



DiaSorin S.p.A.
Via Crescentino snc - 13040 Saluggia (VC) - Italy
www.diasorin.com
Tel. +39.0161.4871



Скрининг-тест для обнаружения специфических антител к трепонеме LIAISON®Treponema Screen (КОД 310840)

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Скрининг-тест для обнаружения специфических антител к трепонеме LIAISON® Treponema Screen использует технологию хемилюминесцентного иммуноанализа (CLIA) для качественного определения специфических суммарных антител к Treponema pallidum (бледной трепонеме) в образцах сыворотки или плазмы крови человека. Тест должен проводиться на анализаторах серии LIAISON®.

2. КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ И ОБЪЯСНЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

Сифилис - это заболевание, обычно передающееся половым путем, вызываемое бактериями вида Treponema pallidum семейства Спирохеты. В литературе также сообщается о врожденной передаче Treponema pallidum путем трансплацентарного прохода от инфицированной матери к ребенку и заражения путем переливания крови. Инфекция поражает организм в целом с момента возникновения, и заболевание характеризуется периодами латентности, часто превышающими двадцать лет. Естественное развитие сифилиса разделено на три фазы. После инкубационного периода длительностью около трех недель появляется безболезненное поражение кожи (шанкр), часто сопровождающееся местной лимфаденопатией (первичная фаза). Болезнь развивается во вторичную, генерализованную фазу, сопровождающуюся общими слизисто-кожными поражениями и лимфаденопатией. Если инфекция Treponema pallidum получила возможность развиваться в поздние стадии заболевания, за вторичной фазой следует период субклинической инфекции (скрытый сифилис), которая может быть обнаружена только при выполнении серологических тестов, а затем следует период поздней или третичной фазы, наблюдаемой только у небольшого числа пациентов и характеризующейся стадией прогрессирования заболевания.

Сифилис может быть диагностирован при помощи различных серологических лабораторных тестов, которые также полезны для определения стадии заболевания, если выполняются совместно с другими клиническими тестами. Серологическую диагностику обычно устанавливают, используя два стандартных теста, комбинируя нетрепонемные тесты на антитела с целью выявления заболевания и специфические трепонемные тесты к антителам для подтверждения наличия заболевания. Двумя наиболее часто используемыми нетрепонемными тестами на антитела являются Тест исследовательской лаборатории венерических заболеваний (VDRL) и ускоренный плазмореагиновый тест (RPR), последний - упрощенная вариация VDRL.

Во многих лабораториях в качестве метода выявления сифилиса используется гемагглютинационный тест Treponema pallidum (ТРНА), суть которого состоит из агглютинации эритроцитов, покрытых специфическими антигенами Treponema pallidum, и который выявляет специфические антитела класса IgG и IgM. Однако интерпретация результатов ТРНА является субъективной и не может быть полностью автоматизирована. Недавно в продажу были выставлены различные иммуноферментные наборы с использованием бактериального лизата, а позднее с использованием очищенных рекомбинантных белков.

Положительные результаты могут быть подтверждены контрольным тестом с помощью флуоресцентного анализа на абсорбцию трепонемных антител (FTA-Abs), который

позволяет выявлять как IgG, так и IgM. Однако его выполнение является трудоемкой и времязатратной задачей, непригодной для отбора большого количества образцов, а интерпретация результатов является субъективной.

В отличие от нетрепонемных тестов, антиген-специфическая реакционная способность трепонемного теста сохраняется после лечения, часто пожизненно. Доноров крови и плазмы проверяют на антитела к *Treponema pallidum*, используя как нетрепонемные, так и трепонемные тесты.

3. ПРИНЦИП АНАЛИЗА

Метод определения специфических суммарных антител к *Treponema pallidum* представляет собой одноступенчатый хемилюминесцентный иммуноанализ по типу сэндвича (технология CLIA). Рекомбинантные антигены, специфичные к *Treponema pallidum*, используются для покрытия магнитных частиц (твердая фаза) и связаны с производным изолюминола (конъюгат антиген-изолюминола). Во время инкубационного периода антитела к *Treponema pallidum*, присутствующие в калибраторах, образцах или контролях, связываются с твердой фазой, а также с антиген-конъюгатом. После инкубационного периода несвязанный материал удаляется с циклом отмывания.

Затем добавляют запускающие реагенты и, таким образом, вызывают вспышку света, которой сопровождается реакция хемилюминесценции. Световой сигнал, а, следовательно, и количество конъюгат антиген-изолюминола, измеряют с помощью фотоумножителя в относительных единицах света (RLU), что указывает на общую концентрацию антител к *Treponema pallidum*, присутствующих в калибраторах, образцах или контролях.

4. ПРЕДОСТАВЛЯЕМЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Набор реагентов

Магнитные частицы (2,3 мл)	SORB	Магнитные частицы, покрытые рекомбинантными антигенами <i>Treponema pallidum</i> (полученными в <i>E.coli</i>), BSA (бычий сывороточный альбумин), фосфатно-солевой буферный раствор, <0,1% азида натрия.
Калибратор 1 (1,4 мл)	CAL1	Сыворотка крови/плазма человека, содержащая низкие уровни антител к <i>Treponema pallidum</i> , BSA (бычий сывороточный альбумин), фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный желтый краситель. Концентрации калибратора соотносятся с внутренними параметрами антител.
Калибратор 2 (1,4 мл)	CAL2	Сыворотка крови / плазма человека, содержащая высокие уровни антител к <i>Treponema pallidum</i> , BSA(бычий сывороточный альбумин), фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный синий краситель. Концентрации калибратора соотносятся с внутренними параметрами антител.
Разбавитель образцов (13 мл)	DIL SPE	Белки, ЭДТА, фосфатный буфер, 0,2% ProClin® 300, инертный синий краситель.
Конъюгат (9 мл)	CONJ	Рекомбинантные антигены <i>Treponema pallidum</i> (полученные в <i>E. coli</i>), конъюгированные с производным изолюминола, BSA, фосфатно-солевой буферный раствор, 0,2% ProClin® 300, консерванты.
Количество тестов		200

Все реагенты поставляются готовыми к использованию. Порядок расположения реагентов отражает расположение контейнеров в наборе реагентов.

Необходимые материалы, но не поставляемые (связанные с системой)

Анализатор LIAISON® XL	Анализатор LIAISON®
LIAISON® XL Кюветы ([КОД] X0016) LIAISON® XL Одноразовые наконечники ([КОД] X0015) LIAISON® XL Запускающий набор ([КОД] 319200) LIAISON® Промывочный раствор/ системный раствор([КОД] 319100) LIAISON® XL Мешки для отходов([КОД] X0025)	LIAISON® Модуль реакционный ([КОД] 319130) LIAISON® Запускающий набор ([КОД] 319102) или LIAISON® XL Запускающий набор ([КОД] 3191200) LIAISON® XL Реагент для контроля системы ([КОД] 319150) LIAISON® Промывочный / системный раствор ([КОД] 319100) LIAISON® Мешки для отходов ([КОД] 450003) LIAISON® Набор для очистки ([КОД] 310990)

Дополнительны необходимые материалы

Контроли (положительный и отрицательный) для анализа на выявление специфических антител к *Treponema* LIAISON® ([КОД] 310841)

5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Для использования для диагностики *in vitro*.

Все единицы сыворотки крови и плазмы, используемые для получения компонентов, представленных в этом наборе, были протестированы на наличие поверхностного антигена вируса гепатита В (HBsAg), вируса гепатита С (HCV), антител против ВИЧ-1 и ВИЧ-2 и оказались нереактивными. Однако, ни один метод исследования не может обеспечить абсолютную уверенность в том, что патогены отсутствуют, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально опасными и требующими обращения с особой осторожностью.

6. МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

Не ешьте, не пейте, не курите и не применяйте косметику в лаборатории проведения анализа.

Не пипетируйте ртом.

Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным материалом, предварительно надев лабораторную одежду, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мойте руки после каждого анализа.

Избегайте разбрызгивания или выделения аэрозолей. Все капли биологического реагента должны быть удалены раствором гипохлорита натрия, содержащего 0,5% активного хлора, а используемые средства должны рассматриваться как зараженные отходы.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать возбудителей инфекционных заболеваний. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными инструкциями и нормативными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы для повторного использования должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и инструкциями. Проверьте эффективность цикла стерилизации/ дезактивации.

Не используйте наборы или компоненты после срока, указанного на этикетке.

В соответствии с нормами ЕС 1272/2008 (CLP) опасные реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	CAL1, CAL 2, CONJ , DILSPE
КЛАССИФИКАЦИЯ	Чувствительность кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение
СИМВОЛЫ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
ОПАСНОСТЬ ВОЗДЕЙСТВИЯ:	H317 Может вызвать аллергическую реакцию кожи.
ИНФОРМАЦИЯ О МЕРАХ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ:	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / спрея. P280 Надеть защитные перчатки / защитную одежду / средства защиты глаз / средства защиты лица. P363 Перед повторным использованием постирать загрязненную одежду.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со Статьей 18 Регламента ЕС 1272/2008)	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3:1) (ProClin® 300).

В соответствии с Законом ЕС 1272/2008 (CLP), **SORB** обозначается как EUN210 в паспортах безопасности вещества, которые предоставляются по запросу. Дополнительную информацию см. в паспортах безопасности вещества на сайте www.diasorin.com

7. ПРИГОТОВЛЕНИЕ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

Обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при обращении с реагентом:

Ресуспендирование магнитных частиц
Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы перед тем, как набор помещают на прибор. Следуйте указанным ниже шагам для обеспечения полного ресуспендирования:
Перед снятием герметичной крышки поверните небольшое колесо в отделении с магнитными частицами до тех пор, пока цвет суспензии не станет коричневым. Тщательное и осторожное перемешивание путем наклона из стороны в сторону поможет получить равномерную суспензию магнитных частиц (избегайте образования пены). Визуально проверьте дно флакона с магнитными частицами, чтобы убедиться, что все осевшие магнитные частицы были ресуспендированы. Осторожно протрите поверхность каждой мембраны, чтобы удалить остаточную жидкость.
Повторите при необходимости до полного ресуспендирования магнитных частиц.
Неполное ресуспендирование магнитных частиц может привести к получению непостоянных и неточных результатов анализа.

Образование пены в реагентах

Для гарантирования оптимальной работы набора, следует избегать вспенивания реагентов. Для предотвращения этого соблюдайте приведенные ниже рекомендации: Перед использованием набора визуально осмотрите реагенты, в том числе калибраторы (положение два и три за положением флакона с магнитными частицами), чтобы убедиться, что не произошло образование пены до начала использования набора. Если пена присутствует после ресуспендирования магнитных частиц, поместите набор на прибор и оставьте до тех пор, пока пена не осядет. Набор готов к использованию, когда пена исчезла, а набор остался на панели прибора и перемешан.

Загрузка набора в зону для реагентов

Анализатор LIAISON®

- Поместите набор в зону для реагентов в анализатор, так чтобы этикетка со штрих-кодом была обращена влево, и дайте набору постоять 30 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.
- Следуйте инструкциям оператора анализатора, чтобы загрузить образцы и начать работу.

Анализатор LIAISON® XL

- Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным магнитным устройством, который способствует рассеиванию микрочастиц перед размещением набора реагентов в зону для реагентов в анализаторе. Подробнее см. руководство оператора анализатора.
 - а. Поместите набор реагентов в предназначенное для него место.
 - б. Позвольте набору реагентов оставаться в магнитном устройстве не менее 30 секунд (до нескольких минут). При необходимости повторите.
- Поместите набор в зону для реагентов в анализатор этикеткой, обращенной влево, и дайте ему постоять в течение 15 минут перед использованием. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы.
- Следуйте инструкции оператора анализатора, чтобы загрузить образцы и начать работу.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ НАБОРА РЕАГЕНТОВ

- **В герметичной упаковке:** набор стабилен при температуре 2-8 °С до истечения срока годности.
- **В открытом виде на панели анализатора или при температуре 2-8 °С:** Минимальная стабильность - **4 недели**. По истечению этого периода набор реагентов все еще можно продолжать использовать при условии, что значения контролей находятся в пределах ожидаемых диапазонов.
- Всегда используйте один и тот же анализатор для уже открытого набора реагентов.
- Для вертикального хранения набора реагентов используйте штатив для хранения, поставляемый с анализатором.
 - Не замораживать.
 - Хранить в вертикальном положении, чтобы облегчить в дальнейшем ресуспендирование магнитных частиц.
 - Держать вдали от прямого солнечного света.

9. СБОР И ПОДГОТОВКА ОБРАЗЦОВ

Можно использовать как сыворотку, так и плазму человека. Антикоагулянты цитрат натрия, ЭДТА, гепарин были проверены и могут быть использованы в этом анализе. Образцы от умерших доноров, собранные в течение 24 часов после смерти, были проверены и также могут быть использованы в анализе. В анализе должен использоваться правильный тип образца.

Внимательно следуйте инструкциям производителя пробирок при использовании контейнеров для сбора. Кровь следует собирать асептическим путем венепункции, а сыворотку или плазму отделять от сгустка, эритроцитов или геля для сепарации эритроцитов после центрифугирования.

Условия центрифугирования крови составляют от 1000 до 3000 g крови в течение 10 минут. Условия могут варьироваться в зависимости от рекомендаций производителей пробирок. Использование альтернативных условий центрифугирования крови необходимо оценить и проверить в лаборатории.

Перед отправкой образцов образцы сыворотки или плазмы крови должны быть очищены от сгустка, эритроцитов или геля для сепарации. Образцы могут быть отправлены в пробирках с сухим льдом (замороженными), с жидким льдом (при 2-8 ° C) или при комнатной температуре (20-25°C), следуя нижеприведенным ограничениям относительно хранения образцов.

Неконтролируемые условия транспортировки (в отношении температуры и времени) могут привести к неточным результатам анализа.

Во время проверочных исследований использовались пробирки для сбора образцов, имеющиеся в продаже во время тестирования. Поэтому пробирки для сбора крови не всех производителей были исследованы. Устройства для сбора крови различных производителей могут содержать вещества, которые в некоторых случаях могут повлиять на результаты анализа (Bowen et al., *Clinical Biochemistry*, 43, 4-25, 2010). Что касается ограничений на хранение, если анализ проводится в течение семи дней после сбора проб, образцы, очищенные от эритроцитов, сгустков или геля для сепарации, могут храниться при температуре 2-8°C; в противном случае они должны быть разделены на аликвоты и храниться глубокозамороженными (при температуре -20°C или ниже). Восемь образцов с различной реакционной способностью хранили в течение семи дней при температуре 2-8°C и подвергали четырем циклам замораживания-оттаивания. Результаты не показали существенных различий. Однако, следует избегать многократных циклов замораживания-оттаивания. Если образцы хранятся замороженными, тщательно перемешайте оттаиваемые образцы перед началом анализа.

Образцы, очищенные от эритроцитов, сгустков или геля для сепарации, содержащие твердые частицы, фибрин, мутность, липемию или обломки эритроцитов, образцы, которые хранились при комнатной температуре (20-25°C), или замороженные и оттаявшие, или образцы, требующие проведения повторного исследования, требуют выполнения очищения путем дальнейшего центрифугирования (рекомендуется 10000 g 10 минут) перед проведением исследования для улучшения результатов. Образцы с липидным слоем сверху должны быть перенесены во вторичную пробирку, для передачи только очищенного материала. Грубо гемолизированные или липемические образцы, а также образцы, содержащие твердые частицы или проявляющие очевидное микробное заражение не должны участвовать в проведении анализа. Проверьте и при необходимости удалите пузырьки воздуха из пробирки перед началом анализа. Минимальный требуемый объем – 230 мкл образца крови (80 мкл образца + 150 мкл мертвого объема).

10. КАЛИБРОВКА

Испытание определенных, специфических для анализа, калибраторов позволяет определить значения относительных световых единиц потока (RLU) для настройки заданных значений калибратора (получения калибровочной кривой (эталонной кривой)). Каждое калибровочное решение позволяет выполнять четыре варианта калибровки.

Повторная калибровка в трех повторах является обязательной при возникновении хотя бы одного из следующих условий:

Анализатор следует откалибровать в трех повторениях при возникновении хотя бы одного из следующих условий:

- Используется новая партия набора реагентов или запускающего набора реагентов.
- Предыдущая калибровка была выполнена более двух недель назад.
- Производился осмотр или ремонт анализатора.
- Контрольные значения находятся за пределами ожидаемых диапазонов.

Анализатор LIAISON®: значения калибратора сохраняются в штрих-кодах на встроенной этикетке.

Анализатор LIAISON® XL: значения калибратора хранятся в транспондере радиочастотной идентификации (RFID- метка).

11. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое соблюдение рекомендаций руководства оператора анализатора обеспечивает правильное выполнение анализа.

Анализатор LIAISON®. Каждый исследуемый параметр идентифицируется через штрих-коды на этикетке набора реагентов. В случае, если метка штрих-кода не может быть прочитана анализатором, набор реагентов не может быть использован. Не выбрасывайте набор реагентов; свяжитесь с вашей местной службой технической поддержки компании DiaSorin для получения дальнейших указаний.

Анализатор LIAISON® XL. Каждый исследуемый параметр идентифицируется с помощью информации, закодированной в транспондере радиочастотной идентификации (RFID-метке) набора реагентов. В случае, если RFID-метка не может быть считана анализатором, набор не может быть использован. Не выбрасывайте набор реагентов; обратитесь в местную службу технической поддержки компании DiaSorin для получения дальнейших указаний.

Операции анализатора следующие:

1. Приготовьте и распределите разбавитель образцов, покрытый магнитными частицами и конъюгат в реакционный модуль.
2. Приготовьте калибраторы, контроли или образцы.
3. Выдержите в термостате.
4. Промойте промывочным раствором/ системным промывочным раствором.
5. Добавьте запускающие реагенты 1 и 2 и измерьте излучаемый свет.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроли LIAISON® должны выполняться в одной повторности, чтобы контролировать результаты анализа. Контроль качества должен выполняться путём проведения контролей анализа LIAISON® Treponema Screen Control.

- (a) не реже одного раза в день использования,
- (b) всякий раз, когда используется новый набор реагентов,
- (c) всякий раз, когда набор калибруется,
- (d) всякий раз, когда используется новая партия запускающих реагентов,
- (e) для оценки правильности выполнения открытого набора за четыре недели или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных правил или аккредитованных организаций.

Контрольные значения должны находится в пределах ожидаемых диапазонов: всякий раз, когда один или оба контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, должна проводиться повторная калибровка, а также повторное исследование контролей. Если значения контролей, полученных после успешной калибровки, снова находятся за пределами заданных диапазонов, тест следует повторить с использованием нового невскрытого флакона контроля. Если значения контроля находятся за пределами ожидаемых диапазонов, результаты анализа не должны сообщаться пациенту.

Необходимо оценить, совместимы ли другие контроли с этим анализом до начала их использования. Затем должны быть установлены соответствующие диапазоны значений для используемых материалов контроля качества.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически вычисляет уровни общего антитела к *Treponema pallidum*, выраженные в качестве заданного значения, и оценивает результаты. Подробнее см. руководство оператора анализатора.

Калибраторы и контроли могут давать разные результаты относительных световых единиц или доз на анализаторах LIAISON® и LIAISON® XL, но результаты пациентов равнозначны.

Пороговое значение, различающееся наличием и отсутствием суммарных антител к *Treponema pallidum*, имеет заданное значение 1. Результаты образца следует интерпретировать следующим образом:

Образцы с уровнями антител к *Treponema pallidum* ниже заданного значения 0,9 должны быть оценены как отрицательные.

Образцы с уровнями антител к *Treponema pallidum*, находящимися между заданным значением 0,9 и 1,1, должны быть оценены как сомнительные.

Образцы с уровнями антител к *Treponema pallidum*, равными или превышающими заданное значение 1,1, должны быть классифицированы как первоначально реакционноспособные.

Образец, показавший первоначально реакционноспособный или неоднозначный результат при первом анализе, должен быть протестирован в дубликате, чтобы подтвердить исходный результат.

Если образец повторно реагирует по крайней мере в одном повторе, его следует считать положительным.

Образцы, которые не реагируют во втором тесте, считаются отрицательными.

Второй образец следует собрать и протестировать не менее чем через неделю, если результат повторно сомнительный.

Отрицательный результат для суммарных антител к *Treponema pallidum* обычно указывает на то, что пациент не был инфицирован, но не всегда исключает ранний сифилис, потому что инфекция может находиться на самой ранней стадии, и организм пациента может быть еще неспособным синтезировать специфические антитела к *Treponema pallidum*, или антитела могут присутствовать на не обнаруживаемых уровнях. Если все же имеются подозрения о клиническом проявлении *Treponema pallidum*, несмотря на отрицательный или неоднозначный результат анализа, необходимо собрать второй образец и позже в ходе развития заболевания провести его повторное исследование.

Положительный результат для суммарных антител к *Treponema pallidum* обычно указывает на воздействие возбудителя (острая стадия или инфицирование в прошлом). Хотя достаточно и одного образца для определения серологического статуса индивида.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ПРОЦЕДУРЫ АНАЛИЗА

Этот тест позволяет проводить скрининг на наличие антител к *Treponema pallidum*. Он обнаруживает как недавние, так и прошлые инфекции, но он не может различать разные классы антител.

Обнаружение суммарных антител к *Treponema pallidum* может указывать на недавний, прошедший или успешно вылеченный сифилис: поэтому этот тест не может различать активное и вылеченное заболевание и, как следствие, не может использоваться для назначения лечения.

Для мониторинга за эффективностью терапии необходимо провести клиническую оценку и серологический нетрепонемный тест.

Скрининг-тест LIAISON® Treponema Screen может давать положительные результаты, которые нетрепонемные тесты (VDRL, RPR) оценивают как отрицательные, поскольку он обнаруживает антитела к *Treponema pallidum*, присутствующие в организме всю жизнь. Тест быстрых плазменных реагинов (RPR) обычно дает отрицательные результаты по перенесенным инфекциям, поскольку он обнаруживает гетерофильные антитела, которые присутствуют только на ранней стадии инфекции.

Нереактивный результат теста не исключает возможности проявления сифилиса или инфицирования. Антитела к *T. pallidum* могут не обнаруживаться на некоторых стадиях инфекции и при некоторых клинических условиях.

Для получения достоверных результатов необходимы умелая техника и строгое соблюдение инструкций.

Бактериальное загрязнение или инактивация образцов нагреванием могут повлиять на результаты исследований.

Результаты теста выглядят как качественно положительные или отрицательные относительно наличия суммарных антител к *Treponema pallidum*. Однако диагноз о наличии инфекционного заболевания не следует устанавливать на основе лишь одного результата теста, а его следует определять в сочетании с клинической картиной и другими лабораторными исследованиями, а также в сочетании с медицинским заключением. Поэтому точный диагноз должен учитывать анамнез, симптоматику, а также серологические данные. Однако результаты испытаний должны быть интерпретированы с осторожностью у лиц с ослабленным иммунитетом, так как их состояние влияет на их уровень антител.

Не следует менять наборы между различными типами анализаторов (LIAISON® и LIAISON® XL). Как только набор был введен в конкретный тип анализатора, он должен использоваться на этом анализаторе постоянно до тех пор, пока он не закончится. Из-за проблем с отслеживанием, возникающий по причине вышесказанного, записи с данными пациентов не могут быть завершены при обмене наборов между разными типами анализаторов. Они должны выполняться на одном конкретном типе анализатора (LIAISON® или LIAISON® XL).

Перед тестированием образцов мертвецов необходимо применять процедуры сбора и центрифугирования с особой осторожностью. После смерти в крови происходят гемолиз и другие изменения (включая расщепление белков и разжижение), что может привести к ложноотрицательному и ложноположительному результатам при тестировании. У субъектов, у которых кровь была взята непосредственно перед смертью, высокий процент гемолиции может повлиять на эффективность теста из-за разведения анализируемого материала.

15. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ РАБОЧИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ РЕЗУЛЬТАТОВ АНАЛИЗА

15.1. Аналитическая специфичность

Аналитическая специфичность может быть определена как способность анализа точно определять специфический анализируемый материал в матрице образца в присутствии потенциально интерферирующих факторов (например, антикоагулянтов, гемолиза, эффектов обработки образца) или перекрёстно-реагирующих антител.

Интерференция. Контролируемые исследования потенциально мешающих веществ или состояний показали, что на эффективность анализа не влияют антикоагулянты (цитрат натрия, ЭДТА калия, гепарин натрия), гемолиз (до 1000 мг/дл гемоглобина), липемия (до 3000 мг/дл триглицеридов), билирубинемия (до 20 мг/дл билирубина) или циклы замораживания-оттаивания образцов.

Перекрестные реакции. Как правило, присутствие потенциально перекрёстно-реагирующих антител не влияет на анализ. Исследуемыми антителами были: (а) иммуноглобулины для различных инфекционных агентов - такие антитела, как hCMV, EBV, VZV, вирус краснухи, *Borrelia burgdorferi*, *Treponema denticola* или *Toxoplasma gondii* - (b) антинуклеарные антитела (ANA) антитела и ревматоидный фактор (анти- Fc иммуноглобулин).

15.2. Внутрисерийная точность на анализаторе LIAISON®

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического анализируемого компонента, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости результатов анализа (то есть изменчивости внутри и между анализами). Изменчивость, показанная в приведенных ниже таблицах, не привела к ошибочной классификации образцов. **Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку между лабораториями и местами проведения анализа могут существовать различия.**

Повторяемость результатов. Двадцать повторов выполнялись в одном и том же прогоне для оценки повторяемости.

Повторяемость	A	B	C	D
Количество определений	20	20	20	20
Среднее значение (в индексах)	0.13	8.17	51.48	58.53
Стандартное отклонение	0.02	0.22	1.39	1.63
Коэффициент вариации (%)	13.1	2.6	2.7	2.8

Воспроизводимость результатов. Несколько повторов выполнялись в различные дни (в один или в два прогона в день) с тремя различными партиями набора для оценки воспроизводимости. Тесты были выполнены в двух местах: в компании и в независимой лаборатории.

Воспроизводимость	МЕСТО 1				МЕСТО 2			
	E	F	G	H	E	F	G	H
Партия №01								
Количество определений	20	20	20	20	11	11	11	11
Среднее значение (в индексах)	0.18	11.02	40.20	56.45	0.15	12.50	41.68	57.47
Минимальное значение	0.14	9.40	26.90	47.00	0.10	11.30	38.10	42.40
Максимальное значение	0.20	12.80	46.70	61.00	0.19	14.00	47.00	66.70
Коэффициент вариации (%)	10.8	7.3	12.1	5.9	15.4	7.0	7.1	11.2
Партия №02								
Количество определений	20	20	20	20	11	11	11	11
Среднее значение (заданное значение)	0.13	12.24	38.08	56.20	0.07	13.15	40.00	57.36
Минимальное значение	0.09	11.00	33.20	49.00	0.05	11.90	36.70	50.70
Максимальное значение	0.26	13.90	44.30	62.30	0.09	14.00	43.00	64.00
Коэффициент вариации (%)	39.2	6.3	8.5	5.9	21.9	4.6	7.9	6.3

Партия №03								
Количество определений	20	20	20	20	11	11	11	11
Среднее значение (в индексах)	0.06	12.60	40.83	54.45	0.03	12.57	38.85	55.80
Минимальное значение	0.04	11.40	34.70	47.30	0.03	11.10	33.70	49.70
Максимальное значение	0.10	13.50	49.30	61.30	0.03	13.60	42.30	62.00
Коэффициент вариации (%)	24.7	3.7	12.1	8.4	0.0	5.7	9.1	6.6

15.3. Внутрисерийная точность на анализаторе LIAISON®XL

Различные образцы, содержащие различные концентрации специфического анализируемого компонента, анализировали для оценки повторяемости и воспроизводимости результатов анализа (то есть изменчивости внутри и между анализами). Изменчивость, показанная в приведенных ниже таблицах, не привела к ошибочной классификации образцов. **Результаты относятся к группам исследованных образцов и не являются гарантированными спецификациями, поскольку между лабораториями и местами проведения анализа могут существовать различия.**

Повторяемость результатов. Двадцать повторов выполнялись в одном и том же прогоне для оценки повторяемости.

Повторяемость	1	2	3	Положительный контроль
Количество определений	20	20	20	20
Среднее значение (в индексах)	0.565	3.07	3.99	11.1
Стандартное отклонение	0.051	0.056	0.082	0.34
Коэффициент вариации (%)	9.1	1.8	2.0	3.0
Минимальное значение	0.492	2.99	3.80	10.5
Максимальное значение	0.656	3.19	4.12	11.6

Воспроизводимость результатов. Двадцать повторов выполнялись в различные дни (один или два прогона в день) для оценки воспроизводимости.

Воспроизводимость	1	2	3	Положительный контроль
Количество определений	20	20	20	20
Среднее значение (в индексах)	0.328	2.91	3.78	10.5
Стандартное отклонение	0.053	0.10	0.12	0.47
Коэффициент вариации (%)	16.0	3.6	3.2	4.5
Минимальное значение	0.261	2.77	3.56	9.89
Максимальное значение	0.422	3.17	4.06	11.2

15.4. Эффект высокой дозы

Всякий раз, когда образцы, содержащие чрезвычайно высокие концентрации антител, тестируются одноступенчатым сэндвич-методом, эффект высокой дозы может имитировать значения концентрации ниже реальных значений. Оценку анализа эффекта высокой дозы проводили путем тестирования четырех положительных образцов с высоким титром на количество суммарных антител к *Treponema pallidum*. Все образцы с концентрациями выше верхнего диапазона измерения были определены верно.

15.5. Диагностическая специфичность и чувствительность

Диагностическая специфичность и чувствительность оценивались путем тестирования 3690 образцов из разных популяций. Образцы были протестированы с помощью несколь-

ких методов сравнения и согласования результатов, а также для определения ожидаемых результатов применялись доступные клинические и серологические данные. Ниже приводятся обобщенные результаты; подробная информация о результатах приводится далее. Диагностическая специфичность: 99,91% (3506/3509) - доверительный интервал 95% (99,75-99,98%).

Диагностическая чувствительность: 99,40% (167/168) - доверительный интервал 95%: (96,73-99,98%).

КРОВЬ ДОНОРОВ. Из 2494 образцов из неизбирательной популяции доноров крови 2491 результат был отрицательным, один результат был сомнительным и два результата были положительными. Диагностическая специфичность составила 99,92% (2491/2493), рассчитанная после исключения сомнительного результата (доверительный интервал 95%: 99,71-99,99%).

КЛИНИЧЕСКИЕ ОБРАЗЦЫ. Панель из 131 образца, собранная у пациентов с разными стадиями сифилиса (7 с первичной стадией, 31 со вторичной стадией, 77 со скрытым сифилисом, 5 с сердечно-сосудистым сифилисом, 6 с нейросифилисом, 5 с врожденным сифилисом), которые характеризовались коммерчески доступными тестами, такими как RPR, ТРНА, иммуноферментный анализ (ИФА) и внутриклеточный Вестерн-блоттинг, и прошли клиническое исследование с помощью теста LIAISON® Treponema Screen. Шесть результатов были сомнительными и затем были исключены, поскольку сравнительные тесты не согласовываются. Из 125 классифицированных положительных образцов 125 результатов были определены как положительные с помощью скрининг-теста LIAISON® Treponema Screen. Диагностическая чувствительность составила 100% (125/125), рассчитанная после исключения сомнительных результатов (доверительный интервал 95%: 97,09-100%).

ПЕРЕКРЕСТНЫЕ РЕАКЦИИ. Было также протестировано 65 потенциально перекрестно-реактивных образцов: из них 30 результатов были положительными в отношении антител к *Borrelia burgdorferi*, 10 результатов были положительными в отношении антител к вирусу Эпштейна-Барра, 10 результатов были положительными в отношении антител к *Streptococcus fi-haemoliticus*, 15 результатов были положительными в отношении антител к *Treponema denticola*. Все эти потенциально перекрестно-реактивные образцы были признаны тестом LIAISON® Treponema Screen отрицательными.

ОБРАЗЦЫ С ПРЕДПОЛАГАЕМЫМ РЕЗУЛЬТАТОМ. 1000 образцов были собраны из неизбирательных стандартных лабораторных образцов с соответствующими серологическими результатами (полученных с помощью бюджетных иммуноферментного анализа (ИФА) и внутриклеточного Вестерн-блоттинга). Поскольку в сравнительных тестах не было согласованности по пяти результатам, они были классифицированы сомнительными. Принимая во внимание результаты, полученные с помощью иммуноферментного анализа и Вестерн-блоттинга в сочетании с согласованностью результатов, диагностическая специфичность составила 99,89% (950/951 - 95% доверительный интервал: 99,42-100%), а диагностическая чувствительность составила 97,67% (доверительный интервал 42/43 - 95%: 87,71-99,94%), рассчитанные после исключения сомнительных результатов.

15.6. Рабочие характеристики тестирования образцов от умерших доноров

Рабочие характеристики тестирования образцов от посмертных доноров определялись путем тестирования, согласно протоколу проверки PEI * образцов крови от посмертных доноров, взятых в течение 24 часов после смерти по сравнению с образцами от живых доноров. 20 образцов от посмертных доноров были протестированы как немеченные и меченные на 2 уровнях: слабо положительном и средне/высоко положительном. Таковую же процедуру проводили с тем же количеством нормальной сыворотки человека от живых доноров, которая тестировалась параллельно для сравнения с результатами образцов от посмертных доноров. Полученные результаты были проанализированы путем расчета процентной разницы между средним показателем от живых доноров и средним результа-

том от умершего доноров на каждом уровне реактивности. В этом исследовании полученная разница в процентном выражении была равной или ниже 6,9% для каждого из исследуемых уровней реактивности (см. таблицу ниже). Анализ парного t-теста, проводившийся для образцов от умерших доноров и образцов от живых доноров, помеченных на слабо положительном и средне/высоко положительных уровнях, показал незначительную разницу между двумя группами (значение $p < 0,05$).

Повторяемость оценивалась с использованием одного образца от посмертного донора и одного образца от живого донора, меченного до низкого уровня реактивности в человеческой сыворотке, реактивной для антител к *Trichonema pallidum*. Каждый образец оценивался в шести повторях в одном и том же подходе. Полученный коэффициент вариации (CV%) в процентном выражении не превышал 15%. Как указано в таблице ниже, исследование показало 1,5% - для образца от посмертного донора и 1,3% - для образца от живого донора. Результаты относятся к группе исследованных проб и не являются гарантированными спецификациями, поскольку могут существовать различия между лабораториями и местами проведения анализов.

	Образец	Результаты теста Средние значения (заданные значения)	Восстановление (%) Живого донора немеченный	t-тест p-величина	CV% 6 повторов
Отрицательные	Умерший донор немеченный	0.182	Нет данных	Нет данных	Нет данных
	Живой донор немеченный	<0.100			
Слабо положительные	Умерший донор меченный	2.41	1.3	0.616	1.5
	Живой донор меченный	2.38			1.3
Средне/высоко положительные	Умерший донор меченный	5.87	6.9	0.104	Нет данных
	Живой донор меченный	5.49			

* PEI (Paul Ehrlich Institute) Институт Пауля Эрлиха - Предложение по проверки комбинационных анализов на определение антител к ВИЧ-1/2 или ВИЧ-инфекции, анализов на определение антител к вирусу гепатита С (HCV), гепатита В (HBsAG) для использования с образцами трупов – 08.05.2014

Контроль скрининг-теста для выявления антител к *Treponema LIAISON*® (КОД 310841)

Изменения –
Удаления -

1. НАЗНАЧЕНИЕ

Контроли (положительный и отрицательный) анализа для выявления специфических антител к *Treponema LIAISON*® используются в хемилюминесцентном иммуноанализе (CLIA) в качестве средства для проверки надежности проведенных анализов. Рабочие характеристики контролей анализа *LIAISON*® *Treponema* не были установлены для каких-либо других методов или приборов, кроме анализаторов *LIAISON*® и *LIAISON*®XL.

Анализатор *LIAISON*®. Сертификат анализа дает специфическую информацию по лоту контролей, которые следует вводить в программное обеспечение анализатора вручную до загрузки флаконов контролей на борт анализатора. Для подробной информации обращайтесь к руководству оператора анализатора.

Анализатор *LIAISON*®XL. Штрих-коды сертификата анализа предоставляют конкретную информацию о партии контролей, и их необходимо считывать ручным устройством для считывания штрих-кода анализатора *LIAISON*® XL до загрузки флаконов с контролем на панель прибора. Для получения подробной информации обратитесь к руководству оператора анализатора.

2. ПРЕДОСТАВЛЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ

Отрицательный контроль (2 x 2,0 мл)	CONTROL-	Человеческая сыворотка/плазма, нереакционноспособная в отношении всех антител к <i>Treponema palladum</i> (бледной трепонеме), стабилизированная в ТРИС-буфере, 0,2% ProClin® 300, консерванты.
Положительный контроль (2 x 2,0 мл)	CONTROL+	Человеческая сыворотка/плазма, реакционноспособная в отношении всех антител к <i>Treponema palladum</i> (бледной трепонеме), стабилизированная в ТРИС-буфере, 0,2% ProClin® 300, консерванты, инертный желтый краситель.

Все реагенты поставляются в готовом для использования виде. Диапазон концентраций каждого контроля сообщается в сертификате анализа, и в нем указаны пределы, установленные компанией DiaSogin как контрольные значения, которые могут быть получены в достоверных прогонах анализа. Каждая лаборатория несет ответственность за принятие различных предельных значений для удовлетворения индивидуальных потребностей.

3. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Для диагностического применения *in vitro*.
- Контроли не являются специфичными для тест-набора и могут безопасным образом быть взаимозаменяемыми даже с различными партиями наборов реагентов.
- Все материалы, используемые для получения компонентов, представленных в этом наборе, были протестированы на наличие HBsAg, анти-HCV, анти-ВИЧ-1, анти-ВИЧ-2 и оказались нереактивными. Однако, так как ни один метод испытаний не может обеспечить абсолютную уверенность в том, что патогены отсутствуют, все образцы человеческого происхождения следует считать потенциально инфекционными, и с ними следует обращаться с осторожностью.
- Соблюдайте обычные меры предосторожности, необходимые для работы со всеми лабораторными реагентами.
- Утилизация всех отходов должна осуществляться в соответствии с местными правилами.

4. МЕРЫ ПО ТЕХНИКЕ БЕЗОПАСНОСТИ

Нельзя есть, пить, курить и применять косметику в лаборатории, где проводится анализ.

Нельзя пипетировать ртом.

Избегать прямого контакта со всеми потенциальными инфекционными материалами, одевая лабораторные халаты, защитные очки и одноразовые перчатки. Тщательно мыть руки в конце каждого анализа.

Избегать разбрызгивания или образования аэрозолей. Все капли биологического реагента необходимо удалять раствором гипохлорита натрия с 0,5 % активного хлора, а с использованными средствами необходимо обращаться как с инфицированными отходами.

Все образцы и реагенты, содержащие биологические материалы, используемые для проведения анализа, должны рассматриваться как потенциально способные передавать инфекционные возбудители. Отходы должны обрабатываться с осторожностью и утилизироваться в соответствии с лабораторными инструкциями и нормативными положениями, действующими в каждой стране. Любые материалы для повторного использования должны быть надлежащим образом стерилизованы в соответствии с местными законами и инструкциями. Проверяйте эффективность цикла стерилизации / дезактивации.

Нельзя использовать наборы или их компоненты по истечении срока годности, указанного на этикетке.

В соответствии с Постановлением ЕС 1272/2008 (CLP) реагенты классифицируются и маркируются следующим образом:

РЕАГЕНТЫ:	CONTROL - , CONTROL +
КЛАССИФИКАЦИЯ:	Чувствительность кожи 1 H317
СИГНАЛЬНОЕ СЛОВО:	Предупреждение
СИМВОЛЫ/ ПИКТОГРАММЫ:	 GHS07 Восклицательный знак
КРАТКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ОПАСНОСТИ:	H317 Может вызвать аллергическую кожную реакцию.
ПРЕДУПРЕДИТЕЛЬНЫЕ ФРАЗЫ:	P261 Избегать вдыхания пыли / дыма / газа / тумана / паров / аэрозолей. P280 Надевать защитные перчатки / защитную одежду / защиту для глаз / защиту лица. P363 Стирать загрязненную одежду перед повторным использованием.
СОДЕРЖИТ: (только вещества, предписанные в соответствии со статьей 18 Постановления ЕС 1272/2008).	реакционная масса: 5-хлор-2-метил-4-изотиазолин-3-он [ЕС № 247-500-7] и 2-метил-2Н-изотиазол-3-он [ЕС № 220-239-6] (3: 1) (ProClin® 300).

Дополнительную информацию см. В Паспортах безопасности на сайте www.diasorin.com.

5. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ.

После получения контроля должны храниться при температуре 2-8 ° С в вертикаль-

ном положении, чтобы предотвратить попадание раствора на колпачок флакона. Не замораживать. Когда контроли хранятся в герметичном виде и поддерживаются в вертикальном положении, они стабильны при 2-8 ° С до даты истечения срока годности. После открытия контроли стабильны в течение **2 недель** при соответствующем хранении при температуре 2-8 ° С между двумя последовательными применениями. Избегать бактериального загрязнения. Контроли не должны использоваться после истечения срока годности, указанного на этикетке флакона.

6. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ

- Помещают флаконы с контролем в штативы типа С на анализаторе. Каждый раствор контроля позволяет выполнить не менее 20 тестов.
- Минимальный требуемый объем равен 480 μ л (80 μ л контроля + 400 μ л мертвого объема).
- Во время использования перед открытием флаконов контроли доводят до комнатной температуры (20-25°C) и держат их на панели прибора только в течение времени, необходимого для проведения контроля качества.
- После использования быстро закрывают пробирки пробками и хранят их при температуре 2-8 ° С в вертикальном положении.
- Во время работы соблюдают соответствующие меры предосторожности, чтобы избежать бактериального загрязнения контролей.

7. РАБОТА

Для правильной работы обратитесь к руководству оператора анализатора.

8. ЦЕЛЕВЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Диапазоны концентраций антител *Treponema pallidum* в контролях напечатаны в сертификате анализа. Они были установлены после принятия в расчет изменчивости прогонов в отношении эталонной кривой, чтобы гарантировать точность аналитических результатов и получить показания о стабильности или порче реагентов. Если значения контролей многократно находятся за пределами ожидаемых диапазонов, то тест, скорее всего, был выполнен неправильно.

Литература

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).