

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

REF 630522


10 x 10 Tests

UDI-DI 4250729700064

Gebrauchsanweisung /
Instructions for Use /
Notice d'utilisation /
Istruzioni per l'uso

Nur zur Verwendung durch Fachpersonal /
For professional use only /
Exclusivement pour un usage professionnel /
Da utilizzare solo da parte di personale specializzato

CE 2797

	Deutsch	Seiten	02–06
	English	Pages	07–11
	Français	Pages	12–16
	Italiano	Pagine	17-21

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

Immunfluoreszenztest zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen *Treponema pallidum* in humanem Serum und Plasma.

Verwendungszweck

Semiquantitativer (titrierbarer) Immunfluoreszenztest zum Nachweis und zur Bestätigung von gegen *Treponema pallidum* gerichteten IgG-Antikörpern in Humanserum und Plasma als Hilfe zur Diagnose von Syphilis.

Der Assay ist für die manuelle Verwendung geeignet und nur für die professionelle In-vitro-Diagnostik vorgesehen. Alle Labortestergebnisse sollten in Verbindung mit anderen klinischen Daten interpretiert werden. Das klinische Urteil und weitere Tests müssen zusätzlich berücksichtigt werden.

Wichtiger Hinweis zur Gebrauchsanweisung

Bei etwaigen Assay-relevanten Änderungen der Gebrauchsanweisung wird das auf der letzten Seite stehende Versionsdatum aktualisiert. Für einen Zeitraum von 3 Monaten nach Vergabe der neuen Versionsnummer werden die Änderungen auf einem farbigen Beiblatt gekennzeichnet. Bitte stellen Sie sicher, dass Sie immer mit der aktuellen Gebrauchsanweisung arbeiten.

Testprinzip

Das verdünnte Probenmaterial sowie die negativen und positiven Kontrollen oder Kalibratoren werden auf die Wells des Objektträgers pipettiert und inkubiert. Die Wells sind mit gereinigten Erregerantigenen beschichtet. Sofern spezifische Antikörper im Probenmaterial sind, binden diese an die Erregerantigene auf den Wells und bilden mit diesen einen stabilen Antigen-Antikörper-Komplex. Unspezifisch oder nicht gebundene Antikörper werden in einem Waschschrift entfernt. An die spezifischen Komplexe binden dann in einer Konjugatreaktion FITC-gekoppelte Anti-human-IgG-Antikörper. Anschließend wird nicht gebundenes Konjugat durch einen Waschschrift entfernt. Im Fluoreszenzmikroskop werden die Wells ausgewertet. Liegen Antikörper im Probenmaterial vor, fluoreszieren die immunreaktiven Bereiche des Antigens.

Packungsinhalt

- SLIDE** Objektträger
10 Objektträger mit je 10 Auftragsstellen, die mit *Treponema pallidum* Spirochäten (Stamm Nichols) beschichtet wurden.
- CONTROL+** Positivkontrolle
1 x 1 mL Anti-*T. pallidum* IgG-positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig, potentiell infektiös (siehe Warnhinweise), enthält Natriumazid und Proclin (< 0,1 %)
- CONTROLAC** Absorptionskontrolle (Serum)
1 x 1 mL unspezifisches Kontrollserum, human, gebrauchsfertig, potentiell infektiös (siehe Warnhinweise), enthält Natriumazid und Proclin (< 0,1 %)
- CONJG** FITC-Konjugat IgG
1 x 3 mL Anti-human-Immunglobulin (Kaninchen, γ -Kette), mit FITC (Fluorescein Isothiocyanat) konjugiert, gebrauchsfertig, enthält Natriumazid und Proclin (< 0,1 %)
- BUFFER** PBS
2 Sachets mit 10 g PBS. Je 1 Päckchen (10 g) in 1 Liter destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen, pH 7,2 \pm 0,2.
- MOUNTING MEDIUM** Eindeckmedium
1 x 3 mL glyceringepuffertes Eindeckmedium; gebrauchsfertig, enthält Proclin (< 0,1 %)
- SORBENT** Sorbent/Ultrasonikat
1 x 4 mL *Treponema reiteri* Ultrasonikat; flüssig, gebrauchsfertig, enthält Natriumazid (< 0,1 %)

Weitere verwendete Abkürzungen

- RTU** gebrauchsfertig

Zusätzlich benötigte Materialien

- Sterile Reaktionsgefäße
- Mikropipetten und dazu passende Spitzen
- Küvetten
- Feuchte Kammer
- Messkolben oder Messbecher
- Destilliertes oder deionisiertes Wasser
- Pinzette
- Deckgläser
- Spritzflasche (Wasch- bzw. Pufferflasche)
- Fluoreszenzmikroskop mit einer FITC-geeigneten Filterkombination (z.B 490 nm Anregungsfilter und 510 nm Sperrfilter).

Warnhinweise

- Halten Sie die allgemeinen Gesundheits- und Sicherheitsrichtlinien für die Arbeit mit potenziell infektiösen Materialien ein. Tragen Sie geeignete Schutzkleidung und benutzen Sie geeignete Laboreinrichtungen.

2. Vermeiden Sie Kreuzkontaminationen, sowie den Austausch der Flaschendeckel. Verwenden Sie keine kontaminierten Reagenzien. Reagenzien mit beschädigten Flaschen oder Verpackungen sollten aufgrund des Kontaminationsrisikos nicht verwendet werden. Für jede Probe oder jedes Reagenz sollte eine eigene Pipette bzw. Pipettenspitze verwendet werden.
3. Die Kontroll-/Kalibriermaterialien menschlichen Ursprungs wurden auf Antikörper gegen HIV und HBsAg getestet und wurden für negativ befunden. Sie sollten jedoch, als potenziell infektiöses Material behandelt werden, das in der Lage ist, Krankheiten zu übertragen. Es wird nicht garantiert, dass die Proben frei von Infektionen oder mikrobieller Kontamination sind.
4. Einzelne Kitreagenzien enthalten bovine Komponenten. Zum Schutz vor Infektionen mit Prionen oder zoonotischen Erregern müssen die gängigen Arbeitsschutzregeln (GLP) eingehalten werden.
5. Keine hämolysierten, lipämische oder ikterischen Proben verwenden (Ref. 9, 10, 11).
6. Natriumazid und Proclin werden wie angegeben als Konservierungsmittel verwendet. Beide können bei Verschlucken giftig sein. Natriumazid kann mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Salze bilden. Beide stets mit reichlich Wasser in den Abfluss spülen und entsorgen.

Vorsichtsmaßnahmen

1. Lesen Sie die Anweisungen sorgfältig durch, bevor Sie den Test durchführen. Ändern Sie das Verfahren nicht ohne vorherige Validierung.
2. Keine Kitreagenzien nach dem Ablauf der Haltbarkeit verwenden.
3. Keine Kitreagenzien aus verschiedenen Chargen kombinieren.
4. Verwenden Sie nach Möglichkeit Einweg-Plastikmaterial. Wiederverwendbare Glasmaterialien sollten vor dem Gebrauch gründlich gewaschen und frei von Reinigungsmitteln gespült werden.
5. Für jeden Pipettierschritt ist eine neue Pipettenspitze zu verwenden.
6. Nur Laborwasser von höchster Qualität verwenden (z. B. Aqua dest., Aqua bidest., Aqua inieciabilia, HPLC-Grade).
7. Ein Austrocknen der Wells während der Testdurchführung vermeiden.
8. Die Objektträger nicht direktem Sonnenlicht oder anderen vergleichbar extremen Bedingungen aussetzen.
9. Setzen Sie das FITC-Konjugat zu keinem Zeitpunkt starkem Sonnenlicht, UV- oder Fluoreszenzlicht aus. Möglichst an einem dunklen Ort aufbewahren.

Entsorgung

Kitreagenzien, Proben und kontaminierte Einwegartikel sollten gemäß den einschlägigen Entsorgungsrichtlinien und -vorschriften für infektiöses Material entsorgt werden.

Lagerung und Stabilität

Der MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG kann ab Herstellung bis zu dem auf der Packung genannten Haltbarkeitsdatum verwendet werden, wenn er bei 2–8 °C aufbewahrt wird. Vor Gebrauch sind alle Reagenzien auf Raumtemperatur zu bringen.

Nach dem Öffnen sind die Reagenzien für 90 Tage haltbar. Ein geöffneter Objektträger sollte innerhalb des Arbeitstages verbraucht werden.

Der PBS-Puffer ist nach dem Auflösen 30 Tage stabil, wenn er bei 2–8 °C aufbewahrt wird.

Zur Haltbarkeit von Proben (Serum, Plasma) gelten die allgemeinen Fachempfehlungen zur Aufbewahrung. In der Regel können Proben bis zu 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Für eine längere Aufbewahrung sollten sie bei -20 °C eingefroren werden. Allerdings sollten wiederholte Einfrier-/ Auftauzyklen vermieden werden.

Probenmaterial

- a) Probenmaterial (Serum / Plasma) wird durch Fachpersonal nach aktuellen Standards / Best-Practice-Richtlinien entnommen. Nach derzeitigem Kenntnisstand kann eine Infektion durch kontaminiertes Blut nicht vollständig ausgeschlossen werden. Jegliches Probenmaterial sollte daher als potenziell infektiös behandelt werden.
- b) Die Proben können 3 Tage bei 2–8 °C aufbewahrt werden. Bei längerer Aufbewahrung Proben sofort nach Entnahme in Aliquots aufteilen und bei -20 °C einfrieren.

Wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben ist zu vermeiden!

Aufgetaute Proben sollten vor der Verwendung im Test gemischt (Vortex) werden.

Lipämische, ikterische, hämolytische oder bakteriell kontaminierte Proben können falsche Ergebnisse ergeben (Lit. 9, 10, 11).

Testdurchführung

1. Vor dem Testansatz alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (mindestens 20 °C).
2. 1 Sacht des PBS-Puffers mit 1 L destilliertem oder deionisiertem Wasser lösen.
3. Das Sorbent ist gebrauchsfertig.
Die Patientenseren 1:5 mit Sorbent verdünnen.
Beispiel:
10 µL Serum + 40 µL Sorbent
4. Kontrollen wie untenstehend verdünnen:
 - a. Positivkontrolle + Sorbent (1:5)
 - b. Positivkontrolle + PBS (1:5)
 - c. Absorptionskontrolle + Sorbent (1:5)
 - d. Absorptionskontrolle + PBS (1:5)

Optional können auch andere Kontrollen mit dem Sorbent und mit PBS verdünnt werden. Zur Austitrierung die Proben/Kontrollen nach der Absorption mit PBS weiter verdünnen.

5. Den Ansatz 30 min bei 37 °C inkubieren.
6. Den eingeschweißten Objektträger vorsichtig aus der Alutüte herausnehmen. Darauf achten, nicht die Wells zu berühren.
7. Je 20–25 µL der Kontrollen oder der verdünnten Patientenproben auf ein Well pipettieren. Die Probe soll das ganze Well bedecken. Mit der Pipettenspitze dabei nicht über das Well kratzen.
8. Die Objektträger in eine feuchte Kammer legen und 30 min bei 37 °C inkubieren.
9. Nach der Inkubation die Objektträger sorgfältig mit PBS aus einer Waschflasche waschen, wobei darauf zu achten ist, dass der Strahl nicht auf die Testfelder gerichtet wird. Hierzu kann der Strahl des PBS entlang der Mitte des Objektträgers gerichtet sein, wobei der Objektträger zuerst in Richtung der Vertiefungen 1-5 und dann in Richtung 6-10 gekippt wird.
10. Die Objektträger in einer Küvette mit PBS 15 min bei Raumtemperatur waschen. Ein Wechseln des Puffers nach 5 min erhöht die Waschstringenz.
11. Die Objektträger aus dem Puffer nehmen und den Puffer kurz von der Maske abklopfen, indem man mit der Längsseite des Objektträgers auf eine saugfähige Unterlage klopft. Nie mit einem Papiertuch o.ä. über die Wells wischen!
12. Die Objektträger sofort in die feuchte Kammer legen und einen Tropfen des entsprechenden FITC-Konjugats (20–25 µL) auf jedes Well tropfen. Das Konjugat soll das ganze Well bedecken. Die Wells dürfen nach dem Waschschrift zu keinem Zeitpunkt eintrocknen!
13. Die Objektträger in der feuchten Kammer 30 min bei 37 °C im Dunkeln inkubieren.
14. Nach der Konjugatinkubation die Objektträger wie unter den Pkt. 10 und 11 beschrieben waschen.
15. Einen kleinen Tropfen Eindeckmedium auf jedes Well tropfen und mit einem Deckglas den Objektträger luftblasenfrei eindecken.
Hinweis: Wird zu viel Eindeckmedium auf die Wells getropft, so kann das Deckglas beim Mikroskopieren leicht verrutschen. Dieses mit einem saugfähigen Papiertuch entfernen. Zudem kann überschüssiges Eindeckmedium zu einer Lichtstreuung führen, was eine hohe Hintergrundfluoreszenz zur Folge hat.
16. Die Reaktionen können nun mit einem Fluoreszenzmikroskop ausgewertet werden. Es empfiehlt sich dabei eine 400- bis 800-fache Vergrößerung.
17. Nach der Auswertung sind die gebrauchten Objektträger unter Berücksichtigung der nationalen Gesetze zu entsorgen.

Auswertung und Interpretation

Die Kontrollen müssen den Reaktionen auf dem chargenspezifischen QC-Zertifikat entsprechen. Die Angaben in der Tabelle dienen der Orientierung und reflektieren nicht die jeweils aktuelle Charge.

Probe	Erwartetes Ergebnis*
Positivkontrolle + Sorbent	1 + bis 4 +

Positivkontrolle + PBS	1 + bis 4 +
Absorptionskontrolle + Sorbent	negativ *
Absorptionskontrolle + PBS	1 + bis 4 +

* Siehe Messbereich für Beispiele

** negativ: Treponemen können im Einzelfall sichtbar sein, dürfen aber nicht fluoreszieren.

Zur korrekten Beurteilung der Patientenproben sollten immer die Kontrollen mit herangezogen werden.

Sollen die Proben oder die Kontrollen zur Titerbestimmung weiter verdünnt werden, so können, ausgehend vom Suchtiter, seriell weitere Verdünnungsstufen mit PBS hergestellt werden.

Interpretation der Patientenreaktionen

Positive Proben zeigen eine grüne Fluoreszenz der Treponemen. Die Fluoreszenz kann je nach Antikörperkonzentration in der Intensität variieren.

Die Intensität der Fluoreszenz kann von 1+ bis 4+ bewertet werden. Bei Austitrierung einer Probe definiert die 1+ Intensität den Endtiter.

Grenzwertige Proben zeigen eine sehr schwache, grünliche Fluoreszenz (+/-) der Treponemen.

Negative Proben sind in der Regel dunkel, Treponemen sind nicht sichtbar. Grün gefärbte, jedoch nicht fluoreszierende Treponemen sind als NEGATIV zu bewerten.

Negativ zu bewerten sind auch Proben, bei denen eine inhomogene Fluoreszenz in der 1:5 Suchverdünnung vorliegt. In diesem Fall sind einzelne oder auch nur Teile der Treponemen fluoreszierend, andere Treponemen sind nur grün gefärbt.

Grenzen des Nachweisverfahren/Interferenzen

1. FTA-ABS IgG Test kann gelegentlich falsch positive Ergebnisse liefern. Dies kann insbesondere bei einigen Schwangerenserum, bei Lepra und beim Systemischen Lupus erythematodes auftreten (Lit. 5, 6.).
2. Bei Proben die hohe Borrelien-Antikörpertiter aufweisen (> 1:640) können die Treponemen leicht grün fluoreszieren.
3. Der FTA-ABS IgG Test ist hoch-sensitiv und hoch-spezifisch. Dennoch sollte dieser Test wie auch jeder andere Labortest nicht allein zur Festlegung der Diagnose verwendet werden, sondern immer in Verbindung mit anderen Testverfahren, der Anamnese und dem klinischen Bild des Patienten.
4. Zu den pathogenen Treponemen werden neben *T. pallidum*, *T. pertenuis* der Erreger der Frambösie und *T. carateum* der Erreger der Pinta gezählt. Im EU-Raum ist vorwiegend *T. pallidum* der klinisch relevante Erreger. Jedoch gibt es eine Reihe von Kommensalen der Spezies *T. pallidum*, die differentialdiagnostisch ausgeschlossen werden müssen, bevor man die Diagnose einer Primärsyphilis stellen sollte.

5. Die Kommensalen der Syphilis-Spirochäte lassen sich im Gegensatz zu dieser erfolgreich in entsprechenden Kulturmedien vermehren. Die in-vitro Kultur von *T. pallidum* verlief bislang noch nicht erfolgreich.
6. Die klinische Diagnose der Syphilis muss durch Labordaten bestätigt werden, entweder durch den direkten Nachweis der *T. pallidum*-Spirochäte aus Exsudat von Läsionen oder durch den Nachweis von Serumantikörpern, die gegen den Erreger gerichtet sind. Man kann die Methoden, die die Antikörperantwort gegen die Treponemeninfektion bestimmen, grob in zwei Kategorien unterteilen:
 - a) Tests, mit denen Antikörper gegen unspezifische Treponemen-Antigene bestimmt werden, z. B. gegen Cardiolipin oder lipoidale Antigene. Diese Tests werden unter der Bezeichnung „Reagin-Tests“ zusammengefasst.
 - b) Tests zur Bestimmung von Antikörpern gegen pathogene Treponemen-Antigene, wie z. B. im Häm- oder Partikelagglutinationstest (TPPA) und im Fluoreszenz-Treponemen-Antikörper Absorptionstests (FTA-ABS).

Leistungsdaten

Sensitivität und Spezifität

Der Assay wurde über ein Probenpanel bestehend aus 366 Serum und Plasma Proben validiert. Das Panel wurde gebildet aus positiven und negativen klinischen Proben. MASTABLOT™ TP IgG (Mast Diagnostica, REF 663G08) und SERODIA®-TP•PA (Fujirebio Inc., Tokyo, REF 226414) wurden als Referenzassays gewählt.

Die analytische Leistung wurde wie folgt berechnet:

	Formel	Wert
Sensitivität	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	99,52 %
Spezifität	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94,63 %
Positiver prädiktiver Wert	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	96,30 %
Negativer prädiktiver Wert	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	99,30 %
Effizienz	$\frac{(TP + TN)}{total}$	97,49 %
Positives Likelihood-Verhältnis	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	18,54
Negatives Likelihood-Verhältnis	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.01

(Abkürzung: TP: Echt positiv, TN: Echt negativ, FN: Falsch negativ, FP: Falsch positiv)

Richtigkeit

Sensitivität und Spezifität des MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG sind vergleichbar zu den beiden getesteten Referenzassays.

Kreuzreaktivität

20 Borrelienproben wurden auf Kreuzreaktivität getestet. Sera mit einem hohen anti-Borrelia Antikörper Titer gaben teilweise falsch positive Ergebnisse (siehe Grenzen des Nachweisverfahren/Interferenzen).

Rückverfolgbarkeit

NIBSC QC 2, Lot: 17/B713 (Plasma TP 377) wurde als Referenzprobe verwendet.

Präzision

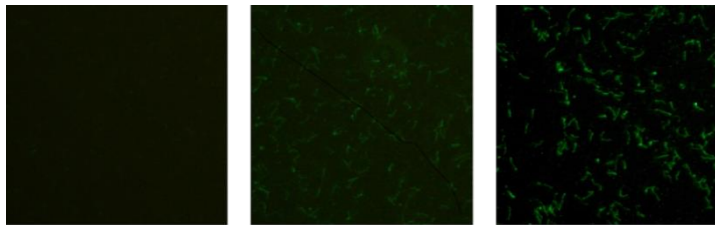
Als die Titration der Positivkontrolle (serielle Verdünnung 1:5 bis 1:640) aus verschiedenen Chargen gemäß dem Testverfahren 10-mal getestet wurde, lagen alle Ergebnisse innerhalb von ±1 Fluoreszenzstufe.

Prozonenphänomen / High dose hook effect

Der MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG-Assay ist ein indirekter Immunfluoreszenz-Nachweis-Assay mit einem FITC-gekoppelten Antikörper (2-Schritt-Assay). Es wurde ein Waschschriff hinzugefügt, in dem alle unspezifischen oder ungebundenen Antikörper entfernt werden. Aus diesem Grund wird das Prozonenphänomen verhindert.

Messbereich

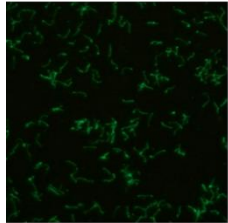
Bei der Titration der Positivkontrolle (IgG: 1:5-1:640) und der Probenverdünnung (1:5) nach dem Testverfahren wurden folgende Ergebnisse für den Messbereich dokumentiert:



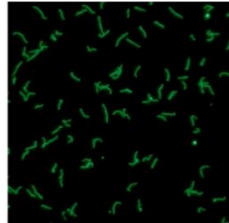
Negative
(Neg. Control)

Borderline +/-
(Pos. Control 1:160)

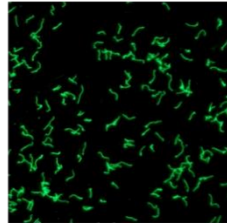
1+
(Pos. Control 1:80)



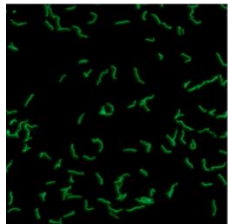
2+
(Pos. Control 1:40)



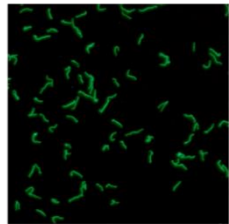
3+
(Pos. Control 1:20)



4+
(Pos. Control 1:5)



Probe 1: 3+



Probe 2: 3+

Verfügbarkeit der Zusammenfassung für Sicherheit und Leistung (Art. 29)

Der Bericht wird in der EUDAMED-Datenbank vorliegen (sobald das Modul verfügbar ist). (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>) verfügbar sein.

Der SSP-Bericht wird auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

Meldung schwerwiegender Vorkommnisse

Alle schwerwiegenden Vorkommnisse, welche im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetreten sind, müssen dem Hersteller und der verantwortlichen Behörde im Mitgliedsland, in dem der Anwender und / oder der Patient ansässig sind, gemeldet werden.

Referenzen und Änderungshistorie

Die Referenzen und die Änderungshistorie finden Sie am Ende der Gebrauchsanweisung.

Nachweisgrenzen

Der Cut-off (1:5-Verdünnung, minimale 1+ Fluoreszenzintensität) wurde an einem Panel bestehend aus 366 positiven und negativen Seren und Plasmaproben entsprechend der genannten Sensitivität und Spezifität definiert.

Klinische Leistung

Für den MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG Assay werden 1–2 mal pro Jahr Ringversuche (INSTAND e.V. Ringversuche, Sektion 311, Treponema pallidum) durchgeführt. Daten zu den Ringversuchen werden auf Anfrage zur Verfügung gestellt.

Der Zeus Scientific FTA-Assay (REF FA7001) wurde als Äquivalenzprodukt identifiziert. Die folgenden Werte der klinischen Leistung wurden für das Äquivalenzprodukt in einer Vergleichsstudie mit 303 Serumproben berichtet (Binnicker et al., 2011, Lit. 8):

Klinische Sensitivität: 100%

Klinische Spezifität: 98,6

k-Wert: 0,98

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

Immunofluorescence assay for the detection of IgG antibodies to *Treponema pallidum* in human serum and plasma.

Intended Use

Semi-quantitative (titratable) immunofluorescence assay for the detection and confirmation of IgG antibodies directed against *Treponema pallidum* in human serum and plasma as an aid to diagnosis of syphilis.

The assay is suitable for manual use and is intended for professional in-vitro diagnostic use only. All laboratory test results should be interpreted in conjunction with other clinical data. The clinical judgement and further tests have to be taken into account additionally.

Important Note for Use of these Kit Instructions

Any assay relevant changes to the kit instructions for use (IFU) will lead to a change of the version number at the bottom on the last page. All changes made will be identified on a separate sheet added to the IFU for a period of three months from the date of a change of the version. Please ensure that the latest version of the IFU is used for the assay procedure.

Principle of the Test

Diluted specimens, the negative and positive controls or calibrators are applied to the wells of microscope slides and incubated. All wells are coated with purified antigens of the very pathogen. If specific antibodies are present in the serum they will bind to the fixed pathogen antigens forming a stable antigen-antibody complex. Slides are then washed to remove any unbound material. Complexed antibodies are detected by the addition of a fluorescence labelled anti-human IgG immunoglobulin conjugate. After a further washing step to remove any unbound conjugate, slides are viewed under a fluorescence microscope.

A green fluorescence is observed if pathogen specific antibodies are present in the sample material.

Kit Contents

1. **SLIDE** Slides
Ten slides with 10 wells each coated with fixed *Treponema pallidum* cells (Nichols strain).
2. **CONTROL+** Positive control
1 x 1 mL human serum with *Treponema pallidum* specific antibodies (IgG), ready to use, potentially infectious (see Warnings), contains sodium azide and Proclin (< 0.1%)
3. **CONTROLAC** Absorption control (serum)
1 x 1 mL of non-specific control serum, human, ready to use, potentially infectious (see Warnings), contains sodium azide and Proclin (< 0.1%)
4. **CONJG** FITC Conjugate IgG
1 x 3 mL of anti-human immunoglobulin (γ chain, rabbit) conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC), ready to use, contains sodium azide and Proclin (< 0.1%)
5. **BUFFER** PBS
2 sachets with 10 g PBS powder. Dissolve 1 sachet (10 g) in 1 litre distilled or deionised water to make a solution of phosphate buffered saline (PBS) at pH 7.2 \pm 0.2.
6. **MOUNTING MEDIUM** Mounting Medium
1 x 3 mL of a buffered glycerol mounting medium, ready to use, contains sodium Proclin (< 0.1%)
7. **SORBENT** Sorbent/Ultrasoniccate
1 x 4 mL culture extract of *Treponema reiteri*, ultrasoniccate, liquid, ready to use, contains sodium azide (< 0.1%)

Further Abbreviations

1. **RTU** ready to use

Materials Required but not Provided

1. Sterile test tubes.
2. Micropipettes and tips.
3. Staining dish or Coplin jar.
4. Moist chamber.
5. Volumetric flask.
6. Distilled water or deionised.
7. Forceps.
8. Cover slips.
9. Wash bottle.
10. Fluorescence microscope with a filter combination suitable for FITC (e.g. 490 nm excitation filter and a 510nm barrier filter).

Warnings

1. Comply with the general health and safety guidelines for working with potentially infectious materials. Wear appropriate protective clothing and use appropriate lab facilities.
2. Do not cross-contaminate reagents or interchange caps on bottles. Do not use contaminated reagents. Do not use reagents with damaged bottles or packaging. Use a separate pipette or pipette tips for each sample and reagent.
3. The control/calibrator materials of human origin provided have been tested for antibodies to HIV and for HBsAg and found to be negative. However, they should be treated as potentially infectious materials and capable of transmitting diseases. No guarantee is given that the samples are free of infections or microbial contamination.
4. The kit reagents may contain bovine components. To protect against infections with prions or zoonotic pathogens, standard occupational safety regulations (GLP) must be observed.
5. Do not use haemolysed, lipemic or icteric samples (Lit. 9, 10, 11).
6. Sodium azide and proclin are used as a preservative as marked. Both may be toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive salts. Always dispose of both by flushing to drain with plenty of water.

Precautions

1. Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure without prior validation.
2. Do not use reagents beyond the expiry date.
3. Do not mix reagents between different lots, as reagents have been calibrated for each batch.
4. Use disposable plasticware wherever possible. Re-usable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
5. A new pipette tip must be used for each pipetting step.
6. Only use laboratory water of the highest quality (e.g. Aqua dest., Aqua bidest., Aqua iniectionabilia, HPLC grade).
7. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
8. Do not expose slides to intense sunlight or similar adverse conditions while incubating.
9. Do not expose the FITC-conjugate at any stage to strong sunlight, UV or fluorescent light. Keep in a dark place whenever possible.

Disposal

Kit reagents, samples and contaminated disposables should be disposed of in accordance with the relevant disposal guidelines and regulations for infectious materials.

Stability and Storage

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG can be used until the end of expiry date as indicated on kit label. All kits components and reagents should be stored at 2–8 °C and brought to room temperature before use.

After first opening reagents are stable for 90 days. An opened slide shall be used the same day.

Reconstituted PBS powder should be stored at 2–8 °C for up to 30 days.

Samples (serum, plasma) may be stored according to general recommendation in literature. In general samples can be kept at 2–8 °C for up to 3 days prior to use or for longer storage at -20 °C. Repeated freezing and thawing of specimens should be avoided.

Sample Material

- a) Serum / Plasma material is collected by professional personnel according to current standards / best practice guidelines. According to current understanding an infection by contaminated blood cannot be ruled out entirely. Any sample material should therefore be treated as potentially infectious.
- b) Samples should be taken and can be stored at 2–8 °C for up to 3 days according to general recommendation in literature. Serum should be aliquoted immediately after sampling and kept at -20°C for longer storage. The samples should not be frozen and thawed repeatedly.

After thawing samples should be briefly vortexed carefully before being used in the assay.

Lipemic, haemolytic, icteric or bacterially contaminated samples can cause false positive or false negative results (Ref. 9, 10, 11).

Test Procedure

1. Allow all materials to reach room temperature (at least 20 °C) prior to use.
2. Reconstitute one sachet of PBS powder with 1 litre of distilled water or deionised water.
3. The Sorbent is ready to use.
Dilute all serum specimens 1:5 in Sorbent.
Example: 10 µL serum + 40 µL Sorbent
4. Dilute control sera as indicated below:
 - a. Positive control + Sorbent (1:5)
 - b. Positive control + PBS (1:5)
 - c. Absorption control + Sorbent (1:5)
 - d. Absorption control + PBS (1:5)

Optionally other controls can also be diluted with sorbent and PBS. After absorption samples / controls can be further diluted with PBS to determine the antibody content.

5. Incubate all samples at 37 °C for 30 min.
6. Carefully remove the required number of slides from their sachets and mark accordingly. Hold the slide at the edge and do not touch the wells. Place the slides in a moist chamber.

7. Apply 20–25 µL of treated specimens and controls to respective wells on the slides according to a prepared work format. Ensure that all the wells are covered, and that serum does not escape from the wells. Direct contact of a pipette tip with the slide surface may result in damage to the antigen substrate and should be avoided.
8. Cover the moist chamber and incubate at 37 °C for 30 min.
9. After incubation wash slides carefully with PBS from a wash bottle, taking care not to direct the jet onto the test wells. This may be done by directing the jet of PBS along the center of the slide, tilting the slide first towards wells 1–5 and then towards 6–10.
10. Immerse the slides in a staining dish or Coplin jar containing PBS and wash for 15 min with a change of PBS after 5 min to increase washing strength.
11. Remove slides from the staining jar and drain off any excess buffer. Using a blotter, dry the area outside wells. Do not touch the well surface.
12. Immediately transfer the slide to a moist chamber and add 20–25 µL of the respective FITC-conjugate to each well. The conjugate shall cover the whole well. Do not allow the wells to dry.
13. Incubate slides at 37 °C in a covered moist chamber in the dark for 30 min.
14. After incubation wash the slides with PBS as in steps 10 and 11.
15. Apply one small drop of Mounting Medium to each well on a slide. Place a cover slip on the slide and read the results immediately. Take care not to trap air pockets under the cover slip.
Note: Remove excess Mounting Medium with a paper towel avoiding any direct movement of the cover slip.
Excess Mounting Medium on a slide may result in high background fluorescence due to light scattering.
16. Examine reactions under a fluorescence microscope at a total magnification of 400x or at 800x.
17. After examination used slides are to be discarded according to national law.

Interpretation of Results

Controls have to fit the lot specific reactions stated in the QC certificate. The figures in the table below are for orientation only and do not reflect the data of the current lot.

Specimen	Expected Results*
Positive control + Sorbent	1 + to 4 +
Positive control + PBS	1 + to 4 +
Absorption control + Sorbent	negative**
Absorption control + PBS	1 + to 4 +

*see measuring range for examples

** negative: Treponemes can be visible but do not fluoresce.

For a correct interpretation the results should be compared with the controls.

If further dilution on the samples or controls are requested based on the screening titer, this can be achieved by serial dilution with PBS on screening titer.

Interpretation of Specimen Results

Positive Samples: Treponema show a green fluorescence. The fluorescence intensity depends on the concentration of the antibodies.

The intensity can be scored for fluorescence on a scale from 1+ to 4+. For titration a 1+ intensity is counted as minimally reactive.

Borderline Samples: Displaying a faint but nevertheless perceptible fluorescence (+/-) and should be repeated.

Negative Samples: In most cases no treponemes are visible. Treponemes which are stained green but are not fluorescent must be read NEGATIVE.

In some cases an inhomogeneous pattern is observed in the 1:5 screening dilution. Fluorescence is obtained in some treponemes or in parts of them, other treponemes in the same well are just stained without any fluorescence. These wells should be read as negative.

Limitations / Interferences

1. The FTA-ABS IgG test may occasionally give a false positive result under certain patient conditions or diseases e.g. pregnancy, leprosy, and systemic lupus erythematosus (see references 5, 6).
2. Sera with a high anti-Borrelia antibody titer (> 1:640) may show a green fluorescence of Treponema.
3. The FTA-ABS IgG test has been demonstrated to be highly sensitive and specific, however, results should be considered along with all serological tests, clinical history, and other aspects of patient management to be considered diagnostically significant.
4. Pathogenic treponemes include *T. pallidum*, the cause of syphilis, *T. pertenue*, the cause of yaws and *T. carateum*, the cause of pinta. The only treponeme of importance in Europe is *T. pallidum*. In addition, many commensal species of treponemes exist and it is important to differentiate these from *T. pallidum* before a diagnosis of primary syphilis is given.
5. Commensal treponemes can be cultured in artificial media whereas attempts to culture pathogenic treponemes *in vitro* failed.
6. The clinical diagnosis of syphilis is confirmed in the laboratory by either demonstrating the presence of *T. pallidum* in the exudates from the lesions or demonstrating the presence of serum antibodies against the organism. Methods used to measure antibody response to treponemal infection can be divided into two major categories:
 - a) Tests to measure antibodies against non-specific treponemal antigens i.e. cardiolipin or lipoidal antigen tests. These were formerly called 'Reagin' tests.
 - b) Tests to measure antibodies against antigens specific for pathogenic treponemes i.e. *T. pallidum*

particle agglutination assay (TPPA) and the fluorescent treponemal antibody absorbance test (FTA-ABS).

Performance characteristics

Sensitivity and Specificity

The assay was validated on a panel consisting of 366 sera and plasma samples. The panel was derived from positive and negative clinical samples. MASTABLOT™ TP IgG (Mast Diagnostica, REF 663G08) and SERODIA®-TP•PA (Fujirebio Inc., Tokyo, REF 226414) were used as reference assays.

The analytical performance was calculated as follows:

	Formula	Value
Sensitivity	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	99.52 %
Specificity	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94.63 %
Positive predictive value	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	96.30 %
Negative predictive value	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	99.30 %
Efficiency	$\frac{(TP + TN)}{total}$	97.49 %
Positive likelihood ratio	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	18.54
Negative likelihood ratio	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.01

(Abbreviations: TP: True positive, TN: True negative, FN: False negative, FP: False positive)

Trueness

Sensitivity and specificity of MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG is in line with performance data of the reference assays.

Cross-Reactivity

20 *Borrelia* samples were tested for cross-reactivity. Sera with a high anti-*Borrelia* antibody titer sometimes gave false positive results (see Limitations).

Traceability

NIBSC QC 2, Lot: 17/B713 (Plasma TP 377) was used as a reference sample.

Assay Precision

When positive control titration (serial dilution 1:5 to 1:640) was tested 10 times from different lots according to the test procedure, all results were found to be within ±1 level of fluorescence.

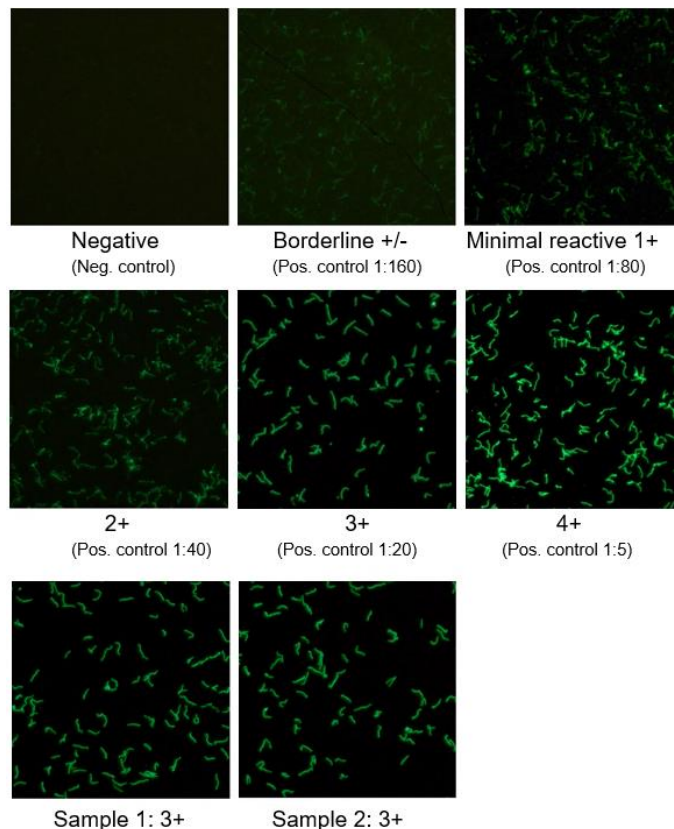
High dose hook effect (= prozone effect)

The MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG assay is an indirect immunofluorescence detection assays using an FITC-coupled antibody (2-step assay). A washing step has been

added in which all unspecific or unbound antibodies are removed. For this reason, the high-dose hook effect is prevented.

Measuring range

When positive control titration (IgG: 1:5-1:640) and sample dilution (1:5) was tested according to the test procedure, following results for measuring range were documented:



Cut-off

The cut-off (1:5 dilution, minimum 1+ fluorescence intensity) was defined on a panel consisting of 366 positive and negative sera and plasma samples corresponding to the mentioned sensitivity and specificity.

Clinical Performance

For the MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG assay, interlaboratory comparisons (INSTAND e.V. Ringversuche, Section 311, *Treponema pallidum*) are performed 1-2 times per year. Data on the proficiency tests are available on request.

The Zeus Scientific FTA assay (REF FA7001) was identified as an equivalence product. The following values of clinical performance were reported for the equivalence product in a comparative study of 303 serum samples (Binnicker et al., 2011):

Clinical sensitivity: 100%

Clinical specificity: 98.6%

k value: 0.98

Availability of the summary of safety and performance (Art. 29, IVDR)

The report will be available in the EUDAMED database (as soon as the module is available).

(<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>).

The SSP report will be provided on request.

Reporting serious incidents

All serious incidents that have occurred in connection with the device must be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and / or patient is established.

References and Change History

You can find the references and the Change History at the end of the instruction for use.

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

Test d'immunofluorescence pour la détection des IgG anti-*Treponema pallidum* dans le sérum et le plasma humain.

Domaine d'utilisation

Test d'immunofluorescence semi-quantitatif (titrable) pour la détection et la confirmation des anticorps IgG dirigés contre *Treponema pallidum* dans le sérum et le plasma humains comme aide au diagnostic de la syphilis.

Le test est adapté à une utilisation manuelle et est destiné à un usage professionnel de diagnostic in vitro uniquement. Tous les résultats des tests de laboratoire doivent être interprétés en conjonction avec d'autres données cliniques. Le jugement clinique et les autres tests doivent également être pris en compte.

Note importante sur la notice d'utilisation

Tout changement pertinent de la notice d'utilisation (NU) du kit implique un changement de numéro de version indiqué en bas sur la dernière page de la NU. Toutes les modifications apportées sont indiquées dans une feuille supplémentaire accompagnant la NU pour une période de trois mois à compter de la date de changement de version. Veillez à ce que la dernière version de la NU soit utilisée avant d'effectuer le test.

Principe du test

Les échantillons dilués, les contrôles négatifs et positifs, ou les calibrateurs sont déposés sur les puits des lames de microscope et incubés. Tous les puits sont recouverts d'antigènes purifiés du pathogène. Si les anticorps spécifiques sont présents dans le sérum, ils se lieront aux antigènes pathogènes fixés formant un complexe antigène-anticorps stable. Le rinçage des lames permet d'éliminer tout matériel non spécifique ou non lié. Après rinçage des lames, les complexes sont mis en évidence par l'ajout du conjugué fluorescent IgG anti-humain. Un autre rinçage permet d'éliminer le conjugué en excès. Après lavage les lames sont observées sous un microscope à fluorescence. Une fluorescence verte est observée si les anticorps spécifiques contre le pathogène sont présents dans l'échantillon.

Contenu du kit

- SLIDE Lames**
10 lames de 10 puits contenant *Treponema pallidum* (souche Nichols).
- CONTROL+ Contrôle positif**
1 x 1 mL de sérum humain avec anticorps spécifiques (IgG) de *Treponema pallidum*, prêt à l'emploi, potentiellement infectieux (voir Précautions d'utilisation)

La solution contient < 0,1 % (m/v) d'azide de sodium et de procline comme conservateurs.

- CONTROLAC Contrôle absorption (serum)**
1 x 1 mL de sérum de contrôle (humain) non spécifique, prêt à l'emploi, potentiellement infectieux (voir Précautions d'utilisation), contient de l'azide de sodium et du Proclin (< 0,1%)
- CONJG Conjugué FITC IgG**
1 x 3 mL d'immunoglobuline anti-humaine (chaîne γ , lapin) conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC), prêt à l'emploi, contient de l'azide de sodium et du Proclin (< 0,1%)
- BUFFER PBS**
2 sachets de 10g de PBS en poudre. Dissoudre 1 sachet (10g) dans 1 litre d'eau déionisée ou distillée pour obtenir une solution de PBS à pH 7,2 \pm 0,2.
- MOUNTING MEDIUM Milieu de montage**
1 x 3 mL de milieu de montage tamponné glycérolé, contient du Proclin (< 0,1%), prêt à l'emploi
- SORBENT Absorbant / Traiter par ultrasons**
1 x 4 mL d'extrait de culture de *Treponema reiteri*, passé aux ultrasons, liquide d'adsorbant, prêt à l'emploi, contient de l'azide de sodium (< 0,1%)

Autres abréviations

- RTU Prêt à l'emploi**

Matériels nécessaires non fournis

- Tubes stériles.
- Micropipettes et embouts.
- Bac à coloration.
- Chambre humide.
- Flacon gradué pour PBS.
- Eau distillée ou ultrapure.
- Pincettes.
- Lamelles.
- Flacon de lavage.
- Microscope à transmission ou à épifluorescence avec combinaison de filtres adaptée à FITC (ex. filtre d'excitation de 490 nm et filtre barrière de 510 nm).

Avertissements

- Respectez les consignes générales de santé et de sécurité pour travailler avec du matériel potentiellement infectieux. Portez des vêtements de protection appropriés et utilisez les installations de laboratoire adéquates.
- Ne pas contaminer les réactifs et ne pas intervertir les bouchons des flacons. Ne pas utiliser de réactifs contaminés. Ne pas utiliser de réactifs dont le flacon ou l'emballage est endommagé. Utiliser une pipette ou

des embouts de pipette distincts pour chaque échantillon et chaque réactif.

3. Les matériaux de contrôle/calibrage d'origine humaine fournis ont été testés pour les anticorps contre le VIH et l'HBsAg et se sont révélés négatifs. Toutefois, ils doivent être traités comme des matériaux potentiellement infectieux et susceptibles de transmettre des maladies. Aucune garantie n'est donnée que les échantillons sont exempts d'infections ou de contamination microbienne.
4. Les réactifs du kit peuvent contenir des composants bovins. Pour se protéger contre les infections par des prions ou des agents pathogènes zoonotiques, il convient d'observer les règles standard de sécurité au travail (BPL).
5. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques (Lit. 9, 10, 11).
6. L'azote de sodium et la procline sont utilisés comme conservateurs comme indiqué. Tous deux peuvent être toxiques en cas d'ingestion. L'azote de sodium peut réagir avec la tuyauterie en plomb et en cuivre pour former des sels hautement explosifs. Toujours éliminer le produit en le rinçant à l'égout avec beaucoup d'eau.

Précautions

1. Lire attentivement les instructions avant d'effectuer le test. Ne pas modifier la procédure sans validation préalable.
2. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.
3. Ne pas mélanger les réactifs entre différents lots, car les réactifs ont été calibrés pour chaque lot.
4. Utiliser autant que possible de la vaisselle en plastique jetable. La verrerie réutilisable doit être lavée soigneusement et rincée sans détergent avant d'être utilisée.
5. Une nouvelle pointe de pipette doit être utilisée pour chaque étape du pipetage.
6. N'utiliser que de l'eau de laboratoire de la plus haute qualité (par exemple Aqua dest., Aqua bidest., Aqua iniectionabilia, qualité HPLC).
7. Ne pas laisser les puits se dessécher pendant les procédures de dosage.
8. Ne pas exposer les lames à la lumière intense du soleil ou à des conditions défavorables similaires pendant l'incubation.
9. Ne pas exposer le conjugué FITC, à quelque stade que ce soit, à la lumière solaire intense, aux UV ou à la lumière fluorescente. Dans la mesure du possible, conserver à l'abri de la lumière.

Élimination

Les réactifs du kit, les échantillons et les produits jetables contaminés doivent être éliminés conformément aux directives et réglementations relatives à l'élimination des matières infectieuses.

Conservation et stabilité

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG se conserve jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.

Tous les composants et réactifs du kit doivent être conservés à 2–8 °C et ramenés à température ambiante avant utilisation.

Après la première ouverture, les réactifs sont stables pendant 90 jours. Une lame ouverte doit être utilisée le jour même.

Le PBS reconstitué se conserve 30 jours à 2–8 °C.

Les échantillons de sérum, plasma ou de LCR sont à stockés selon les recommandations générales publiées. En général, les échantillons peuvent se conserver 3 jours à 2–8 °C ou à -20 °C pour des délais supérieurs. Éviter la congélation et décongélation répétée des échantillons.

Échantillons de matériaux

- a) Le sérum/plasma est collecté par du personnel professionnel conformément aux normes en vigueur/aux lignes directrices sur les meilleures pratiques. Selon les connaissances actuelles, une infection par du sang contaminé ne peut pas être totalement exclue. Tout échantillon doit donc être traité comme potentiellement infectieux.
- b) Les échantillons prélevés peuvent être conservés entre 2 et 8 °C pendant 3 jours maximum, conformément aux recommandations générales de la littérature. Le sérum doit être aliquoté immédiatement après le prélèvement et conservé à -20 °C pour un stockage plus long.

Les échantillons ne doivent pas être congelés et décongelés de façon répétée.

Après décongélation, les échantillons doivent être agités au vortex rapidement et avec soin avant d'effectuer le test.

Les échantillons hyperlipidiques, ictériques, hémolysés ou contaminés peuvent donner des résultats faussement négatifs ou positifs (Lit. 9, 10, 11).

Procédure

1. Amener tous les réactifs à température ambiante avant utilisation (minimum 20 °C)
2. Dissoudre le contenu d'un sachet de PBS dans un litre d'eau distillée ou déionisée.
3. L'absorbant est prêt à l'emploi.
Diluer tous les échantillons de sérum 1:5 dans du sorbant.
Exemple :
10 µL de sérum + 40 µL d'absorbant
4. Diluer les sérums de contrôle comme indiqué ci-dessous :
 - a. contrôle réactif + absorbant (1/5)
 - b. contrôle réactif + PBS (1/5)
 - c. contrôle absorption + absorbant (1/5)
 - d. contrôle absorption + PBS (1/5)

Alternativement, d'autres contrôles peuvent être aussi dilués avec l'absorbant ou le PBS. Après absorption, les échantillons et les contrôles peuvent être dilués dans le PBS pour déterminer leur titre.

5. Incuber les échantillons à 37 °C pendant 30 minutes.
6. Préparer soigneusement le nombre de lames nécessaires et les identifier. Eviter de toucher les puits. Mettre les lames en chambre humide.
7. Déposer 20 à 25 µL d'échantillon traité et de contrôle par puits selon un plan de travail établi. S'assurer que tous les puits sont recouverts et que les sérums ne débordent pas des puits. Eviter le contact direct des embouts de la micropipette avec la surface de la lame afin de ne pas endommager le substrat.
8. Incuber les lames en chambre humide à 37 °C pendant 30 minutes.
9. Après incubation, rincer soigneusement les lames à l'aide d'une pissette contenant une solution de PBS, en prenant soin de ne pas diriger le jet directement sur les puits. Pour cela, diriger le jet de PBS en direction du centre de la lame en allant des puits 1 à 5 puis des puits 6 à 10.
10. Immerger les lames dans un bac à coloration contenant du PBS et tremper pendant 15 min avec un changement de PBS après 5 min. pour accroître l'intensité du lavage.
11. Sortir les lames du bac à coloration et éliminer le PBS en excès des lames. Sécher les lames à l'extérieur des puits à l'aide d'un papier absorbant. Sécher l'excès de PBS sur le dos de la lame. Ne pas toucher la surface des puits.
12. Transférer immédiatement la lame dans une chambre humide. Déposer 20 à 25 µL de conjugué FITC dans chaque puits, le conjugué doit recouvrir la totalité du puits. Ne pas laisser sécher les puits.
13. Incuber les lames à 37 °C dans une chambre humide couverte pendant 30 min à l'obscurité.
14. Après incubation, laver les lames en répétant les étapes 10 et 11.
15. Déposer une petite goutte de milieu de montage dans chaque puits. Recouvrir d'une lamelle et lire les résultats immédiatement. Eviter de piéger des bulles d'air entre la lame et la lamelle.
Éliminer l'excès de milieu de montage avec du papier absorbant en évitant de déplacer la lamelle.
Un excès de milieu de montage sur la lame peut engendrer une fluorescence de fond élevée due à la diffusion de la lumière.
16. Examiner les réactions sous un microscope à fluorescence au grossissement 400X ou 800X.
17. Après examen, les lames utilisées doivent être jetées conformément à la législation nationale.

Interprétation des résultats

Validation du test

Les contrôles doivent donner des résultats conformes aux valeurs du certificat d'analyse. Les données du tableau ci-dessous servent uniquement d'orientation mais ne correspondent pas aux données d'un lot en cours.

Echantillon	Resultat attendu*
Contrôle positif + Absorbant	1 + à 4 +
Contrôle positif + PBS	1 + à 4 +
Contrôle absorption + Absorbant	négatif**
Contrôle absorption + PBS	1 + à 4 +

* voir la gamme de mesure pour des exemples

** négatif : les tréponèmes sont visibles mais non fluorescents.

Pour une interprétation correcte, les résultats doivent être comparés aux contrôles.

Si les échantillons doivent être dilués davantage sur la base du titre de dépistage, d'autres étapes de dilution avec le PBS peuvent être réalisées en série à partir du titre de dépistage initial.

Interprétation des résultats des échantillons

Echantillons positifs : Treponema présente une fluorescence verte. L'intensité de fluorescence dépend de la concentration en anticorps.

L'intensité pour la fluorescence peut être notée sur une échelle de 1+ à 4+. Pour le titrage, une intensité 1+ indique une réactivité minimale.

Echantillons à la limite : Présence d'une fluorescence faible mais néanmoins perceptible (+/-), le test doit être répété.

Echantillons négatifs : Dans la plupart des cas aucun tréponème n'est visible. Les tréponèmes colorés en vert mais qui ne sont pas fluorescents doivent être considérés NEGATIF.

Dans certains cas un motif inhomogène est observé dans la dilution de dépistage au 1:5. La fluorescence est visible dans certains tréponèmes ou certaines parties d'entre eux, d'autres tréponèmes du même puits sont juste colorés sans fluorescence. Ces puits doivent être considérés comme négatifs.

Limites / Interférences

1. Le test FTA-ABS IgG peut occasionnellement donner des résultats faussement positifs chez certains patients dans certaines conditions ou maladies : grossesse, lèpre et lupus érythémateux (voir références 5, 6).
2. Les sérum avec un titre élevé d'anticorps anti-Borrelia (> 1 :640) peuvent montrer une fluorescence verte de Treponema.
3. Le test FTA-ABS IgG est très sensible et spécifique, cependant les résultats sont à considérer en fonction des autres tests sérologiques, du contexte clinique pour avoir une valeur diagnostique significative.
4. Les tréponèmes pathogènes comprennent; *T. pallidum*, l'agent responsable de la syphilis, *T. pertenue*, l'agent responsable du Pian et

T. carateum, agent responsable du Pinta. Il existe plusieurs espèces de tréponèmes c'est pourquoi il est important de les différencier de *T. pallidum* avant de faire le diagnostic de la syphilis.

5. Les tréponèmes commensaux peuvent être cultivés sur milieu artificiel contrairement aux tréponèmes pathogènes où les essais *in vitro* ont toujours échoué.
6. Le diagnostic clinique de la syphilis est confirmé en laboratoire soit par la mise en évidence de *T. pallidum* à partir des écoulements des lésions, soit par la mise en évidence d'anticorps dans le sérum dirigés contre le micro-organisme. Les méthodes utilisées pour doser les anticorps se répartissent en 2 groupes :
 - a) Le dosage des anticorps dirigés contre les antigènes non spécifiques du tréponème, par exemple les tests cardioline ou lipoïde. Ce sont les tests de "réagine".
 - b) Le dosage des anticorps dirigés contre les antigènes spécifiques du tréponème pathogène ; le test d'agglutination (TPPA) et le test de fluorescence absorbée (FTA-ABS).

Caractéristiques de performance

Sensibilité et spécificité

Le test a été validé sur un panel composé de 366 échantillons de sérums et de plasma. Le panel a été obtenu à partir d'échantillons cliniques positifs et négatifs. MASTABLOT™ TP IgG (Mast Diagnostica, REF 663G08) et SERODIA®-TP-PA (Fujirebio Inc., Tokyo, REF 226414) ont été utilisés comme tests de référence.

La performance analytique a été calculée comme suit :

	Formule	Valeur
Sensibilité	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	99,52 %
Spécificité	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94,63 %
Valeur prédictive positive	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	96,30 %
Valeur prédictive négative	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	99,30 %
Efficacité	$\frac{(TP + TN)}{total}$	97,49 %
Rapport de vraisemblance positif	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	18.54
Rapport de vraisemblance négatif	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.01

(Abréviations : TP : Vrai positif, TN : Vrai négatif, FN : Faux négatif, FP : Faux positif)

Conformité du test

La sensibilité et la spécificité de MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG sont conformes aux données de performance des tests de référence.

Réactivité croisée

20 échantillons de *Borrelia* ont été testés pour la réactivité croisée. Les sérums ayant un titre élevé d'anticorps anti-*Borrelia* ont parfois donné des résultats faussement positifs (voir Limites).

Traçabilité

Le NIBSC QC 2, lot : 17/B713 (Plasma TP 377) a été utilisé comme échantillon de référence.

Précision du test

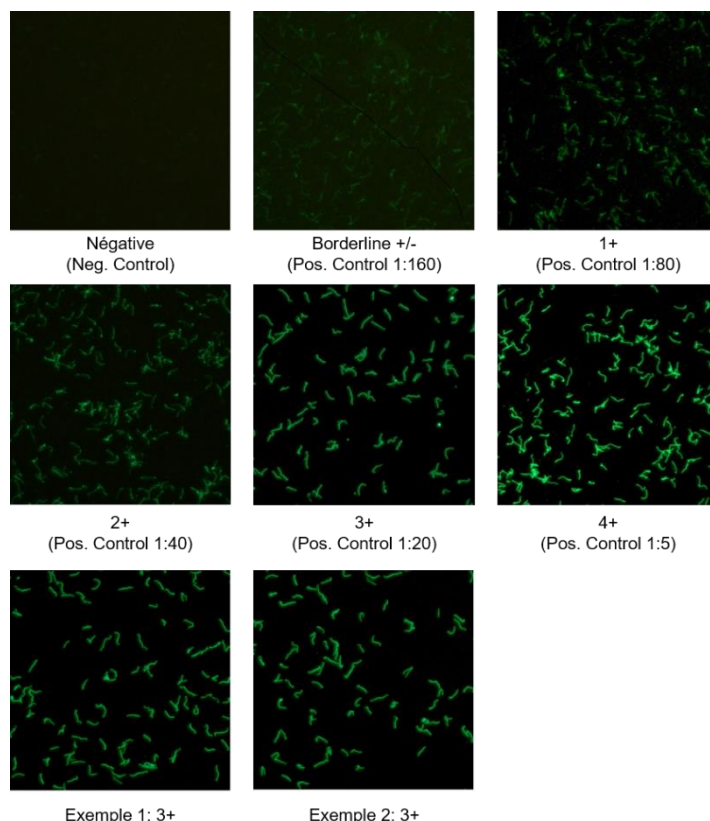
Lorsque le titrage du témoin positif (dilution en série 1:5 à 1:640) a été testé 10 fois à partir de différents lots selon la procédure d'essai, tous les résultats se sont avérés être à ± 1 niveau de fluorescence.

Effet de crochet à forte dose

Le test MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG est un test de détection par immunofluorescence indirecte utilisant un anticorps couplé au FITC (test en 2 étapes). Une étape de lavage a été ajoutée, au cours de laquelle tous les anticorps non spécifiques ou non liés sont éliminés. C'est pourquoi l'effet d'accrochage à forte dose est évité.

Plage de mesure

Lorsque le titrage du témoin positif (IgG : 1:5-1:640) et la dilution de l'échantillon (1:5) ont été testés conformément à la procédure de test, les résultats suivants pour la gamme de mesure ont été documentés :



Cut-off

Le seuil de coupure (dilution 1:5, intensité de fluorescence minimum 1+) a été défini sur un panel composé de 366 échantillons de sérums et de plasma positifs et négatifs correspondant à la sensibilité et à la spécificité mentionnées.

Performance clinique

Pour le test MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG, des essais interlaboratoires (INSTAND e.V. Ringversuche, section 311, Treponema pallidum) sont réalisés 1 à 2 fois par an. Les données relatives aux essais interlaboratoires sont mises à disposition sur demande.

Le test Zeus Scientific FTA (REF FA7001) a été identifié comme un produit d'équivalence. Les valeurs suivantes de performance clinique ont été rapportées pour le produit d'équivalence dans une étude comparative de 303 échantillons de sérum (Binnicker et al., 2011, Référence 8) :

Sensibilité clinique : 100%.

Spécificité clinique : 98,6%.

Valeur k : 0,98

Disponibilité du résumé de la sécurité et des performances (Art. 29, IVDR)

Le rapport sera disponible dans la base de données EUDAMED (dès que le module sera disponible). (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>).

Le rapport SSP sera fourni sur demande.

Signaler les incidents graves

Tout incident grave survenu en rapport avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Références et historique des modifications

Vous trouverez les références et l'historique des modifications à la fin du mode d'emploi.

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

Test di immunofluorescenza per la rilevazione di anticorpi IgG contro *Treponema pallidum* nel siero e nel plasma umani.

Scopo previsto

Test di immunofluorescenza semi-quantitativo (titolabile) per la rilevazione e la conferma di anticorpi IgG diretti contro *Treponema pallidum* nel siero e nel plasma umani come ausilio alla diagnosi di sifilide.

Il test è adatto all'uso manuale ed è destinato esclusivamente all'uso diagnostico professionale in vitro. Tutti i risultati dei test di laboratorio devono essere interpretati insieme ad altri dati clinici. Il giudizio clinico e ulteriori test devono essere presi in considerazione.

Nota importante per l'utilizzo delle istruzioni del kit

Eventuali modifiche alle istruzioni per l'uso del kit (IFU) relative al saggio comporteranno una modifica del numero di versione in fondo all'ultima pagina. Tutte le modifiche apportate saranno identificate su un foglio separato aggiunto all'IFU per un periodo di tre mesi dalla data di modifica della versione. Assicurarsi di utilizzare la versione più recente dell'IFU per la procedura di analisi.

Principio del test

I campioni diluiti, i controlli negativi e positivi o i calibratori vengono applicati ai pozzetti dei vetrini da microscopio e incubati. Tutti i pozzetti sono rivestiti con antigeni purificati dell'agente patogeno stesso. Se nel siero sono presenti anticorpi specifici, questi si legheranno agli antigeni patogeni fissati formando un complesso antigene-anticorpo stabile. I vetrini vengono quindi lavati per rimuovere il materiale non legato. Gli anticorpi complessati vengono rilevati con l'aggiunta di un coniugato di immunoglobuline anti-IgG umane marcato in fluorescenza. Dopo un'ulteriore fase di lavaggio per rimuovere il coniugato non legato, i vetrini vengono osservati al microscopio a fluorescenza.

Si osserva una fluorescenza verde se gli anticorpi specifici del patogeno sono presenti nel materiale del campione.

Contenuto del kit

- SLIDE Vetrini**
Dieci vetrini con 10 pozzetti ciascuno rivestiti con cellule di *Treponema pallidum* fissate (ceppo Nichols).
- CONTROL+ Controllo positivo**
1 x 1 mL di siero umano con anticorpi specifici anti *Treponema pallidum* (IgG), pronto all'uso, potenzialmente infettivo (vedere Avvertenze), contiene sodio azide e Proclin (< 0,1%)
- CONTROLAC Controllo dell'assorbimento (siero)**
1 x 1 mL di siero di controllo non specifico, umano, pronto all'uso, potenzialmente infettivo (vedere Avvertenze), contiene sodio azide e Proclin (< 0,1%)
- CONJG IgG coniugato FITC**
1 x 3 mL di immunoglobulina anti-umana (γ catena, coniglio) coniugata con isotiocianato di fluoresceina (FITC), pronta all'uso, contiene sodio azide e Proclin (< 0,1%)
- BUFFER PBS**
2 bustine con 10 g di polvere di PBS. Sciogliere 1 bustina (10 g) in 1 litro di acqua distillata o deionizzata per ottenere una soluzione di soluzione salina tamponata con fosfato (PBS) a pH $7,2 \pm 0,2$.
- MOUNTING MEDIUM Mezzo di montaggio**
1 x 3 mL di terreno di montaggio in glicerolo tamponato, contenente Proclin (< 0,1%), pronto all'uso
- SORBENT Sorbente / Ultrasonificato**
1 x 4 mL di estratto colturale di *Treponema reiteri*, ultrasonificato, liquido, pronto all'uso, contiene sodio azide (< 0,1%)

Altre abbreviazioni

- RTU** pronto all'uso

Materiale richiesto ma non fornito

- Provette sterili.
- Micropipette e puntali.
- Piastra di colorazione o vaschetta Coplin.
- Camera umida.
- Pallone volumetrico.
- Acqua distillata o deionizzata.
- Pinze.
- Slitte di copertura.
- Bottiglia di lavaggio.
- Microscopio a fluorescenza con una combinazione di filtri adatta al FITC (ad esempio, filtro di eccitazione da 490 nm e filtro di barriera da 510 nm).

Avvertenze

1. Rispettare le linee guida generali in materia di salute e sicurezza per lavorare con materiali potenzialmente infettivi. Indossare indumenti protettivi adeguati e utilizzare le strutture di laboratorio appropriate.
2. Non contaminare i reagenti e non scambiare i tappi dei flaconi. Non utilizzare reagenti contaminati. Non utilizzare reagenti con flaconi o confezioni danneggiati. Utilizzare una pipetta o puntali separati per ogni campione e reagente.
3. I materiali di controllo/calibrazione di origine umana forniti sono stati testati per gli anticorpi dell'HIV e dell'HBsAg e sono risultati negativi. Tuttavia, devono essere trattati come materiali potenzialmente infettivi e in grado di trasmettere malattie. Non si garantisce che i campioni siano privi di infezioni o contaminazioni microbiche.
4. I reagenti del kit possono contenere componenti bovini. Per proteggere dalle infezioni da prioni o da agenti patogeni zoonotici, è necessario osservare le norme standard di sicurezza sul lavoro (GLP).
5. Non utilizzare campioni emolizzati, lipemici o itterici (Lit. 9, 10, 11).
6. La sodio azide e la prociclina sono utilizzate come conservanti, in quanto marcate. Entrambi possono essere tossici se ingeriti. La sodio azide può reagire con le tubature di piombo e rame formando sali altamente esplosivi. Smaltire sempre entrambi con un risciacquo con abbondante acqua.

Precauzioni

1. Leggere attentamente le istruzioni prima di eseguire il test. Non modificare la procedura senza previa convalida.
2. Non utilizzare i reagenti oltre la data di scadenza.
3. Non mescolare i reagenti tra lotti diversi, poiché i reagenti sono stati calibrati per ogni lotto.
4. Usare consumabili in plastica usa e getta ogni volta che è possibile. La vetreria riutilizzabile deve essere lavata accuratamente e risciacquata senza detergenti prima dell'uso.
5. Per ogni fase di pipettaggio è necessario utilizzare un nuovo puntale.
6. Utilizzare solo acqua di laboratorio della massima qualità (ad es. Aqua dest., Aqua bidest., Aqua iniectionis, grado HPLC).
7. Non lasciare che i pozzetti si asciughino durante le procedure di analisi.
8. Non esporre i vetrini alla luce solare intensa o a condizioni avverse simili durante l'incubazione.
9. Non esporre il coniugato FITC in nessuna fase a forte luce solare, UV o fluorescente. Se possibile, conservare in un luogo buio.

Smaltimento

I reagenti del kit, i campioni e i materiali monouso contaminati devono essere smaltiti in conformità alle linee

guida e alle normative sullo smaltimento dei materiali infettivi.

Stabilità e conservazione

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG può essere utilizzato fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta del kit. Tutti i componenti e i reagenti del kit devono essere conservati a 2-8 °C e portati a temperatura ambiente prima dell'uso.

Dopo la prima apertura i reagenti sono stabili per 90 giorni. Un vetrino aperto deve essere utilizzato il giorno stesso.

La polvere di PBS ricostituita deve essere conservata a 2-8 °C per un massimo di 30 giorni.

I campioni (siero, plasma) possono essere conservati secondo le raccomandazioni generali della letteratura. In generale, i campioni possono essere conservati a 2-8 °C per un massimo di 3 giorni prima dell'uso o a -20 °C per una conservazione più lunga. Si deve evitare di congelare e scongelare ripetutamente i campioni.

Materiale campione

a) Il materiale sierico/plasmatico viene raccolto da personale professionale secondo gli standard attuali e le linee guida delle migliori pratiche. Secondo le attuali conoscenze, non è possibile escludere completamente un'infezione da sangue contaminato. Qualsiasi campione di materiale deve quindi essere trattato come potenzialmente infettivo.

b) I campioni devono essere prelevati e conservati a 2-8 °C per un massimo di 3 giorni, secondo le raccomandazioni generali della letteratura. Il siero deve essere aliquotato immediatamente dopo il prelievo e conservato a -20 °C per una conservazione più lunga.

I campioni non devono essere congelati e scongelati ripetutamente.

Dopo lo scongelamento, i campioni devono essere brevemente agitati con cura prima di essere utilizzati nel test.

I campioni lipemici, emolitici, itterici o contaminati da batteri possono causare risultati falsi positivi o falsi negativi (Lit. 9, 10, 11).

Procedura del test

1. Lasciare che tutti i materiali raggiungano la temperatura ambiente (almeno 20 °C) prima dell'uso.
2. Ricostituire una bustina di PBS in polvere con 1 litro di acqua distillata o deionizzata.
3. Il sorbente è pronto all'uso.
Diluire tutti i campioni di siero 1:5 nel Sorbent.
Esempio: 10 µL di siero + 40 µL di sorbente
4. Diluire i sieri di controllo come indicato di seguito:
 - a. Controllo positivo + Sorbente (1:5)
 - b. Controllo positivo + PBS (1:5)
 - c. Controllo dell'assorbimento + Sorbente (1:5)
 - d. Controllo dell'assorbimento + PBS (1:5)

Opzionalmente, anche altri controlli possono essere diluiti con sorbente e PBS. Dopo l'assorbimento, i

campioni/controlli possono essere ulteriormente diluiti con PBS per determinare il contenuto di anticorpi.

5. Incubare tutti i campioni a 37 °C per 30 min.
6. Estrarre con cautela il numero necessario di vetrini dalle bustine e contrassegnarli di conseguenza. Tenere il vetrino sul bordo e non toccare i pozzetti. Posizionare i vetrini in una camera umida.
7. Applicare 20-25 µL di campioni trattati e di controlli nei rispettivi pozzetti dei vetrini secondo un formato di lavoro preparato. Assicurarsi che tutti i pozzetti siano coperti e che il siero non fuoriesca dai pozzetti. Il contatto diretto del puntale della pipetta con la superficie del vetrino può danneggiare il substrato di antigene e deve essere evitato.
8. Coprire la camera umida e incubare a 37 °C per 30 minuti.
9. Dopo l'incubazione, lavare accuratamente i vetrini con PBS da un flacone di lavaggio, facendo attenzione a non dirigere il getto sui pozzetti del test. Questo può essere fatto dirigendo il getto di PBS lungo il centro del vetrino, inclinando il vetrino prima verso i pozzetti 1-5 e poi verso i pozzetti 6-10.
10. Immergere i vetrini in un piatto di colorazione o in un vaschetta Coplin contenente PBS e lavare per 15 minuti cambiando il PBS dopo 5 minuti per aumentare la forza di lavaggio.
11. Rimuovere i vetrini dal vaschetta di colorazione e drenare il tampone in eccesso. Con una carta assorbente, asciugare l'area esterna ai pozzetti. Non toccare la superficie dei pozzetti.
12. Trasferire immediatamente il vetrino in una camera umida e aggiungere 20-25 µL del rispettivo coniugato FITC in ogni pozzetto. Il coniugato deve coprire l'intero pozzetto. Non lasciare che i pozzetti si asciughino.
13. Incubare i vetrini a 37 °C in una camera umida coperta e al buio per 30 minuti.
14. Dopo l'incubazione lavare i vetrini con PBS come ai punti 10 e 11.
15. Applicare una piccola goccia di liquido di montaggio su ciascun pozzetto di un vetrino. Posizionare un vetrino coprioggetto sul vetrino e leggere immediatamente i risultati. Fare attenzione a non intrappolare sacche d'aria sotto il vetrino coprioggetto.
Nota: rimuovere il liquido di montaggio in eccesso con un tovagliolo di carta, evitando di muovere direttamente il vetrino coprioggetto.
L'eccesso di terreno di montaggio su un vetrino può causare un'elevata fluorescenza di fondo dovuta alla dispersione della luce.
16. Esaminare le reazioni al microscopio a fluorescenza con un ingrandimento totale di 400x o 800x.
17. Dopo l'esame, i vetrini usati devono essere scartati secondo le leggi nazionali.

Interpretazione dei risultati

I controlli devono essere conformi alle reazioni specifiche del lotto indicate nel certificato QC. Le cifre riportate nella tabella sottostante sono solo a titolo indicativo e non riflettono i dati del lotto attuale.

Campione	Risultati attesi*
Controllo positivo + Sorbente	da 1 + to 4 +
Controllo positivo + PBS	da 1 + to 4 +
Controllo dell'assorbimento + Sorbente	negativo**
Controllo dell'assorbimento + PBS	da 1 + to 4 +

*Vedere il campo di misura per gli esempi

** negativo: I treponemi possono essere visibili ma non sono fluorescenti.

Per una corretta interpretazione, i risultati devono essere confrontati con i controlli.

Se è richiesta un'ulteriore diluizione dei campioni o dei controlli in base al titolo di screening, questa può essere ottenuta mediante diluizione seriale con PBS sul titolo di screening.

Interpretazione dei risultati dei campioni

Campioni positivi: I treponemi mostrano una fluorescenza verde. L'intensità della fluorescenza dipende dalla concentrazione degli anticorpi.

L'intensità della fluorescenza può essere valutata su una scala da 1+ a 4+. Per la titolazione, un'intensità di 1+ è considerata minimamente reattiva.

Campioni borderline: Mostrano una fluorescenza debole ma comunque percepibile (+/-) e devono essere ripetuti.

Campioni negativi: Nella maggior parte dei casi non sono visibili treponemi. I treponemi colorati di verde ma non fluorescenti devono essere letti come NEGATIVI.

In alcuni casi si osserva un pattern disomogeneo nella diluizione di screening 1:5. La fluorescenza si ottiene in alcuni treponemi o in parti di essi, mentre altri treponemi nello stesso pozzetto sono solo colorati senza alcuna fluorescenza. Questi pozzetti devono essere letti come negativi.

Limitazioni / Interferenze

1. Il test FTA-ABS IgG può occasionalmente dare un risultato falso positivo in alcune condizioni o malattie del paziente, come la gravidanza, la lebbra e il lupus eritematoso sistemico (vedi riferimenti 5, 6).
2. I sieri con un alto titolo di anticorpi anti-Borrelia (> 1:640) possono mostrare una fluorescenza verde del Treponema.
3. Il test FTA-ABS IgG ha dimostrato di essere altamente sensibile e specifico, tuttavia i risultati devono essere considerati insieme a tutti i test sierologici, alla storia clinica e ad altri aspetti della gestione del paziente per essere considerati diagnosticamente significativi.
4. I treponemi patogeni includono il *T. pallidum*, causa della sifilide, il *T. pertenue*, causa dello framboesia e il *T. carateum*, causa della pinta. L'unico treponema importante in Europa è il *T. pallidum*. Inoltre, esistono molte specie commensali di treponemi ed è importante differenziarle da *T. pallidum* prima di formulare una diagnosi di sifilide primaria.

5. I treponemi commensali possono essere coltivati in terreni artificiali, mentre i tentativi di coltivare in vitro i treponemi patogeni sono falliti..
6. La diagnosi clinica di sifilide viene confermata in laboratorio dimostrando la presenza di *T. pallidum* negli essudati delle lesioni o dimostrando la presenza di anticorpi sierici contro l'organismo. I metodi utilizzati per misurare la risposta anticorpale all'infezione treponemica possono essere suddivisi in due categorie principali:
 - a) Test per la misurazione degli anticorpi contro gli antigeni treponemici non specifici, come i test della cardiolipina o dell'antigene lipoideo. In passato questi test erano chiamati "Reagine".
 - b) Test per misurare gli anticorpi contro gli antigeni specifici dei treponemi patogeni, ovvero il test di agglutinazione delle particelle di *T. pallidum* (TPPA) e il test di assorbimento degli anticorpi treponemici fluorescenti (FTA-ABS).

Caratteristiche delle prestazioni

Sensibilità e specificità

Il test è stato validato su un pannello composto da 366 campioni di siero e plasma. Il pannello è stato ricavato da campioni clinici positivi e negativi. Come test di riferimento sono stati utilizzati MASTABLOT™ TP IgG (Mast Diagnostica, REF 663G08) e SERODIA®-TP-PA (Fujirebio Inc., Tokyo, REF 226414).

La performance analitica è stata calcolata come segue:

	Formula	Valore
Sensibilità	$\frac{TP}{(TP + FN)}$	99.52 %
Specificità	$\frac{TN}{(TN + FP)}$	94.63 %
Valore predittivo positivo	$\frac{TP}{(TP + FP)}$	96.30 %
Valore predittivo negativo	$\frac{TN}{(TN + FN)}$	99.30 %
Efficienza	$\frac{(TP + TN)}{total}$	97.49 %
Rapporto di verosimiglianza positivo	$\frac{(Sens)}{(1 - Spec)}$	18.54
Rapporto di verosimiglianza negativo	$\frac{(1 - Sens)}{(Spec)}$	0.01

(Abbreviazioni: TP: Vero positivo, TN: Vero negativo, FN: Falso negativo, FP: Falso positivo)

Conformità del test

La sensibilità e la specificità di MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG sono in linea con le prestazioni dei test di riferimento.

Reattività crociata

20 campioni di *Borrelia* sono stati analizzati per verificare la reattività crociata. I sieri con un alto titolo di anticorpi anti-*Borrelia* hanno talvolta dato risultati falsi positivi (vedi Limitazioni).

Tracciabilità

Come campione di riferimento è stato utilizzato il NIBSC QC 2, lotto 17/B713 (plasma TP 377).

Precisione del test

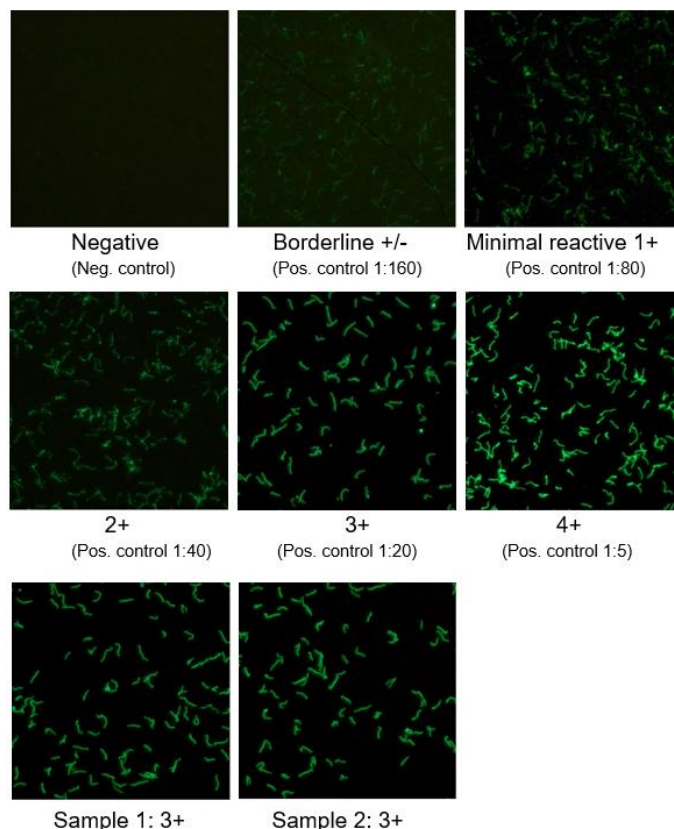
Quando la titolazione del controllo positivo (diluizione seriale da 1:5 a 1:640) è stata testata 10 volte da lotti diversi secondo la procedura di test, tutti i risultati sono risultati entro ± 1 livello di fluorescenza.

Effetto gancio ad alta dose (effetto prozona)

Il test MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG è un test di rilevamento in immunofluorescenza indiretta che utilizza un anticorpo accoppiato a FITC (test in 2 fasi). È stata aggiunta una fase di lavaggio in cui vengono rimossi tutti gli anticorpi non specifici o non legati. Per questo motivo, si evita l'effetto gancio ad alta dose.

Intervallo di misurazione

Quando la titolazione del controllo positivo (IgG: 1:5-1:640) e la diluizione del campione (1:5) sono state testate secondo la procedura di prova, sono stati documentati i seguenti risultati per l'intervallo di misura:



Cut-off

Il cut-off (diluizione 1:5, intensità minima di fluorescenza 1+) è stato definito su un pannello composto da 366 campioni di siero e plasma positivi e negativi, corrispondenti alla sensibilità e alla specificità indicate.

Prestazioni cliniche

Per il test MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG, vengono eseguiti 1-2 volte all'anno confronti interlaboratorio (INSTAND e.V. Ringversuche, Sezione 311, Treponema pallidum). I dati sulle prove di idoneità sono disponibili su richiesta.

Il test Zeus Scientific FTA (REF FA7001) è stato identificato come prodotto equivalente. I seguenti valori di prestazioni cliniche sono stati riportati per il prodotto di equivalenza in uno studio comparativo di 303 campioni di siero (Binnicker et al., 2011):

sensibilità clinica: 100%

specificità clinica: 98,6%

Valore k: 0,98

Disponibilità della sintesi della sicurezza e delle prestazioni (Art. 29, IVDR)

Il rapporto sarà disponibile nel database EUDAMED (non appena il modulo sarà disponibile). (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed/#/screen/home>).

Il rapporto SSP sarà fornito su richiesta.

Segnalazione degli incidenti gravi

Tutti gli incidenti gravi verificatisi in relazione al dispositivo devono essere segnalati al fabbricante e all'autorità competente dello Stato membro in cui è stabilito l'utilizzatore e/o il paziente.

Riferimenti e cronologia delle modifiche

I riferimenti e la cronologia delle modifiche sono riportati alla fine delle istruzioni per l'uso.

Referenzen / References / Références / Riferimenti:

1. Schöfer H, Brockmeyer NH, Hagedorn HJ, Hamouda O, Handrick W, Krause W, Marcus U et al. (2006): Syphilis. Leitlinie der Deutschen STD Gesellschaft zur Diagnostik und Therapie der Syphilis. *J. Dtsch. Dermatol. Ges.* 4 (2): 160-177.
2. Rath PM, Marsch WC, Brade V, Fehrenbach FJ (1994): Serological distinction between syphilis and Lyme borreliosis. *Zentralbl. Bakteriol.* 280 (3).
3. Hans-Jochen Hagedorn, Syphilis; in Lothar Thomas, Labor und Diagnose 8. Auflage (2012), TH-Books; Kapitel 42.14: 2006 - 2017
4. Annual epidemiological report 2014 - Antimicrobial resistance and healthcare-associated infections; Chapter: Syphilis, p. 51-53; <http://ecdc.europa.eu/>
5. Smikle MF, James OB, Prabhakar P (1990): Biological false positive serological tests for syphilis in the Jamaican population. *Sexually Transmitted Infections*, 66, p. 76-78
6. Wright DJM (1973): The significance of the fluorescent treponemal antibody (FTA-ABS) test in collagen disorders and leprosy *Journal of Clinical Pathology*, 26, p. 968-972
7. Syphilis, in Surveillance Report, Sexual Transmitted Infections in Europe, 2013, p. 25-31; www.ecdc.europa.eu
8. Binnicker MJ, Jespersen DJ, Rollins LO (2011): Treponema-Specific Tests for Serodiagnosis of Syphilis: Comparative. Evaluation of Seven Assays. *J. Clin. Microb.*, 49 (4), p. 1313–1317.
9. Thomas, L.: Haemolysis as influence & interference factor (2002) *eJIFCC* 13(4) 95-8.
10. Nikolac, N.: Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management (2014) *Biochem* 24(1): 57-67
11. Mainali, S. et al: Frequency of icteric interference in clinical chemistry laboratory tests and causes of severe icterus (2021) *Pract. Lab. Med.* e00259

Änderungshistorie / Change History / Historique des changements / Revisioni

Change history includes changes to significant aspects of the assay / IFU.

Chapter	Description of change
Warnings and Precautions	Separation into two different sections Inclusion of additional points for assay handling
Disposal	Separation from warnings and precautions

**Mast Diagnostica GmbH,**

Feldstraße 20,
23858 Reinfeld,
Deutschland

Tel: +49 (0)4533 2007 0
Fax: +49 (0)4533 2007 68
email: mast@mast-diagnostica.de
Web: www.mast-group.com

Mast Group Ltd.

Mast House, Derby Road
Bootle, Merseyside, L20 1EA
United Kingdom

Tel: +44 (0)151 472 1444
Fax: +44 (0)151 944 1332
email: sales@mastgrp.com
Web: www.mast-group.com

Mast Diagnostic

12 rue Jean-Jacques Mention
CS91106, 80011 Amiens, CEDEX 1
France

Tél: +33 (3) 22 80 80 67
Fax: +33 (3) 22 80 99 22
email: info@mast-diagnostic.fr
Web: www.mast-group.com

Verwendete Symbole gemäß DIN EN ISO 15223-1

Icons are used according to DIN EN ISO 15223-1

Icônes utilisées selon DIN EN ISO 15223-1