



ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг (REF 310840)

1. ПРИЗНАЧЕННЯ

Аналіз ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг використовує технологію хемілюмінесцентного імуноаналізу (CLIA) для якісного визначення специфічних загальних антитіл до *Treponema pallidum* у зразках сироватки або плазми крові людини. Тест потрібно виконувати лише на аналізаторах сімейства ЛІЕЙСОН.

2. РЕЗЮМЕ ТА ПОЯСНЕННЯ ТЕСТУ

Сифіліс – це захворювання, яке зазвичай передається статевим шляхом і викликається бактерією спірохетою *Treponema pallidum*. У літературі також повідомлялося про вроджену передачу *Treponema pallidum* трансплацентарним шляхом від інфікованих матерів та про зараження через переливання крові. Інфекція є системною з самого початку, і хвороба характеризується латентними періодами, які часто перевищують двадцять років. Природний перебіг сифілісу ділиться на три фази. Після інкубаційного періоду, який триває приблизно три тижні, з'являється безболісне ураження шкіри (шанкр), часто асоційоване з регіонарною лімфаденопатією (первинна фаза). Захворювання переходить у вторинну, дисеміновану фазу, що супроводжується загальним ураженням слизових оболонок і лімфаденопатією. Якщо інфекція *Treponema pallidum* має можливість прогресувати до пізніх стадій захворювання, то за вторинною фазою слідує період субклінічної інфекції (латентний сифіліс), який можна виявити лише за допомогою серологічних тестів, а також пізня або третинна фаза, яка спостерігається лише у невеликій кількості пацієнтів і характеризується прогресуючим захворюванням.

Сифіліс можна діагностувати за допомогою різних серологічних лабораторних тестів, вони також корисні для встановлення стадії захворювання, якщо проводити їх разом з іншими клінічними дослідженнями. Серологічний діагноз, як правило, встановлюється за допомогою комбінації двох стандартних видів тестів - тестів на нетрепонемні антитіла для скринінгу та тестів на специфічні трепонемні антитіла для підтвердження. Найчастіше використовуються два тести на нетрепонемні антитіла - тест Лабораторії досліджень венеричних захворювань (VDRL) і швидкий тест на реакін плазми (RPR), останній є спрощеним варіантом VDRL.

У багатьох лабораторіях методом скринінгу є тест гемаглютинації *Treponema pallidum* (TPHA), який полягає в аглютинації еритроцитів, вкритих специфічними антигенами *Treponema pallidum*, і виявляє специфічні антитіла IgG та IgM. Однак інтерпретація результатів TPHA суб'єктивна і не може бути повністю автоматизована. Останнім часом на ринку з'явилися різні імуноферментні набори, в яких використовувався бактеріальний лізат, а згодом і очищені рекомбінантні білки.

Позитивні результати можуть бути підтверджені еталонним тестом - флуоресцентним тестом на абсорбцію трепонемних антитіл (FTA-Abs), який дозволяє виявити як IgG, так і IgM. Однак його проведення є трудозатратним і тривалим, непридатним для скринінгу великої кількості зразків, а інтерпретація результатів є суб'єктивною.

На відміну від нетрепонемних тестів, реактивність антигенспецифічного трепонемного тесту зберігається після лікування, часто протягом усього життя. Донорів крові та плазми перевіряють на антитіла до *Treponema pallidum* за допомогою нетрепонемних і трепонемних тестів.

3. ПРИНЦИП ТЕСТУ

Методом визначення специфічних сумарних антитіл до *Treponema pallidum* є одноетапний сендвіч-хемілюмінесцентний імуноаналіз (CLIA). Рекомбінантні антигени, специфічні для *Treponema pallidum*, використовуються для покриття магнітних частинок (тверда фаза) і зв'язані з похідним ізолюмінолу (кон'югат ізолюмінол-антиген). Під час інкубації антитіла до *Treponema pallidum*, присутні в калібраторах, зразках або контролях, зв'язуються з твердою фазою, а також з кон'югатом антигену. Після кожної інкубації незв'язаний матеріал видаляють за допомогою циклу промивання.

Потім додають стартерні реагенти, і таким чином індукується реакція спалаху хемілюмінесценції. Світловий сигнал і, отже, кількість кон'югату ізолюмінол-антиген, вимірюється фотопомножувачем у відносних світлових одиницях (RLU) і вказує на присутність суммарних антитіл до *Treponema pallidum* у калібраторах, зразках або контролях.

4. СКЛАД НАБОРУ

Інтеграл реагентів

Магнітні частинки (2,3 мл)	SORB	Магнітні частинки, покриті рекомбінантними антигенами <i>Treponema pallidum</i> (отриманими в <i>E. coli</i>), BSA, PBS буфер, < 0,1% азиду натрію.
Калібратор 1 (1,4 мл)	CAL1	Сироватка/плазма крові людини, що містить низький рівень антитіл до <i>Treponema pallidum</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник. Концентрації калібратора відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Калібратор 2 (1,4 мл)	CAL2	Сироватка/плазма крові людини, що містить високий рівень антитіл до <i>Treponema pallidum</i> , BSA, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник. Концентрації калібратора відносяться до препарату антитіл власного виробництва.
Розчин для розведення зразків (13 мл)	DILSPE	Протеїни, ЕДТК, фосфатний буфер, 0,2% ProClin™ 300, інертний жовтий барвник.
Кон'югат (9 мл)	CONJ	Рекомбінантні антигени <i>Treponema pallidum</i> (отримані в <i>E. coli</i>), кон'юговані з похідним ізолюмінолу, BSA, PBS буфер, 0,2% ProClin™ 300, консерванти.
Кількість тестів	200	

Всі реагенти постачаються готовими до використання. Порядок реагентів відображає розташування контейнерів в інтегралі реагентів.

Необхідні матеріали, які не постачаються з набором (пов'язані з системою)

Аналізатор LIAISON® XL.	Аналізатор LIAISON® .
LIAISON® XL Cuvettes (REF X0016). LIAISON® XL Disposable Tips (REF X0015). LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® XL Waste Bags (REF X0025). –	LIAISON® Module (REF 319130). – LIAISON® Starter Kit (REF 319102) або LIAISON® XL Starter Kit (REF 319200). LIAISON® Light Check 12 (REF 319150). LIAISON® Wash/System Liquid (REF 319100). LIAISON® Waste Bags (REF 450003) LIAISON® Cleaning Kit (REF 310990).

Додаткові потрібні матеріали, що не постачаються з набором

Контролі ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг (негативний та позитивний) (REF 310841).

5. ПОПЕРЕДЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

Для діагностики *in vitro*

Усі одиниці сироватки та плазми крові, що використовуються для виготовлення компонентів цього набору, були протестовані на наявність HBsAg, антитіл до ВГС, антитіл до ВІЛ-1, антитіл до ВІЛ-2 і визнані нереактивними. Однак, оскільки жоден метод тестування не може гарантувати абсолютну впевненість у відсутності патогенів, усі зразки людського походження слід вважати потенційно інфекційними та поводитися з ними обережно.

6. ЗАХОДИ БЕЗПЕКИ

Не їжте, не пийте, не курить і не використовуйте косметику в лабораторії.

Не піпетуйте ротом.

Щоб уникнути прямого контакту з потенційно інфікованим матеріалом, надягайте лабораторний одяг, захисні окуляри та одноразові рукавички. Після закінчення кожного аналізу ретельно мийте руки.

Уникайте розбризкування та утворення аерозолі. Усі краплі біологічного реагенту необхідно видалити розчином гіпохлориту натрію з 0,5% активного хлору, а використані засоби утилізувати як інфіковані відходи.

Усі зразки та реагенти, що містять біологічні матеріали, які використовуються для аналізу, слід вважати потенційно здатними переносити інфекційні агенти. З відходами слід поводитися обережно та утилізувати їх відповідно до лабораторних інструкцій і законодавчих положень, що діють у кожній країні. Будь-які матеріали для повторного використання повинні бути належним чином стерилізовані відповідно до місцевих законів і правил. Перевіряйте ефективність циклу стерилізації/дезактивації.

Не використовуйте набір або його компоненти після завершення терміну придатності, вказаного на етикетці.

Відповідно до Регламенту ЄС 1272/2008 (CLP) небезпечні реагенти класифікуються та маркуються наступним чином:

РЕАГЕНТИ:	CAL1, CAL2, CONJ, DILSPE
КЛАСИФІКАЦІЯ:	Skin sens. 1 H317 Aquatic chronic 3 H412
СИГНАЛЬНЕ СЛОВО:	Увага
СИМВОЛИ / ПІКТОГРАМИ:	 GHS07 Знак оклику
ПОВІДОМЛЕННЯ ПРО НЕБЕЗПЕКУ:	H317 Може викликати алергічну реакцію шкіри. H412 Шкідливий для водних організмів з довготривалими наслідками.
ІНФОРМАЦІЯ ПРО ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ:	P261 Уникайте вдихання пилу/диму/газу/туману/випарів/аерозолі. P280 Одягайте захисні рукавички/захисний одяг/захист очей/захист обличчя. P273 Уникайте потрапляння в навколишнє середовище. P362 Виперіть забруднений одяг перед повторним використанням.
МІСТИТЬ: (тільки речовини, передбачені статтею 18 Регламенту ЄС 1272/2008).	Реакційна маса: 5-Хлор-2-метил-4-ізотіазолін-3-он [EC no. 247-500-7] та 2-метил-2Н-ізотіазол-3-он [EC no. 220-239-6] (3:1) (ProClin™ 300).

Відповідно до Регламенту ЄС 1272/2008 (CLP), **SORB** марковано як EUN210. Паспорти безпеки доступні за запитом.

Для отримання додаткової інформації див. Паспорт безпеки, доступний на www.diasorin.com.

7. ПІДГОТОВКА ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

Зверніть увагу на наступні важливі запобіжні заходи при поводженні з реагентами:

Ресуспензія магнітних частинок

Магнітні частинки необхідно повністю ресуспендувати перед тим, як інтеграл буде розміщено в аналізаторі. Щоб забезпечити належний стан суспензії, виконайте наведені нижче дії:

Перед тим, як видалити пломбу, обертайте невелике коліщатко на відділенні для магнітних частинок, доки колір суспензії не стане коричневим. Для кращого суспендування магнітних частинок обережно та акуратно похитайте з боку в бік (уникайте утворення піни). Візуально перевірте дно флакона з магнітними частинками, щоб переконатися, що всі магнітні частинки, що осіли, ресуспендовані. Ретельно протріть поверхню кожної перегородки, щоб видалити залишки рідини.

За необхідності повторюйте до повного ресуспендування магнітних частинок.

Неповне ресуспендування магнітних частинок може призвести до одержання мінливих та неточних аналітичних результатів.

Спінювання реагентів

Для забезпечення оптимальної роботи інтегралу слід уникати спінювання реагентів. Щоб запобігти спінюванню, дотримуйтеся наведених нижче рекомендацій:

Перед використанням інтегралу візуально перевірте реагенти, зокрема калібратор (положення два після флакона з магнітними частинками), і переконайтеся у відсутності піни. Якщо після ресуспендування магнітних частинок утворилася піна, помістіть інтеграл у прилад і дайте піні розсіятися. Інтеграл готовий до використання, коли піна розсіюється, а інтеграл залишається в аналізаторі та магнітні частинки у ньому перемішуються.

Завантаження інтегралу у відсік реагентів

Аналізатор ЛІЕЙСОН

- Помістіть інтеграл у відсік реагентів аналізатора етикеткою зі штрих-кодом вліво та дайте йому постояти 30 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL

- Аналізатор ЛІЕЙСОН XL оснащений вбудованим магнітним пристроєм, який допомагає розсіювати мікрочастинки перед розміщенням інтегралу реагентів у відсік реагентів аналізатора. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.
 - a. Вставте інтеграл реагентів у спеціальний слот.
 - b. Залиште інтеграл реагентів у магнітному пристрої принаймні на 30 секунд (до кількох хвилин). За потреби повторіть.
- Помістіть інтеграл у відсік реагентів аналізатора етикеткою вліво та дайте йому постояти 15 хвилин перед використанням. Аналізатор автоматично перемішує та повністю ресуспендує магнітні частинки.
- Дотримуйтеся вказівок посібника оператора аналізатора, щоб завантажити зразки та розпочати цикл.

8. ЗБЕРІГАННЯ ТА СТАБІЛЬНІСТЬ ІНТЕГРАЛУ РЕАГЕНТІВ

- **Нерозпечатаним:** За температури 2-8° залишається стабільним до закінчення терміну придатності.
- **Відкритим і завантаженим в аналізатор або при 2-8°C:** Стабільний протягом як мінімум чотирьох тижнів. Після цього періоду все ще можна продовжувати використовувати інтеграл реагентів за умови, що контролі знаходяться в межах очікуваних діапазонів.
- Для вже відкритого інтегралу реагентів використовуйте завжди той самий аналізатор.
- Використовуйте штатив для зберігання, що постачається разом з аналізатором, для зберігання інтегралу реагентів у вертикальному положенні.
- Не заморожуйте.
- Зберігайте у вертикальному положенні для подальшого належного ресуспендування магнітних частинок.
- Уникайте потрапляння прямого світла.

9. ЗБІР ТА ПІДГОТОВКА ЗРАЗКІВ

Можна використовувати як сироватку, так і плазму крові людини. Тестування підтверджує, що антикоагулянти цитрат, ЕДТК, гепарин можна використовувати з цим аналізом. Також тестування підтверджує, що посмертні зразки, зібрані протягом 24 годин після смерті, також можна використовувати для аналізу. Для аналізу необхідно використовувати правильний тип зразка.

Уважно дотримуйтеся інструкцій виробника пробірок під час використання контейнерів для збору зразків. Забір крові слід виконувати в асептичних умовах шляхом венепункції, а сироватку або плазму слід відокремлювати від згустків, еритроцитів або гелевого сепаратора після центрифугування.

Центрифугування слід проводити протягом 10 хвилин в діапазоні від 1,000 до 3,000 g. Умови можуть відрізнятися залежно від рекомендацій виробника пробірок. Використання альтернативних умов центрифугування має бути оцінене та валідоване лабораторією.

Перед транспортуванням зразків слід видалити згустки, еритроцити та гелевий сепаратор зі зразків сироватки або плазми. Зразки можна транспортувати в сухому льоду (замороженими), у вологому льоду (при 2°-8°C), або при кімнатній температурі (20°-25°C), дотримуючись описаних нижче обмежень щодо зберігання зразків.

Неконтрольовані (за температурою та часом) умови транспортування можуть спричинити неточність результатів аналізу. Під час валідаційних досліджень були використані пробірки для збору зразків, наявні в продажу на момент тестування. Тому були оцінені не всі пробірки для збору зразків від усіх виробників. Пристрої для збору зразків крові від різних виробників можуть містити речовини, які в деяких випадках можуть вплинути на результати тесту (Bowen et al., Clinical Biochemistry, 43, 4-25, 2010).

Обмеження щодо зберігання: якщо аналіз виконується протягом семи днів після взяття зразка, то зразки, відокремлені від еритроцитів, згустків або гелевого сепаратора, можна зберігати при 2°-8°C; інакше їх слід розділити на аліквоти та зберігати в глибокій заморозці (-20°C або нижче). Вісім зразків з різною реакційною здатністю зберігалися протягом семи днів при 2-8°C і пройшли чотири цикли заморожування-відтавання. Результати не показали істотних відмінностей, однак слід уникати багаторазових циклів заморожування-відтавання. Якщо зразки зберігаються в замороженому вигляді, то перед тестуванням добре перемішайте розморожені зразки.

Щоб покращити узгодженість результатів, зразки, відділені від еритроцитів, згустків та гелевих сепараторів, які містять частинки, фібрин, каламутність, ліпемію або залишки еритроцитів, зразки, які зберігалися при кімнатній температурі (20°-25°C), або заморожені та розморожені, або зразки, які потрібно протестувати повторно, необхідно очистити шляхом додаткового центрифугування (рекомендовано 10 000 g протягом 10') перед тестуванням. Зразки з ліпідним шаром у верхній частині слід перенести у вторинну пробірku так, щоб перенести лише очищений матеріал. Не слід досліджувати сильно гемолізовані або ліпемічні зразки, а також зразки, що містять тверді частинки або демонструють очевидне мікробне забруднення. Перед аналізом перевірте наявність бульбашок повітря та в разі наявності видаліть їх.

Мінімальний необхідний об'єм становить 230 мкл (μl) зразка (80 мкл (μl) зразка + 150 мкл (μl) мертвого об'єму).

10. КАЛІБРУВАННЯ

Визначення значень відносних світлових одиниць (RLU) для специфічних калібраторів дає можливість побудувати стандартну криву. Вміст кожного калібратора достатній, щоб виконати чотири калібрування.

Повторне калібрування у трьох паралельних визначеннях є обов'язковим, якщо виконується хоча б одна з наступних умов: Необхідно провести калібрування у трьох паралельних визначеннях, якщо виконується хоча б одна з наступних умов:

- Використовується нова партія інтегралу реагентів або набору стартерів.
- Попереднє калібрування було виконане більше ніж два тижні тому.
- Аналізатор пройшов технічне обслуговування.
- Контрольні значення виходять за межі очікуваних діапазонів.

Аналізатор ЛІЕЙСОН : Значення калібраторів зберігаються в штрих-кодах на етикетці інтегралу. □

Аналізатор ЛІЕЙСОН XL: Значення калібраторів зберігаються в транспондері радіочастотної ідентифікації інтегралу реагентів (RFID Tag).

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛІЗУ

Для забезпечення належного проведення аналізу необхідно суворо дотримуватися інструкцій оператора аналізатора.

Аналізатор ЛІЕЙСОН Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою штрих-коду на етикетці інтегралу реагентів. Якщо штрих-код етикетки не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Аналізатор ЛІЕЙСОН Кожен параметр тесту ідентифікується за допомогою інформації, закодованої в транспондері радіочастотної ідентифікації інтегралу реагентів (RFID Tag). Якщо RFID Tag не зчитується аналізатором, інтеграл використовувати не можна. Не викидайте інтеграл реагентів; зверніться до місцевої служби технічної підтримки DiaSorin для отримання інструкцій.

Операції аналізатора наступні:

1. Внесіть розчин для розведення зразків, магнітні частинки з покриттям та кон'югат в реакційні кювети.
2. Внесіть калібратори, контролю або зразки.
3. Проведіть інкубацію.
4. Промийте Промивною/Системною рідиною.
5. Додайте Стартери 1 та 2 та виміряйте випромінене світло.

12. КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ

Для моніторингу ефективності аналізу контролю ЛІЕЙСОН слід аналізувати в одному екземплярі. Контроль якості потрібно здійснювати шляхом запуску контролів ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг:

- (a) принаймні один раз на день використання,
- (b) кожного разу, коли використовується новий інтеграл реагентів,
- (c) кожного разу, коли набір калібрується,
- (d) кожного разу, коли використовується нова партія реагентів Стартерів,
- (e) для оцінки адекватності роботи відкритого інтегралу після чотирьох тижнів використання або згідно з інструкціями чи вимогами місцевих нормативних актів або акредитованих організацій.

Значення контролів повинні лежати в межах очікуваних діапазонів. Щоразу, коли одне або обидва значення контролів виходять за межі очікуваних діапазонів, необхідно повторити калібрування та повторно проаналізувати контролю. Якщо значення контролів, отримані після успішного калібрування, неодноразово виходять за межі попередньо визначених діапазонів, тест слід повторити, використовуючи нерозкритий флакон контролю. Якщо значення контролів виходять за межі очікуваних діапазонів, результати пацієнтів не слід повідомляти.

Перед використанням інших контролів слід оцінити їх на сумісність із цим аналізом. Після цього слід встановити відповідні діапазони значень для використовуваних матеріалів для контролю якості.

13. ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Аналізатор автоматично розраховує рівні загальних антитіл *Treponema pallidum*, виражені як значення індексу, і оцінює результати. Для отримання додаткової інформації зверніться до посібника оператора аналізатора.

Калібратори та контролю можуть давати різні результати RLU або дози на ЛІЕЙСОН і ЛІЕЙСОН XL, але результати для пацієнтів еквівалентні.

Значення cut-off, що розмежовує наявність і відсутність сумарних антитіл *Treponema pallidum*, має значення індексу 1. Отримані результати дослідження зразків слід інтерпретувати наступним чином:

Зразки з рівнями антитіл до *Treponema pallidum* нижче значення індексу 0,9 слід оцінювати як *негативні*.

Зразки з рівнями антитіл до *Treponema pallidum* в діапазоні значень індексу від 0,9 до 1,1 слід оцінювати як *сумнівні*.

Зразки з рівнями антитіл до *Treponema pallidum*, що дорівнюють або перевищують значення індексу 1,1, повинні класифікуватися як *початково реактивні*.

Зразок, який під час першого аналізу виявився *початково реактивним* або *сумнівним*, для підтвердження початкового результату слід проаналізувати в двох паралельних визначеннях.

Якщо зразок повторно виявляється реактивним принаймні в одному з паралельних визначень, його слід вважати позитивним.

Зразки, нереактивні під час другого тесту, слід вважати негативними.

Якщо результат повторно виявляється сумнівним, слід взяти наступний зразок не раніше ніж через тиждень і дослідити його повторно.

Негативний результат на сумарні антитіла до *Treponema pallidum* зазвичай свідчить про те, що пацієнт не був інфікований, але не завжди виключає гострий сифіліс, оскільки інфекція може перебувати на дуже ранній стадії, на якій у пацієнта ще не

виробилися специфічні антитіла до *Treponema pallidum*, або рівень наявних антитіл може бути ще занадто низьким для виявлення. Якщо є клінічна підозра на зараження *Treponema pallidum*, то, незважаючи на негативний або сумнівний висновок, пізніше під час перебігу інфекції слід зібрати та дослідити другий зразок.

Позитивний результат на сумарні антитіла до *Treponema pallidum*, як правило, свідчить про контактування зі збудником (гостра інфекція або перенесена інфекція). Однак один зразок може лише допомогти оцінити серологічний статус особи.

14. ОБМЕЖЕННЯ ПРОЦЕДУРИ

Цей тест дає можливість виявити сумарні антитіла до *Treponema pallidum*. Він виявляє як нещодавні, так і минулі інфекції, але не може розрізняти різні класи антитіл.

Виявлення загальних антитіл до *Treponema pallidum* може свідчити про нещодавній, минулий або успішно лікуваний сифіліс: отже, цей тест не може розрізняти активне захворювання та ліковане захворювання, і, як наслідок, його не можна використовувати для визначення відповіді на терапію.

Для контролю ефективності терапії слід проводити клінічну та серологічну оцінку (нетрепонемні тести).

Тест ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг може дати позитивні результати, а нетрепонемні тести (VDRL, RPR) — негативні, оскільки він виявляє антитіла до *Treponema pallidum*, які зберігаються протягом усього життя. Тести RPR зазвичай при перенесених інфекціях дають негативні результати, оскільки вони виявляють гетерофільні антитіла, які присутні лише на ранній стадії інфекції.

Нереактивний результат тесту не виключає можливості контакту зі збудником сифілісу або інфікування ним. Антитіла до *T. pallidum* можуть не виявлятися на деяких стадіях інфекції та в деяких клінічних станах.

Для отримання надійних результатів необхідне вміле застосування методики і суворе дотримання інструкцій. Бактеріальна контамінація або теплова інактивація зразків може вплинути на результати тесту.

Результати тесту повідомляються як позитивні або негативні на наявність сумарних антитіл *Treponema pallidum*. Однак діагноз інфекційних захворювань не слід ставити на основі одного результату тесту, його слід встановлювати, враховуючи клінічні дані та результати інших діагностичних процедур, на основі медичного висновку. Тому при встановленні точного діагнозу необхідно брати до уваги клінічний анамнез, симптоматику, а також серологічні дані. Однак результати тестів осіб з ослабленим імунітетом слід тлумачити з обережністю, оскільки цей стан може вплинути на рівень їхніх антитіл.

Інтеграли не можна обмінювати між аналізаторів різного типу (ЛІЕЙСОН і ЛІЕЙСОН XL). Після встановлення інтеграла в аналізатор певного типу його потрібно використати до повного відпрацювання саме на цьому аналізаторі. Внаслідок вимог простежуваності, що випливають з попереднього твердження, заключний висновок для пацієнта не можна робити, базуючись на результатах з аналізаторів різного типу. Для простеження результатів аналіз зразків потрібно виконувати на одному конкретному типі аналізатора (ЛІЕЙСОН або ЛІЕЙСОН XL).

Перед тестуванням трупних зразків слід ретельно дотримуватися процедури збору та центрифугування. Після смерті в крові відбуваються гемоліз та інші зміни (включаючи протеоліз і розведення), що може призвести до хибнонегативних і хибнопозитивних результатів тестування. У суб'єктів, яким переливали кров безпосередньо перед смертю, високий відсоток гемодилуції може вплинути на ефективність тесту внаслідок розведення аналіту.

15. СПЕЦИФІЧНІ ТЕХНІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ

15.1. Аналітична специфічність

Аналітична специфічність може бути визначена як здатність аналізу точно виявляти специфічний аналіт у присутності потенційно інтерферуючих факторів у матриці зразка (наприклад, антикоагулянти, гемоліз, ефекти обробки зразка) або перехресно реактивних антитіл.

Інтерференція. Контрольовані дослідження потенційно інтерферуючих речовин або умов показали, що на ефективність аналізу не впливають антикоагулянти (цитрат натрію, ЕДТК, гепарин), гемоліз (до 1000 мг/дл гемоглобіну), ліпемія (до 3000 мг/дл тригліцеридів), білірубінемія (до 20 мг/дл білірубину) або обмежена кількість циклів заморожування-розморожування зразків.

Перехресні реакції. Як правило, наявність потенційно перехресно реактивних антитіл не впливає на аналіз. Були досліджені наступні антитіла: (a) імуноглобуліни до різних інфекційних агентів, таких як hCMV, EBV, VZV, вірус краснухи, *Borrelia burgdorferi*, *Treponema denticola* або *Toxoplasma gondii* – (b) Антинуклеарні антитіла (ANA) та ревматоїдний фактор (антитіла до Fc-фрагменту імуноглобуліну).

15.2 Точність з аналізатором ЛІЕЙСОН

Для оцінки повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах аналізу та між аналізами) був проведений аналіз різних зразків, що містять різні концентрації специфічного аналіту. Варіабельність, показана в таблицях нижче, не призвела до неправильної класифікації зразка. **Результати стосуються досліджуваних груп зразків і не є гарантованими характеристиками, оскільки між лабораторіями та місцевостями можуть існувати відмінності.**

Повторюваність. Щоб оцінити повторюваність, в одній постановці аналізу було виконано двадцять визначень.

Повторюваність.	A	B	C	D
Кількість визначень	20	20	20	20
Середнє значення (значення індексу)	0,13	8,17	51,48	58,53
Стандартне відхилення	0,02	0,22	1,39	1,63
Коефіцієнт варіації (%)	13,1	2,6	2,7	2,8

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності було проведено кілька визначень у різні дні (одна або дві постановки аналізу на день) з трьома різними партіями інтеграла. Тестування проводились у двох локаціях: у власній лабораторії та в незалежній лабораторії.

Відтворюваність.	Локація 1				Локація 2			
	E	F	G	H	E	F	G	H
LOT No. 01								
Кількість визначень	20	20	20	20	11	11	11	11
Середнє значення (значення індексу)	0,18	11,02	40,20	56,45	0,15	12,50	41,68	57,47
Мін. значення	0,14	9,40	26,90	47,00	0,10	11,30	38,10	42,40
Макс. значення	0,20	12,80	46,70	61,00	0,19	14,00	47,00	66,70
Коефіцієнт варіації (%)	10,8	7,3	12,1	5,9	15,4	7,0	7,1	11,2
LOT No. 02								
Кількість визначень Середнє (значення індексу)	20	20	20	20	11	11	11	11
	0,13	12,24	38,08	56,20	0,07	13,15	40,00	57,36
Мін. значення	0,09	11,00	33,20	49,00	0,05	11,90	36,70	50,70
Макс. значення	0,26	13,90	44,30	62,30	0,09	14,00	43,00	64,00
Коефіцієнт варіації (%)	39,2	6,3	8,5	5,9	21,9	4,6	7,9	6,3
LOT No. 03								
Кількість визначень Середнє (значення індексу)	20	20	20	20	11	11	11	11
	0,06	12,60	40,83	54,45	0,03	12,57	38,85	55,80
Мін. значення	0,04	11,40	34,70	47,30	0,03	11,10	33,70	49,70
Макс. значення	0,10	13,50	49,30	61,30	0,03	13,60	42,30	62,00
Коефіцієнт варіації (%)	24,7	3,7	12,1	8,4	0,0	5,7	9,1	6,6

15.3. Точність з аналізатором LIAISON® XL

Для визначення повторюваності та відтворюваності аналізу (тобто варіабельності в межах аналізу та між аналізами) був проведений аналіз різних зразків, що містили різні концентрації специфічного аналіту. Варіабельність, показана в таблицях нижче, не призвела до неправильної класифікації зразка. **Результати стосуються досліджуваних груп зразків і не є гарантованими характеристиками, оскільки між лабораторіями та місцевостями можуть існувати відмінності.**

Повторюваність. Щоб оцінити повторюваність, в одній постановці аналізу було виконано двадцять визначень.

Повторюваність.	1	2	3	Позитивний
Кількість визначень	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,565	3,07	3,99	11,1
Стандартне відхилення	0,051	0,056	0,082	0,34
Коефіцієнт варіації (%)	9,1	1,8	2,0	3,0
Мін. значення	0,492	2,99	3,80	10,5
Макс. значення	0,656	3,19	4,12	11,6

Відтворюваність. Для оцінки відтворюваності було проведено двадцять визначень у різні дні (одна або дві постановки аналізу на день).

Відтворюваність.	1	2	3	Позитивний
Кількість визначень	20	20	20	20
Середнє (значення індексу)	0,328	2,91	3,78	10,5
Стандартне відхилення	0,053	0,10	0,12	0,47
Коефіцієнт варіації (%)	16,0	3,6	3,2	4,5
Мін. значення	0,261	2,77	3,56	9,89
Макс. значення	0,422	3,17	4,06	11,2

15.4. Ефект високодозового насичення

Щоразу, коли досліджуються зразки, що містять надзвичайно високі концентрації антитіл, ефект насичення може імітувати концентрації, нижчі за реальні.

Аналіз високодозового ефекту проводили шляхом тестування чотирьох зразків із високим титром, позитивних на сумарні антитіла до *Treponema pallidum*. Усі зразки дали значення концентрацій вище діапазону аналізу, який можна було б очікувати від зразків із високим титром, що свідчить про відсутність неправильної класифікації зразків.

15.5. Діагностична специфічність та чутливість

Діагностична специфічність і чутливість були оцінені шляхом тестування 3690 зразків із різних популяцій. Зразки були протестовані за допомогою кількох методів порівняння, і для визначення очікуваних результатів було використано консенсус між ними, а також доступні клінічні та серологічні дані. Загальні результати коротко викладені нижче; докладні результати наведено далі.

Діагностична специфічність: 99,91% (3506/3509) - 95% довірчий інтервал: 99,75-99,98%.

Діагностична чутливість: 99,40% (167/168) - 95% довірчий інтервал: 96,73-99,98%.

ДОНОРИ КРОВІ. З 2494 зразків неселектованої популяції донорів 2491 результат був негативним, один результат був сумнівним і два результати були позитивними. Діагностична специфічність, розрахована без врахування сумнівного результату, становила 99,92% (2491/2493) (95% довірчий інтервал: 99,71-99,99%).

КЛІНІЧНІ ЗРАЗКИ. Панель із 131 зразка, зібраного у пацієнтів на різних стадіях сифілісу (7 на первинних стадії, 31 на вторинній стадії, 77 з латентним сифілісом, 5 з кардіоваскулярним сифілісом, 6 з нейросифілісом, 5 з вродженим сифілісом), була охарактеризована комерційно доступними тестами, такими як RPR, TPHA, імуноферментний аналіз та Вестерн-блот власного виробництва, а також була оцінена за допомогою тесту LIAISON® Treponema Screen. Шість результатів були сумнівними, і потім виключені з розрахунків, оскільки результати порівняльних тестів не були узгодженими. Зі 125 зразків, класифікованих як позитивні, 125 результатів тесту LIAISON® Treponema Screen були позитивними. Діагностична специфічність, розрахована без врахування сумнівних результатів, становила 100% (125/125) (95% довірчий інтервал: 97,09-100%).

ПЕРЕХРЕСНІ РЕАКЦІЇ. Також було досліджено 65 потенційно перехресно реактивних зразків: з них 30 результатів були позитивними на антитіла до *Borrelia burgdorferi* antibodies, 10 були позитивними на антитіла до EBV, 10 були позитивними на антитіла до *Streptococcus -haemoliticus*, 15 були позитивними на антитіла до *Treponema denticola*. Усі ці потенційно перехресно реактивні зразки дали негативний результат тесту ЛІЕЙСОН Трепонема скринінг.

ПРОСПЕКТИВНІ ЗРАЗКИ. Було зібрано 1000 зразків з неселектованих лабораторних рутинних зразків з релевантними серологічними результатами (комерційний імуоферментний аналіз і Вестерн-блот власного виробництва). П'ять результатів були класифіковані як сумнівні, оскільки порівняльні тести не узгоджувалися щодо них. З врахуванням консенсусу поєднання результатів імуоферментного аналізу та вестерн-блоттингу, діагностична специфічність становила 99,89% (950/951 - 95% довірчий інтервал: 99,42-100%) а діагностична чутливість - 97,67% (42/43 - 95% довірчий інтервал: 87,71-99,94%). Сумнівні результати були виключені з розрахунку.

15.6. Характеристики ефективності дослідження трупних зразків

Характеристики ефективності дослідження трупних зразків визначалися шляхом тестування, згідно з протоколом валідації PEI*, посмертних зразків, зібраних протягом 24 годин після смерті, у порівнянні зі зразками живих донорів. 20 посмертних зразків було протестовано як без додавання аналіту, так і з додаванням, на 2 рівнях: низькопозитивний та середньо/високопозитивний. Таку саму процедуру було виконано з такою ж кількістю зразків нормальної людської сироватки від живих донорів, паралельно протестованих як еталон для порівняння з результатами посмертного зразка. Отримані результати були проаналізовані шляхом розрахунку відсоткової різниці між середнім значенням результатів живих донорів і середнім значенням результатів посмертного дослідження на кожному рівні реактивності. У цьому дослідженні отримана процентна різниця була рівною або нижчою за 6,9% для кожного з досліджених рівнів реактивності (див. таблицю нижче). Парний аналіз t-тестів проводився між зразками, отриманими від посмертних та живих донорів, з додаванням низьких та середніх/високих позитивних рівнів, і продемонстрував несуттєву різницю між двома групами (значення p <0,05).

Повторюваність оцінювали, використовуючи один посмертний зразок та один зразок від живого донора, з додаванням до низького рівня реактивності сироватки крові людини, реактивної на антитіла до *Treponema pallidum*. Кожен зразок оцінювали в шести паралельних визначеннях в одній постановці аналізу. Отриманий відсотковий коефіцієнт варіації (CV%) не перевищував 15%. Як зазначено в таблиці нижче, у дослідженні було визначено 1,5% для трупного зразка та 1,3% для зразка від живого донора. Результати стосуються групи досліджуваних зразків і не є гарантованими характеристиками, оскільки можуть існувати відмінності між лабораторіями та локаціями.

Зразок		Результати тесту Середнє (значення індексу)	Відновлення (%) Посмертні/Живі донори	t-тест р значення	CV% 6 паралельних визначень
Без добавок	Посмертний, без добавок	0.182	Не застосовується	Не застосовується	Не застосовується
	Від живого донора, без добавок	<0.100			
Слабопозитивний	Посмертний, з добавками	2.41	1.3	0.616	1.5
	Від живого донора, з добавками	2.38			1.3
Середньопозитивний/сильнопозитивний	Посмертний, з добавками	5.87	6.9	0.104	Не застосовується
	Від живого донора, з добавками	5.49			

* Paul Ehrlich Institute - Proposal for the Validation of Anti-HIV-1/2 or HIV Ag/Ab Combination Assays, Anti-HCV-Assays, HBsAg and Anti-HBc Assays for Use with Cadaveric Samples - 08/05/2014

ЛІТЕРАТУРНІ ПОСИЛАННЯ

S.J. NORRIS
Polypeptides of *Treponema pallidum*: progress toward understanding their structural, functional and immunologic roles. Microb. Reviews, **57** (3) : 750-779 (1993).

V. SAMBRI et al.
Western immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serologic diagnosis of syphilis. Clin. Diagn. Lab. Immunol., **8** : 534-539 (2001).

A.E. SINGH, B. ROMANOWSKY
Syphilis: review with emphasis on clinical, epidemiologic and some biologic features. Clin. Microb. Reviews, **12** (2) : 187-209 (1999).

K. A. WORKOWSKI, G. A. BOLAN
Sexually Transmitted Diseases Treatment Guidelines, 2015. MMWR, **64** (3) : (2015).

200/007-893, 11 - 2024-03
Дата останнього перегляду інструкції із застосування: 07.2024



ДіаСорін Італія С.п.А.
Via Кресцентіно, снс, 13040 Салуджа (ВК), Італія
DiaSorin Italia S.p.A.
Via Crescentino, snc, 13040 Saluggia (VC), Italy



Уповноважений представник в Україні:
ТОВ «ЛАБСЕППОРТ»
01133, місто Київ, б. Лесі Українки, будинок 34, Україна
Тел: +380673234344, E-mail: info@labsupport.com.ua