

**Тест-система
иммунохроматографическая для
выявления антител к возбудителю сифилиса
в цельной крови, сыворотке, плазме человека
экспресс методом в кассетах
(Abon Biopharm (Hangzhou) Co, Ltd, КНР)**

Инструкция по применению
(Номер по каталогу ISY-U402)

ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ

Тест-кассета ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) является быстрым иммунохроматографическим тестом для быстрого качественного определения антител (IgG и IgM) к *Трепонема Pallidum* (TP) в цельной крови, сыворотке и плазме с целью диагностики сифилиса.

РЕЗЮМЕ

Treponema Pallidum (TP) является микроорганизмом, вызывающим венерическое заболевание, — сифилис. TP — это бактерия-спирохета с цитоплазматической мембраной и внешней оболочкой.¹ Относительно мало известно об этом микроорганизме по сравнению с другими патогенными бактериями. Согласно данным Центра по контролю за заболеваниями (CDC) с 1985 года значительно выросло число случаев заражения сифилисом.² К некоторым ключевым факторам, вызвавшим такой скачок, относят эпидемию потребления кокаина и высокую степень проституции среди потребителей наркотиков.³ В одном из исследований приводится эпидемическая корреляция приобретения и передачи вируса ВИЧ и сифилиса.⁴

Сифилис характеризуется многочисленными стадиями заболевания и длительным бессимптомным течением инфекционного процесса. Первичный сифилис определяется по наличию шанкра в месте заражения. Антитела к бактериям TP можно определить уже на 4–7 день после появления шанкра. Инфекция определяется вплоть до того, пока пациент не получит соответствующее лечение.⁵

В тест-кассете для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) используется двойная комбинация антигенов в виде частиц, покрытых антигеном TP и антигенов, иммобилизованных на мембране с целью качественного и селективного определения антител к TP (IgG и IgM) в цельной крови, сыворотке или плазме крови.

ПРИНЦИП РАБОТЫ

Тест-кассета для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) представляет собой качественный иммунохроматографический тест для определения антител к TP (IgG и IgM) в цельной крови, сыворотке или плазме. Согласно методике рекомбинантный антиген TP иммобилизован в области тестовой линии тест-кассеты. После того, как образец (проба) наносится в углубление для образца, он реагирует с частичками, покрытыми антигеном TP. Эта смесь хроматографически движется и взаимодействует с иммобилизованными антигенами TP. Формат двойного антигена позволяет определять в образцах как IgG, так и IgM. Если образец содержит антитела к TP, то в тестовой области появится окрашенная линия, указывающая на положительный результат. Если образец не содержит антитела к TP, то в этой области не появится окрашенная линия, что указывает на отрицательный результат. В качестве контроля процедуры анализа, в контрольной области всегда будет появляться окрашенная линия, указывающая на то, что был взят надлежащий объем образца, и произошло необходимое капиллярное увлажнение мембраны.

РЕАКТИВЫ

Тест-кассета содержит частички, покрытые антигенами TP и мембрану, покрытую антигенами TP.

МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

- Только для профессиональной диагностики *in vitro*. Не использовать после окончания срока годности.
- Тест-кассеты до применения должны находиться в запечатанной индивидуальной упаковке.
- Не ешьте, не пейте и не курите в том месте, где находятся пробы и наборы для анализа.
- Не используйте тест-кассету, если индивидуальная упаковка повреждена.
- Обращайтесь со всеми пробами так, как будто они содержат инфекционные материалы. Во время проведения анализа соблюдайте установленные предосторожности при риске заражения и следуйте стандартным инструкциям по надлежащему уничтожению проб.
- При проведении анализа проб надевайте защитную одежду, например, лабораторный халат, а также одноразовые перчатки и используйте защиту для глаз.
- Влажность и температура могут неблагоприятно влиять на результаты анализа.

ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

Набор необходимо хранить при комнатной температуре или в холодильнике (при температуре от +2 до +30°C). Тест-кассета для анализа сохраняет стабильность до конца срока годности, напечатанного на герметичной упаковке. Тест-кассета должна оставаться в герметичной упаковке до применения. **НЕ ЗАМОРАЖИВАТЬ.** Не использовать после окончания срока годности.

ЗАБОР И ПОДГОТОВКА ПРОБ

Тест-кассета ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) предназначена для работы с цельной кровью (из вены или пальца), сывороткой или плазмой.

Для забора образцов цельной крови из вены и плазмы крови используйте только пробирки с натрий-гепарином или литий-гепарином. Не применяйте пробирки для сбора проб, обработанные ЭДТА.

Для забора проб цельной крови из пальца:

- Вымойте руку пациента с мылом и теплой водой или протрите спиртовым тампоном. Дайте высохнуть.
- Помассируйте руку, не касаясь места прокола, растирая ее по направлению к кончику среднего или безымянного пальца.
- Проколите кожу стерильным скарификатором. Сотрите первую каплю крови.
- Слегка разотрите руку от запястья к ладони и пальцу, чтобы сформировалась округлая капля крови в месте прокола.
- **Внесите пробу цельной крови из пальца в тест-кассету с помощью капиллярной трубки:**
 - Коснитесь концом капилляра капли крови, чтобы набралось приблизительно 50 мкл. Избегайте появления воздушных пузырьков.
 - Наденьте грушу на противоположный конец капиллярной трубки, сожмите ее, выпустив цельную кровь в углубление для образца (S).
- **Внесите пробу цельной крови из пальца методом "висячей капли":**
 - Поместите палец пациента так, чтобы капля крови оказалась как раз над углублением для образца (S) тест-кассеты.
 - Позвольте 2 висячим каплям цельной крови из пальца попасть в центр углубления для образца (S), или двигайте палец пациента так, чтобы капля крови коснулась центра углубления для образца (S). Избегайте непосредственного касания пальцем центра углубления для образца (S).
- Отделите сыворотку или плазму от крови как можно быстрее, чтобы избежать гемолиза. Используйте

только прозрачные, без гемолиза пробы.

» Тестирование следует проводить сразу после взятия проб. Не оставляйте пробы при комнатной температуре на длительное время. Образцы сыворотки и плазмы можно хранить при температуре от +2 до +8°C в течение 3 дней. При более длительном хранении пробы необходимо держать при температуре ниже –20°C. Цельная кровь, взятая из вены, может храниться при температуре от +2 до +8°C, если тест будет проведен в течение 2 дней. **Не замораживайте образцы цельной крови. Цельную кровь, взятую из пальца, необходимо тестировать немедленно.**

» **Перед проведением анализа прогрейте пробы до комнатной температуры.** Необходимо, чтобы замороженные пробы полностью оттаяли и были хорошо перемешаны перед проведением анализа. **Пробы нельзя повторно замораживать и оттаивать.**

» Если пробы необходимо транспортировать, то они должны быть упакованы в соответствии с федеральными законами, регулирующими транспортировку инфекционных материалов.

ПРИНАДЛЕЖНОСТИ

Поставляемые принадлежности

- Тест-кассеты.
- Буфер (только для цельной крови).
- Одноразовые пипетки.
- Инструкция по применению.

Необходимые, но не поставляемые принадлежности

- Емкости для забора проб.
- Центрифуга (только для сыворотки/плазмы).
- Скарификаторы (только для цельной крови из пальца).
- Таймер.
- Капиллярные трубки и груша (только для цельной крови из пальца)

ИНСТРУКЦИЯ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Перед проведением анализа (если тест-набор хранился в холодильнике) необходимо прогреть тест-кассету, пробу, буфер и/или контрольные образцы до комнатной температуры (от +15 до +30°C).

1. Перед вскрытием индивидуальной упаковки, прогрейте тест-кассету до комнатной температуры без применения нагревательных устройств. Извлеките тест-кассету из индивидуальной упаковки и используйте ее как можно скорее. Наилучшие результаты будут получены, если анализ проводить сразу после вскрытия индивидуальной упаковки.
2. Поместите тест-кассету на чистую и ровную поверхность.

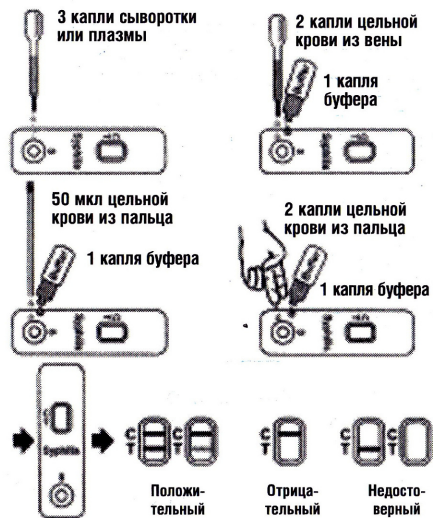
Для проб **сыворотки или плазмы**: держа пипетку вертикально, внесите **3 капли сыворотки или плазмы** (приблизительно 75 мкл) в углубление для образца (S) и включите таймер. См. рисунок ниже.

Для проб **цельной крови из вены**: держа пипетку вертикально, внесите **2 капли цельной крови** (приблизительно 50 мкл) в углубление для образца (S), затем **добавьте 1 каплю буфера** (приблизительно 40 мкл) и включите таймер. См. рисунок ниже.

Для проб **цельной крови из пальца**:

- При использовании **капиллярной трубки**: заполните капиллярную трубку и **перенесите примерно 50 мкл пробы цельной крови из пальца** в углубление для образца (S), затем **добавьте 1 каплю буфера** (приблизительно 40 мкл) и включите таймер. См. рисунок ниже.
- При использовании **метода "висячей капли"**: **Позвольте 2 "висячим" каплям цельной крови из пальца** (приблизительно 50 мкл) попасть в углубление для образца (S), затем **добавьте 1 каплю буфера** (приблизительно 40 мкл) и включите таймер. См. рисунок ниже.

3. Подождите, пока не появится окрашенная линия(и). **Посмотрите результат через 10 минут.** Не интерпретируйте результат после 30 минут.



ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

(См. рисунок сверху)

ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ:* появляются две окрашенные линии. Одна линия должна быть в контрольной области (C), а другая окрашенная линия – в тестовой области (T).

***ПРИМЕЧАНИЕ:** интенсивность окрашивания тестовой линии (T) может варьировать в зависимости от концентрации антител к ТР в образце. **Поэтому любая интенсивность окрашивания в области тестовой линии (T) должна интерпретироваться как положительный результат.**

ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ: одна окрашенная линия появляется в контрольной области (C). В тестовой области (T) линия не появилась.

НЕДОСТОВЕРНЫЙ: контрольная линия (C) не появилась. Отсутствие контрольной линии чаще всего происходит из-за недостаточного объема пробы или неправильного проведения анализа. Проверьте ход выполнения процедуры анализа и повторите анализ с помощью новой тест-кассеты. Если проблема остается, немедленно прекратите пользоваться этим набором и свяжитесь с местным представителем фирмы-производителя.

КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Внутренний контроль процедуры анализа включен в тест. Окрашенная линия, появляющаяся в контрольной области (C), является внутренним положительным контролем процедуры анализа. Ее появление подтверждает внесение достаточного объема пробы, необходимое капиллярное увлажнение мембраны и правильность методики выполнения анализа.

Контрольные стандарты не прилагаются к этому набору; однако в лабораторной практике рекомендуется тестировать заведомо положительные и отрицательные образцы для того, чтобы подтвердить правильность процедуры анализа и проверить работоспособность данного тест-набора.

ОГРАНИЧЕНИЯ

1. Тест-кассета ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) предназначена только для диагностического применения in vitro. Тест может быть использован только для выявления антител к ТР в образцах цельной крови, сыворотки или плазмы. Этим качественным тестом нельзя определить ни количественное значение, ни степень возрастания уровня антител к ТР.
2. Тест-кассета ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) может только указать на наличие антител к ТР в образцах цельной крови, сыворотки или плазмы и

не может служить единственным критерием для диагностики сифилиса.

3. Как и в случае с другими диагностическими тестами, все результаты необходимо рассматривать совместно с остальной клинической информацией, известной врачу.
4. Если результат теста отрицательный, но сохраняются клинические симптомы, рекомендуется провести дополнительное тестирование с помощью других клинико-диагностических методов.

ОЖИДАЕМЫЕ ОЦЕНКИ

Тест-кассеты ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) сравнивались с ведущим коммерческим тестом на сифилис (ТРНА) и продемонстрировали среднюю точность больше либо равную 99,7%.

ТЕХНИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ

Чувствительность и специфичность

Тест-кассету ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) сравнивали с ведущей коммерческой тест-системой на сифилис ТРНА при использовании клинических образцов. Результаты показывают, что относительная чувствительность тест-кассет для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) составляет 99,7%, а относительная специфичность составляет 99,6%.

Тест-кассета ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) в сравнении с ТРНА

Метод	EIA			Всего результатов
	Результаты	Положительный	Отрицательный	
Тест-кассета ABON для определения сифилиса	Положительный	384	2	386
	Отрицательный	1	493	494
Всего результатов		385	495	880

Относительная чувствительность:

99,7% (98,6%–100,0%)*

Относительная специфичность:

99,6% (98,6%–100,0%)*

Точность: 99,7% (99,0%–99,9%)*

*** 95% доверительные интервалы**

ТОЧНОСТЬ

В одном определении

Точность результатов была определена путем использования 10 повторов четырех образцов: отрицательного, слабоположительного, положительного среднего значения и высокоположительного. Отрицательные, слабоположительные, положительные средние значения и высокоположительные значения правильно определялись в более, чем 99% случаев.

Между разными постановками

Точность результатов между разными постановками анализа определялась в 10 независимых постановках путем тестирования тех же четырех образцов – отрицательного, слабоположительного, положительного среднего значения и высокоположительного. Три разных серии тест-наборов ABON для быстрого определения сифилиса (цельная кровь/сыворотка/плазма) были протестированы в течение трех дней с использованием отрицательных, слабоположительных, положительных средних значений и высокоположительных образцов. Образцы были правильно идентифицированы более, чем в 99% случаев.

ЛИТЕРАТУРА

1. Claire M. Fraser. *Complete genome sequence of Treponema pallidum, the Syphilis spirochete*. Science 1998; 281 July: 375–381
2. Center for Disease Control. *Recommendations for diagnosis and treating Syphilis in HIV-infected patients*. MMWR Morb. Mortal Wkly Rep. 1988; 37: 601.
3. Aral R. Marks. *Crack, sex and STD*. Sexually Transmitted Diseases, 1991; 18: 92–101
4. J.N.Wasserheit. *Epidemiological Synergy: Interrelationships between human immunodeficiency virus infection and other sexually transmitted diseases*. Sexually Transmitted Diseases, 1992; 19: 61–77.
5. Johnson Philip C. *Testing for Syphilis*. Dermatologic Clinic 1994; 12 Jan: 9–17