

**DAC-SpectroMed s.r.l.**

МД-2012, Молдова, г. Кишинев, ул. Армянская, 47, кв. 64  
 Тел.: +37322/ 574900, 574922/23; факс: +37322/ 574920  
 Email: office@dacspectromed.com  
 www.dacspectromed.com

**ТРНА-ДАС**

PT MD 11-38623324-001:2002

Только для диагностики «in vitro»

**Хранить при 2-8°C****ТЕСТ НА СИФИЛИС. ГЕМАГГЛЮТИНАЦИЯ. АНТИТЕЛА К БЛЕДНОЙ ТРЕПОНЕМЕ.****ПРИНЦИП МЕТОДА**

Метод основан на реакции непрямой гемагглютинации эритроцитов птицы, сенсibilизированных антигеном бледной трепонемы.

В случае присутствия антител к бледной трепонеме в образце, происходит агглютинация с образованием комплекса «антиген – антитело», наблюдаемого макроскопически в виде характерного рисунка в планшете микротитрации.

**СОСТАВ НАБОРА**

Наименование и состав реагентов	Код продукции	
	1044T100	1044T200
<b>ТРНА-Test Reagent</b> - суспензия синтетических эритроцитов, покрытых T. Pallidum антигеном, pH 7,2, азид натрия 0,95 g/l	7,5 ml	15 ml
<b>ТРНА-Control Reagent</b> – суспензия эритроцитов, pH 7,2, азид натрия 0,95 g/l	7,5 ml	15 ml
<b>Diluent Buffer</b> - фосфатно-солевой буфер, pH 7,2, азид натрия 0,95 g/l	20 ml	40 ml
<b>ТРНА-Positive Control</b> – положительный синтетический контроль, <b>разбавленный 1:20</b> , титр в диапазоне 1/640-1/2560, азид натрия 0,95 g/l	0,25 ml	0,25 ml
<b>ТРНА-Negative Control</b> – отрицательный синтетический контроль, азид натрия 0,95 g/l	0,25 ml	0,25 ml

Компоненты не должны заменяться аналогичными из других серий.

**ХРАНЕНИЕ РЕАГЕНТОВ**

Реагенты хранить в вертикальном положении при 2-8°C и использовать до истечения срока годности, указанного на этикетке. **ЗАМОРАЖИВАНИЕ НЕДОПУСТИМО!**

**ОБРАЗЦЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Сыворотка нелипемическая и без гемолиза.  
 Стабильна при 2-8°C до 7 дней, при минус 20°C – 3 месяца.  
 Сыворотку, разведенную **Diluent Buffer** в соотношении 1:20 или 1:5, использовать в тот же день.

**ДОПОЛНИТЕЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ**

Дозаторы 10 µl, 25 µl, 75 µl и 190 µl.  
 Планшет для титрования сывороток с U-образными лунками.

**МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ**

Набор предназначен только для диагностики **in vitro**.  
 Образцы должны рассматриваться как потенциально опасные и обрабатываться как инфекционные.  
 Возможные остатки реагентов подлежат уничтожению в соответствии с утвержденными внутрибольничными правилами.

**ПРИГОТОВЛЕНИЕ РАБОЧИХ РЕАГЕНТОВ**

Все реагенты готовы к использованию.

**ХОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ**

Доведите реагенты и тестируемые образцы до комнатной температуры (18-22°C) и тщательно встряхните **ТРНА-Test Reagent** и **ТРНА-Control Reagent** до отсутствия осадка эритроцитов на дне флакона.

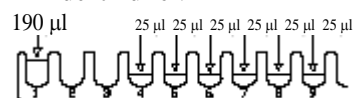
**Внимание!** **ТРНА-Positive Control**, входящий в состав набора, разбавлен в соотношении **1:20** и готов к использованию, поэтому при проведении теста его не следует разбавлять.

**Качественный вариант:**

- Для каждого тестируемого образца подготовьте **разбавленный образец (1:20)**: в лунку № 1 внесите 190 µl **Diluent Buffer** и 10 µl сыворотки пациента, и перемешайте.
- Используя микродозатор, тщательно перемешайте содержимое лунки № 1 и переместите по 25 µl **разбавленного образца (1:20)** в лунки № 2 и № 3.
- Убедитесь, что **ТРНА-Control Reagent** и **ТРНА-Test Reagent** хорошо перемешаны, и добавьте в лунку № 2 - 75 µl **ТРНА-Control Reagent** и в лунку № 3 - 75 µl **ТРНА-Test Reagent**.
- Смешайте содержимое лунок, тщательно обстукивая все четыре стороны пластины.
- Накройте пластину и инкубируйте при 18-22°C в течение 45-60 минут.
- Внимание!** Поместите планшет вдалеке от прямого источника тепла, солнечных лучей и источников вибрации (центрифуга, холодильник и др.).
- Оцените результат. При закрытом планшете результаты стабильны в течение 24 часов.

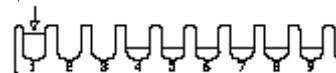
**Количественный вариант:**

- Отмаркируйте для каждого образца 9 лунок.
- Пропипетируйте в лунку № 1 - 190 µl **Diluent Buffer**, а в лунки № 4-9 - по 25 µl.

**Diluent Buffer:**

- Подготовьте **разбавленный образец (1:20)**: в лунку № 1 внесите 10 µl сыворотки пациента, и тщательно перемешайте:

10 µl сыворотки  
пациента

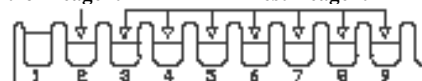


- Поместите в лунки № 2, 3 и 4 по 25 µl **разбавленного образца (1:20)**, перемешайте.
- Подготовьте **серийные разведения**: перенесите из лунки № 4 - 25 µl **разбавленного образца** в лунку № 5, затем из лунки № 5 - 25 µl в лунку № 6 и также далее до последней лунки № 9. Затем из последней лунки удалите 25 µl:



- Убедитесь, что **ТРНА-Control Reagent** и **ТРНА-Test Reagent** хорошо перемешаны, и поместите в лунку № 2 - 75 µl **ТРНА-Control Reagent**, а в лунки № 3-9 – по 75 µl **ТРНА-Test Reagent**:

75 µl ТРНА -      по 75 µl  
Control Reagent      ТРНА - Test Reagent



1:80 1:80 1:160 1:3201:640 1:12801:2560 1:5120

7. Смешайте содержимое лунок, тщательно обстукивая все четыре стороны пластины.

8. Накройте пластину и инкубируйте при 18-22<sup>0</sup>C в течение 45-60 минут.

**Внимание!** Поместите планшет вдалеке от прямого источника тепла, солнечных лучей и источников вибрации (центрифуга, холодильник и др.).


9. Оцените результат. При закрытом планшете результаты стабильны в течение 24 часов.


### ОЦЕНКА РЕЗУЛЬТАТОВ РЕАКЦИИ


Исследуйте визуально характер осадка эритроцитов.


Произведите оценку результатов путём сравнения рисунков в лунках с тест-эритроцитами и в контрольных лунках.


Результаты реакции оцениваются по следующим критериям:


 (4+) - **Устойчиво-положительная** - гладкая пленка эритроцитов, покрывающая все дно лунки, иногда с отогнутыми краями.

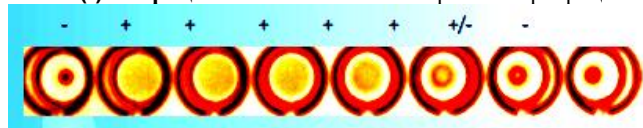
 (3+) - **Положительная** - гладкая пленка эритроцитов, покрывающая часть дна лунки.

 (2+) - **Положительная** - гладкая пленка эритроцитов, окруженная красным кругом.

 (1+) - **Положительная** - гладкая пленка эритроцитов, покрывающая меньшую поверхность и окруженная красным кругом меньшего размера.

 (±) - **Пограничная** - розетка эритроцитов, с небольшим отверстием в центре.

 (-) - **Отрицательная** - компактная розетка эритроцитов.



**ТРНА-Negative Control** должен давать неагглютинированный рисунок с **ТРНА-Control Reagent** и **ТРНА-Test Reagent**.

**ТРНА-Positive Control** должен давать агглютинацию с **ТРНА-Test Reagent**, и неагглютинированный рисунок с **ТРНА-Control Reagent**.

Сыворотка, дающая положительную реакцию, должна тестироваться повторно в соответствии с **Количественным вариантом**.

Титр сыворотки определяется как наибольшее разведение, дающее положительный результат.

Сыворотка, дающая пограничную реакцию, должна тестироваться повторно и признаваться отрицательной при появлении такого же рисунка.

Любая агглютинация, наблюдаемая с **ТРНА-Control Reagent**, означает присутствие неспецифических антител и не оценивается. В этом случае рекомендуется провести определение другим методом, например FTA-Abs.

### КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Рекомендуется регулярно проводить контроль реагентов **ТРНА-Positive Control** и **ТРНА-Negative Control**.

Каждая лаборатория должна установить собственную внутреннюю систему контроля качества.

### ПРИМЕЧАНИЯ

1. Храните флаконы в вертикальном положении. Хранение флаконов в горизонтальном положении может вызвать образование кластеров клеток.

2. Загрязнение реагентов и/или разведений сыворотки вызывает ложноположительные реакции, всегда используйте дозирующие устройства с одноразовыми наконечниками.

Тщательно встряхивайте **ТРНА-Test Reagent** и **ТРНА-Control Reagent** перед пипетированием до отсутствия осадка эритроцитов на дне флакона.

3. Рисунки осаждения контрольных эритроцитов не должны использоваться в качестве образца для определения отрицательных результатов, так как контрольные эритроциты образуют более компактные розетки, чем тест-эритроциты.

4. Держите пластину вдали от источников вибрации, тепла и прямого солнечного цвета.

5. Сыворотка с высоким уровнем антител может давать агглютинационную картину с волнистой каемкой.

### ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

Тест на ТРНА высокоспецифичен, но, как и другие серологические тесты, он не способен отличить сифилис от других патогенных трепонемных инфекций, например, фрамбезии, поэтому клинический диагноз должен устанавливаться на основе интеграции клинических и лабораторных данных.

Антитела к сифилису присутствуют в организме даже после успешного лечения болезни, поэтому положительный результат свидетельствует о наличии инфекции в настоящий момент или в прошлом.

Для контроля лечения рекомендуется использовать тесты VDRL или RPR.

Для подтверждения результата рекомендуется выполнять тест FTA-Abs, поскольку он позволяет отличить антитела класса IgG от антител класса IgM.

Ложноположительные результаты наблюдаются у пациентов, страдающих проказой, инфекционным мононуклеозом и повреждением соединительных тканей.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Tomizawa T et al. Jap J Med Sci Biol 1969; 22:339-342.
2. Sequeira P J L et al. Brit J Vener Dis 1973; 49:242-249.
3. Rathiev T., Brit J., Vener Dis. 1967; 43:181-185.
4. Lesinski J., Krach J., & Kadziewicz J. Brit J Vener Dis 1974; 50:334-340.