

TPHA

 200

 500

REF 72503

REF 72504

BỘ XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN ĐỊNH TÍNH VÀ BẮN ĐỊNH LƯỢNG KHÁNG THỂ
KHÁNG *TREPONEMA PALLIDUM* TRONG HUYẾT THANH HOẶC HUYẾT TƯƠNG
NGƯỜI BẰNG PHƯƠNG PHÁP NGỪNG KẾT HỒNG CẦU THỤ ĐỘNG



883683 12/2014

BIO-RAD

MỤC LỤC

1.	MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG	2
2.	TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH VỀ XÉT NGHIỆM	2
3.	NGUYÊN LÝ CỦA QUY TRÌNH	2
4.	THUỐC THỬ	3
5.	CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA.....	4
6.	MẪU XÉT NGHIỆM.....	5
7.	QUY TRÌNH	5
8.	CÁC HẠN CHẾ CỦA XÉT NGHIỆM	10
9.	CÁC ĐẶC ĐIỂM VỀ HIỆU NĂNG	10
10.	TÀI LIỆU THAM KHẢO CHUYÊN MÔN.....	12

1. MỤC ĐÍCH SỬ DỤNG

Bộ xét nghiệm TPHA được dự định để dùng để phát hiện định tính và bán định lượng kháng thể kháng *Treponema pallidum* trong huyết thanh hoặc huyết tương người. Có thể dùng sản phẩm này để tầm soát bệnh cho người hiến máu, và để trợ giúp thêm cho việc chẩn đoán bệnh nhân bị nghi ngờ nhiễm bệnh giang mai (syphilis).

2. TÓM TẮT VÀ GIẢI THÍCH VỀ XÉT NGHIỆM

Giang mai là một bệnh nhiễm trùng mãn tính tiến triển qua các giai đoạn nhiễm khác nhau rõ rệt: một, hai, ba, và bốn. Các giai đoạn này có nhiều triệu chứng khác nhau, thường ban đầu là có các tổn thương gọi là săng ròi nổi mụn giang mai, sau đó là thời kỳ bệnh ngủ. Bệnh nhiễm này nếu không được điều trị cuối cùng có thể sẽ dẫn đến các rối loạn về tim mạch và bệnh giang mai thần kinh (neurosyphilis).

Bệnh nhiễm này là do xoắn khuẩn *Treponema pallidum* gây ra, và thường bị nhiễm qua đường tình dục, dù bệnh cũng có thể bị lây do truyền máu bị nhiễm. Cũng có thể bị nhiễm trong tử cung. Vi khuẩn này đã được cho thấy hầu như không thể nuôi cấy được trong môi trường nhân tạo, và bệnh thường được chẩn đoán qua biểu hiện của các kháng thể ở trong máu, xuất hiện không lâu sau giai đoạn nhiễm ban đầu và có thể tồn tại trong nhiều năm.

Có bốn loại xét nghiệm tìm giang mai: khảo sát trực tiếp trên kính hiển vi, xét nghiệm trực tiếp tìm kháng thể kháng treponema, xét nghiệm gián tiếp tìm kháng thể kháng treponema và xét nghiệm trực tiếp tìm kháng nguyên. Do thời kỳ bệnh ngủ lâu và tính không đặc hiệu của xét nghiệm gián tiếp tìm kháng thể kháng treponema, xét nghiệm trực tiếp tìm kháng thể kháng treponema trong mẫu máu đang ngày càng được sử dụng nhiều hơn để tầm soát bệnh. TPHA là một loại xét nghiệm đó.

3. NGUYÊN LÝ CỦA QUY TRÌNH

Bộ xét nghiệm TPHA sử dụng các tế bào hồng cầu của chim đã được bảo quản có phủ kháng nguyên của *T. pallidum* (chủng Nichols), kháng nguyên này sẽ liên kết với kháng thể đặc hiệu có mặt trong huyết thanh hoặc huyết tương của bệnh nhân. Các tế bào đó được phân tán trong một môi trường chứa các thành phần để loại bỏ các phản ứng không đặc hiệu. Phản ứng là dương tính khi có sự ngưng kết của các tế bào đó, phản ứng là âm tính khi các tế bào đó kết tụ thành một nút hoặc một vòng tròn nhỏ.

Tuy bộ xét nghiệm này được dự định chủ yếu làm xét nghiệm định tính, cũng có thể xác định hiệu giá kháng thể bằng phương pháp pha loãng gấp đôi.

Có thể diễn giải các kiểu ngưng kết bằng mắt hoặc bằng máy đọc khay vi giếng có khả năng đọc các kiểu ngưng kết. Liên hệ với công ty liên quan khi cần có sự điều chỉnh cho phù hợp hoặc quy trình đặc biệt.

4. THUỐC THỬ

4.1. Mô tả

Định danh ở trên nhãn		Mô tả	Dạng sản phẩm	
			72503 200 xét nghiệm	72504 500 xét nghiệm
R1	Test Cells (Tế Bào Xét Nghiệm)	Tế Bào Xét Nghiệm Dung dịch treo của hồng cầu chim có phủ kháng nguyên của <i>T. pallidum</i> , chứa Albumin huyết thanh bò (BSA)	2 lọ 7,8 ml	2 lọ 20 ml
R2	Control Cells (Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng)	Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng Dung dịch treo của hồng cầu chim, chứa BSA	2 lọ 7,8 ml	1 lọ 20 ml
R3	Diluent (Dịch pha loãng)	Dịch pha loãng Dung dịch muối sinh lý chứa huyết thanh thỏ	2 lọ 20 ml	1 lọ 125 ml
R4	Positive Control (Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính)	Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính Huyết thanh người chứa kháng thể kháng <i>T. pallidum</i> , âm tính với kháng nguyên của HBs, kháng thể anti-HIV1/2, và anti-HCV được pha loãng bằng dung dịch đệm phosphate	1 lọ 1 ml	1 lọ 1 ml
R5	Negative Control (Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Âm Tính)	Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Âm Tính Huyết thanh thỏ trong dung dịch đệm phosphate	1 lọ 1 ml	1 lọ 1 ml

4.2. Các yêu cầu về bảo quản và thao tác

Cần bảo quản bộ xét nghiệm này ở +2–8 °C. **Bảo quản lọ ở trạng thái đứng.** Không làm đông.

Có thể sử dụng mỗi thứ trong bộ được bảo quản ở +2-8 °C cho đến ngày hết hạn trên bao bì. Sau khi mở và nếu không bị ô nhiễm, có thể sử dụng các thuốc thử R1, R2, R3, R4 và R5 được bảo quản ở +2–8 °C cho đến ngày hết hạn ghi trên nhãn. Hạn dùng: 18 tháng.

5. CẢNH BÁO VÀ BIỆN PHÁP PHÒNG NGỪA

Để sử dụng cho chẩn đoán *in vitro*. Chỉ dành cho nhân viên y tế sử dụng.

5.1. Biện pháp phòng ngừa cho Sức Khỏe và An Toàn:

- Chỉ nhân viên đủ năng lực được đào tạo về các quy trình xét nghiệm và hiểu biết rành rẽ các nguy cơ tiềm ẩn mới được làm việc với bộ xét nghiệm này. Sử dụng trang phục bảo hộ, găng tay, phương tiện bảo vệ mắt/mặt phù hợp và thao tác phù hợp theo yêu cầu của Tiêu Chuẩn Thực Hành Xét Nghiệm Tốt.
- Các vật liệu kiểm soát đối chứng có nguồn gốc từ huyết thanh người. Chúng đã được kiểm tra ở cấp người hiến và thấy là âm tính với kháng nguyên HBs, kháng thể anti-HIV1/2, và anti-HCV. Chưa biết có phương pháp nào có thể bảo đảm được tuyệt đối là không có tác nhân lây nhiễm. Do vậy, tất cả các dẫn xuất từ máu người, các thuốc thử và mẫu của người, phải được thao tác như trường hợp có khả năng truyền bệnh lây nhiễm, theo Biện Pháp Đề Phòng Chung được đề nghị sử dụng cho các mầm bệnh mang trong máu theo định nghĩa trong các quy định của địa phương, khu vực và quốc gia.
- Tràn đổ sinh phẩm: Vật liệu có nguồn gốc từ người bị tràn đổ phải được xử lý như chất có khả năng lây nhiễm.

Vật liệu tràn đổ không chứa acid phải được khử nhiễm ngay lập tức, kể cả khu vực, vật liệu tràn đổ và bất kỳ bề mặt hay dụng cụ nào đã bị nhiễm vật liệu, bằng chất sát khuẩn phù hợp có hiệu quả loại bỏ nguy cơ sinh học từ mẫu xét nghiệm có liên quan (thường là thuốc tẩy gia dụng đã pha loãng 1:10) Ethanol hoặc Isopropanol 70–80%, dung dịch iodophor [như Wescodyne TMPlus 0,5%, chẳng hạn), rồi lau khô.

Vật liệu tràn đổ chứa acid phải được thấm hút phù hợp (lau khô) hoặc trung hòa, khu vực phải được xả bằng nước rồi lau khô; có thể phải thải bỏ vật liệu đã thấm hút như chất thải sinh học nguy hại. Sau đó, khử nhiễm cho khu vực bằng một trong các hóa chất sát khuẩn nói trên.

Lưu ý: Không cho các dung dịch chứa chất tẩy vào nồi hấp áp suất!

- Thải bỏ tất cả các mẫu xét nghiệm và vật liệu đã dùng để thực hiện xét nghiệm như trường hợp chúng có chứa tác nhân lây nhiễm. Các chất thải của phòng xét nghiệm, chất thải hóa học hoặc sinh học nguy hiểm phải được thao tác và thải bỏ theo tất cả các quy định của địa phương, khu vực và quốc gia.
- Bản Thông Tin An Toàn (SDS) có cung cấp trên www.bio-rad.com.

5.2. Các biện pháp để phòng cho quy trình xét nghiệm

5.2.1. Chuẩn bị

Độ tin cậy của kết quả sẽ phụ thuộc vào việc thực hiện đúng các Tiêu Chuẩn Thực Hành Xét Nghiệm Tốt sau đây:

- Không sử dụng lần hoặc chung thuốc thử của các lô khác nhau trong một lần xét nghiệm.
- Không sử dụng thuốc thử đã hết hạn sử dụng.
- Trước khi sử dụng chờ 30 phút cho thuốc thử ổn định ở nhiệt độ phòng (18–30 °C).

5.2.2. Xử lý

- Không thay đổi quy trình xét nghiệm.
- Sử dụng đầu phân phối mẫu mới cho từng mẫu xét nghiệm.

6. MẪU XÉT NGHIỆM

Mẫu huyết thanh hoặc huyết tương (EDTA, Sodium Citrate, Heparin và ACD) để xét nghiệm phải không có các tế bào máu và chắc chắn không bị nhiễm vi sinh. Có thể bảo quản mẫu ở +2–8 °C trong 7 ngày trước khi xét nghiệm. Mẫu xét nghiệm cần bảo quản lâu hơn phải được để đông lạnh ở từ -20 °C trở xuống. Mẫu đông lạnh phải được rã đông và trộn đều trước khi xét nghiệm. Không được làm đông lạnh/rã đông quá 5 lần.

Mẫu đã được gia nhiệt ở 56 °C trong 3 giờ không ảnh hưởng đến kết quả.

Mẫu xét nghiệm chứa dưới 100 mg/L bilirubin, dưới 36 g/L triglycerid và dưới 10 g/L hemoglobin không ảnh hưởng đến kết quả. Tuy nhiên, không nên sử dụng huyết thanh hoặc huyết tương chứa quá nhiều lipid hoặc bị tan huyết quá nhiều.

Khi cần được chuyển đi, mẫu xét nghiệm phải được đóng gói theo quy định hiện hành về vận chuyển tác nhân gây bệnh và nên vận chuyển ở dạng đông lạnh.

7. QUY TRÌNH

GHI CHÚ: Các Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính Và Âm Tính của bộ xét nghiệm (R4 và R5) phải được xét nghiệm với mỗi lần xét nghiệm.

7.1. Vật liệu cần dùng nhưng không được cung cấp

- Nước cất
- Sodium hypochlorite (thuốc tẩy gia dụng) và sodium bicarbonate
- Giấy thấm
- Găng tay dùng một lần
- Kính bảo hộ
- Ống dùng một lần
- Pipette hay bộ pipette tự động hay bán tự động, loại điều chỉnh được hay định mức trước để đo và phân phối 10 µl, 25 µl, 75 µl và 190 µl
- Máy lắc khay vi giếng
- Dạng khay giếng chữ U (khay 96 giếng) - Mã 83375 (5 khay)
- Thùng rác thải sinh học nguy hại

7.2. Quy trình xét nghiệm (thực hiện bằng tay)

7.2.1. Xét nghiệm định tính

Mỗi mẫu xét nghiệm cần ba giếng trong khay giếng chữ U.

Bộ TPHA 500 (Mã sản phẩm 72504) được dự định dùng để tầm soát số lượng mẫu xét nghiệm lớn và chỉ chứa thể tích nhỏ của dịch tế bào kiểm soát đối chứng. Theo dự định, mẫu xét nghiệm được tầm soát sẽ chỉ dùng Tế Bào Xét Nghiệm trong lần xét nghiệm đầu tiên, và dùng Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng cho các lần xét nghiệm lặp lại của những mẫu xét nghiệm có kết quả dương tính trong lần xét nghiệm đầu.

a. Pha loãng mẫu xét nghiệm và mẫu kiểm soát đối chứng (1 thành 20)

Thêm 190 μ l dịch pha loãng (R3) vào một giếng.

Thêm 10 μ l mẫu xét nghiệm hoặc Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính (R4) hay Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Âm Tính (R5) vào giếng đó.

Trộn thật đều.

b. Xét nghiệm

Chuyển 25 μ l mẫu kiểm soát đối chứng đã pha loãng hay mẫu xét nghiệm đã pha loãng từ bước pha loãng vào giếng xét nghiệm.

Chuyển 25 μ l mẫu kiểm soát đối chứng đã pha loãng hay mẫu xét nghiệm đã pha loãng từ bước pha loãng vào giếng kiểm soát đối chứng.

Phân tán lại cho các dịch Tế Bào Xét Nghiệm (R1) và dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng (R2) bằng cách lắc lọ cho đến khi thấy đã phân tán hoàn toàn.

Thêm 75 μ l dịch Tế Bào Xét Nghiệm (R1) vào giếng xét nghiệm và 75 μ l dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng (R2) vào giếng kiểm soát đối chứng.

Tỷ lệ pha loãng cuối cùng của mẫu xét nghiệm là 1: 80.

Trộn thật đều cho các giếng.

Ủ ấm ở nhiệt độ phòng (15–30 °C) trên một bề mặt không bị rung trong ít nhất 45 phút.

Đọc các kiểu ngưng kết. Kiểu ngưng kết sẽ ổn định trong ít nhất là ba giờ nếu không bị khuấy động.

7.2.2. Xét nghiệm bán định lượng

Mỗi mẫu xét nghiệm cần 9 giếng trong khay giếng chữ U. Một giếng để pha loãng mẫu xét nghiệm hoặc mẫu kiểm soát đối chứng và 8 giếng để xác định hiệu giá.

Lưu ý: Các Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính Và Âm Tính (R4 và R5) phải được xét nghiệm với mỗi lô xét nghiệm, theo quy trình dưới đây.

a. Pha loãng mẫu xét nghiệm và mẫu kiểm soát đối chứng (1 thành 20)

Thêm 190 μ l dịch pha loãng (R3) vào một giếng.

Thêm 10 μ l mẫu xét nghiệm hoặc Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Âm Tính (R5) hay Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính (R4) vào giếng đó.

Trộn thật đều.

b. Xác định hiệu giá

Đổ giếng đầu tiên trống, thêm 25 µl dịch pha loãng (R3) vào mỗi giếng trong 7 giếng còn lại.

0	1	2	3	4	5	6	7	8
190µl (R3) + 10 µl mẫu xét nghiệm hoặc (R4) hoặc (R5)		25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3
Dịch pha loãng của mẫu xét nghiệm hoặc mẫu kiểm soát đối chứng	8 giếng để xác định hiệu giá							

Chuyển 25 µl mẫu kiểm soát đối chứng hay mẫu xét nghiệm đã pha loãng vào giếng thứ 1 và giếng thứ 2.

Sau đó, pha loãng tuần tự dọc theo dãy giếng, bỏ 25 µl dịch dư ra khỏi giếng cuối cùng.

0	1	2	3	4	5	6	7	8	
190 µl (R3) + 10 µl mẫu xét nghiệm hoặc (R4) hoặc (R5)	25 µl mẫu kiểm soát đối chứng đã pha loãng	25 µl R3 + 25 µl mẫu kiểm soát đối chứng đã pha loãng	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	25 µl R3	Bỏ 25 µl dư
Dịch pha loãng của mẫu xét nghiệm hoặc mẫu kiểm soát đối chứng	8 giếng để xác định hiệu giá								

c. Xét nghiệm

Trộn nhẹ dịch Tế Bào Xét Nghiệm (R1) để bảo đảm được phân tán lại hoàn toàn. Thêm 75 µl dịch Tế Bào Xét Nghiệm (R1) vào mỗi giếng.

Khoảng cuối cùng của độ pha loãng mẫu xét nghiệm sau khi thêm dịch tế bào là 1:80 – 1:10240.

Trộn thật đều.

0	1	2	3	4	5	6	7	8
190 µl (R3) + 10 µl mẫu xét nghiệm hoặc (R4) hoặc (R5)	25 µl dịch kiểm soát đối chứng đã pha loãng + 75µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1	25 µl dịch pha loãng + 75 µl R1
	1:80	1:160	1:320	1:640	1:1280	1:2560	1:5120	1:10240
Dịch pha loãng của mẫu xét nghiệm hoặc mẫu kiểm soát đối chứng	8 giếng để xác định hiệu giá							

Ủ ấm ở nhiệt độ phòng (15–30 °C) trên một bề mặt không bị rung trong ít nhất 45 phút. Đọc các kiểu ngưng kết. Kiểu ngưng kết sẽ ổn định trong ít nhất là ba giờ nếu không bị khuấy động.

Hiệu giá của mẫu xét nghiệm là nghịch đảo của độ pha loãng cao nhất có ngưng kết.

7.3. Kiểm Soát Chất Lượng

Các Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng của bộ xét nghiệm phải cho kết quả chính xác; Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Âm Tính (R5) phải âm tính và Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính (R4) phải dương tính.

Khi xác định hiệu giá của Mẫu Kiểm Soát Đối Chứng Dương Tính (R4), ngưỡng (end-point) kỳ vọng của nó phải nằm trong khoảng 1:640 – 1:5120.

7.4. Diễn giải kết quả và tiêu chí đánh giá xét nghiệm



Dương tính

Không rõ rệt

Âm tính

	Tế Bào Xét Nghiệm	Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng
Dương Tính: Mạnh	Kiểu ngưng kết tế bào phủ đầy đáy giếng.	Nút âm tính
Dương tính yếu	Kiểu ngưng kết tế bào phủ khoảng 1/3 đáy giếng	Nút âm tính
Không rõ rệt	Kiểu ngưng kết tế bào có tâm trống rõ ràng.	Nút âm tính
Âm tính	Các tế bào lắng thành một nút đặc, thường có một tâm nhỏ rõ ràng.	Nút âm tính
Phản ứng không đặc hiệu	Phản ứng dương tính.	Phản ứng dương tính

Mẫu có giếng Tế Bào Xét Nghiệm không phản ứng sẽ được xem là **âm tính với *T. pallidum***.

Độ phản ứng thấp hơn mức không rõ rệt được xem là âm tính.

Mẫu nào cho kết quả không rõ rệt hoặc dương tính sẽ được xem là dương tính và phải xét nghiệm lại theo cách thức lặp lại như trên, thêm dung dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng (R2) được cung cấp vào một bộ giếng và dung dịch Tế Bào Xét Nghiệm (R1) vào bộ giếng khác.

Nếu ít nhất một trong các giếng Tế Bào Xét Nghiệm (R1) có kết quả là không rõ rệt hoặc dương tính, mẫu xét nghiệm đó sẽ được xem là **dương tính với *T. pallidum***.

Với phản ứng không đặc hiệu, nếu độ ngưng kết ở giếng có Tế Bào Xét Nghiệm (R1) lớn hơn ở giếng có Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng (R2), thì mẫu xét nghiệm đó được xem là dương tính và cần làm xét nghiệm lặp lại như trên.

Nếu mẫu xét nghiệm có độ ngưng kết lớn hơn hoặc bằng độ ngưng kết của Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng (R2), thì mẫu xét nghiệm đó sẽ được hấp thu theo quy trình sau đây.

7.5. Hấp thu cho những phản ứng không đặc hiệu

(Sử dụng quy trình này khi thấy cả Tế Bào Xét Nghiệm và Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng đều ngưng kết).

1. Thêm 10 µl mẫu xét nghiệm vào 190 µl dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng, trộn đều rồi ủ ấm ở nhiệt độ phòng trong 30 phút.
2. Ly tâm để lắng tế bào ở tối thiểu 1500g trong 3 phút.
3. Thêm 25 µl phần trên của dịch ly tâm ở bước 2 vào mỗi giếng trong 2 giếng.
4. Trộn nhẹ dịch Tế Bào Xét Nghiệm và dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng để bảo đảm được phân tán lại hoàn toàn.

Thêm 75 µl dịch Tế Bào Xét Nghiệm vào giếng thứ 1.

Thêm 75 µl dịch Tế Bào Kiểm Soát Đối Chứng vào giếng thứ 2.

5. Bảo đảm trộn thật kỹ rồi ủ ấm ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 45 phút.

6. Đọc và diễn giải kiểu ngưng kết như trên.

8. CÁC HẠN CHẾ CỦA XÉT NGHIỆM

Không có một phương pháp xét nghiệm duy nhất nào hay một tiêu chuẩn tham chiếu dứt khoát nào có thể dùng cho mọi giai đoạn của bệnh. Do đó, việc chẩn đoán giang mai được chủ yếu dựa vào xét nghiệm huyết thanh, cần sử dụng cả hai phương pháp trực tiếp và gián tiếp tìm kháng thể kháng xoắn khuẩn treponema.

Không có xét nghiệm chẩn đoán nào có thể bảo đảm tuyệt đối được là mẫu không chứa các kháng thể kháng *T. pallidum* ở nồng độ thấp, như những loại thường gặp ở tất cả các giai đoạn rất sớm của bệnh nhiễm. Vì vậy, kết quả âm tính ở bất cứ giai đoạn nào cũng không thể loại trừ được khả năng đã bị nhiễm giang mai.

Tất cả các kết quả xét nghiệm trực tiếp tìm kháng thể kháng treponema đều có khuynh hướng tiếp tục phản ứng sau khi nhiễm treponema, do vậy không nên được sử dụng để đánh giá đáp ứng với thuốc điều trị. Vì khả năng phản ứng tiếp tục tồn tại, thường trong suốt cuộc đời của bệnh nhân, các xét nghiệm trực tiếp tìm kháng thể kháng treponema không có giá trị trong việc xác định tình trạng tái phát hoặc tái nhiễm ở bệnh nhân có kết quả phản ứng. Trong trường hợp này, nên sử dụng các xét nghiệm khác: Syphilis Total Ab, Syphilis IgM EIA và RPR.

9. CÁC ĐẶC ĐIỂM VỀ HIỆU NĂNG

9.1. Nghiên cứu độ chụm

Cuộc nghiên cứu độ chụm đã được tiến hành bằng cách xét nghiệm 3 mẫu (1 âm tính, 1 dương tính thấp và 1 dương tính) với 10 lần xét nghiệm lặp lại đồng thời (để tính độ lặp lại) và 2 lần xét nghiệm lặp lại trong 5 ngày trên 2 lô khác nhau với 2 người đọc khác nhau (để tính độ chụm trung gian).

Độ lặp lại (repeatability): 3 mẫu cho kết quả giống hệt nhau khi được lặp lại 10 lần.

Độ chụm trung gian / giữa các lô: 3 mẫu cho kết quả giống hệt nhau khi được xét nghiệm trong những điều kiện khác nhau (40 lần).

9.2. Hiệu năng lâm sàng

Hiệu năng của xét nghiệm TPHA đã được xác định bằng cách xét nghiệm các mẫu của người hiến máu chọn ngẫu nhiên, bệnh nhân nằm viện, bệnh nhân bị nhiễm giang mai và các mẫu dương tính với các chất chỉ điểm không liên quan đến nhiễm *T. pallidum*.

Các nghiên cứu này đã được thực hiện tại 2 địa điểm hiến máu, một địa điểm của Bio-Rad.

9.2.1. Độ đặc hiệu

Đã nghiên cứu tổng cộng 5032 mẫu của người hiến máu được lấy theo cách thức tiến cứu tại 2 địa điểm khác nhau.

Trong số các mẫu đó có các mẫu huyết thanh (3626), hoặc huyết tương có thêm EDTA K2 (539) hoặc Lithium Heparin (867) được xét nghiệm trong không quá 7 ngày kể từ khi lấy mẫu rồi được so sánh với xét nghiệm tầm soát dùng trong phòng xét nghiệm.

Bảng 1: Nhóm người hiến máu

Địa điểm	Số	Phản ứng lần đầu (IR)	Mẫu phản ứng lặp lại (RR)	Độ đặc hiệu (%)	Khoảng tin cậy 95%
Địa điểm 1	2519	18	7	99,72% (2512/2519)	99,43%–99,89%
Địa điểm 2	2513*	20	7	99,72% (2505/2512)	99,43%–99,89%
Tổng	5032	38 (8 dương tính, 30 không rõ rệt)	14 (3 dương tính, 11 không rõ rệt)	99,72% (5017/5031)	99,53%–99,85%

*: một mẫu (dương tính đúng) đã được loại bỏ ra trước khi tính.

Độ đặc hiệu tổng cộng xác định được trên nhóm ngân hàng máu này là **99,72% (5017/5031)** với khoảng tin cậy 95% là [99,53%–99,85%]. Trong 14 mẫu dương tính giả, có 11 mẫu không rõ rệt lặp lại.

Một cuộc nghiên cứu hồi cứu cũng đã được thực hiện trên 201 mẫu đông lạnh của bệnh nhân tại Trung Tâm Bệnh Lây Truyền Qua Đường Tình Dục hoặc của nhà cung cấp, các mẫu này đã được xác định là âm tính với giang mai.

Độ đặc hiệu xác định được trên các mẫu này là **99,5% (200/201)** với khoảng tin cậy là 95% là [97,3%–100,0%].

9.2.2. Độ nhạy

Cuộc nghiên cứu độ nhạy đã được thực hiện trên 435 mẫu huyết thanh đông lạnh hồi cứu của phòng xét nghiệm của Trung Tâm Bệnh Lây Truyền Qua Đường Tình Dục, hoặc các mẫu đông lạnh của nhà cung cấp. Các mẫu này đã được xác định là dương tính bằng các xét nghiệm miễn dịch, xét nghiệm FTA, xét nghiệm RPR/ VDRL hoặc xét nghiệm TPHA tùy theo nguồn gốc mẫu. Tất cả các mẫu này đã được xét nghiệm trước bằng xét nghiệm TPHA có dấu CE rồi bằng xét nghiệm TPHA 500 của Bio-Rad (72504).

Độ nhạy xác định được trên nhóm đối tượng này là **100% (435/435)** với khoảng tin cậy 95% là [99,2%–100,0%].

9.3. Độ nhạy phân tích

Độ nhạy phân tích đã được xét nghiệm theo Mẫu Chuẩn Quốc Tế của WHO cho vi khuẩn Giang Mai có mã NIBSC là 05/132. Dùng quy trình bán định lượng, đã xác định được độ nhạy là 0,05 IU/mL.

9.4. Nghiên Cứu về Tính Đặc Hiệu Phân Tích/Khả Năng Phản Ứng Chéo

210 mẫu có khả năng gây cản trở chứa kháng thể kháng các tác nhân gây bệnh có thể dẫn đến các bệnh nhiễm (Cytomegalovirus, Epstein Barr virus, VZV, Rubella virus, Hepatitis C virus, Hepatitis B virus, HIV 1/2, HTLV 1/2, *Toxoplasma gondii*, Dengue, Malaria, Leptospirosis), các mẫu của phụ nữ có thai và phụ nữ đã sinh nở nhiều lần hoặc mẫu của những bệnh nhân có rối loạn hệ miễn dịch (kháng thể tự miễn (SLE), yếu tố dạng thấp), đã được xét nghiệm bằng xét nghiệm TPHA. Bốn (4) mẫu dương tính đúng đã được loại ra trước khi tính.

Một mẫu đã được xác định là dương tính lặp lại với xét nghiệm TPHA.

Độ đặc hiệu xác định được trên nhóm bệnh nhân mục tiêu này là **99,5% (205/206)** tương đương với độ đặc hiệu của các mẫu lâm sàng.

9.5. Hiệu Ứng Vùng Ức Chế

Khả năng xảy ra hiệu ứng vùng ức chế đã được nghiên cứu bằng cách xét nghiệm 3 mẫu có hiệu giá cao ($\geq 1:20480$) ở nhiều độ pha loãng khác nhau. Kết quả tương đương nhận được ở các mẫu không pha loãng và pha loãng cho thấy không xảy ra hiệu ứng vùng ức chế.

10. TÀI LIỆU THAM KHẢO CHUYÊN MÔN.

1. Daguet G.L. - Diagnostic Biologique de la Syphilis. Technique et Biologie, 1995 ; 120:5-30.
2. Houngh H. - Syphilis: new diagnostic directions. Intern. J. STD and AIDS 1992; 3: 391 - 413.8.
3. Larsen S.A., Hambie E.A., et coll., Specificity, sensitivity and reproducibility among the fluorescent treponemal antibody absorption test, the microhemagglutination assay for *Treponema pallidum* antibodies, and the hemagglutination treponemal test for syphilis. J. Clin. Microbiol., 1981 ; 14: 441 - 445.
4. North MLet Guntz Ph. Serodiagnostic de la syphilis. La Revue Française des Laboratoires, 1997 ; 294: 51-58.
5. Paris Hamelin, A., Dreux P. et coll. - Treponematoses: aspects cliniques et biologiques. Feuille. Biol. 1991a ; 23: 88-89.
6. Rathlev T. - Haemagglutination tests utilizing antigens from pathogenic and apathogenic *Treponema pallidum* WHO/VDT/RES 1965 ; 77: 65.
7. Rathlev T. - Haemagglutination test utilizing pathogenic *Treponema pallidum* for the serodiagnosis of syphilis. Br J Vener Dis 1967 ; 43: 181-5.
8. Sequeira P,J,L. Eldridge A,E. - Treponemal Haemagglutination test. Br J Vener Dis 1973 ; 49: 242-8.

9. Sluis J.J. Van Der. - Laboratory Techniques in the diagnosis of syphilis: a review. *Genitourin Med.* 1992 ; 68: 413-9.
10. Stability of selected serum proteins after long-term storage in the Janus Serum Bank. *Clin Chem Lab Med.* 2009. 47:596-606.
11. Tomizawa T, Kasamatsu S. - Haemagglutination tests for diagnosis of syphilis. A preliminary report. *Japan. J. Med. Sci. Biol.* 19, 305-308, 1966.
12. Tomizawa T. Kasamatsu S. Yamaya S. - Usefulness of the haemagglutination test using *Treponema pallidum* antigen (TPHA) for the serodiagnosis of syphilis. *Jap J Med Sci Biol* 1969 ; 22: 341-50.

- (BG) • Този продукт съдържа човешки или животински компоненти. Бъдете внимателни при работа с него.
- (CZ) • Tento výrobek obsahuje lidské nebo zvířecí komponenty. Zacházejte s ním opatrně.
- (DE) • Dieses Produkt enthält Bestandteile menschlichen oder tierischen Ursprungs. Vorsichtig handhaben.
- (DK) • Dette produkt indeholder humane og animalske komponenter. Skal behandles med forsigtighed.
- (EE) • Käesolev toode sisaldab inim-või loomseid komponente. Käsitseta ettevaatlikult.
- (EN) • This product contains human or animal components. Handle with care.
- (ES) • Este producto contiene componentes humanos o animales. Manejar con cuidado.
- (FI) • Tässä tuotteessa on ihmisestä tai eläimestä peräisin olevia osia. Käsittele varovasti.
- (FR) • Ce produit contient des composants d'origine humaine ou animale. Manipuler avec pré-caution.
- (GR) • Αυτό το προϊόν περιέχει ανθρώπινα ή ζωικά στοιχεία. Χειριστείτε το με προσοχή.
- (HR) • Ovaj proizvod sadrži ljudske ili životinjske sastojke. Pažljivo rukovati.
- (HU) • A készítmény emberi vagy állati eredetű összetevőket tartalmaz. Óvatosan kezelendő.
- (IT) • Questo prodotto contiene componenti umane o animali. Maneggiare con cura.
- (LT) • Šiame produkto yra žmogiškosios arba gyvūninės kilmės sudėtiniai dalių. Elgtis atsargiai.
- (MT) • Dan il-prodott fih komponenti umani jew tal-animali. Uża b'attenzjoni.
- (NL) • Dit product bevat menselijke of dierlijke bestanddelen. Breekbaar.
- (NO) • Dette produktet inneholder humane eller animalske komponenter. Håndteres med forsik- tighet.
- (PL) • Niniejszy produkt zawiera składniki pochodzenia ludzkiego lub zwierzęcego. Należy obchodzić się z nim ostrożnie.
- (PT) • Este medicamento contém componentes de origem humana ou animal. Manuseie com cuidado.
- (RO) • Acest produs conține materiale de origine umană sau animală. Manevrați-l cu grijă.
- (SE) • Denna produkt innehåller beståndsdelar från människa eller djur. Hantera produkten varsamt.
- (SI) • Izdelek vsebuje človeške ali živalske sestavine. Rokujte previdno.
- (SK) • Tento výrobok obsahuje ľudské alebo zvieracie zložky. Narábajte s ním opatrne.
- (VI) • Sản phẩm này có chứa các thành phần có nguồn gốc từ người hoặc động vật. Cần thao tác cẩn thận.

**Bio-Rad**

3, Boulevard Raymond Poincaré
92430 Marnes-la-Coquette France

Tel.: +33 (0) 1 47 95 60 00

Fax: +33 (0) 1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



12/2014

883683