

**VIROTEX Сифіліс, Treponema pallidum, антитіла IgG імуноблот**

**(T. pallidum IgG LINE-16)**

**Код для замовлення: WE150G16**

**(T. pallidum IgG LINE-32)**

**Код для замовлення: WE150G32**

**VIROTEX Сифіліс, Treponema pallidum, антитіла IgM імуноблот**

**(T. pallidum IgM LINE-16)**

**Код для замовлення: WE150M16**

**(T. pallidum IgM LINE-32)**

**Код для замовлення: WE150M32**

**ЛИШЕ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO**



**Virotech Diagnostics GmbH  
Waldstrasse 23 A2  
63128 Dietzenbach, Німеччина**

**Тел.: +49(0)6074-23698-0**

**Факс: +49(0)6074-23698-900**

**[www.goldstandarddiagnostics.com](http://www.goldstandarddiagnostics.com)**



**Уповноважений представник: ТОВ «АЙ ВІ СЕТ», 01010, м. Київ, вул. Омеляновича-Павленка, буд. 19 А, оф. 1, тел. (044) 223-83-18, [info@ivset.ua](mailto:info@ivset.ua) [www.ivset.ua](http://www.ivset.ua)**

## Зміст

<b>1.</b>	<b>Передбачуване використання .....</b>	<b>3</b>
<b>2.</b>	<b>Діагностичне значення .....</b>	<b>3</b>
<b>3.</b>	<b>Принцип аналізу.....</b>	<b>3</b>
<b>4.</b>	<b>Вміст упаковки .....</b>	<b>4</b>
4.1	Набір на 16 визнач.....	4
4.2	Набір на 32 визначення .....	4
4.3	Контрольний набір: доступний для замовлення.....	4
<b>5.</b>	<b>Зберігання та стабільність .....</b>	<b>4</b>
<b>6.</b>	<b>Застереження та попередження .....</b>	<b>5</b>
<b>7.</b>	<b>Додатково необхідний матеріал (не входить до набору) .....</b>	<b>5</b>
<b>8.</b>	<b>Екзаменаційний матеріал .....</b>	<b>5</b>
<b>9.</b>	<b>Процедура аналізу .....</b>	<b>5</b>
9.1	Підготовка зразків .....	6
9.2	Приготування реагентів .....	6
9.3	Процедура імуноблот аналізу .....	6
9.4	Використання імуноблот-процесорів.....	7
<b>10.</b>	<b>Інтерпретація результатів .....</b>	<b>7</b>
10.1	Інтерпретація зразків пацієнтів .....	7
10.2	Використання контролю порогового:.....	7
10.3	Значення антигенів.....	8
10.4	Критерії тлумачення .....	8
10.5	Межі аналізу .....	8
<b>11.</b>	<b>Дані продуктивності.....</b>	<b>9</b>
11.1	Чутливість IgG .....	9
11.2	Чутливість IgM.....	9
11.3	Специфічність .....	9
11.4	Діагностична чутливість .....	10
11.5	Перехресна реактивність .....	10
11.6	Поширеність (очікувані значення).....	10
11.7	Точність між аналізами (повторюваність).....	11
11.8	Точність в аналізі (відтворюваність).....	11
<b>12.</b>	<b>Список літератури .....</b>	<b>11</b>
<b>13.</b>	<b>Схема процедури аналізу .....</b>	<b>12</b>

Freigabedatum: 17.11.2022 08:19

## 1. Передбачуване використання

---

Лінійний імуноблот Тест-набір для якісного виявлення *Treponema pallidum* специфічних IgG- або IgM-антитіл у сироватці крові людини. Набір можна використовувати як підтверджуючий тест для розширеної діагностики сифілісу, якщо результат скринінгового аналізу є сумнівним (підозрілим) або позитивним.

## 2. Діагностичне значення

---

Рід *Treponema pallidum* включає кілька видів і підвидів збудників хвороб людини. *Treponema pallidum* subsp. *pallidum* є збудником сифілісу (Lues), захворювання, яке зустрічається лише у людей. Сифіліс зазвичай передається статевим шляхом. Його природний перебіг має три стадії: первинний, вторинний і третинний сифіліс з періодами латентності або неактивності захворювання (2). Крім того, *T. pallidum* може передаватися плоду від інфікованої матері під час вагітності (вроджений сифіліс)

(2). Оскільки *T. pallidum* не можна культивувати *in vitro* (1), діагноз залежить від серологічного аналізу. Інфекція *T. pallidum* провокує вироблення двох груп антитіл у людини:

- a) Нетрепонемні антитіла або реакіни
- b) Трепонемні специфічні антитіла, які реагують з *T. pallidum* та спорідненими штамми. Для якісної діагностики сифілісу рекомендується наступна поетапна діагностика (4):

- |                                |  |
|--------------------------------|--|
| 1. Скринінговий тест:          | ТРНА-/ТРПА-тест або ІФА (полівалентний)    |
| 2. Підтверджувальний тест:     | FTA-ABS-тест (полівалентний) або імуноблот |
| 3. Оцінка активності інфекції: | 19S-IgM-FTA-ABS (IgM-ІФА) або VDRL-тест    |

Бажано диференціювати IgG та IgM-специфічні *Treponema*-антитіла. IgM, як правило, вказує на активну інфекцію, тоді як IgG є показником недавньої інфекції. Крім того, активність IgM у новонароджених свідчить про вроджений сифіліс (3). Лише ІФА, імуноблот та 19S-IgM-FTA-ABS здатні відрізнити антитіла IgG та IgM.

Оцінка специфічних до *Treponema pallidum* антитіл IgM для перевірки показань до лікування інфекції *Treponema* підходить для нормального перебігу інфекції. Однак позитивний результат визначення антитіл IgM не повинен бути зроблений без анамнезу пацієнта (стадія інфекції, терапія), оскільки антитіла IgM, залежно від інтервалу часу між зараженням і початком терапії, можуть залишатися виявленими від кількох місяців до кілька років (стійкі антитіла IgM). При нейросифілісі, реактивації або вторинній інфекції синтез антитіл IgM може бути майже повністю пригнічений (4).

## 3. Принцип аналізу

---

Білки-антигени збудника (5,6) переносять на нітроцелюлозну мембрану методом мікродозування. Потім нітроцелюлозну мембрану розрізають на окремі стріпи.

Інкубація вкритих антигеном стріпів із зразками сироватки або плазми крові людини дозволяє виявити специфічні антитіла. Ці антитіла утворюють імунні комплекси з антигенами, зафіксованими на поверхні стріпа. Після промивання і видалення незв'язаних антитіл стріпи інкубують з антитілами до IgG/IgM людини, які кон'юговані із лужною фосфатазою. Незв'язані антитіла видалюють на етапі промивання, а візуалізацію комплексу антиген/антитіло (зв'язаних антитіл) здійснюють шляхом додавання незабарвленого субстрату, який утворює синьо-фіолетові преципітати на поверхні мембрани («стріпа з антигеном»). Реакцію фермент/субстрат зупиняють шляхом промивання стріпів дистильованою або дейонізованою водою. Забарвлення окремих смуг на стріпах свідчить про наявність антитіл IgG/ IgM, специфічних до антигенів збудника.

## 4. Вміст упаковки

### 4.1 Набір на 16 визначень

- |  |    |            |
|--|----|------------|
| 1. Тест-стріпи з нанесеним антигеном (нітроцелюлозні смужки стабілізовані на фользі) для виявлення <b>IgG або IgM</b> , готові до використання | 1x | 16 стріпів |
| 2. <b>IgG</b> або <b>IgM</b> пороговий контроль, людська сироватка, попередньо розведена   | 1x | 1,0 мл     |
| 3. Буфер для розведення/промивання, рН 7,3 (10-кратна концентрація), з Трис і консервантом   | 1x | 50 мл      |
| 4. <b>IgG-</b> або <b>IgM-кон'югат</b> (100x конц.)<br>Антитіла (кози) до імуноглобулінів людини, зв'язані з лужною фосфатазою, з консервантом | 1x | 0,7 мл     |
| 5. Субстрат (BCIP/NBT), готовий до використання  | 1x | 57 мл      |
| 6. Листок оцінювання для запису та зберігання результатів  | 1x | 1 шт.      |

### 4.2 Набір на 32 визначення

- |  |    |            |
|--|----|------------|
| 1. Тест-стріпи з нанесеним антигеном (нітроцелюлозні смужки стабілізовані на фользі) для виявлення <b>IgG або IgM</b> , готові до використання | 2x | 16 стріпів |
| 2. <b>IgG</b> або <b>IgM</b> Пороговий контроль, людська сироватка, попередньо розведена   | 1x | 1,0 мл     |
| 3. Буфер для розведення/промивання, рН 7,3 (10-кратна концентрація), з Трис і консервантом   | 2x | 50 мл      |
| 4. <b>IgG-</b> або <b>IgM-кон'югат</b> (100x конц.)<br>Антитіла (кози) до імуноглобулінів людини, зв'язані з лужною фосфатазою, з консервантом | 1x | 0,7 мл     |
| 5. Субстрат(BCIP/NBT), готовий до використання   | 1x | 57 мл      |
| 6. Листок оцінювання для запису та зберігання результатів  | 1x | 1 шт.      |

### 4.3 Контрольний набір: доступний для замовлення

T. pallidum IgG LINE Ctrl-Set WN150K60

T pallidum IgM LINE Ctrl-Set WN150K80

IgG або IgM	готові до використання контролю	Абревіатура
0,5 мл IgG, або 0,5 мл IgM	негативний контроль, сироватка/плазма людини з білком стабілізатори та консерванти, готові до використання	NEG
1,0 мл IgG, або 1,0 мл IgM	Пороговий контроль, сироватка/плазма людини з білком стабілізатори та консерванти, готові до використання	CO
0,5 мл IgG, або 0,5 мл IgM	позитивний контроль, сироватка/плазма людини з білком стабілізатори та консерванти, готові до використання	POS

Позитивні смуги > за порогові смуги, як зазначено у відповідному сертифікаті.

Негативний контроль не дає жодних смуг або смуг, які > за порогові смуги.

## 5. Зберігання та стабільність

Зберігайте тестовий набір при 2-8°C. Термін придатності окремих компонентів вказано на відповідній етикетці; щодо терміну придатності набору, будь ласка, зверніться до Сертифікату контролю якості.

- Не піддавайте окремі компоненти набору дії високої температури та не заморожуйте їх.
- Не використовуйте реагенти з набору після закінчення терміну придатності.
- Не піддавайте реагенти впливу яскравого світла під час зберігання або інкубації.
- Розчин BCIP/NBT- субстрат чутливий до світла і повинен зберігатися в темряві.

Сторінка 4 з 12BIPOTEX

T. pallidum

IgG & IgM LINE Імуноблот EN

REV24

Freigabedatum:17.11.2022 08:19

5. **Нітроцелюлозні тест-стріпи:** Використовуйте стріпи відразу після вилучення з пакета. Знову надійно закрийте пакет із непотрібними стріпами та зберігайте при 2-8°C. Зберігаючи результати в архіві, подбайте про те, щоб нітроцелюлозні тест-стріпи та шаблони були захищені від прямих сонячних променів, щоб уникнути вицвітання стріпів.

матеріал	Статус	Зберігання	Термін придатності
Тестові зразки	нерозбавлений	від +2 до +8°C	1 тиждень
Тест-стріпи	Після відкриття	від +2 до +8°C (зберігається в пакеті з набору)	3 місяці
Контролі	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
Кон'югат	Після відкриття	від +2 до +8°C	3 місяці
	Розбавлений	від +2 до +8°C	прибл. 6 год
Субстрат	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
Промивний розчин	Після відкриття	від +2 до +8°C (захищати від світла)	3 місяці
	Остаточне розведення (готове до використання)	від +2 до +8°C	4 тижні
	Остаточне розведення (готове до використання)	Або кімнатна температура	2 тижні

## 6. Застереження та попередження

- Лише сироватки, які були перевірені та виявлені негативними на HIV1-ab, HIV2-ab, HCV-ab та поверхневий антиген гепатиту В, використовуються як контрольні сироватки. Тим не менш, зразки, розведені зразки, контролі та кон'югат, а також стріпи з антигенами слід розглядати як потенційно інфекційний матеріал. Будь ласка, поводьтеся з цими продуктами відповідно до вказівок лабораторії.
- Використовуйте пластикові щипці та одягайте захисні рукавички під час роботи з набором Імуноблот.
- Дотримуйтеся чинних місцевих правил утилізації відходів.
- Інкубаційні ванни розроблені виробником для одноразового використання. Користувач несе відповідальність за повторне використання інкубаційних ванн. Якщо їх потрібно використовувати повторно, ми рекомендуємо після використання продезінфікувати інкубаційні ванни протягом кількох годин в 1% розчині гіпохлориту натрію, ретельно промити водою з-під крана, а потім дистильованою або дейонізованою водою.

## 7. Додатково необхідний матеріал (не входить до набору)

- Інкубаційний лоток (за потреби доступний із номером замовлення: WE300.08)
- Платформа гойдалка (вертикальна, не відцентрова)
- Промивна пляшка для зупинки
- Піпетка або мийка для рук
- Мікропіпетки 5 мкл - 1500 мкл
- Наповнювач для піпеток
- Пробірки об'ємом 2-20 мл
- Щипці пластикові
- Дистильована або дейонізована вода
- Фільтрувальний папір

## 8. Матеріал для дослідження

В якості зразків можна використовувати сироватку і плазму крові, навіть якщо у вкладиші згадується лише сироватка. Зразки плазми можуть містити будь-який антикоагулянт.

## 9. Процедура аналізу

Робота з точним дотриманням інструкції користувача від VIROTECH Diagnostics є необхідною умовою для отримання правильних результатів.

## 9.1 Підготовка зразків

1. Для кожного зразка пацієнта необхідно 15 мкл сироватки або плазми.
2. Зразки крові слід брати окремо шляхом венозної пункції. Сироватку відокремлюють після повної коагуляції (не стосується плазми). Якщо вони будуть зберігатися довше, сироватки необхідно заморозити при  $-20^{\circ}\text{C}$ .
3. Слід уникати повторного заморожування та розморожування.
4. Сироватки, інактивовані нагріванням, липемічні, гемолітичні або мікробіологічно забруднені, можуть призвести до хибних результатів і тому не повинні використовуватися.
5. Не використовуйте каламутні зразки (особливо після розморожування), центрифугуйте, якщо необхідно (5 хвилин при 1000 g), відберіть прозорий супернатант для аналізу.

## 9.2 Приготування реагентів

1. Щоб полегшити рутинну лабораторну роботу, усі LINEs та EcoBlots можна обробляти в одному тестовому прогоні з однаковим часом інкубації та тим самим компонентом, якщо вони не залежать від параметрів і партій. В такому випадку порогові контролю використовують залежно від параметрів і партій.
2. Перед приготуванням розчину доведіть відповідний концентрат до кімнатної температури ( $20-25^{\circ}\text{C}$ ). Використовуйте лише високоякісну дистильовану або дейонізовану воду та доведіть її до кімнатної температури ( $20-25^{\circ}\text{C}$ ) перед використанням.
3. Добре перемішайте розчини перед початком аналізу.
4. **Буфер для розведення/промивання:**  
Буфер для розведення/промивання поставляється у вигляді 10-кратного концентрату. Розведіть концентрат буфера 1:10 дистильованою або дейонізованою водою (10 мл/50 мл/100 мл концентрату + 90 мл/450 мл/900 мл дистильованої або дейонізованої води), добре перемішайте. Як концентрований, так і розведений буфер для розведення/промивання має жовте забарвлення. Це забарвлення не впливає на стабільність буфера для розведення/промивання або надійність діагностичного аналізу.
5. **IgG / IgM Кон'югат**  
Розведіть кон'югат 1 до 100 розведеним буфером для розведення/промивання та ретельно перемішайте. Для кожного зразка сироватки потрібно 1,5 мл робочого розчину кон'югату. Дивіться таблицю розведення кон'югату (пункт: «Процедура випробування»).
6. **Розчин субстрату**  
Розчин субстрату поставляється готовим до використання.

## 9.3 Процедура імуноблот аналізу

**Увага:** Стріпи з антигеном перевіряйте на придатність для тестування лише відповідного класу Ig. (будь ласка, зверніться до етикетки на буклеті і маркування на кожному тест-стріпі).

Для правильної роботи та оцінки результатів аналізу з наборами *Treponema pallidum* при проведенні тестів необхідно враховувати відповідні параметри і використовувати порогові контролю, які є специфічними для кожної окремої партії.

<b>Набори <i>Treponema pallidum</i> LINE призначені для надійної діагностики і виявлення IgG і IgM.</b>
---

1. Тест потрібно проводити при кімнатній температурі.
2. Стріпи призначені для тестування кожного зразка помістіть в канали чистого інкубаційного лотка. Тримайте стріпи лише за позначений верхній кінець.
3. Додайте 1,5 мл буфера для розведення/промивання та покладіть на платформу для гойдання. Слідкуйте за тим, щоб стріпи були рівномірно покриті рідиною, стріпи не повинні висихати протягом всієї процедури аналізу.
4. Стріпи з антигенами повністю звожуються протягом однієї хвилини та можуть інкубуватися в положенні лежачи, на боці або обличчям вниз.
5. Додайте **15 мкл сироватки/плазми крові пацієнта** або 100 мкл граничного і позитивного/негативного контролю у розчин наближено до верхнього кінця стріпа. Інкубуйте зразки сироватки та контролю протягом 30 хвилин на гойдалці. Слідкуйте за тим, щоб під час піпетування та подальшого виливання не відбулося перехресного забруднення окремих зразків.

6. Аспіруйте або обережно повністю вилийте рідину з каналів. Під час виливання рідини стріпи залишаються на дні каналу. Видаляйте рідину яка залишилася за допомогою фільтрувального паперу.
7. **Промивання стріпів:** інкубуйте стріпи з 1,5 мл буфера для розведення/промивання 3 рази протягом 5 хв, на гойдалці. Завжди повністю виливайте або аспіруйте промивний буфер. Перед завершенням останнього етапу промивання приготуйте необхідну кількість свіже розведеного кон'югату (див. таблицю).
8. Аспіруйте або повністю вилийте рідину з каналів (див. пункт 6).
9. Внесіть піпеткою 1,5 мл розведеного кон'югату у відповідний канал інкубаційного лотка та витримуйте протягом 30 хвилин на гойдалці.
10. Вилийте або повністю аспіруйте рідину з каналів.
11. **Промивання стріпів:** інкубуйте з 1,5 мл буфера для розведення/промивання 3 рази протягом 5 хв на гойдалці. Завжди повністю виливайте або аспіруйте промивний буфер. Після цього промийте 1 раз протягом 1 хв дистильованою або дейонізованою водою.
12. Вилийте або повністю аспіруйте рідину з каналів (див. пункт 6).
13. Внесіть піпеткою по 1,5 мл готового до використання розчину субстрату в канали і інкубуйте 10±3 хв на гойдалці.
14. **Зупиніть** кольорову реакцію шляхом виливання розчину субстрату. Після цього промийте стріпи без інкубації 3 рази 1,5 мл дистильованої або дейонізованої води.
15. Злийте промивну воду і висушуйте стріпи на чистому фільтрувальному папері. Фонове забарвлення, яке можна спостерігати на зволжених стріпах, повністю зникає після висихання стріпів. Стріпам з фольгою потрібно трохи більше часу для повного висихання, ніж звичайним нітроцелюлозним смужкам.
16. Для інтерпретації результатів використовуйте відповідний протокол розрахунку. Внесення до протоколу даних стосовно високо-специфічних смуг полегшує інтерпретацію зразків пацієнтів.

**Для ознайомлення із загальною схемою тестової процедури, будь ласка, звертайтеся до останньої сторінки в інструкції для застосування набору.**

#### **9.4 Використання імуноблот-процесорів**

Наступні інструменти були валідовані для автоматичної обробки блотів і смуг: Apollo і Profiblot. В принципі придатні всі комерційно доступні блот-машини.

### **10. Інтерпретація результатів**

---

Для надійної інтерпретації кожен набір містить два контролю:

1. **Контроль сироватки:**  
Лише після інкубації стріпа з сироваткою пацієнта під відповідною позначкою з'являється смуга сироватки.
2. **Кон'югат контроль:**  
Стріп з набору *Treponema pallidum* LINE має контрольну смугу для IgG/IgM кон'югату.

Процедура аналізу дійсна, якщо смуги контролю сироватки і контролю кон'югату чітко видно на стріпі з антигенами.  
*Будь ласка, звертайтеся до наданого протоколу, щоб отримати інформацію про точне положення смуг контролю сироватки і контролю кон'югату.*

#### **10.1 Інтерпретація зразків пацієнтів**

Будь ласка, зверніться до наданого протоколу за інформацією про розташування і позначення реактивних смуг.

Смуги IgG та IgM:                      TrN47, TrpA, TrN17, TrN15

#### **10.2 Використання контролю порогового:**

Смуги з інтенсивністю, слабшою за смугу порогового контролю (TrN 47), не розглядають при інтерпретації результатів. Смуга TrN47 повинна бути низької інтенсивності.

### Оцінка інтенсивності смуг:

**ТрN 47- смуга:** Інтенсивність смуги порогового контролю ТрN47 є основною на всіх стріпах для виявлення IgG і IgM.

Оцінка Інтенсивні інших смуг визначається наступним чином:

- **Менша інтенсивність**, ніж ТрN 47- смуги порогового контролю = 0
- **Така ж інтенсивність**, що й ТрN 47- смуги порогового контролю = 1
- **Більша інтенсивність**, ніж ТрN 47- смуги порогового контролю = 2

Сума інтенсивностей смуг становить загальну оцінку.

### 10.3 Діагностичне значення антигенів

Перелік використаних рекомбінантних білкових антигенів *Treponema pallidum* (5, 6).

Антиген	Діагностичне застосування	Специфічність антитіл
ТрN47	Маркери первинного, вторинного та латентного сифілісу (5, 6)	Високоспецифічні для всіх стадій інфекції
ТрpA (ТрN44,5)		
ТрN17		
ТрN15		

**Примітка:** Використання такої комбінації високоспецифічних антигенів базується на патенті (S. Krell) №: DE 195 36 166 С1 і EP 0 855 032 В1, а також рекомендації щодо серологічної діагностики сифілісу, MIQ 2001: сифіліс (Hagedorn) (4).

### 10.4 Критерії тлумачення

Інтерпретація серологічного результату завжди включає клінічну картину, епідеміологічні дані та інші діагностичні параметри.

Оцінка IgG	
Сума Інтенсивностей смуг	Інтерпретація
< 3	негативний
= 3	підозрілий (*)
> 3	позитивний

Оцінка IgM	
Сума Інтенсивностей смуг	Інтерпретація
< 2	негативний
= 2	підозрілий (*)
> 2	позитивний

(\*) У разі підозрілого результату відберіть другий зразок сироватки та/або повторіть тест за допомогою іншого методу аналізу.

### 10.5 Межі аналізу

1. Негативний результат Блоту не виключає повністю можливість інфікування *Treponema pallidum*. Зразок може бути взятий до появи антитіл, або титр антитіл нижче за межу виявлення аналізу.
2. У рідкісних випадках у пацієнтів можуть спостерігатися «інверсні» стріпи (темний фон, білі смуги), їх не слід враховувати, тобто в таких випадках не можна оцінити результати імуноблоту. Такі сироватки необхідно перевіряти іншими серологічними методами. Діагностичне застосування щодо нейросифілісу та сифілісу новонароджених не можна робити, оскільки відповідні зразки спинномозкової рідини недоступні для оцінки.
3. Завдяки високій ДНК-гомології *T. pallidum* subsp. *pallidum* (сифіліс), *endemicum* (ендемичний сифіліс) і *pertenue* (framboasis, фрамбезія), частково також *Treponema carateum* (Pinta), слід очікувати перехресну реакцію. Це означає, що використання серологічних тестів для диференціальної діагностики невенеричного трепонематозу неможливо (4).
4. Сироватки пацієнтів з латентним сифілісом можуть в окремих випадках давати невідповідні результати порівняно з 19S-IgM-FTA-ABS, рекомбінантними блот-тестами і ІФА. Причина цієї невідповідності поки незрозуміла.
5. Для інтерпретації позитивних результатів на IgM у вагітних жінок, слід враховувати можливу присутність мультиреактивних IgM-антитіл. Такі результати повинні бути додатково досліджені за допомогою додаткових тестів (19S-IgM-FTA-ABS (IgM-ІФА) або VDRL-тест, будь ласка, зверніться до «Діагностичного значення»).

## 11. Дані продуктивності

### 11.1 Чутливість для IgG

У дослідженнях 298 зразків сироватки, запропонованих Н.-J. Hagedorn, Herford, від пацієнтів з підозрюваною інфекцією *Treponema pallidum* були протестовані за допомогою набору VIROTECH LINE IgG. Тестування проводили на різних групах сироваток (сироваток пацієнтів з сифілісом первинної та вторинної стадії, сироваток повій, комерційно доступних контрольних сироваток, сироваток вагітних жінок, ВІЛ-позитивних сироваток та інш.). Сироватки були попередньо досліджені за допомогою різних референс-методів (Вестернблот, ТРНА, FTA, FTA-ABS, ІФА і VDRL).

Сироватки досліджені на наявність IgG (n=298)		Дослідження з набором VIROTECH LINE IgG	
		Негативні	Позитивні
Отримані результати	Негативні	36	7
	Позитивні	12	230

Один граничний результат IgG не враховувався для розрахунку чутливості.

**Посилаючись на результати порівняльного дослідження чутливість для специфічних IgG складала 95,0%.**

### 11.2 Чутливість для IgM

У дослідженнях 135 сироваток, Н.-J. Hagedorn, IgM, були протестовані за допомогою набору VIROTECH LINE IgM. Всі сироватки були попередньо досліджені за допомогою 19S-IgM-FTA-ABS, як референс-методу, і включали сироватки пацієнтів з сифілісом первинної та вторинної стадії, латентним сифілісом та інших.

Сироватки досліджені на наявність IgM (n=135)		Дослідження з набором VIROTECH LINE IgM	
		Негативні	Позитивні
Отримані результати	Негативні	28	0
	Позитивні	12	83

Граничні результати IgM не враховувалися для розрахунку чутливості.

**Посилаючись на результати порівняльного дослідження чутливість для специфічних IgM складала 87,4%.**

### 11.3 Специфічність

Для визначення специфічності було досліджено групу сироваток крові донорів, потенційно перехресно реагуючих сироваток і сироваток вагітних жінок (IgG n=387 / IgM n=371)

Сироватки	VIROTECH LINE	
	IgG	IgM
Негативні	383	356
Позитивні	3	5

Граничні результати не враховувалися для розрахунку специфічності.

**Специфічність становила 99,2% для IgG і 98,6% для IgM.**

### 11.4 Діагностична чутливість

Оцінка діагностичної чутливості базувалася на визначених клінічних даних пацієнтів з сифілісом первинної та вторинної стадії (сироватки від Н.-J. Hagedorn, Herford).

Сироватки досліджені на IgG (n=32)		VIROTECH LINE IgG	
		Негативний	Позитивний
Діагностично підтверджено/Клініка	Негативний	-	-
	Позитивний	-	32
Сироватки досліджені на IgM (n=33)		VIROTECH LINE IgM	
		Негативний	Позитивний
Діагностично підтверджено/Клініка	Негативний	1	0
	Позитивний	2	26

Граничні результати не враховувалися для розрахунку діагностичної чутливості.

Отримані дані вказують на те, що всі сироватки оцінені правильно і узгоджені з клінічними дослідженнями.

### 11.5 Перехресна реактивність

Перехресні реакції з антитілами проти часткових антигенів Spirochaetaceae описані в літературі (7). До цієї родини належать як *Treponema*, так і *Borrelia*. Однак перехресна реакція антитіл проти антигенів TrN47, TrpA, Tr17 і Tr15, які використовуються в наборах VIROTECH LINE, не описані. Внутрішні випробування сироваток позитивних до *Borrelia* показали негативний результат в тестах на антитіла до *Treponema*. Крім того, були перевірені сироватки пацієнтів із системним вовчаком Еритенатодози (ВКВ). Результати також були негативними.

### 11.6 Поширеність (очікувані значення)

У таблиці наведені результати тестування сироваток з банку крові і сироваток вагітних жінок:

	IgG	IgM
негативний	222	188
невизначений	-	5
позитивний	1	-

Позитивна сироватка – сироватка крові донора.

### 11.7 Точність між аналізами (повторюваність)

Для визначення повторюваності 32 стріпи у вигляді нерозрізаної нітроцелюлозної мембрани були інкубовані у розчині з пороговим контролем, а в другому дослідженні з позитивним контролем. Смуги мали рівномірну інтенсивність на всьому аркуші нітроцелюлози.

### 11.8 Точність між аналізами (відтворюваність)

Визначення точності аналізу було здійснено в 10 незалежних тестових прогонах, як вручну, так і з використанням імуноблот-процесорів.

Негативна сироватка, низька позитивна сироватка та позитивна сироватка були протестовані на IgG та IgM.

Результат тесту	IgG	Результат тесту	IgM
Негативний	10	Негативний	10
Низький позитивний	10	Низький позитивний	6/4 (*)
Позитивний	10	Позитивний	10

(\*) Низька позитивна сироватка IgM була оцінена 6 разів позитивно та 4 рази на межі порогового контролю загалом у 10 прогонах.

## 12. Список літератури

1. Lukehart, S.A.; and C.M. Marra. 2007. Isolation and Laboratory Maintenance of *Treponema pallidum*. Curr. Protoc. Microbiol. Chapter 12:Unit 12A.1
2. Peeling R.W., and E.W. Hook. 2006. The pathogenesis of syphilis: the Great Mimicker, revisited. J. Pathol. 208(2):224-32.
3. Scotti, A.T., and L. Logan. 1968. A specific IgM antibody test in neonatal congenital syphilis. J. Pediatr. 73:242-243.
4. H.-J. Hagedorn, Qualitätsstandards in der mikrobiologisch-infektiologischen Diagnostik, MiQ 2001 (16):1-40
5. Gerber, A., S. Krell, and J. Morenz. 1996-7. Recombinant *Treponema pallidum* antigens in syphilis serology, Immunobiology. 196(5):535-49
6. Sambri, V., et al. 2001. Western Immunoblotting with five *Treponema pallidum* recombinant antigens for serologic diagnosis of Syphilis, Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology. (8). 3:534-539
7. Alfen, I., and H.J. Wellensiek. 1994. Die Bedeutung kreuzreagierender Antikörper für die Serodiagnostik der Lyme-Borreliose und der Syphilis. Lab. Med. (18):12-19

### 13. Схема процедури аналізу

#### Процедура аналізу (загальна схема)

Інкубація зразків	30 хв	15 мкл сироватки/плазми пацієнта, 100 мкл контролів в 1,5 мл буфера для розведення/промивання
Промивання	3 x 5 хв	з 1,5 мл буфера для розведення/промивання
Інкубація з кон'югатом	30 хв	з 1,5 мл розчину кон'югата робочого розведення (1x100)
Промивання	3 x 5 хв	з 1,5 мл буфера для розведення/промивання
	1 x 1 хв	з 1,5 мл дист./дейонізованої води
Інкубація з субстратом	10±3 хв	з 1,5 мл розчину субстрату
Зупинка реакції	3 рази без інкубації	з 1,5 мл дист./дейонізованої води

Таблиця розведення кон'югату (загальна)

Кількість стріпів	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Буфер для розведення/промивання	1,5 мл	3,0мл	4,5 мл	6,0 мл	7,5мл	9,0мл	11,0 мл	12,0 мл	14,0 мл	15,0 мл
Кон'югат-концентрат	15 мкл	30 мкл	45 мкл	60 мкл	75 мкл	90 мкл	110 мкл	120 мкл	140 мкл	150 мкл
Остаточний обсяг	1,515 мл	3,03 мл	4,545 мл	6,06 мл	7,575 мл	9,09 мл	11,11 мл	12,12 мл	14,14 мл	15,15 мл
Кількість стріпів	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
Буфер для розведення/промивання	17,0 мл	18,0 мл	20,0 мл	21,0 мл	23,0 мл	24,0 мл	26,0 мл	27,0 мл	29,0 мл	30,0 мл
Кон'югат-концентрат	170 мкл	180 мкл	200 мкл	210 мкл	230 мкл	240 мкл	260 мкл	270 мкл	290 мкл	300 мкл
Остаточний обсяг	17,17 мл	18,18 мл	20,2 мл	21,21 мл	23,23 мл	24,24 мл	26,26 мл	27,27 мл	29,29 мл	30,3 мл
Кількість стріпів	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
Буфер для розведення/промивання	32,0 мл	33,0 мл	35,0 мл	36,0 мл	38,0мл	39,0 мл	41,0 мл	42,0 мл	44,0 мл	45,0 мл
Кон'югат-концентрат	320 мкл	330 мкл	350 мкл	360 мкл	380 мкл	390 мкл	410 мкл	420 мкл	440 мкл	450 мкл
Остаточний обсяг	32,32 мл	33,33 мл	35,35 мл	36,36 мл	38,38 мл	39,39 мл	41,41 мл	42,42 мл	44,44 мл	45,45 мл
Кількість стріпів	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
Буфер для розведення/промивання	47,0 мл	48,0 мл	50,0 мл	51,0 мл	53,0 мл	54,0 мл	56,0 мл	57,0 мл	59,0 мл	60,0 мл
Кон'югат-концентрат	470 мкл	480 мкл	500 мкл	510 мкл	530 мкл	540 мкл	560 мкл	570 мкл	590 мкл	600 мкл
Остаточний обсяг	47,47 мл	48,48 мл	50,5 мл	51,51 мл	53,53 мл	54,54 мл	56,56 мл	57,57 мл	59,59 мл	60,6 мл