

## **MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG**

MASTAFLUOR™ FTA-ABS IgG

**REF** 630522

10 x 10 Tests

**UDI-DI** 4250729700064

**Gebrauchsanweisung /  
Instructions for Use /  
Notice d'utilisation**

**Nur zur Verwendung durch Fachpersonal /  
For professional use only /  
Exclusivement pour un usage professionnel**

**CE** 2797



Deutsch

Seiten

02–06



English

Pages

07–11



Français

Pages

12–16

**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 Waschschriff entfernt. An die spezifischen Komplexe binden dann in einer Konjugatreaktion FITC-gekoppelte Anti-human-IgG-Antikörper. Anschließend wird nicht gebundenes Konjugat durch einen Waschschriff entfernt. Im Fluoreszenzmikroskop werden die Wells ausgewertet. Liegen Antikörper im Probenmaterial vor, fluoreszieren die immunreaktiven Bereiche des Antigens.

**Packungsinhalt****1. SLIDE Objektträger**

10 Objektträger mit je 10 Auftragsstellen, die mit *Treponema pallidum* Spirochäten (Stamm Nichols) beschichtet wurden.

**2. CONTROL+ Positivkontrolle**

1 x 1 mL Anti-*T. pallidum* IgG-positives Kontrollserum, human, gebrauchsfertig. (potentiell infektiös, siehe Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen)  
Die Lösung enthält < 0,1 % (w/v) Natriumazid als Konservierungsmittel.

**3. CONTROLAC Absorptionskontrolle (Serum)**

1 x 1 mL unspezifisches Kontrollserum (human); gebrauchsfertig. (potentiell infektiös, siehe Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen)  
Die Lösung enthält < 0,1 % (w/v) Natriumazid als Konservierungsmittel.

**4. CONJG FITC-Konjugat IgG**

1 x 3 mL Anti-human-Immunoglobulin (Kaninchen,  $\gamma$ -Kette), mit FITC (Fluorescein Isothiocyanat) konjugiert; gebrauchsfertig. Die Lösung enthält Proclin  
(0,1 % v/v) als Konservierungsmittel.

**5. BUFFER PBS**

2 Sachets mit 10 g PBS. Je 1 Päckchen (10 g) in 1 Liter destilliertem oder deionisiertem Wasser auflösen.

Den pH des Puffers auf pH 7,2  $\pm$  0,2 einstellen.

**6. MOUNTING MEDIUM Eindeckmedium**

1 x 3 mL glycerinegepuffertes Eindeckmedium; gebrauchsfertig. Die Lösung enthält Proclin  
(0,1 % v/v) als Konservierungsmittel.

**7. SORBENT Sorbent/Ultrasonikat**

1 x 4 mL *Treponema reiteri* Ultrasonikat; flüssig, gebrauchsfertig. Die Lösung enthält < 0,1 % (w/v) Natriumazid als Konservierungsmittel.

**8. Gebrauchsanweisung****Weitere verwendete Abkürzungen****1. RTU gebrauchsfertig**

## Zusätzlich benötigte Materialien

1. Sterile Reaktionsgefäße
2. Mikropipetten und dazu passende Spitzen
3. Küvetten
4. Feuchte Kammer
5. Messkolben oder Messbecher
6. Destilliertes oder deionisiertes Wasser
7. Pinzette
8. Deckgläser
9. Spritzflasche (Wasch- bzw. Pufferflasche)
10. Fluoreszenzmikroskop mit einer FITC-geeigneten Filterkombination (z.B 490 nm Anregungsfilter und 510 nm Sperrfilter).

## Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

1. Das Kit dient nur zu *in-vitro*-Diagnostik.
2. Vor der Testdurchführung sorgfältig die Gebrauchsinformation lesen. Die Testdurchführung nicht ohne Validierung modifizieren.
3. Keine Reagenzien nach dem Verfallsdatum verwenden.
4. Die allgemeinen Arbeitsschutzrichtlinien für das Arbeiten mit potentiell infektiösen Materialien einhalten. Es wird empfohlen, entsprechende Schutzkleidung zu tragen. Den Test immer in geeigneten Laborräumen abarbeiten.
5. Nicht mit dem Mund pipettieren.
6. Wenn möglich, sollten Einmalspitzen und Einmalreaktionsgefäße verwendet werden. Es dürfen nur gereinigte Laborgläser verwendet werden, die nach dem Spülen mit demineralisiertem oder destilliertem Wasser frei von Detergenzien sind.
7. Die im Kit enthaltenen Kontrollen/Kalibratoren sind Humanproben. Sie werden auf Antikörper gegen das HI-Virus, HCV und HBsAg getestet wurden und für negativ befundet wurden. Dennoch sollten alle menschlichen Proben als potentiell infektiös angesehen werden. Infektionen durch infektiöses oder mikrobiell kontaminiertes Material können nicht mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden.
8. Keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen mischen, da diese in jeder Charge aufeinander abgestimmt sind.
9. Eine Kontamination der Reagenzien vermeiden; die Flaschen immer wieder mit den richtigen Deckeln verschließen. Zum Pipettieren immer eine neue Pipettenspitze für jeden Arbeitsschritt verwenden.
10. Ein Austrocknen der Wells verhindern.
11. Die Objektträger nicht direktem Sonnenlicht oder anderen vergleichbar extremen Bedingungen aussetzen.
12. Probenmaterialien und Einmalartikel, die mit dem Probenmaterial in Kontakt gekommen sind, entsprechend gängiger Vorschriften zur Entsorgung potentiell infektiösen Materials vernichten. Arbeitsflächen mit einem geeigneten Flächendesinfektions-

mittel gemäß der Anwendungsvorschrift dekontaminieren. Glasgefäße o. ä. können bei 121 °C autoklaviert werden.

13. FITC-Konjugate sollen nicht dem Sonnen-, UV- oder Fluoreszenzlicht ausgesetzt werden. Sofern die Konjugate nicht benötigt werden, diese lichtgeschützt aufbewahren.
14. Proben, die erkenntlich mikrobiologisch kontaminiert sind, nicht verwenden.
15. Keine hämolytischen, lipämischen oder ikterischen Proben verwenden.
16. Natriumazid wird als Konservierungsmittel verwendet und kann bei Aufnahme zu Vergiftung führen. Natriumazid kann mit Metallverbindungen (Kupfer, Blei) explosive Metallazide bilden. Bei der Entsorgung von Azidreagenzien über den Laborabfluss, daher mit viel Wasser nachspülen.
17. Nur Wasser von hoher Qualität verwenden (destilliertes Wasser oder Wasser höherer Qualität).

## 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 potentiell 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.

## Testdurchführung

1. Vor dem Testansatz alle Reagenzien auf Raumtemperatur bringen (mindestens 20 °C).
2. 1 Sachet 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 Positiv- und Negativkontrolle 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 Schwangerenseren, bei Lepra und beim Systemischen Lupus erythematosus 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. pertenue* 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 Exudat 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

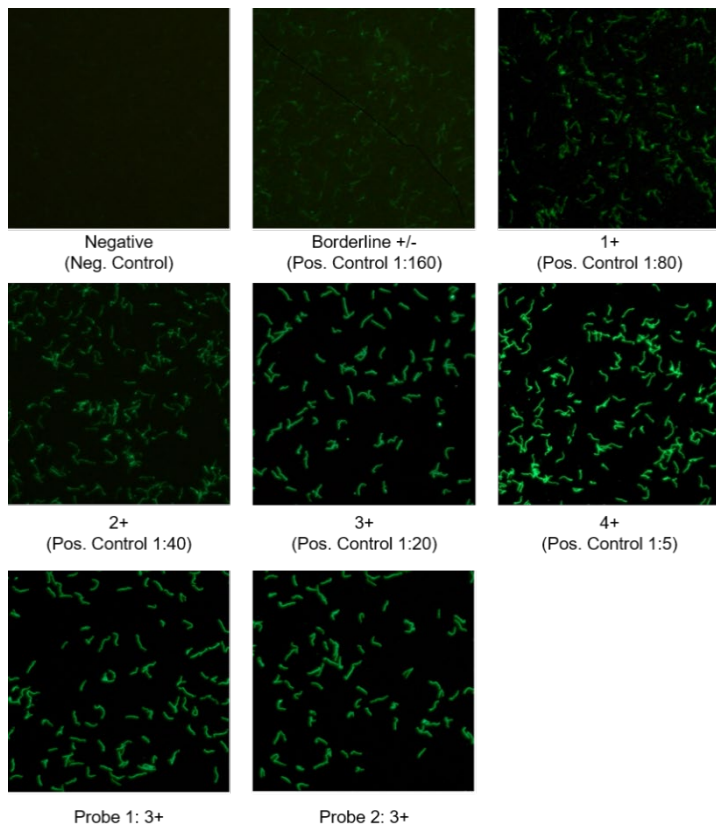
Als die Titration der Positivkontrolle (serielle Verdünnung 1:5 bis 1:640) aus verschiedenen Chargen gemäß dem Testverfahren 10-mal getestet wurde, lagen alle Ergebnisse innerhalb von  $\pm 1$  Fluoreszenzstufe.

### 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:



## 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

## 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.

## 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

- SLIDE Slides**  
Ten slides with 10 wells each coated with fixed *Treponema pallidum* cells (Nichols strain).
- CONTROL+ Positive control**  
1 x 1 mL human serum with *Treponema pallidum* specific antibodies (IgG). Ready to use. (potentially infectious, see Warning and Precautions)  
Contains < 0.1 % (w/v) sodium azide as preservative.
- CONTROLAC Absorption control (serum)**  
1 x 1 mL of non-specific control serum (human). Ready to use. (potentially infectious, see Warning and Precautions)  
Contains < 0.1 % (w/v) sodium azide as preservative.
- CONJG FITC Conjugate IgG**  
1 x 3 mL of anti-human immunoglobulin ( $\gamma$  chain, rabbit) conjugated to fluorescein isothiocyanate (FITC). Ready to use.  
Contains Proclin (0.1 % v/v) as preservative.
- 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.
- MOUNTING MEDIUM Mounting Medium**  
1 x 3 mL of a buffered glycerol mounting medium. Contains Proclin (0.1 % v/v) as preservative. Ready-to-use.
- SORBENT Sorbent/Ultrasonicate**  
1 x 4 mL culture extract of *Treponema reiteri*, ultrasonicate, liquid, ready to use.  
Contains <0.1 % (w/v) sodium azide as preservative.
- Instructions for use**

### Further Abbreviations

- RTU** ready to use

### Materials Required but not Provided

- Sterile test tubes.
- Micropipettes and tips.
- Staining dish or Coplin jar.
- Moist chamber.
- Volumetric flask.
- Distilled water or deionised.
- Forceps.
- Cover slips.
- Wash bottle.
- Fluorescence microscope with a filter combination suitable for FITC (e.g. 490 nm excitation filter and a 510nm barrier filter).

## Warning and Precautions

1. The reagents supplied in this kit are for *in vitro* diagnostic use only.
2. Read instructions carefully before conducting the assay. Do not modify the procedure without prior validation.
3. Do not use reagents beyond the expiry date.
4. Comply with the general health and safety guidelines for working with potentially infectious materials. Wear appropriate protective clothing and use appropriate lab facilities.
5. Do not mouth pipette.
6. Use disposable plasticware where ever possible. Re-usable glassware should be washed thoroughly and rinsed free of detergents before use.
7. 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.
8. Do not mix reagents between different lots, as reagents have been calibrated for each batch.
9. Do not cross-contaminate reagents or interchange caps on bottles. Use a separate pipette or pipette tips for each sample and reagent.
10. Do not allow wells to dry out during the assay procedures.
11. Do not expose slides to intense sunlight or similar adverse conditions while incubating.
12. Samples and contaminated disposables should be disposed according to relevant disposal directives and regulations for infectious materials. For the decontamination of surfaces use suitable surface disinfectants. Contaminated glassware should be autoclaved at 121 °C.
13. Do not expose the FITC-conjugate at any stage to strong sunlight, UV or fluorescent light. Keep in a dark place whenever possible.
14. Microbial contaminated samples should not be used.
15. Do not use haemolysed, lipaemic or icteric samples.
16. Sodium azide is used as a preservative as marked. It may be toxic if ingested. Sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive salts. Always dispose of by flushing to drain with plenty of water.
17. Use distilled or deionised water.

## 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.

Lipaemic, haemolytic, icteric or bacterially contaminated samples can cause false positive or false negative results.

## 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 positive and negative controls.

If further dilution on the samples or controls are requested on the basis of 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

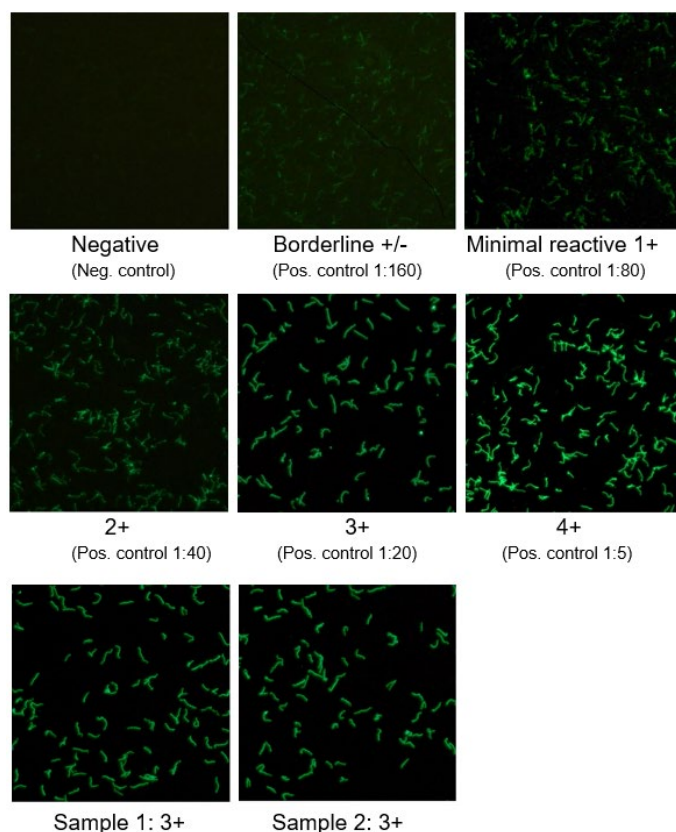
When positive control titration (serial dilution 1:5 to 1:640) was tested 10 times from different lots according to the test procedure, all results were found to be within  $\pm 1$  level of fluorescence.

### 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

1. **SLIDE Lames**  
10 lames de 10 puits contenant *Treponema pallidum* (souche Nichols).
2. **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) Chaque flacon contient moins de 0,1% (p/v) d'azoture de sodium comme conservateur.

3. **CONTROLAC Contrôle absorption (serum)**  
1 x 1 mL de sérum de contrôle (humain) non spécifique. Prêt à l'emploi. Prêt à l'emploi. (potentiellement infectieux, voir Précautions d'utilisation)  
Chaque flacon contient moins de 0,1% (p/v) d'azoture de sodium comme conservateur.
4. **CONJG Conjugué FITC IgG**  
1 x 3 mL d'immunoglobuline anti-humaine (chaîne  $\gamma$ , lapin) conjugué à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC). Prêt à l'emploi.  
Contient du Proclin (0,1% v/v) comme conservateur.
5. **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  $7,2 \pm 0,2$ .
6. **MOUNTING MEDIUM Milieu de montage**  
1 x 3 mL de milieu de montage tamponné glycérolé. Contient du Proclin (0,1% v/v) comme conservateur. Prêt à l'emploi.
7. **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. Chaque flacon contient moins de 0,1% (p/v) d'azoture de sodium comme conservateur.
8. **Notice d'utilisation**

### Autres abréviations

1. **RTU Prêt à l'emploi**

### Matériels nécessaires non fournis

1. Tubes stériles.
2. Micropipettes et embouts.
3. Bac à coloration.
4. Chambre humide.
5. Flacon gradué pour PBS.
6. Eau distillée ou ultrapure.
7. Pincettes.
8. Lamelles.
9. Flacon de lavage.
10. 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).

### Précautions d'utilisation

1. Les réactifs du coffret sont uniquement utilisés pour le diagnostic *in vitro*.
2. Lire soigneusement la notice d'utilisation avant de commencer le test. Ne pas modifier la procédure.
3. Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption indiquée sur le coffret.

4. Respecter les réglementations de santé et de sécurité relatives aux matières potentiellement infectieuses. Porter des vêtements adaptés à ce type de manipulation, utiliser un équipement de protection approprié, et opérer dans un laboratoire approprié.
5. Ne pas pipeter avec la bouche.
6. Utiliser du matériel en plastique jetable dans la mesure du possible. La verrerie doit être lavée soigneusement et rincée sans détergent avant utilisation.
7. Les matériaux de contrôle/calibration d'origine humaine ont été testés et se sont avérés négatifs pour la présence d'anticorps anti-HIV et d'antigène HBs. Cependant, ils doivent être considérés comme potentiellement dangereux et infectieux. Aucune garantie n'est donnée que les échantillons soient exempts de maladie infectieuse ou de contamination microbiologique.
8. Ne pas échanger les réactifs de différents lots car les réactifs sont calibrés pour chaque lot.
9. Eviter toute contamination croisée entre les réactifs et ne pas intervertir les bouchons des flacons. Changer de pipettes ou d'embouts entre chaque échantillon et chaque réactif.
10. Ne pas laisser sécher les puits entre les différentes étapes.
11. Protéger les lames des rayons du soleil ou de la lumière directe pendant l'incubation.
12. Eliminer les échantillons et les produits jetables contaminés conformément aux règlements établis pour l'élimination des matières potentiellement infectieuses. Décontaminer les surfaces de travail avec un désinfectant de surface approprié conformément aux instructions d'utilisation. Les récipients en verre ou similaires peuvent être autoclavés à 121 °C.
13. Protéger le conjugué FITC des UV, de la fluorescence et des rayons du soleil. Conserver le conjugué à l'obscurité.
14. Ne pas utiliser les échantillons contaminés par des micro-organismes.
15. Ne pas utiliser d'échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques.
16. L'azoture de sodium utilisé comme conservateur est un produit toxique en cas d'ingestion. L'azoture de sodium peut réagir avec les conduites en plomb ou en cuivre et former des sels hautement explosifs. Rincer toujours abondamment à l'eau lors d'une élimination dans les canalisations.
17. Utilisez de l'eau distillée ou déionisée.

## 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. Eviter 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 l'essai.

Les échantillons hyperlipidiques, ictériques, hémolysés ou contaminés peuvent donner des résultats faussement négatifs ou positifs.

## 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.

Comparer les résultats aux contrôles positifs et négatifs pour une bonne interprétation.

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 cardiolipine 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

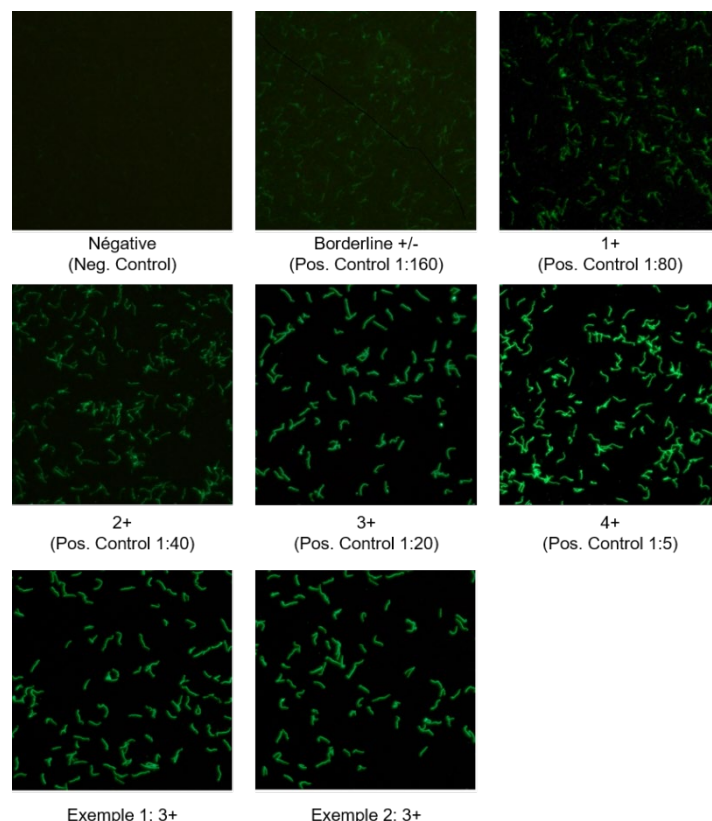
Lorsque le titrage du témoin positif (dilution en série 1:5 à 1:640) a été testé 10 fois à partir de différents lots selon la procédure d'essai, tous les résultats se sont avérés être à  $\pm 1$  niveau de fluorescence.

### 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.

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](http://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.

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

Chapter	Description of change
Cover page	Addition of the number of the Notified Body
Stability and Storage	Change in-use stability from 3 months to 90 days
Limitations / Interferences	Addition of References Smikle et al. (Ref. 5) and Wright et al. (Ref. 6)
Performance Characteristics – Prozonenphänomen (german version)	Addition of the naming High dose hook effect
Performance Characteristics – Clinical performance	Proficiency tests added
Availability of the summary of safety and performance (Art. 29)	Addition of the webpage and sending on request
Change History	Adding a reference to the Change History at the end of the IFU.
References	Addition of new references for cross reactivity (Ref. 5, 6)





**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**