Utente dello strumento.
2. Non modificare la Procedura del test. Non sostituire i reagenti con quelli di altri fornitori o di altri lotti, a meno che

non sia specificamente riportato che il reagente è intercambiabile tra i lotti.

3. Controllare che lo strumento sia impostato correttamente (vedi Manuale Utente).
4. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni.
5. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici, itterici con una concentrazione di interferenti superiore a quella testata (secondo le indicazioni riportate nel capitolo "Specificità analitica").
6. Non utilizzare il dispositivo dopo la data di scadenza.
7. Dopo l'uso riporre i reagenti a 2-8°C.
8. Evitare l'inquinamento microbico dei reagenti poiché ciò riduce la validità del prodotto e può dare luogo a risultati errati.

5. COMPOSIZIONE DEL KIT E PREPARAZIONE DEI REAGENTI

I reagenti sono sufficienti per 500 determinazioni.

ANTIGEN

ANTIGENE

2 x 4 mL

Contenuto: l'antigene è composto da una miscela stabilizzata di cardiolipina 0.003%, colesterolo 0.09%, lecitina 0.02% e microparticelle di carbone 0.2 g/L

Attenzione: Conservare le fiale in posizione verticale quando non si usano. 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 fino ad un massimo del 15% in una soluzione proteica con sodio azide 0.09%.

Liquido, pronto all'uso.

CONTROL -

CONTROLLO NEGATIVO/DILUENTE CAMPIONE

1 x 4 mL

Contenuto: 100% di siero umano non reattivo contenente Proclin 300 0.029% e gentamicina 0.05% come conservanti.

Liquido, pronto all'uso

ALTRO MATERIALE RICHiesto, MA NON FORNITO:

- Strumento AUTO-DAT (REF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (REF 26006)
- Micropipette capaci di prelevare accuratamente volumi di 15-25 µl.
- Guanti monouso
- Contenitori per la raccolta di materiali potenzialmente infetti

6. MODALITA' DI CONSERVAZIONE E STABILITA' 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 CAMPIONI E CONSERVAZIONE

Il tipo di campione è rappresentato da siero ottenuto da sangue prelevato per venipuntura e maneggiato come richiesto nelle procedure standard di laboratorio.

Secondo la linea guida CLSI H18-A3 i campioni di siero da analizzare devono essere coagulati prima della centrifugazione; la coagulazione spontanea e completa avviene normalmente entro 30-60 minuti a 22°C-25°C. Si raccomanda di separare fisicamente il siero, mediante centrifugazione, dal contatto con le cellule il più presto possibile con un limite di tempo massimo di 2 ore dal momento della raccolta.

Il siero fresco può essere mantenuto per 7 giorni a 2/8°C; per periodi di conservazione maggiori, congelare a -20°C per almeno 10 mesi.

Il campione può subire fino ad un massimo di 3 scongelamenti. Evitare l'uso di congelatori auto sbrinanti per la conservazione dei campioni. Dopo lo scongelamento agitare con cura il campione prima del dosaggio.

L'inattivazione al calore può fornire risultati erranei.

La qualità del campione può essere seriamente influenzata dalla contaminazione microbica che può portare a risultati erranei.

8. PROCEDIMENTO

L'operatore può scegliere se effettuare il test in modalità:

- qualitativa
- semi-quantitativa

La valutazione del risultato avviene osservando l'agglutinazione del campione nel singolo pozzetto, in caso di reazione qualitativa, o nel pattern di pozzetti, in caso di reazione semi-quantitativa.

Portare i reagenti ed i campioni a temperatura ambiente e risospendere il reattivo.

TEST QUALITATIVO

1. Aggiungere 25 µl di siero in esame sul fondo del pozzetto della micropiastra. Fare attenzione a non trasferire alcun elemento cellulare. **Evitare la formazione di bolle.**
2. Ripetere il punto 1 per ciascun campione da testare.
3. Aggiungere 15 µl dell'antigene in ciascun pozzetto. **Evitare la formazione di bolle.**
4. Verificare che la miscela campione-antigene sia distribuita **uniformemente sul fondo del pozzetto.** Altrimenti provvedere con colpetti laterali alla piastra e/o battendo delicatamente sul piano di lavoro.
5. Posizionare la piastra nello strumento AUTO-DAT (REF 26001) e seguirne le istruzioni.
6. Al termine dell'analisi, estrarre la piastra dallo strumento AUTO-DAT e buttare i pozzetti in cui è avvenuta la reazione. I pozzetti non utilizzati in precedenza possono essere utilizzati per successive analisi.

NOTA: i controlli positivo e negativo vengono forniti pronti all'uso e non richiedono pre-diluizione. Devono essere testati ad ogni seduta come i campioni in esame.

In caso di campione positivo è consigliabile effettuare l'analisi semi-quantitativa.

TEST SEMI-QUANTITATIVO

Eseguire diluizioni a raddoppio del campione in esame da indiluito (1/1) a 1/128:

1. Aggiungere 25 µL di Controllo Negativo/diluyente da B1 ad H1.
2. Aggiungere 25 µL di siero in esame nel pozzetto A1 e nel pozzetto B1 mescolando accuratamente. Fare attenzione a non trasferire alcun elemento cellulare. **Evitare la formazione di bolle.**
3. Prelevare 25 µL da B1 e trasferirli nel pozzetto C1. **Mescolare accuratamente prima del trasferimento, evitando la formazione di bolle.**
4. Eseguire le diluizioni seriali: ripetere l'operazione descritta nel punto 3 per i pozzetti successivi fino ad H1. **Da quest'ultimo scartare 25 µL.**
5. Seguire la procedura descritta per il test qualitativo dal punto 3 al punto 6.

Ripetere l'operazione descritta per tutti i campioni da analizzare utilizzando le altre colonne della piastra.

	step 1	step 2	step 3	
	1	1	1	DIL
A		25 µL sample	15 µL ANTIGEN	1/1
B	25 µL CONTROL -	25 µL sample	15 µL ANTIGEN	1/2
C	25 µL CONTROL -	+25 µL B1	15 µL ANTIGEN	1/4
D	25 µL CONTROL -	+25 µL C1	15 µL ANTIGEN	1/8
E	25 µL CONTROL -	+25 µL D1	15 µL ANTIGEN	1/16
F	25 µL CONTROL -	+25 µL E1	15 µL ANTIGEN	1/32
G	25 µL CONTROL -	+25 µL F1	15 µL ANTIGEN	1/64
H	25 µL CONTROL -	+25 µL G1	15 µL ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µL

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

NOTA: i controlli positivo e negativo vengono forniti pronti all'uso e non richiedono pre-diluizione. Devono essere testati ad ogni seduta come i campioni in esame.

9. VALIDAZIONE DEL TEST

Usare i controlli forniti ad ogni seduta.

Procedere come descritto nel paragrafo "PROCEDIMENTO".

Se il risultato è diverso da quello previsto, contattare il Customer Care.

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETAZIONE DEL TEST

Se si sceglie il test semi-quantitativo, lo strumento fornisce il risultato in titolo. Il test sul campione in esame può essere interpretato come segue:

POSITIVO: quando il risultato è $\geq 1/1$

NEGATIVO: quando il risultato è NEG

Lo strumento è in grado di rilevare la presenza di effetto pro-zona con un limite di 1/8; consultare il manuale utente.

Se si sceglie il test qualitativo, lo strumento fornisce il risultato come segue:

POSITIVO (POS): campione reattivo

NEGATIVO (NEG): campione non reattivo

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



POSITIVO

NEGATIVO

11. LIMITAZIONI DEL TEST

Il prodotto deve essere usato solo da personale professionale di laboratorio.

Il test non è applicabile a campioni diversi dal siero.

Il test è applicabile esclusivamente allo strumento AUTO-DAT (REF 26001).

Nel test qualitativo, non si può escludere la presenza di risultati falsi negativi dovuti ad effetto pro-zona di campioni altamente positivi, per escludere la falsa negatività per pro-zona i campioni dovrebbero essere testati con la procedura semi-quantitativa.

Tutti i valori ottenuti necessitano di un'attenta interpretazione che non prescinda da altri indicatori relativi allo stesso paziente.

Il test, infatti, non può essere utilizzato da solo per una diagnosi clinica ed il risultato ottenuto deve sempre essere valutato insieme a dati provenienti dall'anamnesi del paziente e/o da altre indagini diagnostiche.

12. RANGE DI MISURAZIONE

TEST SEMI-QUANTITATIVO: 1/1 – 1/128 (Titolo)

13. SPECIFICITA' ANALITICA

3 campioni (1 negativo e 2 positivi) sono stati addizionati dei seguenti fattori potenzialmente interferenti e poi analizzati:

Bilirubina (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Trigliceridi (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Emoglobina (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

Fattore Reumatoide (44 – 220 IU/ml)

La presenza nel campione di siero delle sostanze interferenti sopra descritte non influenza il risultato del test.

14. CROSS-REATTIVI

Sono stati analizzati 18 campioni positivi a Borrelia (3), Herpes virus (3), Toxoplasma (3), Cytomegalovirus (3), Epstein-Barr Virus (3) e Rubella (3).

Non sono state trovate reazioni crociate significative.

15. STUDI DI COMPARAZIONE

In una sperimentazione sono stati analizzati 185 campioni con kit Diesse e con un altro kit del commercio.

Di seguito sono schematizzati i dati della sperimentazione:

		Riferimento		
		+	-	Total
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Totale	98	87	185

Percent Positive Agreement (~Sensibilità Diagnostica): 100.0%
CI95%: 96.2-100.0

Percent Negative Agreement (~Specificità Diagnostica): 96.6%
CI95%: 90.3-98.8

Valore Predittivo Positivo (PPV): 97.0% CI95%: 94.5-99.5

Valore Predittivo Negativo (NPV): 100.0% CI95%: 100.0-100.0

Il grado di concordanza tra i due metodi risulta essere ottimo con un valore di K (Coefficiente di Cohen) di 0.96.

16. PRECISIONE E RIPETIBILITA'

La precisione e la ripetibilità sono state valutate su repliche di campioni negativi e positivi, in tre lotti diversi, effettuate in giorni diversi e con strumenti diversi.

Tutti i risultati ottenuti rientrano nei criteri di accettazione (Agreement % $\geq$ 95% tra i risultati attesi e quelli ottenuti) dimostrando la precisione e la ripetibilità del metodo.

17. BIBLIOGRAFIA

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1-21
2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of Treponema pallidum (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. SEGNALAZIONE DI INCIDENTE

Se si è verificato un incidente grave in relazione a questo dispositivo nel territorio di mercato dell'Unione Europea, si prega di segnalarlo senza indugio al produttore e all'autorità competente del proprio Stato membro.

19. SINTESI RELATIVA ALLA SICUREZZA E ALLE PRESTAZIONI

Questo documento, che sarà reso disponibile sul database di EUDAMED (quando questo sarà completamente implementato e funzionante), fa parte della Documentazione Tecnica e può essere richiesto al produttore.



INSTRUCTIONS FOR USE

RPR-DAT ADVANCED

For *In Vitro* Diagnostic Use Only

1. INTENDED PURPOSE

RPR-DAT ADVANCED (REF 26031) is a non-treponemal agglutination assay for the qualitative and semi-quantitative detection of reagines in human serum to be applied to the AUTO-DAT (REF 26001) instrument.

Because non-treponemal tests are based on the detection of reagines, a class of antibodies found in Syphilis (a disease caused by *Treponema pallidum* infection), the kit is intended to determine exposure to *Treponema pallidum* infection and to be used as an aid in its diagnosis.

The test is not intended to be used to detect exposure to *Treponema pallidum* infection in blood, blood components, cells, tissues, organs, or any derivatives thereof in order to assess their suitability for transfusion, transplantation, or cell administration.

It should only be used by professional laboratory personnel.

2. INTRODUCTION

Syphilis, caused by *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*) spirochetes, is a chronic infection with many different clinical manifestations occurring in distinct stages. Generally, this systemic infectious disease is contracted through direct sexual contact and has lesions containing treponemes. The only known hosts are humans.

Many tests are available for direct and indirect diagnosis of syphilis, but there is still no single optimal test.

Direct diagnostic methods include detection of *T. pallidum* by microscopic examination of fluid or smears from lesions, histological examination of tissues, or nucleic acid amplification methods such as polymerase chain reaction (PCR).

Indirect diagnosis is based on serologic tests for the detection of antibodies. Serological tests fall into two categories:

1. nontreponemal screening tests
2. confirmatory treponemal tests.

Nontreponemal tests are based on the detection of reagins, a class of antibodies found in syphilis and occasionally in other acute and chronic conditions. Reagins can be detected in serum about 4-6 weeks after infection, or 1-3 weeks after the appearance of primary syphiloma.

Purified beef heart extract (cardiolipin) fortified with lecithin and cholesterol, is used as an antigen for reagin tests. Nontreponemal tests are routinely used in syphilis serology because of their practical advantages and reproducibility, although they are not always 100% specific.

Since the product RPR-DAT ADVANCED is a non-treponemal test, based on the flocculation principle, it is intended to determine exposure to *Treponema pallidum* infection as an aid in the related diagnosis.

3. PRINCIPLE OF THE METHOD

The test is based on the principle of flocculation.

The serum sample is reacted in the microplate well with a colloidal suspension of cardiolipin, lecithin and cholesterol mixed with carbon microparticles.

In the presence of antibodies (reagins), which agglutinate the antigen, an aggregate is formed (positive reaction). The reaction is negative if a circle appears inside the microplate well.

The test is applied to the AUTO-DAT instrument (REF 26001), which captures the image of the reaction that has occurred, analyzes it, provides and prints a result calculated on the basis of a specific algorithm.

4. WARNINGS AND PRECAUTIONS

FOR *IN VITRO* DIAGNOSTIC USE ONLY

This kit contains materials of human origin which have been tested and gave a negative response for the presence of HBsAg and for anti-HIV-1, anti-HIV-2 and anti-HCV antibodies. As no diagnostic test can offer a complete guarantee regarding the absence of infective agents, all material of human origin must be handled as potentially infectious. All precautions normally adopted in laboratory practice should be followed when handling material of human origin.

Waste disposal: serum samples, calibrators and strips 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.
3. Wash hands thoroughly after placing the devices in the Chorus/Chorus TRIO instrument.
4. Refer to the Safety Data Sheet (available on DIESSE website: www.diesse.it) for the safety characteristics of 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.

All materials used to clean spills, including gloves, should be disposed of as potentially biohazardous waste. Do not autoclave materials containing sodium hypochlorite.

Analytical Precautions

Before use, bring the reagents to room temperature (18-30°C).

1. The test should be used together with the AUTO-DAT instrument (REF 26001), strictly following the Instructions for Use and User's Manual of the instrument.
2. Do not change the Test Procedure. Do not substitute reagents with those from other suppliers or other batches unless it is specifically stated that the reagent is interchangeable between batches.
3. Check that the instrument is set up correctly (see User's Manual).
4. Avoid the use of self-defrosting freezers for sample storage.

5. Do not use hemolyzed, lipemic, jaundiced samples with a higher concentration of interferents than tested (according to the directions in the chapter "Analytical Specificity").
6. Do not use the device after the expiry date.
7. After use, store reagents at 2-8°C.
8. Avoid microbial pollution of reagents as this reduces the validity of the product and may result in erroneous results.

5. KIT COMPOSITION AND REAGENT PREPARATION

The reagents are sufficient for 500 determinations.

ANTIGEN

ANTIGEN

2 x 4 mL

Content: The antigen is composed of a stabilized mixture of cardiolipin 0.003%, cholesterol 0.09%, lecithin 0.02% and carbon microparticles 0.2 g/L

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

CONTROL +

POSITIVE CONTROL

1 x 0.5 mL

Contents: Human serum reactive for syphilis, diluted up to a maximum of 15% in a protein solution with 0.09% sodium azide.

Liquid, ready to use.

CONTROL -

NEGATIVE CONTROL/SAMPLE DILUENT

1 x 4 mL

Content: 100% non-reactive human serum containing Proclin 300 0.029% and gentamicin 0.05% as preservatives.

Liquid, ready-to-use

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

- AUTO-DAT INSTRUMENT (REF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (REF 26006)
- Micropipettes capable of accurately taking volumes of 15-25 µl.
- Disposable gloves
- Containers for collection of potentially infectious materials

6. STORAGE AND STABILITY OF REAGENTS

Reagents must be stored at 2/8°C.

After first use, microplates should 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, as long as the user takes care to keep the product away from possible microbial contamination.

7. SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

The sample is composed of serum collected from the vein and handled with all precautions dictated by good laboratory practice. According to the guideline CLSI H18-A3 Serum specimens to be tested should be clotted before centrifugation; spontaneous and

complete clotting normally occurs within 30 to 60 minutes at 22°C-25°C.

It is recommended that serum be physically separated, by centrifugation, from contact with cells as soon as possible with a maximum time limit of 2 hours from the time of collection.

The fresh serum can be kept for 7 days at 2/8°C; for longer storage periods, freeze at -20°C for at least 10 months.

The sample can be thawed a maximum of 3 times.

Do not keep the samples in auto-defrosting freezers. Defrosted samples must be shaken carefully before use.

Heat-inactivation can rise to erroneous results.

The quality of the sample can be seriously affected by microbial contamination which leads to erroneous results.

8. ASSAY PROCEDURE

The operator can choose how to carry out the analysis:

- Qualitative test
- Semi-quantitative test

The evaluation of the result is done by observing the agglutination of the sample in the single well, in the case of a qualitative test, or in the pattern of wells, in the case of a semi-quantitative test.

In any case, bring reagents and samples to room temperature. Resuspend the reagent.

QUALITATIVE TEST

1. Add 25 µl of test serum to the bottom of the microplate well. Be careful not to transfer any cellular items. **Avoid the formation of bubbles.**
2. Repeat the step 1 for each sample to be tested.
3. Add 15 µL of the antigen in each well. **Avoid the formation of bubbles.**
4. Verify that the sample-antigen mixture is **evenly distributed at the bottom of the well**. Otherwise, tap the plate on the side and/or tap gently on the work surface.
5. Place the plates in the AUTO-DAT (REF 26001) tool and follow the instructions.
6. At the end of the analysis, remove the plates from the AUTO-DAT instrument and discard the wells where the reaction occurred. Previously unused wells can be used for later analysis.

NOTE: the positive and negative controls are supplied ready to use and do not require pre-dilution. They must be tested at each session like the samples under examination.

In case of a positive sample, it is advisable to carry out the semi-quantitative analysis.

SEMI-QUANTITATIVE TEST

Perform serial dilutions of the test sample from indilute to 1/128:

1. Add 25 µL of Negative Control/Diluent from B1 to H1.
2. Add 25 µl of test serum to well A1 and well B1, stirring thoroughly. Be careful not to transfer any cellular items. **Avoid the formation of bubbles.**
3. Take 25 µl from B1 and transfer it to the C1 well. **Mix the solution before transferring. Avoid the formation of bubbles.**
4. Perform serial dilutions: Repeat step 3 for subsequent wells up to H1. **Discard 25 µl from the last well.**
5. Follow the procedure described for the qualitative test in step 3 to step 6.

Repeat the operation for all samples to be analyzed using the other columns on the plate.

	step 1	step 2	step 3	
	1	1	1	DIL
A		25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/1
B	25 µl CONTROL -	25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/2
C	25 µl CONTROL -	+25 µl B1	15 µl ANTIGEN	1/4
D	25 µl CONTROL -	+25 µl C1	15 µl ANTIGEN	1/8
E	25 µl CONTROL -	+25 µl D1	15 µl ANTIGEN	1/16
F	25 µl CONTROL -	+25 µl E1	15 µl ANTIGEN	1/32
G	25 µl CONTROL -	+25 µl F1	15 µl ANTIGEN	1/64
H	25 µl CONTROL -	+25 µl G1	15 µl ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µl

NOTE: the positive and negative controls are supplied ready to use and do not require pre-dilution. They must be tested at each session like the samples under examination.

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

9. TEST VALIDATION

Use the controls at every session.

Proceed as described in the "PROCEDURE" section.

If the result is different than expected, contact Customer Care.

Tel: 0039 0577 319554

email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION OF THE RESULTS

For semi-quantitative test, the instrument gives the result in titer.

The test on the test sample can be interpreted as follows:

POSITIVE: when the result is $\geq 1/1$

NEGATIVE: when the result is NEG

The instrument can detect the presence of pro-zone effect with a limit of 1/8; refer to the user manual.

For qualitative test, the instrument gives the result as follows:

POSITIVE (POS): Reactive sample

NEGATIVE (NEG): Non-reactive sample

It is advisable to visually verify the results obtained to confirm the report.



POSITIVE

NEGATIVE

11. LIMITATIONS

The product should be used only by professional laboratory personnel.

The test is not suitable for samples different from human serum. The test is only applicable to the AUTO-DAT instrument (REF 26001).

Treponemal tests become positive 5-15 days after the onset of symptoms. No single test or reference standard is available for each stage of the disease.

In qualitative test, the presence of false negative results due to pro-zone effect of highly positive samples cannot be excluded, to exclude false negativity for pro-zone samples should be tested by the semi-quantitative procedure.

All values obtained need careful interpretation that does not prescind from other indicators related to the same patient.

The test, indeed, cannot be used alone for a clinical diagnosis and the test result should be evaluated together with the patient history and other clinical diagnostic evaluation.

12. REFERENCE RANGE

SEMI-QUANTITATIVE TEST : 1/1 – 1/128 (Titer)

13. ANALYTICAL SPECIFICITY

3 samples (1 Negative and 2 Positive) were spiked with the following potentially interfering factors and then tested:

Bilirubin (4.5 mg/dl – 45 mg/dl)

Triglycerides (250 mg/dl – 1500 mg/dl)

Hemoglobin (2.5 mg/ml – 10 mg/ml)

RF (44 – 220 IU/ml)

The presence in the serum sample of the interfering substances described above does not affect the test result.

14. CROSS-REACTIONS

18 samples positive to Borrelia (3), Herpes virus (3), Toxoplasma (3), Cytomegalovirus (3), Epstein-Barr Virus (3) and Rubella (3) were tested.

No significant cross-reactions were found.

15. METHOD COMPARISON

In an experimentation 185 samples have been tested with Diesse kit and with a competitor kit.

Data are summarized in the following table:

		Reference		
		+	-	Total
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Total	98	87	185

Percent Positive Agreement (~Diagnostic Sensitivity): 100.0%
CI95%: 96.2-100.0

Percent Negative Agreement: (~Diagnostic Specificity): 96.6%
CI95%: 90.3-98.8

Positive Predictive Value (PPV): 97.0% CI95%: 94.5-99.5

Negative Predictive Value (NPV): 100.0% CI95%: 100.0-100.0

The agreement between the two methods is excellent with a Cohen's Kappa of 0.96.

16. PRECISION AND REPEATABILITY

Precision and repeatability has been evaluated on replicates of negative and positive samples, in three different batches, performed in different days with different instruments.

All the obtained results were within the acceptance criteria (Agreement % $\geq$ 95% between the expected and the obtained results) demonstrating the precision and repeatability of the method.

17. REFERENCES

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1–21
2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of Treponema pallidum (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. INCIDENT REPORTING

If any serious incident in relation to this device has occurred in the European Union market territory, please report without delay to the manufacturer and competent authority of your Member State.

19. SUMMARY OF SAFETY AND PERFORMANCE

This document, which will be made available on the EUDAMED database (when this is fully implemented and functioning), is part of the Technical Documentation and can be requested from the manufacturer.



GEBRAUCHSANWEISUNG

RPR-DAT ADVANCED

Nur zur Verwendung in der In-vitro-Diagnostik

1. VERWENDUNGSZWECK

RPR-DAT ADVANCED (REF 26031) ist ein nicht-treponemaler Agglutinationstest für den qualitativen und semi-quantitativen Nachweis von Reagenzien in Humanserum, der auf dem AUTO-DAT-Gerät (REF 26001) eingesetzt werden kann.

Da nicht-treponemale Tests auf dem Nachweis von Reagenzien beruhen, einer Klasse von Antikörpern, die bei Syphilis (einer Krankheit, die durch eine Infektion mit *Treponema pallidum*) verursacht wird, dient der Test dazu, die Exposition gegenüber einer Infektion durch *Treponema pallidum*-Infektion und als Hilfsmittel für die Diagnose zu verwenden.

Der Test ist nicht dazu bestimmt, die Exposition gegenüber einer *Treponema pallidum*-Infektion in Blut, Blutbestandteilen, Zellen, Geweben, Organen oder Derivaten davon nachzuweisen, um deren Eignung für Transfusionen, Transplantationen oder Zellverabreichungen zu beurteilen.

Er sollte nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden.

2. EINFÜHRUNG

Die Syphilis, die durch Spirochäten der Art *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*) verursacht wird, ist eine chronische Infektion mit vielen verschiedenen klinischen Erscheinungsformen, die in unterschiedlichen Phasen auftreten. Diese systemische Infektionskrankheit wird in der Regel durch direkten sexuellen Kontakt übertragen und zeigt treponemhaltige Läsionen. Die einzigen bekannten Wirte sind menschliche Wesen.

Für die direkte und indirekte Diagnose der Syphilis stehen zahlreiche Tests zur Verfügung, aber es gibt noch keinen optimalen Test.

Zu den direkten Diagnosemethoden gehören der Nachweis von *T. pallidum* durch mikroskopische Untersuchung von Flüssigkeit oder Abstrichen von Läsionen, die histologische Untersuchung von Gewebe oder Nukleinsäure-Amplifikationsverfahren wie die Polymerase-Kettenreaktion (PCR).

Die indirekte Diagnose basiert auf serologischen Tests zum Nachweis von Antikörpern. Serologische Tests lassen sich in zwei Kategorien einteilen:

1. nicht-treponemale Screening-Tests
2. bestätigende Treponemaltests

Nicht-treponemale Tests basieren auf dem Nachweis von Reagenzien, einer Klasse von Antikörpern, die bei Syphilis und gelegentlich auch bei anderen akuten und chronischen Erkrankungen vorkommen. Reagine können im Serum etwa 4-6 Wochen nach der Infektion oder 1-3 Wochen nach dem Auftreten des primären Syphiloms nachgewiesen werden.

Gereinigter Rinderherzextrakt (Cardiolipin), angereichert mit Lecithin und Cholesterin, wird als Antigen für Reagenztests

verwendet. Nicht-treponemale Tests werden aufgrund ihrer praktischen Vorteile und ihrer Reproduzierbarkeit routinemäßig in der Syphilis-Serologie eingesetzt, obwohl sie nicht immer 100% spezifisch sind.

Da es sich bei RPR-DAT ADVANCED um einen nicht-treponemalen Test handelt, der auf dem Ausflockungsprinzip beruht, ist er zur Bestimmung der Exposition gegenüber einer *Treponema pallidum*-Infektion als Hilfsmittel für eine relative Diagnose bestimmt.

3. PRINZIP DER METHODE

Der Test beruht auf dem Prinzip der Flockung.

Die Serumprobe wird in den Vertiefungen der Mikroplatte mit einer kolloidalen Suspension aus Cardiolipin, Lecithin und Cholesterin, gemischt mit Mikropartikeln aus Holzkohle, umgesetzt.

In Gegenwart von Antikörpern (Reagenzien), die das Antigen verklumpen, bildet sich ein Aggregat (positive Reaktion). Die Reaktion ist negativ, wenn innerhalb der Vertiefung ein Kreis angezeigt wird.

Der Test wird mit dem AUTO-DAT-Gerät (REF 26001) durchgeführt, das das Bild der stattgefundenen Reaktion aufnimmt, analysiert und ein auf der Grundlage eines spezifischen Algorithmus berechnetes Ergebnis liefert und ausdrückt.

4. VORSICHTSMASSNAHMEN

NUR FÜR DIE IN-VITRO-DIAGNOSTIK GEEIGNET.

Dieses Kit enthält Materialien menschlichen Ursprungs, die sowohl auf HBsAg als auch auf Anti-HIV-1-, Anti-HIV-2- und Anti-HCV-Antikörper getestet und für negativ befunden wurden. Da kein diagnostischer Test eine vollständige Garantie für das Nichtvorhandensein von Infektionserregern bieten kann, muss jedes Material menschlichen Ursprungs als potenziell infiziert angesehen werden. Alle Reagenzien und Proben müssen gemäß den im Labor üblichen Sicherheitsvorschriften gehandhabt werden.

Entsorgung von Rückständen: Verwendete Proben und Reagenzien sind wie infizierte Rückstände zu behandeln und dann gemäß den gesetzlichen Bestimmungen zu entsorgen.

Warnungen zur persönlichen Sicherheit

1. Nicht mit dem Mund pipettieren.
 2. Verwenden Sie beim Umgang mit den Proben Einweghandschuhe und einen Augenschutz.
 3. Waschen Sie sich nach dem Test gründlich die Hände.
 4. Bezüglich der Sicherheitseigenschaften der im Kit enthaltenen Reagenzien verweisen wir auf das Sicherheitsdatenblatt (verfügbar auf der DIESSE-Website: www.diesse.it)
 5. Verschüttetes, möglicherweise infiziertes Material muss sofort mit saugfähigem Papier entfernt werden, und der verunreinigte Bereich muss dekontaminiert werden, z. B. mit 1%igem Natriumhypochlorit, bevor die Arbeit fortgesetzt wird. Wenn eine Säure vorhanden ist, darf Natriumhypochlorit erst verwendet werden, wenn der Bereich getrocknet ist.
- Alle Materialien, die zur Dekontaminierung von versehentlich verschütteten Stoffen verwendet werden,

einschließlich Handschuhe, müssen als potenziell infektiöser Abfall entsorgt werden.

Materialien, die Natriumhypochlorit enthalten, dürfen nicht autoklaviert werden.

Analytische Warnhinweise

Bringen Sie die Reagenzien vor Gebrauch auf Raumtemperatur (18-30°C).

1. Der Test muss in Verbindung mit dem AUTO-DAT-Gerät (REF 26001) unter strikter Beachtung der Gebrauchsanweisung und des Benutzerhandbuchs des Geräts durchgeführt werden.
2. Ändern Sie das Testverfahren nicht. Ersetzen Sie Reagenzien nicht durch solche anderer Lieferanten oder anderer Chargen, es sei denn, es ist ausdrücklich angegeben, dass das Reagenz zwischen den Chargen austauschbar ist.
3. Prüfen Sie, ob das Gerät richtig eingestellt ist (siehe Benutzerhandbuch).
4. Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung.
5. Verwenden Sie keine hämolysierten, lipämischen oder ikterischen Proben mit einer höheren Konzentration an Interferenzen als im Test (gemäß den Angaben im Kapitel „Analytische Spezifität“).
6. Verwenden Sie das Gerät nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
7. Nach Gebrauch die Reagenzien bei 2-8°C lagern.
8. Vermeiden Sie eine mikrobielle Kontamination der Reagenzien, da dies die Gültigkeit des Produkts beeinträchtigt und zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

5. ZUSAMMENSETZUNG DES KITS UND VORBEREITUNG DER REAGENZIEN

Die Reagenzien sind ausreichend für 500 Bestimmungen.

ANTIGEN

ANTIGEN

2 x 4 mL

Inhalt: Das Antigen besteht aus einem stabilisierten Gemisch aus 0,003% Cardiolipin, 0,09% Cholesterin, 0,02% Lecithin und 0,2 g/L Holzkohle-Mikroteilchen

Achtung! Lagern Sie die Fläschchen aufrecht, wenn Sie sie nicht verwenden. Vor der Verwendung auf Raumtemperatur bringen. Nicht heftig schütteln.

CONTROL +

POSITIVKONTROLLE

1 x 0.5 mL

Inhalt: Reaktives Humanserum für Syphilis, verdünnt auf maximal 15% in einer Proteinlösung mit 0,09% Natriumazid. Flüssig, gebrauchsfertig.

CONTROL -

NEGATIVKONTROLLE/PROBENVERDÜNNUNGSMITTEL

1 x 4 mL

Inhalt: 100% nicht reaktives Humanserum mit Proclin 300 0,029% und Gentamicin 0,05% als Konservierungsmittel. Flüssig, gebrauchsfertig

SONSTIGES ERFORDERLICHES, ABER NICHT BEREITGESTELLTES MATERIAL:

- AUTO-DAT Instrument (REF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (REF 26006)
- Mikropipetten, mit denen sich Volumina von 15-25 µl genau entnehmen lassen
- Einweghandschuhe
- Behälter für die Sammlung von potenziell infiziertem Material

6. LAGERUNG UND STABILITÄT DER REAGENZIEN

Die Reagenzien müssen bei 2/8°C gelagert werden

Nach dem ersten Gebrauch müssen die Mikrotiterplatten bei Raumtemperatur gelagert werden.

Das Verfallsdatum ist auf jedem Bestandteil und auf dem äußeren Verpackungsetikett aufgedruckt.

Die Stabilität der Reagenzien ändert sich nach dem Öffnen der Flasche nicht, solange der Benutzer darauf achtet, das Produkt vor möglicher mikrobieller Kontamination zu schützen.

7. ART DER PROBEN UND LAGERUNG

Bei der Probe handelt es sich um Serum, das aus durch Venenpunktion entnommenem Blut gewonnen und gemäß den Standardlaborverfahren behandelt wird.

Gemäß der CLSI-Richtlinie H18-A3 müssen die zu analysierenden Serumproben vor der Zentrifugation koaguliert werden; die spontane und vollständige Koagulation erfolgt normalerweise innerhalb von 30-60 Minuten bei 22°C-25°C. Es wird empfohlen, das Serum durch Zentrifugation so schnell wie möglich von den Zellen zu trennen, wobei die maximale Zeitspanne 2 Stunden ab dem Zeitpunkt der Entnahme beträgt. Frisches Serum ist bei 2/8°C 7 Tage lang haltbar; bei längerer Lagerung sollte es bei -20°C für mindestens 10 Monate eingefroren werden.

Die Probe kann maximal 3 Mal aufgetaut werden.

Vermeiden Sie die Verwendung von selbstabtauenden Gefriergeräten für die Probenlagerung. Nach dem Auftauen die Probe vor der Dosierung sorgfältig schütteln.

Die Hitzeinaktivierung kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

Die Qualität der Probe kann durch mikrobielle Verunreinigungen stark beeinträchtigt werden, was zu fehlerhaften Ergebnissen führen kann.

8. VERFAHREN

Der Bediener kann wählen, ob der Test durchgeführt werden soll:

- Im qualitativen Modus
- Im semi-quantitativen Modus

Die Auswertung des Ergebnisses erfolgt durch Beobachtung der Agglutination der Probe in der einzelnen Vertiefung im Falle einer qualitativen Reaktion oder im Muster der Vertiefungen im Falle einer semi-quantitativen Reaktion.

Reagenzien und Proben auf Raumtemperatur bringen und das Reagenz resuspendieren.

QUALITATIVER TEST

1. 25 µl des Testserums in den Boden der Vertiefung der Mikroplatte geben. Achten Sie darauf, keine zellulären Bestandteile zu übertragen. **Vermeiden Sie die Bildung von Blasen.**
2. Wiederholen Sie Schritt 1 für jede zu prüfende Probe.

- Geben Sie 15 µl des Antigens in jede Vertiefung. **Vermeiden Sie die Bildung von Blasen.**
- Prüfen Sie, ob das Proben-Antigen-Gemisch **gleichmäßig**

	step 1	step 2	step 3	
	1	1	1	DIL
A		25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/1
B	25 µl CONTROL -	25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/2
C	25 µl CONTROL -	+25 µl B1	15 µl ANTIGEN	1/4
D	25 µl CONTROL -	+25 µl C1	15 µl ANTIGEN	1/8
E	25 µl CONTROL -	+25 µl D1	15 µl ANTIGEN	1/16
F	25 µl CONTROL -	+25 µl E1	15 µl ANTIGEN	1/32
G	25 µl CONTROL -	+25 µl F1	15 µl ANTIGEN	1/64
H	25 µl CONTROL -	+25 µl G1	15 µl ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µl

im Boden der Vertiefung verteilt ist. Andernfalls sorgen Sie dafür, indem Sie die Platte seitlich abklopfen und/oder leicht auf die Arbeitsfläche klopfen.

- Legen Sie die Platte in die AUTO-DAT (REF 26001) und folgen Sie den Anweisungen.
- Am Ende der Analyse nehmen Sie die Platte aus dem AUTO-DAT-Gerät und entsorgen die Vertiefungen, in denen die Reaktion stattgefunden hat. Zuvor ungenutzte Vertiefungen können für spätere Analysen verwendet werden.

HINWEIS: Die Positiv- und Negativkontrollen werden gebrauchsfertig geliefert und müssen nicht vorverdünnt werden. Sie müssen bei jeder Sitzung auf dieselbe Weise wie die Prüfmuster getestet werden.

Im Falle einer positiven Probe wird eine semi-quantitative Analyse empfohlen.

SEMI-QUANTITATIVER TEST

Verdoppeln Sie die Verdünnung der Probe von unverdünnt (1/1) auf 1/128:

- 25 µL der Negativkontrolle/Verdünnungsmittel B1 zu H1 hinzufügen.
- 25 µl des Testserums in die Vertiefungen A1 und B1 geben und gründlich mischen. Achten Sie darauf, keine zellulären Bestandteile zu übertragen. **Vermeiden Sie die Bildung von Blasen.**
- 25 µl aus B1 entnehmen und in Vertiefung C1 übertragen. **Vor dem Umfüllen gründlich umrühren, um die Bildung von Blasen zu vermeiden.**
- Serielle Verdünnungen durchführen: Schritt 3 für die nachfolgenden Vertiefungen bis zu H1 wiederholen. **Von letzterem werden 25 µl verworfen.**
- Folgen Sie dem für den qualitativen Test beschriebenen Verfahren von Schritt 3 bis Schritt 6.

Wiederholen Sie den beschriebenen Vorgang für alle zu analysierenden Proben unter Verwendung der anderen Spalten der Platte.

Der Titel wird durch die letzte mit dem Gerät gefundene reaktive Verdünnung angegeben

HINWEIS: Die Positiv- und Negativkontrollen werden gebrauchsfertig geliefert und müssen nicht vorverdünnt werden. Sie müssen bei jeder Sitzung auf dieselbe Weise wie die Prüfmuster getestet werden.

9. TEST-VALIDIERUNG

Verwenden Sie die bei jeder Sitzung bereitgestellten Kontrollen. Gehen Sie vor, wie im Abschnitt "VORGEHEN" beschrieben. Wenn das Ergebnis anders ausfällt als erwartet, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst.

Tel: 0039 0577 319554

E-Mail: scientificsupport@diesse.it
customercare@diesse.it

10. INTERPRETATION DES TESTS

Wird der semi-quantitative Test gewählt, gibt das Gerät das Ergebnis in Form eines Titels an. Der Test an der Probe kann wie folgt interpretiert werden:

POSITIV: Wenn das Ergebnis $\geq 1/1$ ist.

NEGATIV: Wenn das Ergebnis NEG ist

Das Gerät ist in der Lage, das Vorhandensein eines Pro-Zonen-Effekts mit einem Grenzwert von 1/8 festzustellen; siehe Benutzerhandbuch.

Wenn der qualitative Test gewählt wird, liefert das Gerät das Ergebnis wie folgt:

POSITIVE (POS): Reaktive Probe

NEGATIV (NEG): Nicht reaktive Probe

Es ist ratsam, die erzielten Ergebnisse visuell zu überprüfen, um den Bericht zu bestätigen.



POSITIV

NEGATIV

11. GRENZEN DES TESTS

Das Produkt sollte nur von professionellem Laborpersonal verwendet werden.

Der Test ist nicht auf andere Proben als Serum anwendbar.

Der Test ist nur für das AUTO-DAT-Gerät (REF 26001) anwendbar.

Beim qualitativen Test kann das Vorhandensein von falsch-negativen Ergebnissen aufgrund des Pro-Zone-Effekts bei hochpositiven Proben nicht ausgeschlossen werden.

Alle ermittelten Werte müssen sorgfältig interpretiert werden, ohne andere Indikatoren, die denselben Patienten betreffen, außer Acht zu lassen.

Der Test kann nicht allein für eine klinische Diagnose verwendet werden, und das Ergebnis muss immer zusammen mit Daten

aus der Krankengeschichte und/oder anderen diagnostischen Untersuchungen bewertet werden.

12. MESSBEREICH

SEMI-QUANTITATIVER TEST: 1/1 – 1/128 (Titel)

13. ANALYTISCHE SPEZIFITÄT

3 Proben (1 negative und 2 positive) wurden mit den folgenden potenziell störenden Faktoren versetzt und anschließend analysiert:

Bilirubin (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglyzeride (250 mg/dl - 1500 mg/dl)

Hämoglobin (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

Rheumafaktor (44 - 220 IU/ml)

Das Vorhandensein der oben beschriebenen Interferenzen in der Serumprobe hat keinen Einfluss auf das Testergebnis.

14. KREUZREAKTIONEN

18 Proben, die positiv auf Borrelien (3), Herpesvirus (3), Toxoplasma (3), Zytomegalievirus (3), Epstein-Barr-Virus (3) und Röteln (3) waren, wurden analysiert.

Es wurden keine signifikanten Kreuzreaktionen gefunden.

15. VERGLEICHENDE STUDIEN

In einem Versuch wurden 185 Proben mit Diesse-Kits und einem anderen kommerziellen Kit analysiert.

Es folgt ein Überblick über die experimentellen Daten:

		Referenz		
		+	-	Insgesamt
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Insgesamt	98	87	185

Prozentuale positive Übereinstimmung (~Diagnostische Sensitivität): 100,0 % CI95%: 96,2-100,0

Percent Negative Agreement (~Diagnostische Spezifität): 96,6% CI95%: 90,3-98,8

Positiv Prädiktiver Wert (PPV): 97,0% CI95%: 94,5-99,5

Negativ Prädiktiver Wert (NPV): 100,0 % CI95%: 100,0-100,0

Der Grad der Übereinstimmung zwischen den beiden Methoden ist mit einem K-Wert (Cohens Kappa-Koeffizient) von 0,96 ausgezeichnet.

16. PRÄZISION UND WIEDERHOLBARKEIT

Präzision und Wiederholbarkeit wurden anhand von Replikaten negativer und positiver Proben in drei verschiedenen Chargen, an verschiedenen Tagen und mit verschiedenen Instrumenten bewertet.

Alle erzielten Ergebnisse lagen innerhalb der Akzeptanzkriterien (Übereinstimmung % ≥ 95 % zwischen erwarteten und erzielten Ergebnissen), was die Genauigkeit und Wiederholbarkeit der Methode belegt.

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1–21

2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of Treponema pallidum (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. VORFALLBERICHT

Wenn sich im Zusammenhang mit diesem Gerät im Marktgebiet der Europäischen Union ein schwerer Unfall ereignet hat, melden Sie dies bitte unverzüglich dem Hersteller und der zuständigen Behörde Ihres Mitgliedstaates.

19. ZUSAMMENFASSUNG DER SICHERHEIT UND LEISTUNG

Dieses Dokument, das in der EUDAMED-Datenbank zur Verfügung gestellt wird (sobald sie vollständig implementiert und funktionsfähig ist), ist Teil der technischen Dokumentation und kann beim Hersteller angefordert werden.



NÁVOD NA POUŽITÍ

RPR-DAT ADVANCED

Pouze pro diagnostické použití *in vitro*

1. URČENÉ POUŽITÍ

RPR-DAT ADVANCED (REF 26031) je netreponemový aglutinační test pro kvalitativní a semikvantitativní detekci reaginů v lidském séru pro přístroj AUTO-DAT (REF 26001). Vzhledem k tomu, že netreponemové testy jsou založeny na detekci reaginů, což je třída protilátek přítomných u syfilis (onemocnění způsobené infekcí *Treponema pallidum*), je souprava určena ke stanovení expozice infekci prostřednictvím infekce *Treponema pallidum* a k použití jako pomůcka při její diagnostice.

Test není určen ke zjištění expozice infekci *Treponema pallidum* v krvi, krevních složkách, buňkách, tkáních, orgánech nebo jejich derivátech za účelem posouzení jejich vhodnosti pro transfuzi, transplantaci nebo podání buněk. Musí jej používat pouze odborní pracovníci laboratoře.

2. ÚVOD

Syfilida, způsobená spirochetami *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*), je chronická infekce s mnoha různými klinickými projevy probíhajícími v odlišných fázích. Obecně se toto systémové infekční onemocnění šíří přímým pohlavním stykem a projevuje se lézemi obsahujícími treponemy. Jedinými známými hostiteli jsou lidé.

Pro přímou i nepřímou diagnostiku syfilidy je k dispozici mnoho testů, ale dosud neexistuje jediný optimální test.

Přímé diagnostické metody zahrnují detekci *T. pallidum* pomocí mikroskopického vyšetření tekutiny nebo stěrů z lézí, histologického vyšetření tkáně nebo metod amplifikace nukleových kyselin, jako je polymerázová řetězová reakce (PCR).

Nepřímá diagnostika je založena na sérologických testech na zjištění protilátek. Sérologické testy se dělí do dvou kategorií:

1. netreponemové screeningové testy
2. konfirmační treponemové testy

Netreponemové testy jsou založeny na detekci reaginů, což je třída protilátek přítomných u syfilis a příležitostně i u jiných akutních a chronických onemocnění. Reaginy lze v séru detekovat přibližně 4-6 týdnů po infekci nebo 1-3 týdny po vzniku primárního syfilomu.

Purifikovaný extrakt z hovězího srdce (kardiolipin) obohacený lecitinem a cholesterolem se používá jako antigen pro reaginové testy. Netreponemové testy se v sérologii syfilis běžně používají díky svým praktickým výhodám a reprodukovatelnosti, i když nejsou vždy 100% specifické.

Vzhledem k tomu, že RPR-DAT ADVANCED je netreponemový test založený na principu flokulace, je určen ke stanovení expozice infekci *Treponema pallidum* jako pomůcka při relativní diagnostice.

3. PRINCIP METODY

Test je založen na principu flokulace.

Vzorek séra reaguje v jamce mikrotitrační destičky s koloidní suspenzí kardiolipinu, lecitinu a cholesterolu smíchanou s mikročásticemi dřevěného uhlí.

V přítomnosti protilátek (reaginů), které aglutinují antigen, se vytvoří agregát (pozitivní reakce). Reakce je negativní, pokud je uvnitř jamky zobrazen kruh.

Test se provádí na přístroji AUTO-DAT (REF 26001), který zachytí obraz proběhlé reakce, analyzuje jej, poskytne a vytiskne výsledek vypočtený na základě specifického algoritmu.

4. BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

POUZE PRO DIAGNOSTIKU IN VITRO.

Tato souprava obsahuje materiály lidského původu, které byly testovány a shledány negativními v testech na HBsAg a protilátky anti-HIV-1, anti-HIV-2 a anti-HCV. Vzhledem k tomu, že žádný diagnostický test nemůže poskytnout úplnou záruku nepřítomnosti infekčních agens, musí být jakýkoli materiál lidského původu považován za potenciálně infikovaný. Se všemi činidly a vzorky se musí zacházet v souladu s bezpečnostními pravidly obvyklými v laboratoři.

Likvidace zbytků: s použitými vzorky a činidly je třeba zacházet jako s infekčními zbytky a poté je zlikvidovat podle platných předpisů.

Upozornění týkající se bezpečnosti personálu

1. Nepipetujte ústy.
2. Při manipulaci se vzorky používejte jednorázové rukavice a ochranu očí.
3. Po dokončení testu si důkladně umyjte ruce.
4. Bezpečnostní charakteristiky činidel obsažených v sadě naleznete v bezpečnostním listu (k dispozici na webových stránkách společnosti DIESE: www.diesse.it)
5. Jakékoli rozliti potenciálně infikovaných materiálů musí být okamžitě odstraněno pomocí absorpčního papíru a znečištěný prostor musí být před pokračováním v práci dekontaminován, např. 1% chlornanem sodným. Pokud je přítomna kyselina, chlornan sodný nesmí být použit dříve, než bude zóna vysušena. Veškeré materiály použité k dekontaminaci náhodně rozlitych látek, včetně rukavic, by měly být zlikvidovány jako potenciálně infekční odpad. Materiály s obsahem chlornanu sodného nekládejte do autoklávu.

Opatření pro správné provedení testu

Před použitím uveďte činidla na pokojovou teplotu (18-30 °C).

1. Test musí být používán ve spojení s přístrojem AUTO-DAT (REF 26001), přičemž je třeba přesně dodržovat návod k použití a uživatelskou příručku k přístroji.
2. Postup testu neupravujte. Nezaměňujte činidla za činidla od jiných dodavatelů nebo jiných šarží, pokud není výslovně uvedeno, že je činidlo mezi šaržemi zaměnitelné.
3. Zkontrolujte, zda je přístroj správně nastaven (viz uživatelská příručka).
4. Vyhněte se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků.
5. Nepoužívejte hemolyzované, lipaemické a ikterické vzorky s vyšší koncentrací interferenčních látek, než je testovaná koncentrace (podle údajů v kapitole „Analytická specifita“).

6. Přístroj nepoužívejte po uplynutí doby použitelnosti.
7. Po použití skladujte reagenty při teplotě 2-8 °C.
8. Zabraňte mikrobiální kontaminaci reagentů, protože to snižuje platnost výrobku a může vést k nesprávným výsledkům.

5. SLOŽENÍ SOUPRAVY A PŘÍPRAVA ČINIDEL

Reagenty vystačí na 500 stanovení.

ANTIGEN

ANTIGENE

2 x 4 ml

Obsah: antigen se skládá ze stabilizované směsi kardiolipinu 0,003 %, cholesterolu 0,09 %, lecitinu 0,02 % a mikročastic dřevěného uhlí 0,2 g/l.

Upozornění: Nepoužívané lahvičky skladujte ve svislé poloze. Před použitím uveďte lahvičky do pokojové teploty. Netřepteje silně.

CONTROL +

POZITIVNÍ KONTROLA

1 x 0,5 ml

Obsah: Reaktivní lidské sérum na syfilis, zředěné na maximálně 15 % v bílkovinném roztoku s 0,09 % azidu sodného.

Tekuté, připravené k použití.

CONTROL -

NEGATIVNÍ KONTROLA/ŘEDIDLO PRO VZORKY

1 x 4 mL

Obsah: 100% nereaktivní lidské sérum obsahující Proclin 300 0,029% a gentamicin 0,05% jako konzervační látky.

Tekuté, připravené k použití.

DALŠÍ POŽADOVANÝ MATERIÁL, KTERÝ NENÍ SOUČÁSTÍ BALENÍ:

- Přístroj AUTO-DAT (REF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (REF 26006)
- Mikropipety schopné přesně odebírat objemy 15-25 µl.
- Jednorázové rukavice
- Nádoby pro odběr potenciálně infikovaných materiálů.

6. SKLADOVÁNÍ A STABILITA ČINIDEL

Činidla musí být skladovány při teplotě 2/8 °C.

Po prvním použití by měly být mikrodestičky skladovány při pokojové teplotě.

Datum použitelnosti je vytištěno na každé složce a na vnějším štítku balení.

Stabilita reagentů se po otevření lahvičky nemění, pokud uživatel dbá na to, aby byl výrobek chráněn před možnou mikrobiální kontaminací.

7. TYP VZORKŮ A SKLADOVÁNÍ

Typem vzorku je sérum získané z krve odebrané ze žíly a zpracované podle standardních laboratorních postupů.

Podle pokynu CLSI H18-A3 musí být vzorky séra určené k analýze před centrifugací sráženy; spontánní a úplná koagulace obvykle probíhá během 30-60 minut při 22 °C-25 °C. Doporučuje se, aby sérum bylo co nejdříve fyzicky odděleno centrifugací od kontaktu s buňkami s maximálním časovým limitem 2 hodiny od odběru.

Čerstvé sérum lze uchovávat po dobu 7 dnů při teplotě 2/8 °C; pro delší skladování je třeba jej zmrazit při -20 °C po dobu nejméně 10 měsíců.

Vzorek lze rozmrazit maximálně třikrát.

Vyhnete se používání samoodmrazovacích mrazniček pro skladování vzorků. Po rozmrazení vzorek před analýzou pečlivě protřepejte.

Tepelná inaktivace může vést k chybným výsledkům.

Kvalita vzorku může být vážně ovlivněna mikrobiální kontaminací, která může vést k chybným výsledkům.

8. POSTUP

Operátor může zvolit, zda chce test provést v režimu:

- kvalitativním
- semikvantitativním

Vyhodnocení výsledku se provádí pozorováním aglutinace vzorku v jednotlivých jamkách v případě kvalitativní reakce nebo ve vzorcích jamek v případě semikvantitativní reakce.

Přiveďte činidla a vzorky na pokojovou teplotu a znovu je rozpusťte.

KVALITATIVNÍ TEST

1. Na dno jamky mikrotitrační destičky přidejte 25 µl testovacího séra. Dejte pozor, abyste nepřenesli žádné buněčné elementy. **Vyhnete se tvorbě bublin.**
2. Krok 1 opakujte pro každý testovaný vzorek.
3. Do každé jamky přidejte 15 µl antigenu. **Vyhnete se tvorbě bublin.**
4. Zkontrolujte, zda je směs vzorku a antigenu **rovnoměrně rozložena na dně jamky**. V opačném případě to zajistíte poklepáním na desku ze strany a/nebo jemným poklepáním na pracovní plochu.
5. Vložte desku do přístroje AUTO-DAT (REF 26001) a postupujte podle pokynů.
6. Na konci analýzy vyjměte destičku z přístroje AUTO-DAT a vyhodte jamky, ve kterých probíhala reakce. Dříve nepoužité jamky lze použít pro následné analýzy.

POZNÁMKA: pozitivní a negativní kontroly se dodávají připravené k použití a nevyžadují předběžné ředění. Musí být testovány při každém sezení stejným způsobem jako zkušební vzorky.

V případě pozitivního vzorku se doporučuje semikvantitativní analýza.

SEMIKVANTITATIVNÍ TEST

Provedte dvojnásobné ředění testovaného vzorku z neředěného (1/1) na 1/128:

1. Přidejte 25 µl negativní kontroly/ředidla B1 k H1.
2. Do jamky A1 a jamky B1 přidejte 25 µl testovacího séra a důkladně promíchejte. Dejte pozor, abyste nepřenesli žádné buněčné elementy. **Vyhnete se tvorbě bublin.**
3. Odeberte 25 µl z jamky B1 a přeneste do jamky C1. **Před přenesením důkladně promíchejte, aby se netvořily bubliny.**
4. Provedte sériové ředění: opakujte krok 3 pro následující jamky až do H1. **Z posledně jmenovaného množství vyhodte 25 µl.**
5. Postupujte podle postupu popsání pro kvalitativní test od kroku 3 do kroku 6.

Opakujte popsanou operaci pro všechny analyzované vzorky s použitím ostatních sloupců destičky.

	step 1	step 2	step 3	DIL
	1	1	1	
A		25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/1
B	25 µl CONTROL -	25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/2
C	25 µl CONTROL -	+25 µl B1	15 µl ANTIGEN	1/4
D	25 µl CONTROL -	+25 µl C1	15 µl ANTIGEN	1/8
E	25 µl CONTROL -	+25 µl D1	15 µl ANTIGEN	1/16
F	25 µl CONTROL -	+25 µl E1	15 µl ANTIGEN	1/32
G	25 µl CONTROL -	+25 µl F1	15 µl ANTIGEN	1/64
H	25 µl CONTROL -	+25 µl G1	15 µl ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µl

Titr bude stanoven podle posledního ředění, u kterého byla zjištěna reakce s přístrojem.

POZNÁMKA: pozitivní a negativní kontroly se dodávají připravené k použití a nevyžadují předběžné ředění. Musí být testovány při každém sezení stejným způsobem jako zkušební vzorky.

9. VALIDACE TESTU

Při každé relaci použijte kontrolní buňky. Postupujte podle popisu v části „POSTUP“. Pokud se výsledek liší od očekávaného, kontaktujte oddělení péče o zákazníky.

Tel: 0039 0577 319554
email: scientificsupport@diesse.it;
customercare@diesse.it

10. INTERPRETACE TESTU

Pokud je zvolen semikvantitativní test, přístroj uvádí výsledek v titru. Test na zkušební vzorku lze interpretovat následovně:

POZITIVNÍ: když je výsledek $\geq 1/1$

Negativní: pokud je výsledek NEG

Přístroj je schopen detekovat přítomnost prozónového efektu s limitem 1/8; viz uživatelská příručka.

Pokud je zvolen kvalitativní test, přístroj poskytne výsledek následujícím způsobem:

POZITIVNÍ (POS): reaktivní vzorek
NEGATIVNÍ (NEG): nereaktivní vzorek

Doporučuje se vizuálně zkontrolovat získané výsledky a potvrdit zprávu.



POZITIVNÍ

NEGATIVNÍ

11. OMEZENÍ TESTU

Výrobek musí být používán pouze odborným laboratorním personálem.

Test nelze aplikovat na jiné vzorky než sérum.

Test je použitelný pouze pro přístroj AUTO-DAT (REF 26001). Při kvalitativním testu nelze vyloučit přítomnost falešně negativních výsledků v důsledku prozónového efektu vysoce pozitivních vzorků, aby se vyloučila falešná negativita prozóny, měly by se vzorky testovat semikvantitativním postupem.

Veškeré získané hodnoty vyžadují pečlivou interpretaci, která musí brát v úvahu také další ukazatele týkající se pacienta.

Ve skutečnosti nelze test použít pro stanovení klinické diagnózy samostatně a získaný výsledek je vždy třeba hodnotit společně s údaji z anamnézy pacienta a/nebo s dalšími diagnostickými vyšetřeními.

12. ROZSAH MĚŘENÍ

SEMIKVANTITATIVNÍ TEST: 1/1 – 1/128 (Titration)

13. ANALYTICKÁ SPECIFICITA

3 vzorky (1 negativní a 2 pozitivní) byly obohaceny o následující potenciálně interferenční faktory a poté analyzovány:

Bilirubin (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglyceridy (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hemoglobin (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Rheumatoidní faktor (44 - 220 IU/ml)

Přítomnost výše popsaných interferenčních látek ve vzorku séra nemá vliv na výsledek testu.

14. ZKŘÍŽENÁ REAKTIVITA

Osmnáct vzorků bylo pozitivních na borélie (3), herpes virus (3), toxoplazmu (3), cytomegalovirus (3), virus Epstein-Barr (3) a rubeolu (3).

Nebyly zjištěny žádné významné zkřížené reakce.

15. SROVNÁVACÍ STUDIE

V jedné studii bylo analyzováno 185 vzorků pomocí souprav Diesse a další soupravy z komerční sítě.

Níže jsou shrnuty údaje ze studie:

		Reference		
		+	-	Celkem
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Celkem	98	87	185

Procento pozitivní shody (~ Diagnostická citlivost): 100,0%
CI_{95%}: 96,2-100,0

Procento negativní shody: (~Diagnostická specifita): 96,6%
CI_{95%}: 90,3-98,8

Pozitivní prediktivní hodnota (PPV): 97,0% CI_{95%}: 94,5-99,5
Negativní prediktivní hodnota (NPV): 100,0% CI_{95%}: 100,0-100,0

Míra shody mezi oběma metodami je vynikající s hodnotou K (Cohenův koeficient) 0,96.

16. PŘESNOST A OPAKOVATELNOST

Přesnost a opakovatelnost byly hodnoceny na opakováních negativních a pozitivních vzorků ve třech různých šaržích, provedených v různých dnech a s různými přístroji.

Všechny získané výsledky splňují kritéria přijatelnosti (shoda % ≥ 95 % mezi očekávanými a získanými výsledky), což prokazuje přesnost a opakovatelnost metody.

17. BIBLIOGRAFIE

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1–21
2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of Treponema pallidum (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. HLÁŠENÍ NEŽÁDOUCÍ UDÁLOSTI

Pokud došlo k vážné nehodě s tímto přístrojem na území Evropské unie, neprodleně ji nahlase výrobcí a příslušnému orgánu vašeho členského státu.

19. SHRNUTÍ TÝKAJÍCÍ SE BEZPEČNOSTI A VÝKONNOSTI

Tento dokument, který bude zpřístupněn v databázi EUDAMED (až bude plně zavedena a funkční), je součástí technické dokumentace a lze si jej vyžádat od výrobce.



MODE D'EMPLOI

RPR-DAT ADVANCED

Pour le diagnostic in vitro uniquement

1. UTILISATION PRÉVUE

RPR-DAT ADVANCED (RÉF 26031) est un test d'agglutination non triponémique pour la détection qualitative et semi-quantitative des réactifs dans le sérum humain, à appliquer à l'instrument AUTO-DAT (RÉF 26001). Les tests non contreponémiques reposent sur la détection de réacines, une classe d'anticorps présents dans la syphilis (une maladie causée par une infection à *Treponema pallidum*), le kit est destiné à déterminer l'exposition à l'infection par *Treponema pallidum* et à être utilisé comme aide au diagnostic.

Le test n'est pas destiné à être utilisé pour détecter l'exposition à l'infection par *Treponema pallidum* dans le sang, les composants sanguins, les cellules, les tissus, les organes ou tout dérivé de ceux-ci afin d'évaluer leur aptitude à la transfusion, à la transplantation ou à l'administration de cellules.

Il ne doit être utilisé que par le personnel professionnel du laboratoire.

2. INTRODUCTION

La syphilis, causée par les spirochètes *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*), est une infection chronique avec de nombreuses manifestations cliniques différentes se produisant dans des phases distinctes. En général, cette maladie infectieuse systémique est contractée par contact sexuel direct et présente des lésions contenant des tréponèmes. Les seuls hôtes connus sont les êtres humains.

De nombreux tests sont disponibles pour le diagnostic direct et indirect de la syphilis, mais il n'existe pas encore de test optimal unique.

Les méthodes de diagnostic directes comprennent la détection de *T. pallidum* par l'examen microscopique du liquide ou des frottis des lésions, l'examen histologique des tissus ou les méthodes d'amplification de l'acide nucléique telles que la réaction en chaîne de la polymérase (PCR).

Le diagnostic indirect repose sur des tests sérologiques de détection des anticorps. Les tests sérologiques se divisent en deux catégories :

1. Tests de dépistage non tréponémiques
2. tests tréponémiques de confirmation

Les tests non tréponémiques sont basés sur la détection de réacines, une classe d'anticorps présents dans la syphilis et parfois dans d'autres maladies aiguës et chroniques. Les réactifs peuvent être détectés dans le sérum environ 4 à 6 semaines après l'infection ou 1 à 3 semaines après l'apparition du syphilome primaire.

L'extrait de cœur de bœuf purifié (cardiolipine) enrichi de lécithine et de cholestérol est utilisé comme antigène pour les tests de réactivité. Les tests non tréponémiques sont couramment utilisés dans la sérologie de la syphilis en raison de

leurs avantages pratiques et de leur reproductibilité, bien qu'ils ne soient pas toujours spécifiques à 100 %.

Le RPR-DAT ADVANCED étant un test non tréponémique, basé sur le principe de la floculation, il est destiné à déterminer l'exposition à l'infection par *Treponema pallidum* comme aide au diagnostic relatif.

3. PRINCIPE DE LA MÉTHODE

Le test est basé sur le principe de la floculation.

L'échantillon de sérum réagit dans le puits de la micro plaquette avec une suspension colloïdale de cardiolipine, de lécithine et de cholestérol mélangée à des microparticules de charbon.

En présence d'anticorps (réactifs), qui agglutinent l'antigène, un agrégat se forme (réaction positive). La réaction est négative si un cercle apparaît à l'intérieur du puits.

Le test est appliqué à l'instrument AUTO-DAT (RÉF 26001), qui capture l'image de la réaction qui a eu lieu, l'analyse, délivre et imprime un résultat calculé sur la base d'un algorithme spécifique.

4. PRÉCAUTIONS

À DES FINS DE DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT.

Ce kit contient des matériaux d'origine humaine qui ont été testés et se sont révélés négatifs pour le HBsAg et les anticorps anti-VIH-1, anti-VIH-2 et anti-HCV. Aucun test de diagnostic ne pouvant garantir l'absence d'agents infectieux, tout matériel d'origine humaine doit être considéré comme potentiellement infecté. Tous les réactifs et échantillons doivent être manipulés conformément aux règles de sécurité normalement adoptées dans le laboratoire.

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

Avertissements en matière de 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.
3. Se laver soigneusement les mains une fois le test terminé.
4. En ce qui concerne les caractéristiques de sécurité des réactifs contenus dans le kit, veuillez vous référer à la Fiche de Sécurité (disponible sur le site Internet de DIESSE : www.diesse.it)
5. Tout déversement de matériaux potentiellement infectés doit être immédiatement éliminé à l'aide de 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 ait été séchée. Tous les matériaux utilisés pour décontaminer les déversements accidentels, y compris les gants, doivent être éliminés comme des déchets potentiellement infectieux. Ne pas autoclaver les matériaux contenant de l'hypochlorite de sodium.

Avertissements analytiques

Amener les réactifs à température ambiante (18-30°C) avant utilisation.

1. Le test doit être utilisé avec l'instrument AUTO-DAT (RÉF 26001), en suivant scrupuleusement le mode d'emploi et le manuel d'utilisation de l'instrument.
2. Ne pas modifier la procédure de test. Ne pas remplacer les réactifs par ceux d'autres fournisseurs ou d'autres lots, sauf s'il est spécifiquement indiqué que le réactif est interchangeable entre les lots.
3. Vérifier que l'instrument est correctement configuré (voir le manuel de l'utilisateur).
4. Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons.
5. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques, ictériques avec une concentration d'interférents supérieure à celle testée (selon les indications du chapitre « Spécificité analytique »).
6. Ne pas utiliser le dispositif après la date de péremption.
7. Après utilisation, conserver les réactifs à 2-8°C.
8. Éviter la contamination microbienne des réactifs, car elle réduit la validité du produit et peut conduire à des résultats erronés.

5. COMPOSITION DU KIT ET PRÉPARATION DES RÉACTIFS

Les réactifs sont suffisants pour 500 déterminations.

ANTIGÈNE

ANTIGÈNE

2 x 4 ml

Contenu: l'antigène consiste en un mélange stabilisé de cardioline 0,003 %, de cholestérol 0,09 %, de lécithine 0,02 % et de microparticules de charbon 0,2 g/L.

Attention : Conserver les flacons en position verticale lorsqu'ils ne sont pas utilisés. Amener à température ambiante avant utilisation. Ne pas agiter vigoureusement.

CONTRÔLE +

CONTRÔLE POSITIF

1 x 0.5 ml

Contenu : Sérum humain réactif pour la syphilis, dilué à un maximum de 15 % dans une solution protéique avec 0,09 % d'azide de sodium.

Liquide, prêt à l'emploi.

CONTROL -

CONTRÔLE NÉGATIF/DILUANT D'ÉCHANTILLON

1 x 4 mL

Contenu : 100 % de sérum humain non réactif contenant du Proclin 300 0,029 % et de la gentamicine 0,05 % comme conservateurs.

Liquide, prêt à l'emploi

AUTRE MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI :

- Instrument AUTO-DAT (RÉF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (RÉF 26006)
- Micropipettes capables de prélever avec précision des volumes de 15 à 25 µl.
- Gants jetables
- Récipients pour la collecte de matériel potentiellement infecté

6. MODE DE STOCKAGE ET STABILITÉ DES RÉACTIFS

Les réactifs doivent être conservés à 2/8°C

Après la première utilisation, les microplaques doivent être conservées à température ambiante.

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

La stabilité des réactifs ne change pas après l'ouverture du flacon, pourvu que l'utilisateur veille à préserver le produit d'une éventuelle contamination microbienne.

7. TYPE D'ÉCHANTILLONS ET STOCKAGE

Le type d'échantillon est le sérum obtenu à partir de sang prélevé par ponction veineuse et manipulé conformément aux procédures de laboratoire standard.

Selon la directive H18-A3 du CLSI, les échantillons de sérum à analyser doivent être coagulés avant d'être centrifugés ; la coagulation spontanée et complète se produit normalement en 30 à 60 minutes à une température de 22 à 25 °C. Il est recommandé de séparer physiquement le sérum, par centrifugation, du contact avec les cellules dès que possible, avec un délai maximum de 2 heures à partir du moment du prélèvement.

Le lactosérum frais peut être conservé pendant 7 jours à 2/8 °C ; pour des périodes de stockage plus longues, il peut être congelé à -20 °C pendant au moins 10 mois.

L'échantillon peut subir un maximum de 3 décongélations.

Éviter d'utiliser des congélateurs à dégivrage automatique pour le stockage des échantillons. Après décongélation, agiter soigneusement l'échantillon avant de le doser.

L'inactivation par la chaleur peut donner des résultats erronés.

La qualité de l'échantillon peut être sérieusement affectée par la contamination microbienne, ce qui peut conduire à des résultats erronés.

8. PROCÉDURE

L'opérateur peut choisir d'effectuer le test en mode :

- qualitatif
- semi-quantitatif

L'évaluation du résultat se fait en observant l'agglutination de l'échantillon dans chaque puits, dans le cas d'une réaction qualitative, ou dans l'ensemble des puisards, dans le cas d'une réaction semi-quantitative.

Amener les réactifs et les échantillons à température ambiante et remettre le réactif en suspension.

TEST QUALITATIF

1. Ajouter 25 µl de sérum à tester au fond du puits de la microplaquette. Ne pas transférer d'éléments cellulaires. **Éviter la formation de bulles.**
2. Répéter l'étape 1 pour chaque échantillon à tester.
3. Ajouter 15 µl d'antigène dans chaque puisard. **Éviter la formation de bulles.**
4. Vérifier que le mélange échantillon-antigène est **uniformément** réparti **au fond du puisard**. Sinon, il est possible de le faire en tapant latéralement sur la plaquette et/ou en tapant doucement sur le plan de travail.
5. Placer la plaquette dans l'AUTO-DAT (RÉF 26001) et suivre les instructions.
6. À la fin de l'analyse, retirer la plaque de l'instrument AUTO-DAT et jeter les puisards dans lesquels la réaction a eu lieu.

Les puisards non utilisés précédemment peuvent être utilisés pour des analyses ultérieures.

NOTE : les contrôles positifs et négatifs sont fournis prêts à l'emploi et ne nécessitent pas de pré-dilution. Ils doivent être testés à chaque session de la même manière que les échantillons de test.

En cas d'échantillon positif, une analyse semi-quantitative est recommandée.

TEST SEMI-QUANTITATIF

Effectuer des dilutions doubles de l'échantillon à tester, de l'état non dilué (1/1) à 1/128 :

1. Ajouter 25 µl de contrôle négatif/diluant B1 à H1.
2. Ajouter 25 µl de sérum à tester dans le puits A1 et le puits B1, en mélangeant soigneusement. Ne pas transférer d'éléments cellulaires. **Éviter la formation de bulles.**
3. Prélever 25 µl de B1 et les transférer dans le puits C1. **Remuer soigneusement avant le transfert, en évitant la formation de bulles.**
4. Effectuer des dilutions en série : répéter l'étape 3 pour les puits suivants jusqu'à H1. **Dans ce dernier cas, jeter 25 µl.**
5. Suivre la procédure décrite pour le test qualitatif de l'étape 3 à l'étape 6.

Répéter l'opération décrite pour tous les échantillons à analyser en utilisant les autres colonnes de la plaque.

	step 1	step 2	step 3	
	1	1	1	DIL
A		25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/1
B	25 µl CONTROL -	25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/2
C	25 µl CONTROL -	+25 µl B1	15 µl ANTIGEN	1/4
D	25 µl CONTROL -	+25 µl C1	15 µl ANTIGEN	1/8
E	25 µl CONTROL -	+25 µl D1	15 µl ANTIGEN	1/16
F	25 µl CONTROL -	+25 µl E1	15 µl ANTIGEN	1/32
G	25 µl CONTROL -	+25 µl F1	15 µl ANTIGEN	1/64
H	25 µl CONTROL -	+25 µl G1	15 µl ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µl

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

NOTE : les contrôles positifs et négatifs sont fournis prêts à l'emploi et ne nécessitent pas de pré-dilution. Ils doivent être testés à chaque session de la même manière que les échantillons de test.

9. VALIDATION DU TEST

Utiliser les contrôles fournis à chaque session.
Procédez comme indiqué dans le paragraphe « PROCÉDURE ».

Si le résultat n'est pas celui escompté, contacter le service clientèle.

Tél : 0039 0577 319554
courriel : scientificsupport@diesse.it
: customercare@diesse.it

10. INTERPRÉTATION DU TEST

Si le test semi-quantitatif est choisi, l'instrument donne le résultat en titre. Le test sur l'échantillon peut être interprété comme suit :

POSITIF : lorsque le résultat est $\geq 1/1$

NÉGATIF : lorsque le résultat est NÉGATIF

L'instrument est capable de détecter la présence de l'effet pro-zone avec une limite de 1/8 ; voir le manuel d'utilisation.

Si le test qualitatif est choisi, l'instrument fournit le résultat suivant :

POSITIF (POS) : échantillon réactif

NÉGATIF (NEG) : échantillon non réactif

Il est conseillé de vérifier visuellement les résultats obtenus pour confirmer le rapport.



POSITIF

NÉGATIF

11. LIMITES DU TEST

Le produit ne doit être utilisé que par du personnel de laboratoire professionnel.

Le test n'est pas applicable aux échantillons autres que le sérum. Le test ne s'applique qu'à l'instrument AUTO-DAT (RÉF 26001). Dans le test qualitatif, la présence de résultats faussement négatifs dus à l'effet pro-zone d'échantillons hautement positifs ne peut être exclue ; pour exclure la fausse négativité pour la pro-zone, les échantillons doivent être testés avec la procédure semi-quantitative.

Toutes les valeurs obtenues doivent être interprétées avec soin, sans négliger les autres indicateurs relatifs au même patient.

En effet, le test ne peut être utilisé seul pour un diagnostic clinique et le résultat obtenu doit toujours être évalué avec les données de l'histoire du patient et/ou d'autres investigations diagnostiques.

12. PLAGE DE MESURE

TEST SEMI-QUANTITATIF : 1/1 - 1/128 (Titre)

13. SPÉCIFICITÉ ANALYTIQUE

3 échantillons (1 négatif et 2 positifs) ont été dopés avec les facteurs d'interférence potentiels suivants, puis analysés :

Bilirubine (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)
Triglycérides (250 mg/dl - 1500 mg/dl)
Hémoglobine (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)
Facteur rhumatoïde (44 - 220 UI/ml)

La présence des substances interférentes décrites ci-dessus dans l'échantillon de sérum n'influence pas le résultat du test.

14. CROSS-RÉACTIFS

18 échantillons ont été testés positifs pour *Borrelia* (3), le virus de l'herpès (3), *Toxoplasma* (3), le cytomégalovirus (3), le virus d'Epstein-Barr (3) et la rubéole (3).

Aucune réaction croisée significative n'a été trouvée.

15. ÉTUDES COMPARATIVES

Dans un essai, 185 échantillons ont été analysés avec des kits Diesse et un autre kit commercial.

Voici un aperçu des données expérimentales :

		Référence		
		+	-	Total
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Total	98	87	185

Pourcentage d'accord positif (~Sensibilité diagnostique) : 100,0% CI95% : 96.2-100.0

Pourcentage d'accord négatif (~Spécificité diagnostique) : 96.6 % CI95 % : 90.3-98.8

Valeur Prédictive Positive (VPP) : 97.0 % CI95 % : 94.5-99.5

Valeur Prédictive Négative (VPN) : 100,0% CI95% : 100.0-100.0

Le degré de concordance entre les deux méthodes est excellent avec une valeur K (coefficient de Cohen) de 0,96.

16. PRÉCISION ET RÉPÉTABILITÉ

La précision et la répétabilité ont été évaluées sur des répliqués d'échantillons négatifs et positifs, dans trois lots différents, effectués à des jours différents et avec des instruments différents.

Tous les résultats obtenus se situaient dans les critères d'acceptation (Accord % $\geq$ 95 % entre les résultats attendus et obtenus), ce qui démontre la précision et la répétabilité de la méthode.

17. BIBLIOGRAPHIE

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1–21
2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of *Treponema pallidum* (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. SIGNALISATION D'INCIDENT

Si un incident grave s'est produit en relation avec cet appareil sur le territoire de l'Union européenne, le signaler sans délai au fabricant et à l'autorité compétente de votre État membre.

19. RÉSUMÉ DE LA SÉCURITÉ ET DES PERFORMANCES

Ce document, qui sera disponible dans la base de données EUDAMED (lorsqu'elle sera entièrement mise en œuvre et opérationnelle), fait partie de la documentation technique et peut être demandé au fabricant.



INSTRUCCIONES DE USO

RPR-DAT ADVANCED

Sólo para uso diagnóstico in vitro

1. USO PREVISTO

RPR-DAT ADVANCED (REF 26031) es una prueba de aglutinación no triponémica para la detección cualitativa y semicuantitativa de reagentes en suero humano que se aplica al instrumento AUTO-DAT (REF 26001).

Dado que las pruebas no treponémicas se basan en la detección de reagentes, una clase de anticuerpos presentes en la sífilis (enfermedad causada por la infección con *Treponema pallidum*), el kit está destinado a determinar la exposición a la infección por *Treponema pallidum* y servir de ayuda para su diagnóstico.

La prueba no está destinada a ser utilizada para detectar la exposición a la infección por *Treponema pallidum* en sangre, componentes sanguíneos, células, tejidos, órganos o cualquier derivado de los mismos con el fin de evaluar su idoneidad para transfusión, trasplante o administración celular.

Sólo debe ser utilizado por personal profesional de laboratorio.

2. INTRODUCCIÓN

La sífilis, causada por las espiroquetas *Treponema pallidum* (subsp. *pallidum*), es una infección crónica con muchas manifestaciones clínicas diferentes que se producen en fases distintas. Generalmente, esta enfermedad infecciosa sistémica se contrae por contacto sexual directo y presenta lesiones que contienen treponemas. Los únicos huéspedes conocidos son seres humanos.

Se dispone de muchas pruebas para el diagnóstico directo e indirecto de la sífilis, pero todavía no existe una única prueba óptima.

Los métodos de diagnóstico directo incluyen la detección de *T. pallidum* mediante el examen microscópico de fluidos o frotis de lesiones, el examen histológico de tejidos o métodos de amplificación de ácidos nucleicos como la reacción en cadena de la polimerasa (PCR).

El diagnóstico indirecto se basa en pruebas serológicas para la detección de anticuerpos. Las pruebas serológicas se dividen en dos categorías:

1. pruebas de cribado no treponémicas
2. pruebas treponémicas de confirmación

Las pruebas no treponémicas se basan en la detección de reagentes, una clase de anticuerpos presentes en la sífilis y ocasionalmente en otras afecciones agudas y crónicas. Las reagentes pueden detectarse en el suero aproximadamente 4-6 semanas después de la infección, o 1-3 semanas después de la aparición del sifiloma primario.

El extracto purificado de corazón de vacuno (cardiolipina) enriquecido con lecitina y colesterol se utiliza como antígeno para las pruebas de reagente. Las pruebas no treponémicas se utilizan habitualmente en la serología de la sífilis debido a sus

ventajas prácticas y a su reproducibilidad, aunque no siempre son específicas al 100%.

Dado que RPR-DAT ADVANCED es una prueba no treponémica, basada en el principio de floculación, está destinada a determinar la exposición a la infección por *Treponema pallidum* como ayuda al diagnóstico relativo.

3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La prueba se basa en el principio de floculación.

La muestra de suero se hace reaccionar en el pocillo de la microplaca con una suspensión coloidal de cardiolipina, lecitina y colesterol mezclada con micropartículas de carbón vegetal.

En presencia de anticuerpos (reagentes), que aglutinan el antígeno, se forma un agregado (reacción positiva). La reacción es negativa si aparece un círculo dentro del pocillo.

La prueba se aplica al instrumento AUTO-DAT (REF 26001), que capta la imagen de la reacción que se ha producido, la analiza, entrega e imprime un resultado calculado a partir de un algoritmo específico.

4. PRECAUCIONES

PARA USO EXCLUSIVO EN DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este kit contiene materiales de origen humano que han sido analizados y han resultado negativos tanto para el HBsAg como para los anticuerpos anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC. Dado que ninguna prueba de diagnóstico puede ofrecer una garantía total de ausencia de agentes infecciosos, todo material de origen humano debe considerarse potencialmente infectado. Todos los reactivos y muestras deben manipularse de acuerdo con las normas de seguridad normalmente adoptadas en el laboratorio.

Eliminación de residuos: las muestras y los reactivos utilizados deben tratarse como residuos infectados y eliminarse de acuerdo con las disposiciones legales.

Advertencias de seguridad personal

1. No pipetear con la boca.
2. Utilice guantes desechables y protección ocular al manipular las muestras.
3. Lávese bien las manos una vez finalizada la prueba.
4. En cuanto a las características de seguridad de los reactivos contenidos en el kit, consulte la ficha de datos de seguridad (disponible en el sitio web de DIESSE: www.diesse.it).
5. Cualquier derrame de materiales potencialmente infectados debe retirarse inmediatamente con papel absorbente y la zona contaminada debe descontaminarse, por ejemplo con hipoclorito sódico al 1%, antes de continuar el trabajo. Si hay un ácido presente, no debe utilizarse hipoclorito sódico hasta que la zona se haya secado.
Todos los materiales utilizados para descontaminar derrames accidentales, incluidos los guantes, deben desecharse como residuos potencialmente infecciosos.
No esterilizar en autoclave materiales que contengan hipoclorito de sodio.

Advertencias analíticas

Llevar los reactivos a temperatura ambiente (18-30°C) antes de su uso.

1. La prueba debe utilizarse junto con el instrumento AUTO-DAT (REF 26001), siguiendo estrictamente las instrucciones de uso y el manual del usuario del instrumento.
2. No modifique el procedimiento de prueba. No sustituya los reactivos por los de otros proveedores u otros lotes a menos que se indique específicamente que el reactivo es intercambiable entre lotes.
3. Compruebe que el aparato está correctamente configurado (véase el manual del usuario).
4. Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras.
5. No utilizar muestras hemolizadas, lipémicas, ictericas con una concentración de interferentes superior a la analizada (según las indicaciones del capítulo "Especificidad analítica").
6. No utilice el dispositivo después de la fecha de caducidad.
7. Tras su uso, conservar los reactivos a 2-8°C.
8. Evite la contaminación microbiana de los reactivos, ya que reduce la validez del producto y puede dar lugar a resultados erróneos.

5. COMPOSICIÓN DEL KIT Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS

Los reactivos son suficientes para 500 determinaciones.

ANTIGEN

ANTÍGENO

2 x 4 mL

Contenido: el antígeno consiste en una mezcla estabilizada de cardiolipina 0,003%, colesterol 0,09%, lecitina 0,02% y micropartículas de carbón vegetal 0,2 g/L

Atención: Conservar los viales en posición vertical cuando no se utilicen. Llevar a temperatura ambiente antes de usar. No agitar enérgicamente.

CONTROL +

CONTROL POSITIVO

1 x 0.5 mL

Contenido: Suero humano reactivo para sífilis, diluido al 15% como máximo en una solución proteica con azida sódica al 0,09%.

Líquido, listo para usar.

CONTROL -

CONTROL NEGATIVO/DILUYENTE DE LA MUESTRA

1 x 4 ml

Contenido: Suero humano 100%, no reactivo con Proclin 300 0,029% y gentamicina 0,05% como conservantes.

Líquido, listo para usar

OTRO MATERIAL NECESARIO PERO NO SUMINISTRADO:

- Instrumento AUTO-DAT (REF 26001)
- AUTO-DAT MICROPLATES RPR (REF 26006)
- Micropipetas capaces de tomar con precisión volúmenes de 15-25 µl.
- Guantes desechables
- Contenedores para la recogida de materiales potencialmente infectados

6. ALMACENAMIENTO Y ESTABILIDAD DE LOS REACTIVOS

Los reactivos deben conservarse a 2/8°C

Después del primer uso, las microplacas deben conservarse a temperatura ambiente.

La fecha de caducidad está impresa en cada componente y en la etiqueta exterior del envase.

La estabilidad de los reactivos no cambia después de abrir el frasco, siempre que el usuario tenga cuidado de mantener el producto a salvo de una posible contaminación microbiana.

7. TIPO DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO

El tipo de muestra es suero obtenido de sangre extraída por venopunción y manipulado según los procedimientos estándar de laboratorio.

Según la directriz H18-A3 del CLSI, las muestras de suero para análisis deben coagularse antes de la centrifugación; la coagulación espontánea y completa se produce normalmente en 30-60 minutos a 22°C-25°C. Se recomienda separar físicamente el suero, por centrifugación, del contacto celular lo antes posible con un plazo máximo de 2 horas desde el momento de la recogida.

El suero fresco puede conservarse durante 7 días a 2/8°C; para periodos de almacenamiento más largos, congélelo a -20°C durante al menos 10 meses.

La muestra puede someterse a un máximo de 3 descongelaciones.

Evite el uso de congeladores autodescongelantes para el almacenamiento de muestras. Tras la descongelación, agitar cuidadosamente la muestra antes de la dosificación.

La inactivación por calor puede proporcionar resultados erróneos.

La calidad de la muestra puede verse seriamente afectada por la contaminación microbiana, lo que puede dar lugar a resultados erróneos.

8. PROCEDIMIENTO

El operador puede elegir si desea realizar la prueba en el modo:

- cualitativo
- semicuantitativo

La evaluación del resultado se realiza observando la aglutinación de la muestra en el pocillo individual, en el caso de una reacción cualitativa, o en el patrón de pocillos, en el caso de una reacción semicuantitativa.

Llevar los reactivos y las muestras a temperatura ambiente y resuspender el reactivo.

PRUEBA CUALITATIVA

1. Añadir 25 µl de suero de prueba en el fondo del pocillo de la microplaca. Tenga cuidado de no transferir ningún elemento celular. **Evitar la formación de burbujas.**
2. Repita el paso 1 para cada muestra que vaya a analizar.
3. Añadir 15 µl del antígeno a cada pocillo. **Evitar la formación de burbujas.**
4. Compruebe que la mezcla de muestra y antígeno está distribuida **uniformemente en el fondo del pocillo**. En caso contrario, prepárelo golpeando la placa lateralmente y/o golpeando suavemente sobre la superficie de trabajo.
5. Coloque la placa en el AUTO-DAT (REF 26001) y siga las instrucciones.
6. Al final del análisis, retire la placa del instrumento AUTO-DAT y deseche los pocillos en los que se produjo la reacción. Los pocillos no utilizados anteriormente pueden utilizarse para análisis posteriores.

NOTA: los controles positivo y negativo se suministran listos para su uso y no requieren dilución previa. Deben someterse a prueba en cada sesión del mismo modo que las muestras de ensayo.

En el caso de una muestra positiva, se recomienda un análisis semicuantitativo.

PRUEBA SEMICUANTITATIVA

Realizar diluciones dobles de la muestra de prueba desde sin diluir (1/1) hasta 1/128:

1. Añadir 25 µL de Control Negativo/Diluyente B1 a H1.
2. Añadir 25 µL de suero de prueba en el pocillo A1 y en el B1, mezclando bien. Tenga cuidado de no transferir ningún elemento celular. **Evitar la formación de burbujas.**
3. Tomar 25 µL de B1 y transferirlos al pocillo C1. **Mezclar bien antes de trasvasar, evitando la formación de burbujas.**
4. Realizar diluciones seriadas: repetir el paso 3 para los pocillos siguientes hasta H1. **De esta última desechar 25 µL.**
5. Siga el procedimiento descrito para la prueba cualitativa del paso 3 al paso 6.

Repetir la operación descrita para todas las muestras a analizar utilizando las otras columnas de la placa.

	step 1	step 2	step 3	
	1	1	1	DIL
A		25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/1
B	25 µl CONTROL -	25 µl sample	15 µl ANTIGEN	1/2
C	25 µl CONTROL -	+25 µl B1	15 µl ANTIGEN	1/4
D	25 µl CONTROL -	+25 µl C1	15 µl ANTIGEN	1/8
E	25 µl CONTROL -	+25 µl D1	15 µl ANTIGEN	1/16
F	25 µl CONTROL -	+25 µl E1	15 µl ANTIGEN	1/32
G	25 µl CONTROL -	+25 µl F1	15 µl ANTIGEN	1/64
H	25 µl CONTROL -	+25 µl G1	15 µl ANTIGEN	1/128



DISCARD 25 µl

El título vendrá dado por la última dilución encontrada reactiva con el instrumento

NOTA: los controles positivo y negativo se suministran listos para su uso y no requieren dilución previa. Deben someterse a prueba en cada sesión del mismo modo que las muestras de ensayo.

9. VALIDACIÓN DE LA PRUEBAS

Utilice los controles que se le proporcionarán en cada sesión. Proceda como se describe en la sección "PROCEDIMIENTO". Si el resultado es distinto del esperado, póngase en contacto con el Servicio de Atención al Cliente.

Tel: 0039 0577 319554
 correo: scientificsupport@diesse.it
 electrónico: customercare@diesse.it

10. INTERPRETACIÓN DE LA PRUEBA

Si se elige la prueba semicuantitativa, el instrumento da el resultado en título. La prueba de la muestra de prueba puede interpretarse del siguiente modo:

POSITIVO: cuando el resultado es $\geq 1/1$

NEGATIVO: cuando el resultado es NEG

El instrumento es capaz de detectar la presencia de efecto pro-zona con un límite de 1/8; véase el manual de usuario.

Si se elige la prueba cualitativa, el instrumento proporciona el resultado de la siguiente manera:

POSITIVO (POS): muestra reactiva

NEGATIVO (NEG): muestra no reactiva

Es aconsejable comprobar visualmente los resultados obtenidos para confirmar el informe.



POSITIVO

NEGATIVO

11. LIMITACIONES DE LA PRUEBA

El producto sólo debe ser utilizado por personal profesional de laboratorio.

La prueba no es aplicable a muestras distintas del suero.

La prueba sólo es aplicable al instrumento AUTO-DAT (REF 26001).

En la prueba cualitativa, no puede excluirse la presencia de resultados falsos negativos debidos al efecto pro-zona de muestras altamente positivas, para excluir la falsa negatividad para pro-zona las muestras deben analizarse con el procedimiento semi-cuantitativo.

Todos los valores obtenidos necesitan una interpretación cuidadosa sin dejar de lado otros indicadores relativos al mismo paciente.

De hecho, la prueba no puede utilizarse por sí sola para un diagnóstico clínico y el resultado obtenido debe evaluarse siempre junto con los datos de la historia clínica del paciente y/u otras investigaciones diagnósticas.

12. RANGO DE MEDIDA

PRUEBA SEMICUANTITATIVA: 1/1 – 1/128 (Título)

13. ESPECIFICIDAD ANALÍTICA

3 muestras (1 negativa y 2 positivas) se enriquecieron con los siguientes factores potencialmente interferentes y se han analizado a continuación:

Bilirrubina (4,5 mg/dl - 45 mg/dl)

Triglicéridos (250 mg/dl - 1500 mg/dl)

Hemoglobina (2,5 mg/ml - 10 mg/ml)

Factor reumatoide (44 - 220 UI/ml)

La presencia en la muestra de suero de las sustancias interferentes descritas anteriormente no altera el resultado de la prueba.

14. REACTIVIDAD CRUZADA

Se han analizado 18 muestras, positivas para *Borrelia* (3), Herpes virus (3), *Toxoplasma* (3), Cytomegalovirus (3), Virus de Epstein-Barr (3) y Rubéola (3).

No se han encontrado reacciones cruzadas significativas.

15. ESTUDIOS COMPARATIVOS

En un ensayo, se han analizado 185 muestras con kits Diesse y otro kit comercial.

A continuación se resumen los datos experimentales:

		Referencia		
		+	-	Total
Diesse	+	98	3	101
	-	0	84	84
	Total	98	87	185

Porcentaje de acuerdo positivo (~Sensibilidad diagnóstica): 100,0% CI95%: 96.2-100.0

Porcentaje de acuerdo negativo (~Especificidad diagnóstica): 96,6% CI95%: 90.3-98.8

Valor predictivo positivo (VPP): 97,0% CI95%: 94.5-99.5

Valor predictivo negativo (VPN): 100,0% CI95%: 100.0-100.0

El grado de concordancia entre los dos métodos es excelente, con un valor K (Coeficiente de Cohen) de 0.96.

16. PRECISIÓN Y REPETIBILIDAD

La precisión y la repetibilidad se han evaluado en réplicas de muestras negativas y positivas, en tres lotes diferentes, en días diferentes y con instrumentos diferentes.

Todos los resultados obtenidos se sitúan dentro de los criterios de aceptación (Acuerdo % $\geq$ 95% entre los resultados esperados y los obtenidos), lo que demuestra la precisión y repetibilidad del método.

17. BIBLIOGRAFÍA

1. Larsen S.A et All. Laboratory Diagnosis and Interpretation of Tests for Syphilis CLINICAL MICROBIOLOGY REVIEWS (1995), p. 1–21
2. Antonio Fuertes Ortiz de Urbina Syphilis (Book)
3. WHO guidelines for the treatment of *Treponema pallidum* (Syphilis) (2016)
4. Morshed M.G. et All. Recent Trends in the Serologic Diagnosis of Syphilis. Clinical and Vaccine Immunology (2015) Volume 22 Number 2
5. Meredith E. et All. RPR and the Serologic Diagnosis of Syphilis. JAMA. Author manuscript (2019)
6. Tuddenham S. et All. Syphilis Laboratory Guidelines: Performance Characteristics of Nontreponemal Antibody Tests. Clinical Infectious Diseases (2020):71 (Suppl 1)

18. NOTIFICACIÓN DE INCIDENTES

Si se ha producido un incidente grave relacionado con este aparato en el territorio comercial de la Unión Europea, notifíquelo sin demora al fabricante y a la autoridad competente de su Estado miembro.

19. RESUMEN DE SEGURIDAD Y RENDIMIENTO

Este documento, que estará disponible en la base de datos EUDAMED (cuando esté plenamente implantado y en funcionamiento), forma parte de la Documentación Técnica y puede solicitarse al fabricante.

	EN IT DE ES CS	Date of manufacture Data di fabbricazione Herstellungsdatum Fecha de fabricación Datum výroby	FR EL PT PL RO RU	Date de fabrication Ημερομηνία Παραγωγής Data de fabrico Data produkcji Data fabricatiei Дата изготовления
	EN IT DE ES CS	Use By Utilizzare entro Verwendbar bis Fecha de caducidad Použijte do	FR EL PT PL RO RU	Utiliser jusque Ημερομηνία λήξης Prazo de validade Zużyć do dnia A se folosi pana la Срок годности
	EN IT DE ES CS	Do not reuse Non riutilizzare Nicht wieder verwenden No reutilizar Nepoužívejte znovu	FR EL PT PL RO RU	Ne pas réutiliser Μην κάνετε επαναληπτική χρήση Não reutilizar Nie używać ponownie A nu se refolosi Запрет на повторное применение
	EN IT DE ES CS	Caution, consult accompanying documents Attenzione, vedere le istruzioni per l'uso Achtung, die Gebrauchsanleitung lesen Atención, ver instrucciones de uso Pozor, řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO RU	Attention voir notice d'instructions Προειδοποίηση, συμβουλευτείτε τα συνοδά έντυπα Atenção, consulte a documentação incluída Uwaga, patrz instrukcja obsługi Atentie, consultați documentele însoțitoare Осторожно! Рекомендуется изучить инструкции к медицинскому изделию
	EN IT DE ES CS	Manufacturer Fabbricante Hersteller Fabricante Výrobce	FR EL PT PL RO RU	Fabricant Κατασκευαστής Fabricante Producent Productator Изготовитель
	EN IT DE ES CS	Contains sufficient for <n> tests Contenuto sufficiente per "n" saggi Inhalt reicht für „n“ Tests Contenido suficiente para <n> ensayos Dostatečný obsah pro „n“ testů	FR EL PT PL RO RU	Contenu suffisant pour "n" tests Περιεχόμενο επαρκές για «n» εξετάσεις Conteúdo suficiente para “n” ensaios Wystarczająca ilość materiału do „(liczby)” badań Continut sufficient pt <n> teste Достаточное содержание для "n" отчетов
	EN IT DE ES CS	Temperature limitation Limiti di temperatura Temperaturgrenzwerte Límite de temperatur Limity teploty	FR EL PT PL RO RU	Limites de température Περιορισμοί θερμοκρασίας Limites de temperatura Granice temperatury Limita da temperatura Ограничение температуры
	EN IT DE ES CS	Consult Instructions for Use Consultare le istruzioni per l'uso Die Gebrauchsanleitung lesen Consulte las instrucciones de uso Řiďte se návodem k použití	FR EL PT PL RO RU	Consulter les instructions d'utilisation Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης Consulte as instruções de utilização Należy zapoznać się z instrukcją obsługi Pentru utilizare consultați instrucțiunile Обратитесь к руководству по эксплуатации
	EN IT DE ES CS	Catalogue number Numero di catalogo Katalognummer Número de catálogo Číslo katalogu	FR EL PT PL RO RU	Référence du catalogue Αριθμός καταλόγου Referência de catálogo Numer katalogowy Numar de catalog Номер по каталогу
	EN IT DE ES CS	In Vitro Diagnostic Medical Device Dispositivo medico-diagnostico in vitro Medizinisches In-vitro-Diagnostikum Producto sanitario para diagnóstico in vitro Zdravotnický nástroj k diagnostice in vitro	FR EL PT PL RO RU	Dispositif médical de diagnostic in vitro In Vitro Διαγνωστικό Ιατροτεχνολογικό προϊόν Dispositivo médico para diagnóstico in vitro Wyrób medyczny do diagnostyki in vitro Dizpozitiv medical pentru diagnosticare in vitro Медицинское устройство для диагностики in vitro

	EN Batch code IT Codice del lotto DE Chargennummer ES Código de lote CS Kód šarže	FR Code du lot EL Αριθμός Παρτίδας PT Código do lote PL Kod partii RO Lot RU Код партии
	EN CE marking of conformity IT Marcatura CE di conformità DE CE-Konformität Skenneichnung ES Marcado CE de conformidad CS Označení shody CE	FR Marquage de conformité CE EL Σημανση συμμορφωση CE PT Marcação CE de conformidade PL Oznakowanie zgodności CE RO Marcajul de conformitate CE RU Маркировка соответствия CE