

USO

Dispositivo medico-diagnostico in vitro, immunocromatografico, per la determinazione qualitativa, rapida, degli anticorpi IgG e IgM diretti contro il *Treponema pallidum* (TP), agente eziologico della sifilide, nel sangue intero, siero o plasma umano, quale ausilio diagnostico nella diagnosi di sifilide.

Esclusivamente per uso diagnostico professionale in vitro.

SOMMARIO e CONSIDERAZIONI CLINICHE

Il *Treponema pallidum* (TP) è l'agente eziologico della sifilide (malattia venerea). Il T.P. è un batterio (spirochete) che possiede un involucro esterno ed una membrana citoplasmatica¹. Si tratta di un microorganismo relativamente piccolo, se confrontato con altri batteri patogeni. In accordo con quanto riportato dal CDC (Center for Disease Control), il numero di casi di sifilide è significativamente in aumento dal 1985². Alcuni fattori che potrebbero essere la causa di ciò vanno ricercati nelle inoculazioni endovenose di cocaina e dall'elevata incidenza di prostituzione nei tossicodipendenti³. In uno studio è stato evidenziato che un'elevata percentuale di donne HIV-positive risultano reattive per i tests sierologici relativi alla sifilide⁴. Molteplici stadi clinici e lunghi periodi di latenza sono caratteristici di infezioni asintomatiche da T.P. La sifilide primaria è definita come la presenza di un'ulcera venerea nel sito di inoculo. La risposta anticorpale verso il T.P. può essere evidenziata da 4 a 7 giorni dopo l'apparizione dell'ulcera. L'infezione rimane evidenziabile fino a quando il paziente non viene sottoposto ad adeguato trattamento clinico⁵.

PRINCIPIO DEL METODO

Si tratta di una metodica qualitativa su membrana, rapida, basata sul principio immunocromatografico, in grado di evidenziare la presenza di anticorpi di classe IgG e IgM anti- *Treponema pallidum* nel sangue intero, siero o plasma. Sulla linea presente nella regione T (test) sono immobilizzati antigeni ricombinanti del *Treponema pallidum*.

Dopo aver inoculato un'aliquota di siero nel pozzetto del campione, avviene una prima reazione con le particelle rivestite di antigeni del *Treponema*, applicate all'interno del pozzetto: questi complessi migrano cromatograficamente sulla membrana del supporto di reazione e si combinano con ulteriori antigeni di *Treponema* immobilizzati in corrispondenza della regione T, sviluppando una banda colorata in rosa qualora siano presenti anticorpi anti-*Treponema* nel campione. In assenza di tali anticorpi, non si osserva la formazione della banda colorata in corrispondenza della zona di reazione positiva (regione T) indicando un risultato negativo. La procedura con doppio antigene permette di rilevare l'eventuale presenza sia di IgG che di IgM specifiche nel campione. La miscela di reazione continua a passare attraverso il supporto cromatografico superando la regione T, raggiungendo la regione C (zona di controllo negativa) e producendo la banda colorata in rosa, a dimostrazione che i reagenti ed il sistema di reazione hanno funzionato correttamente (controllo procedurale).

COMPOSIZIONE DEI REAGENTI

Supporti di reazione (card reattive monouso): contengono particelle rivestite con antigene di *Treponema pallidum* ed antigene di *Treponema pallidum* adesivo alla membrana del supporto.

PRECAUZIONI

- Esclusivamente per uso diagnostico professionale *in vitro*. Non utilizzare oltre la data di scadenza.
- Non mangiare, bere o fumare nell'area in cui campioni o kit vengono maneggiati.
- Non utilizzare il supporto di reazione qualora il sacchetto risulti danneggiato.
- Manipolare tutti i campioni come contenenti agenti infettivi. Durante l'intera analisi, adottare le precauzioni indicate contro i pericoli microbiologici e attenersi alle procedure standard per un corretto smaltimento dei campioni.
- Durante l'analisi dei campioni, indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi.
- I supporti di reazione (card) usati devono essere smaltiti in conformità alle normative locali.
- Umidità e temperatura possono esercitare effetti negativi sui risultati.

CONSERVAZIONE E STABILITA' DEI REAGENTI

Conservare all'interno del suo sacchetto sigillato integro a temperatura ambiente o in frigorifero (2-30 °C). Il test è stabile fino alla data di scadenza indicata sul sacchetto sigillato. Il test deve rimanere nel sacchetto sigillato fino al momento dell'utilizzo. **NON CONGELARE**. Non utilizzare oltre la data di scadenza.

COMPOSIZIONE DEL KIT

- Card reattive monouso: supporti di reazione
- Tampone di diluizione (buffer): da impiegarsi solo per campioni di sangue intero
- Contagocce monouso
- Istruzioni per l'uso

ATTREZZATURA RICHIESTA (non a corredo)

- Provette per prelievo
- Lancette pungidito (da impiegarsi solo per campioni di sangue intero)
- Capillari eparinati con bulbo dispensatore (da impiegarsi solo per campioni di sangue intero)
- Centrifuga
- Timer

RACCOLTA DEL CAMPIONE

Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma) può essere eseguito su sangue intero (mediante prelievo venoso o pungidito), siero o plasma.

Per la raccolta di **campioni di sangue intero con prelievo venoso**: prelevare campioni di sangue con anticoagulante (sodio o eparina di litio, potassio o sodio EDTA, sodio ossalato, sodio citrato) attenendosi alle procedure standard di laboratorio.

Per la raccolta di **campioni di sangue intero con pungidito**:

- Lavare la mano del paziente con acqua calda e sapone o pulirla con un tampone imbevuto di alcool. Lasciare asciugare.
- Massaggiare la mano, senza toccare il punto dell'inserimento della lancetta, sfregando verso la punta del dito medio o anulare.
- Pungere il dito con una lancetta sterile. Rimuovere le prime gocce di sangue.
- Strofinare delicatamente la mano dal polso verso il palmo e il dito in modo che si formi una quantità di sangue sufficiente sul sito della puntura.
- Dispensare nel test il campione di sangue intero prelevato con il pungidito utilizzando una **provetta per prelievo capillare**.
- Porre a contatto con il sangue l'estremità della provetta per prelievo capillare, fino al raggiungimento della linea (circa 50 µl). Evitare la formazione di bolle d'aria.
- Posizionare il bulbo sull'estremità superiore della provetta per prelievo capillare, quindi premerlo in modo da dispensare il sangue intero nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi.
- Dispensare nel test il campione di sangue intero prelevato con il pungidito utilizzando **direttamente le gocce dopo puntura del dito**.
- Dopo aver punto con lancetta, posizionare il polpastrello del paziente appena sopra il pozzetto del campione (S) presente sulla card
- Lasciar cadere 2 gocce di sangue dal polpastrello esattamente al centro del pozzetto del campione (S) presente sulla card, **evitando di toccare direttamente con il polpastrello punto il pozzetto del campione**.
- Separare il siero o il plasma dal sangue appena possibile, onde evitare emolisi. Utilizzare esclusivamente campioni limpidi, non emolizzati.
- Effettuare il test subito dopo aver prelevato i campioni. Non lasciare i campioni a temperatura ambiente per periodi prolungati. I campioni di siero e plasma possono essere conservati a 2-8 °C per massimo 3 giorni. Per la conservazione a lungo termine, tenere i campioni a temperature al di sotto di -20 °C. I campioni di sangue intero raccolti per via endovenosa devono essere conservati a una temperatura di 2-8 °C se il test viene effettuato entro 2 giorni dal prelievo. Non congelare i campioni di sangue intero. I campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito devono essere analizzati immediatamente.
- Portare i campioni a temperatura ambiente prima di eseguire l'analisi. I campioni congelati devono essere scongelati completamente e accuratamente miscelati prima dell'analisi. I campioni non devono essere sottoposti a più cicli di congelamento e scongelamento.
- Se i campioni devono essere spediti, il confezionamento deve essere conforme alle normative locali relative al trasporto di agenti biologici potenzialmente infettanti (biohazard).

PROCEDIMENTO OPERATIVO

Prima di eseguire l'analisi, riportare la card, il campione, il tampone e/o i controlli a temperatura ambiente (15-30 °C).

1. Portare il sacchetto a temperatura ambiente prima dell'apertura. Rimuovere il dispositivo di analisi dal sacchetto sigillato e utilizzarlo prima possibile.
2. Posizionare il dispositivo di analisi su una superficie piana pulita.

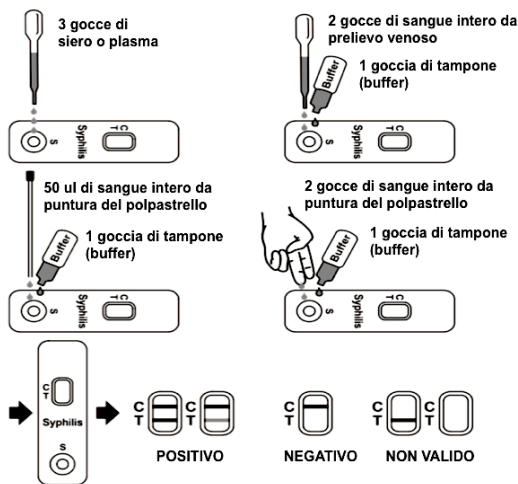
Per i **campioni di siero o plasma**: tenere il contagocce in posizione verticale e **trasferire 3 gocce di siero o plasma** (circa 75 µl) nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi, quindi dispensare 1 goccia di tampone nel pozzetto del campione (S). Avviare il timer. Vedere la figura sotto.

Per i **campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito**: tenere il contagocce in posizione verticale e **trasferire 2 gocce di sangue intero** (circa 50 µl) nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi, quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl) e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

Per i **campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito**: riempire la provetta per prelievo capillare e **trasferire circa 50 µl di sangue intero prelevato mediante pungidito** nel pozzetto del campione (S) del dispositivo di analisi, quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl) e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

Per i **campioni di sangue intero prelevati mediante pungidito ed impiego diretto delle gocce di sangue**: Lasciar cadere 2 gocce di sangue dal polpastrello (circa 50 µl) esattamente al centro del pozzetto del campione (S) presente sulla card, **evitando di toccare direttamente con il polpastrello** il pozzetto del campione, quindi **dispensare 1 goccia di tampone** (circa 40 µl) e avviare il timer. Vedere la figura sotto.

1. Attendere la comparsa della linea o delle linee colorate. **Leggere i risultati dopo un intervallo di tempo di 10 minuti.** Non interpretare il risultato oltre i 30 minuti dalla dispensazione.



INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Facendo riferimento allo schema operativo riportato di seguito, si potranno ottenere tre tipi di risultati:

POSITIVO:* compaiono due linee. Una linea colorata deve trovarsi nell'area di controllo (C) e un'altra linea colorata evidente deve trovarsi nell'area di test (T).

*NOTA: l'intensità del colore nell'area di test (T) varia in base alla concentrazione di anticorpi contro *T.pallidum* presenti nel campione. Pertanto, ogni sfumatura di colore nell'area di test (T) deve essere considerata un risultato positivo.

NEGATIVO: compare una linea colorata nell'area di controllo (C). Non compare alcuna linea nell'area di test (T).

NON VALIDO: non compare la linea di controllo. Le cause più probabili della mancata comparsa della linea di controllo sono rappresentate da un volume di campione insufficiente o da errori procedurali. Verificare la procedura e ripetere l'analisi con una nuova card. Se il problema persiste, interrompere immediatamente l'utilizzo del kit di test e contattare il distributore locale.

CONTROLLO DI QUALITÀ

Nella card è incluso un controllo procedurale interno. La comparsa di una linea colorata nell'area di controllo (C) deve essere considerata un controllo procedurale interno di corretta esecuzione del test. Fornisce la conferma che è stato applicato un volume di campione sufficiente, che si è verificato un adeguato assorbimento da parte della membrana e che è stata utilizzata la tecnica procedurale corretta.

Campioni certificati di controllo non vengono forniti in questo kit; tuttavia, si consiglia di analizzare controlli negativi e positivi come buona prassi di laboratorio, per conferma della procedura di test e per verificare le corrette prestazioni del test.

LIMITAZIONI DEL METODO

1. *Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma)* è destinato esclusivamente all'uso diagnostico professionale *in vitro*. Il test deve essere utilizzato esclusivamente per la rilevazione di anticorpi contro *T. pallidum* in sangue intero, siero o plasma. Questo test qualitativo non consente di ottenere un valore quantitativo né di determinare il tasso di aumento della concentrazione di anticorpi contro il *T. pallidum*.

- Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma)* è in grado di rilevare esclusivamente la presenza di anticorpi contro *T. pallidum* nel campione e non deve essere utilizzato come unico criterio per la diagnosi di infezione da *T. pallidum*.
- Come per tutti i test diagnostici, i risultati devono essere interpretati unitamente alle altre informazioni cliniche disponibili.
- Se il risultato del test è negativo e i sintomi clinici persistono, si consiglia di eseguire analisi aggiuntive con altri metodi clinici. Un risultato negativo non preclude in alcun momento la possibilità di infezione da *T. pallidum*. Un risultato negativo indica non è presente l'anticorpo IgG e/o IgM contro *T. pallidum* o che tale presenza è inferiore al limite di rilevazione del test.

VALORI ATTESI

Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma) è stato confrontato con metodica TPHA-Sifilide regolarmente in commercio, dimostrando una accuratezza complessiva pari al 99.7%.

CARATTERISTICHE DEL METODO

Sensibilità, specificità e accuratezza clinica

Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma) ha correttamente identificato campioni provenienti da un pannello di sieroconversione ed è stato confrontato con kit TPHA-Sifilide regolarmente in commercio di ottimali caratteristiche, utilizzando campioni clinici. I risultati mostrano che la sensibilità relativa di *Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma)* è risultata del 99.7% e la specificità relativa è risultata del 99.6%.

Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma) vs. TPHA

Metodo	TPHA		Risultati totali
	Risultati Positivo	Risultati Negativo	
<i>Syphilis Ultra (SYP)</i> (sangue intero, siero o plasma)	Positivo	2	386
	Negativo	493	494
Risultati totali	385	495	880

Sensibilità relativa = 99.7% (98.6%-100%)*

Specificità relativa = 99.6% (98.6%-100%)*

Accuratezza = 99.7% (99.0%-99.9%)*

(* al 95% dell'intervallo di confidenza)

PRECISIONE

Intrasaggio

La precisione intrasaggio è stata determinata impiegando 10 replicati di quattro campioni: un negativo, un positivo a basso titolo, un positivo a medio titolo e un positivo ad alto titolo di anticorpi anti-T.p. I campioni sono stati correttamente identificati in più del 99% dei casi.

Intersaggio

La precisione intersaggio è stata determinata attraverso 10 saggi indipendenti dei medesimi 4 campioni: un negativo, un positivo a basso titolo, un positivo a medio titolo e un positivo ad alto titolo di anticorpi anti-T.p. Sono stati testati 3 differenti lotti di *Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma)* per analizzare i medesimi campioni sopra descritti per un periodo di 3 giorni. I campioni sono stati correttamente identificati in più del 99% dei casi.

BIBLIOGRAFIA

- Claire M. Fraser. Complete genome sequence of *Treponema Pallidum*, the *Syphilis* spirochete, *Science* 1998; 281 July: 375-381
- Center for Disease Control: *Recommendations for diagnosing and treating syphilis in HIV-infected patients*. MMWR Morb. Mortal Wkly Rep.; 37:601 (1988)
- Aral R. Marx. Crack, sex and STD, *Sexually Transmitted Diseases*, 1991; 18:92-101
- J.N. Wasserheit. Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases, *Sexually Transmitted Diseases* 1992; 19:61-77
- Phillip, C. Johnson.; *Dermatologic Clinic*; 12 Jan:9-17 (1994)

Indice dei simboli

	Consultare le istruzioni per l'uso		Test per kit		Rappresentant e autorizzato
	Esclusivamente per uso diagnostico <i>in vitro</i>		Data di scadenza		Monouso
	Conservare a 2-30 °C		Numero lotto		N. catalogo

Codici di Riordino:

C0104 *Syphilis Ultra (SYP) (sangue intero, siero o plasma)*

20 determinazioni



Bio Plastic Sas - 00100 Roma