



Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet

Viktiga symboler som används

	Katalognummer		Se bruksanvisningen
	Batch-kod		In vitro-diagnostiskt medicinskt instrument
	Utgångsdatum		Positiv kontroll
	Temperaturgräns		Negativ kontroll
	Fri från latex		Räcker till <n> tester
	Försiktighet		Bör inte utsättas för solljus

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet



ANVÄNDNINGSSOMRÅDE

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet är en kvalitativ ELISA för påvisande av antikroppar mot human T-lymfotropvirus typ I (HTLV-I) och/eller human T-lymfotropvirus typ II (HTLV-II) i humanserum, plasma och kadaverprover. Den är avsedd att användas vid screening av enskilda humana givare, t.ex. frivilliga givare av helblod och blodkomponenter, samt av andra givare för närvaro av anti-HTLV-I/HTLV-II, och som en hjälp vid klinisk diagnos av HTLV-I- eller HTLV-II-infektion och relaterade sjukdomar. Analysen används även vid testning av serum- och plasmaprover för att screena organondonatorer när prover erhålls medan givarens hjärta fortfarande slår och vid testning av prover för att screena kadaverdonatorer (hjärt döda). Den är inte avsedd att användas för prover från navelsträngsblod. Utöver att användas som en manuell analys, kan analysen även användas med ORTHO® Summit-systemet (OSS) för screening av blodgivare.

SAMMANFATTNING OCH FÖRKLARING AV TESTET

HTLV-I, ett humant type C-retrovirus, har etiologiskt förknippats med Adult T-Cell Leukemia (ATL)¹⁻⁴ samt med en demyeliniserande neurologisk sjukdom kallad tropisk spastisk parapares och/eller HTLV-I-associerad Myelopati (TSP/HAM). Antikroppar mot HTLV-I påvisas i hög grad hos personer med dessa sjukdomar. Det är dock allmänt accepterat i studier från virusendemiska områden att virusnegativ ATL och TSP/HAM förekommer. Nyligen har, HTLV-I-infektion visat sig vara förknippat med B- och T-cellig kronisk lymfatisk leukemi (CLL),^{5,6} multipelt myelom,⁷ vissa fall av icke-Hodgkins lymfom (NHL),⁸ polymyosit,⁹ artrit,^{10,11} Kaposi sarkom,¹² uveit,¹³ strongyloidias⁵ och mycosis fungoides.^{14,15} HTLV-I är endemiskt i vissa karibiska länder, södra Japan och möjligen i vissa delar av Afrika.¹⁶⁻²¹ I USA har HTLV-I påvisats hos ATL-patienter, sprutnarkomaner och hos friska personer.

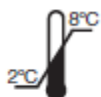
HTLV-II, ett besläktat virus, är endemiskt hos flera indianstammar,²²⁻²⁵ men har inte bevisats vara otvetydigt patogent. En hög grad HTLV-II seropositiva har observerats bland sprutnarkomaner.²⁶⁻²⁸ De första rapporterade patienterna med HTLV-II-infektion uppvisade en ovanlig T-cellsvariant av hårcellsleukemi. Nyligen gjorda observationer har lett till antagandet att HTLV-II kan vara associerat med granulär lymfatisk leukemi (LGL),²⁹ leukopen kronisk T-cellsleukemi,³⁰ T-prolymfocytisk leukemi,³¹ mycosis fungoides¹⁴ och kroniska neurodegenerativa sjukdomar^{32,33} som myelopati³⁴ och spastisk ataxi.³⁵ Antikroppar mot HTLV-II är i stor utsträckning korsreaktiva mot HTLV-I-antigener.

Överföring av HTLV-I- och HTLV-II-infektion till transfusionsmottagare av infekterade cellblodsprodukter finns väl dokumenterat. Bland andra kända överföringssätt kan nämnas bröstmjolk, sexuella kontakter och sprutnarkomaner som delar kontaminerade nålar och sprutor. Perinatal överföring antas föreligga men är tills vidare inte bevisad.

ANALYSPRINCIP

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet är en enzymlänkad immunsorbent analys i vilken den solida fasen (Microwells) är täckt med ett renat HTLV-I viruslysats, ett renat HTLV-II viruslysats och ett rekombinant HTLV-I p21E-antigen.

Med tillsats av ett utspätt prov innehållande antikroppar mot antingen HTLV-I eller HTLV-II, bildas komplex genom interaktion av antikropparna i provet och antigen från den solida fasen. Efter inkubation aspireras provet och brunnen rengörs med buffert. Därefter tillsätts get-antihumana immunglobuliner konjugerade med peroxidas (HRP), som binder antikroppsantigenkomplexet vid en andra inkubation. Efter rengöring och inkubation med TMB (Tetramethylbenzidine)-substrat, bildas en blå färg. Enzymreaktionen stoppas genom tillsats av en sulfursyalösning som ändrar färgen till gul. Mängden HTLV-I/HTLV-II-specifika antikroppar som är närvarande i provet står i proportion till färgintensiteten.



REAGENS

Components in each Avioq HTLV-I/II Microelisa System kit

192 tester	576 tester	9600 tester	
2 hållare för remsor	6 hållare för remsor	100 hållare för remsor	HTLV-I/II Microelisa-remsor – Tolv per hållare, vardera innehållande 8 brunnar täckta med inaktiverat HTLV-I-viruslysats, ett rekombinant HTLV-I-antigen (rp21E) samt inaktiverat HTLV-II-viruslysats; förpackat i en foliepåse med silica gel-torkmedel.
1 rör (50 mg)	2 rör (50 mg vardera)	4 rör (50 mg vardera)	EnzAbody[®] för HTLV-I/II (EnzAbody-koncentrat) – Pepparrotsäeroxidas konjugerat get-antihumant immunglobulin, ~0.06% w/w eller 30µg; lyofiliserat med getserum, sackaros och fettfri torrmjölks.
1 flaska (55 ml)	2 flaskor (55 ml vardera)	28 flaskor (55 ml vardera)	EnzAbody[®] spädningslösning – Fosfatbuffrad saltlösning innehållande 10 % getserum och icke-joniska surfaktanter. Konserveringsmedel: 0.2 % gentamicinsulfat och 0.02 % kanelaldehyd.
1 flaska (100 ml)	2 flaskor (100 ml vardera)	16 flaskor (100 ml vardera)	Provspädning – Fosfatbuffrad saltlösning innehållande 10 % getserum, icke-joniska surfaktanter, natriumklorid, 0.14 % bovint serumalbumin, fettfri torrmjölks och amarantfärgämne. Konserveringsmedel: 0.03 % (w/v) bromnitrodioxan.
1 flaska (22 ml)	2 flaskor (22 ml vardera)	34 flaskor (22 ml vardera)	TMB-lösning – Citronsyra innehållande 0.03 % tetrametylbenzidin•2HCl.
1 flaska (22 ml)	2 flaskor (22 ml vardera)	34 flaskor (22 ml vardera)	Peroxidlösning – Citronsyra/natriumcitratbuffert innehållande 0.04 % ureaperoxid.
1 rör (1.5 ml)	2 rör (1.5 ml vardera)	17 rör (1.5 ml vardera) CONTROL -	Negativt kontrollserum – Humanserum med proteinstabilisatorer; icke-reaktivt genom FDA-licensierade analyser för antikroppar mot HTLV-I, HTLV-II, HIV-1, HIV-2, HCV och icke-reaktivt för HBsAg och HIV-Ag. Konserveringsmedel: 0.05 % (w/v) bromnitrodioxan.

192 tester	576 tester	9600 tester	
1 rör (1.0 ml)	1 rör (1.0 ml)	12 rör (1.0 ml vardera) CONTROL +	HTLV-I-positivt kontrollserum – Inaktiverat humanserum med proteinstabilisatorer och amaranttrött färgämne; reaktivt för antikroppar mot HTLV-I; icke-reaktivt genom FDA-licensierade analyser för antikroppar mot HIV-1, HIV-2, HCV och icke-reaktivt för HBsAg och HIV-Ag. Kan korsreagera med HTLV-II-antigen. Konserveringsmedel: 0.05 % (w/v) bromnitrodioxan.
1 rör (1.0 ml)	1 rör (1.0 ml)	12 rör (1.0 ml vardera) CONTROL +	HTLV-II-positivt kontrollserum – Inaktiverat humanserum med proteinstabilisatorer och patentblått färgämne; reaktivt för antikroppar mot HTLV-II; icke-reaktivt genom FDA-licensierade analyser för antikroppar mot HIV-1, HIV-2, HCV och icke-reaktivt för HBsAg och HIV-Ag. Kan korsreagera med HTLV-I- antigen. Konserveringsmedel: 0.05 % (w/v) bromnitrodioxan.
1 vardera	1 vardera	5 vardera	Stavklämma (eller motsvarande) – Förslutning för folieförpackning.
10 ark	20 ark	30 ark	Platförslutare – självhäftande.

Observera! Tvättbuffertkoncentratet medföljer som ett tillbehör till kitet.

Tvättbuffertkoncentrat, produktnummer 559879, består av 1 flaska (100 ml)

Tvättbuffertkoncentrat, produktnummer 559880, består av 4 flaskor (4X100 ml)

Observera! Den stopplösning som krävs är 2N-sulfursyra och tillhandahålls inte av Avioq. Använd inte någon annan stopplösning för denna analys.



VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

1. **Försiktighet: Hantera allt HTLV-I/II-biologiskt material från Avioq som potentiellt infektiöst.** De antigener som används till att täcka microelisa-brunnarna har inaktiverats för virus genom detergentupplösning och **positiva kontrollsera HTLV-I och HTLV-II** har inaktiverats genom tillsats av detergent. De positiva och negativa kontrollerna härstammar från humanserum eller plasma och har testats för HIV-1-antigen, HBsAg, anti-HIV-1, anti-HIV-2 och anti-HCV, och har befunnits vara icke-reaktivt genom FDA-licensierade analyser. Eftersom ingen testmetod kan garantera att de är helt fria från infektiöst medel, ska allt material av humant ursprung hanteras som potentiellt infektiöst.
 2. Alla testanvändare ska följa regelverket "Occupational Safety and Health Administration" (OSHA) (29 CFR 1910.1030).
 3. Håll analysområdet åtskilt från områden där blod eller blodprodukter för transfusion förvaras.
 4. Pipettera inga material med munnen. Du ska inte röka, äta, eller dricka i områden där prover eller kitreagens hanteras.
 5. Utför inte analysen i närvaro av reaktiva ångor (t.ex. från natriumhypoklorit, syror, alkalis eller aldehyder) eller damm, eftersom enzymaktiviteten för konjugatet kan påverkas.
 6. Använd engångshandskar och hantera allt material som används i analysen (inklusive prover, kontroller, rengöringslösning, microelisa-remsor och hållare för remsor och pipetter) som potentiellt infektiöst. Konsultera omedelbart läkare om dessa material intas eller kommer i kontakt med öppna rivsår, lesioner eller andra hudöppningar, slemhinnorna eller ögonen.
 7. Torka omedelbart upp allt spill som innehåller antigen eller antikropp med hjälp av 1:10-spädning av 5 % natriumhypoklorit (slutkoncentration 0.5 %) eller motsvarande desinfektionsmedel för att sanera. Kasta rengöringsmaterial på ett korrekt sätt.
 8. Kasta allt material som har kommit i kontakt med prover och reagens i enlighet med lokala regler och riktlinjer.³⁷ Fast avfall kan förbrännas eller förvaras i autoklav under en lämplig tidsperiod. På grund av variationer bland autoklaver och avfallskonfigurationer måste varje användare verifiera effektiviteten hos dekontaminationscykeln med hjälp av biologiska indikatorer.³⁸
- Observera! Vätskeavfall som innehåller syra måste neutraliseras före tillsats av desinfektionsmedel och/eller bortskaffande.
9. Vissa komponenter i kitet innehåller små koncentrationer med skadliga kemikalier (tvättbuffertkoncentrat, peroxidlösning, TMB-lösning). Läs i säkerhetsdatabladet (MSDS) om du vill ha mer specifik information. Kontakta Avioq Inc. om du vill få ett säkerhetsdatablad (på engelska).
 10. **2N-sulfursyra** – Sulfursyra är frätande och ska hanteras varsamt för att förhindra att hud och ögon exponeras. Om reagenset kommer i kontakt med hud och ögon ska du tvätta noga med vatten.
 11. Var försiktig vid montering av mikroplattor för partiella plattkörningar (täckta och otäckta remsor blandas). Vissa analysatorer kan inte skilja mellan täckta och otäckta brunnar och kan ge resultat för vilken brunnposition som helst med ett tilldelat ID-nummer eller kontroll.

REAGENSBEREDNING

Bered följande reagens före eller under analysproceduren. Reagens och prover ska vara vid rumstemperatur (15–30 °C) före spädning/beredning och innan analysen påbörjas, och kan förbli vid rumstemperatur under analysen. Du måste bereda tillräckligt med arbetsreagens för att bearbeta det valda antal analyser. Låt reagens återgå till 2–8 °C efter användning.

Beredning av EnzAbody-koncentrat

1. Pipettera 4.0 ml **EnzAbody-spädningslösning** i 1 rör med lyofiliserat **EnzAbody-koncentrat**. Blanda innehållet ordentligt. Undvik omfattande skumbildning. Låt **EnzAbody-koncentrat** rehydrera i minst 30 minuter efter spädning. Hantera inte röret med **EnzAbody-koncentrat** med handskar som har kommit i kontakt med serum eller plasma.
2. Anteckna berednings- och utgångsdatum på röret. Utspätt EnzAbody-koncentrat är hållbart i 5 veckor vid förvaring vid 2–8 °C.

Beredning av EnzAbody-arbetslösning

1. Rena polypropylenkär, helst engångskär, ska användas. **Använd inte polystyrenbehållare**. Läs tillverkarens rekommendationer för användning av behållare om du använder en automatiserad mikroplattsprocessor. Överför lämplig mängd **EnzAbody-spädningslösning** till kärlet och tillsätt tillräcklig mängd med utspätt **EnzAbody-koncentrat** så att det blir en 1:251 **EnzAbody-arbetslösning** (se tabellen nedan). Se till så att det utspädda **EnzAbody-koncentratet** blandas väl före användning. Låt det utspädda **EnzAbody-koncentratet** som inte använts återgå till 2–8 °C. Kombinera inte olika rör med **utspätt EnzAbody-koncentrat**. Mer **EnzAbody-arbetslösning** kan behövas beroende på vilken reagensdispenserare som använts.

BEREDNING AV ENZABODY-ARBETSLÖSNING

Antal Microelisa- remсор	Volym med utspätt EnzAbody- koncentrat	Volym med EnzAbody- spädningslösning
2	10 µl	2.5 ml
3	20 µl	5.0 ml
6	25 µl	6.25 ml
9	30 µl	7.5 ml
12	50 µl	12.5 ml

Antal plattor	Volym med utspätt EnzAbody-koncentrat	Volym med EnzAbody- spädningslösning
1	50 µl	12.5 ml
2	100 µl	25.0 ml
4	200 µl	50.0 ml
6	300 µl	75.0 ml
10	500 µl	125.0 ml

2. När den har beretts är **EnzAbody-arbetslösningen** hållbar i fyra timmar vid rumstemperatur. Anteckna berednings- och utgångstid för **EnzAbody-arbetslösningen**. Kasta all **EnzAbody-arbetslösning** som inte använts när analysen är klar.

Beredning av tvättbuffert

Viktigt! Tvättbuffertkoncentratet har tagits fram specifikt för Avioq HTLV-I/II-analysen. Använd inte någon annan tvättbuffert för denna analys.

1. Kontrollera **tvättbuffertkoncentratet** för att se om det finns kristaller eller precipitat. Om det har bildats kristaller eller precipitat i lösningen löser du upp dem genom att värma lösningen till 37 °C, eller tills kristaller eller precipitat har lösts upp. Blanda **tvättbuffertkoncentratet** före spädning.
2. Späd **tvättbuffertkoncentratet** 1:25 med renat vatten³⁹ i enlighet med tabellen nedan.

Beredning av tvättbuffert

Antal Microelisa-remsor	Volym med tvättbuffertkoncentrat	Volym med renat vatten	Total volym med tvättbuffert
1-6	7 ml	168 ml	175 ml
7-12	14 ml	336 ml	350 ml

Antal plattor	Volym med tvättbuffertkoncentrat	Volym med renat vatten	Total volym med tvättbuffert
1	14 ml	336 ml	350 ml
2	28 ml	672 ml	700 ml
4	56 ml	1344 ml	1400 ml
6	84 ml	2016 ml	2100 ml
10	140 ml	3360 ml	3500 ml

Den totala volymen med **tvättbuffert** omfattar inte ytterligare volym som krävs för en automatiserad tvätt (primning, dödvolum etc.). Läs tillverkarens anvisningar för microelisa-plattans tvättfunktion.

3. **Tvättbufferten** är hållbar i två veckor vid förvaring vid 2–30 °C. Anteckna berednings- och utgångsdatum



Beredning av TMB-substrat

Bered **TMB-substrat** i en ren polypropylenbehållare, helst engångsbehållare. **Använd inte polystyrenbehållare.** Överför tillräcklig mängd **peroxidlösning** till en behållare, tillsätt den mängd som behövs med **TMB-lösning** till **peroxidlösningen** och blanda ordentligt före användning (se tabellen nedan).

Till varje microwell-platta behövs minst 10 ml **TMB-substrat**. Mer **TMB-substrat** kan behövas beroende på vilken reagensdispenserare som använts. Se instrumenttillverkarens anvisningar för ytterligare reagenskrav.

Beredning av TMB-substrat

Antal Microelisa- remsor	Volym med TMB-lösning	Volym med peroxidlösning
2	1 ml	1 ml
3	2 ml	2 ml
6	3 ml	3 ml
9	5 ml	5 ml
12	6 ml	6 ml

Antal plattor	Volym med TMB-lösning	Volym med peroxidlösning
1	6 ml	6 ml
2	12 ml	12 ml
4	24 ml	24 ml
6	36 ml	36 ml
10	60 ml	60 ml

TMB-substratet är hållbart i 6 timmar vid rumstemperatur och ska vara utan färg när den används. Anteckna berednings- och utgångstid. Om det har en synbar blå färg ska du kasta och bereda nytt **TMB-substrat** efter behov.

Observera! **TMB-lösning** och **TMB-substrat** ska skyddas från ljus. Undvik kontakt med metall eller metalljoner, eftersom det kan leda till att oönskad blåfärgning bildas.

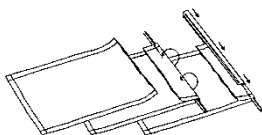
KITFÖRVARINGSINSTRUKTIONER

Förvara alla komponenter vid 2–8 °C när de inte används. Utgångsdatumet som är tryckt på kitet anger senaste förbrukningsdatum för produkten. Hållbarhet för kitreagens efter spädning anges i "REAGENSBEREDNING". Frys ej.

HTLV-I/II MICROELISA-REMSOR

Folieförpackningen ska uppnå rumstemperatur (15–30 °C) före öppnande för att förhindra kondensbildning på **Microelisa-remsorna**. När den lufttåta folieförpackningen har öppnats är **remsorna** hållbara i 4 veckor vid 2–8 °C, om folieförpackningen återförsluts med den medföljande stavklämman eller motsvarande. Anteckna öppnings- och utgångsdatum på folieförpackningen. **Påsen med silica gel får inte tas bort.**

Bild 1: Så här stängs folieförpackningen.



1 2 3

Vik folieförpackningens öppna del över staven.
Sätt fast klämman.

KEMISKA ELLER FYSISKA INDIKATIONER PÅ INSTABILITET

Förändringar i testkitmaterialets utseende kan tyda på instabilitet eller försämring. De utgångsdatum som är tryckta på kitetiketterna anger senaste förbrukningsdatum för produkten.

Om **TMB-substratet** har en synbar blå färg ska du kasta och bereda nytt **TMB-substrat** efter behov.

PROVTAGNING, FÖRVARING OCH BEREDNING

Prover från levande givare

Provtagning: Inga särskilda förberedelser eller att patienten är fastande krävs. Serum eller plasma som erhållits från heparin, citrat, CPD, CPDA-1 eller EDTA (etylendiamintetraacetat) kan användas som antikoagulerande medel. Läs tillverkarens anvisningar om provrör för att få information om det korrekta förhållandet som ska användas för provvolym och antikoagulerande medel. Ta bort koagel eller röda blodkroppar (för att undvika hemolys) från serum eller plasma så snart som möjligt. Prover från serumseparationsrör och segmenterat blod från slangen på blodpåsen kan användas. Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet påverkas inte av förhöjda lipidnivåer (3000 mg/dl), totalt bilirubin (20 mg/dl), reumatoid faktor eller hemoglobin (3051 mg/dl). Prover kan värmeinaktiveras i 30 minuter vid 56 °C utan reaktivitetsförlust. Prestanda har inte fastställts för andra provtyper, t.ex. pleural vätska, saliv, oral vätska, torkat blodfläckseluat och icke-humana prover.

Förvaring: Prover ska vara fria från mikrobiell kontaminering och kan förvaras vid 2–8 °C i upp till 14 dagar. Vid långtidsförvaring ska prover frysas vid –20 °C. Prover som tinats bör blandas. Prover kan frysas och tinas en gång utan att reaktiviteten går förlorad. Prover som fryses och tinas flera gånger och de som innehåller partiklar kan ge felaktiga resultat.

Leveranssätt: Prover som ska transporteras måste förpackas i enlighet med tillämpliga regler och riktlinjer som gäller för transport av etiologiska ämnen. Prover kan transporteras i rumstemperatur, kylda (2–8 °C) eller frysta (–

20 °C eller kallare). När de erhålls ska proverna förvaras vid den temperatur som rekommenderas ovan.

Prover från kadaverdonatorer

Insamling: Kadaverprover kan samlas in från serum, serumseparationsrör eller EDTA-plasma. Klara, icke-hemolyserade prover är att föredra. Utfällningarna i proverna bör avlägsnas genom centrifugering.

Förvaring: Kadaverprover kan förvaras i upp till 14 dagar vid 2–8 °C och vid -20 °C och genomgå fyra cykler av nedfrysning/upptining. Blanda noga efter upptining och före testning.

Leveranssätt: Prover som ska transporteras måste förpackas i enlighet med tillämpliga regler och riktlinjer som gäller för transport av etiologiska ämnen. Proverna kan transporteras vid -20 °C till -30 °C. Mottagna prover förvaras vid rekommenderad lagringstemperatur och får inte förvaras längre än totalt 14 dagar, inklusive leveranstid.

PROCEDUR FÖR AVIOQ HTLV I/II MICROELISA TEST SYSTEM

Medföljer förpackningen

HTLV-I/II Microelisa-remsor
EnzAbody[®] för HTLV-I/II
EnzAbody[®]
spädningslösning
Provspädning
TMB-lösning
Peroxidlösning
Negativt kontrollserum
HTLV-I-positivt
kontrollserum HTLV-II-
positivt kontrollserum
Stavklämma
Platförslutare

NÖDVÄNDIGA MATERIAL SOM EJ MEDFÖLJER

Instrument/utrustning

Observera! Alla instrumenthandböcker som tillhandahålls av tillverkaren bör läsas för att se om det finns ytterligare information om följande områden:

- Installation och särskilda krav.
- Driftsprinciper, instruktioner, försiktighetsåtgärder och risker.
- Tillverkarens specifikationer och prestandainformation.
- Information om service och underhåll.
- Kvalitetskontroll.

Automatiskt spädnings-/dispenseringsystem eller motsvarande

Aspirations-/tvättssystem

Aspirations-/tvättssystemet måste kunna dispensera en minimivolym på 300 µl och utföra en blötlägningscykel på 30 ± 5 sekunder. Aspirerat avfall måste förvaras i ett stängt system.

Justerbart pipetteringsystem med flera kanaler och variabel volym som kan leverera 50–300 µl ± 5 % och spetsar Mikropipett(er) som kan pipettera 20 µl ± 5 %, 100 µl ± 5 % och spetsar

Inkubator: en torr inkubator, värmeblock eller motsvarande, som kan upprätthålla 37 ± 2 °C. Microelisa-plattläsare

Varje microelisa-läsare som kan överföra ljus vid 450 nm ± 5 nm eller dubbel våglängd 450 nm ± 5 nm och 620/630 nm ± 5 nm som referens, med ett linjärt absorptionsintervall på 0 till 2.000, en drift på mindre än 0.005 % AU/hr och en bandbredd vid half height på 10 ± 2 nm kan användas.

Timer

Graderad cylinder, 50 ml och 1–2.5 l eller motsvarande

Reagens/förbrukningsartiklar

Tvättbuffertkoncentrat (produktnummer 559879)

2N svavelsyra

Renat vatten,³⁹ USP, NCCLS typ I⁴¹ eller motsvarande

Remsehållare med otäckta brunnar (produktnummer 259576)

Absorberande paper

V-format engångstråg eller motsvarande

Engångshandskar

Natriumhypokloritlösning (5 %), flytande blekmedel eller motsvarande desinfektionsmedel

Lämplig avfallsbehållare för riskmaterial, potentiellt förorenad med infektiösa ämnen

Polypropylentäckta engångsrör (15 eller 50 ml) eller motsvarande

Material som är tillgängliga från Avioq Inc.

Tvättbuffertkoncentrat 100 ml flaska (produktnummer 559879)

Tvättbuffertkoncentrat 4 X 100 ml-flaskor (produktnummer 559880)

Anmärkning om procedur

1. Om anvisningarna i bipacksedeln inte följs kan det leda till felaktiga resultat eller ogiltiga analyser.
2. **Microelisa-remsor, EnzAbody för HTLV-I/II, EnzAbody-spädningslösning, provspädning, TMB-lösning, peroxidlösning, och kontroller** som används i en analys måste vara från samma masterlotnummer. Tvättbufferten är inte bunden till ett specifikt masterkitlotnummer och kan således användas med vilket masterkitlotnummer som helst. Material ska användas före det utgångsdatum som är angivet på förpackningen. Komponenter och testprover ska uppnå rumstemperatur (15–30 °C) och blandas (på lämpligt sätt) innan analysen påbörjas. Låt reagensen återgå till 2–8 °C efter användning. Frys ej.
3. Microelisa-plattans **remсор** kan tas bort. Förvara oanvända **remсор** enligt beskrivningen i "KITFÖRVARINGSINSTRUKTIONER". Innan analysen påbörjas ska du inspektera hållaren för microelisa-remsor och säkerställa att alla remsor sitter säkert. Remsehållare ska hanteras varsamt för att säkerställa att inga remsor lossnar under analysen. **Microelisa-remsor** kan vara numrerade för att säkerställa att de sätts tillbaka rätt ifall de skulle lossna.
4. **Microelisa-remsor** och **plattförslutare** kan endast användas en gång.
5. För att undvika kontamination ska **remсорnas** ovansida eller kanten på brunnarna inte vidröras med fingrarna eller pipettspetsen.
6. Alla reagens och prover måste blandas väl före användning. De **positiva** och **negativa kontrollerna** kan vortexas före pipettering. De **positiva** och **negativa kontrollerna** ska dispenseras och spädas på samma sätt som prover. En av varje **positiv kontroll** och tre **negativa kontroller** måste köras på varje platta (remsehållare). Om fler än en remsehållare bearbetas måste du säkerställa att alla specificerade inkubationstider uppfylls.
7. Alla pipetteringssteg ska utföras med yttersta noggrannhet. Korskontaminering mellan reagens gör testresultaten ogiltiga. Använd mikropipetter för kvantitativ fördelning av prover och reagens. Vid manuell pipettering av kontroller och prover ska du använda individuella, engångsspetsar för att förhindra carryover från prover. Undvik mikrobiell eller annan kontamination av reagent.
8. Om ett prov oavsiktligt inte tillsätts i analysen, t.ex. om en brunn missas, kan analysresultaten för detta prov felaktigt tolkas som icke-reaktivt.
9. Öppna inte inkubatorns lucka (37 °C) under inkubationstiden.
10. Undvik kemisk kontamination från reagens och utrustning. Rutinunderhåll av aspiration/tvättsystem rekommenderas starkt för att förhindra carryover från antikroppar från mycket reaktiva prover till icke-reaktiva prover.
11. Tvättutrustningen för microplattor ska spolas med stora mängder vatten när den slutliga analysrengöringen är klar. Läs tillverkarens rekommendationer för underhåll av vätskehanteringssystemet för automatiserade processorer för microplattor.
12. Manuell plattrengöring ska valideras före användning. Användning av en automatiserad plattrengörare rekommenderas (läs avsnittet **Nödvändiga material som ej medföljer** för automatiserade tvättkrav). Ofullständig rengöring har en negativ inverkan på utfallet av analysen.

13. Körningen måste fortsätta utan avbrott tills den är avslutad och inom de tidsbegränsningar som är angivna i bipacksedeln.
14. Håll inte tillbaka återstående reagens i originalflaskorna.
15. Vidrör inte bottenyttskiktet i mikrobrunnarna. Fingeravtryck eller rispor kan påverka avläsningen av mikrobrunnarna.
16. Kontrollera att **Microelisa-remsorna** sitter som de ska i Microelisa-remsehållaren under testproceduren. Torka vid behov försiktigt av undersidan på **Microelisa-remsorna** med en mjuk, luddfri, absorberande trasa för att ta bort fukt, damm eller smuts före analysen. Torkad buffert kan vid behov också tas bort från undersidan på **Microelisa-remsorna** genom att torka undersidan på **Microelisa-remsorna** med en mjuk trasa som fuktats med vatten, och därefter med en torr, mjuk, luddfri trasa före avläsningen.
17. Negativa eller positiva kontrollvärden som inte är inom referensintervallet (se avsnittet Kvalitetskontroll) kan indikera ett tekniskt problem eller att produkten inte fungerar som den ska.
18. All pipetteringsutrustning ska användas varsamt, kalibreras regelbundet och underhållas i enlighet med tillverkarens anvisningar.
19. Microelisa-plattläsaren kan innehålla ett 620 nm eller 630 nm referensfilter. Om ett instrument utan ett referensfilter används kan områden i botten på mikrobrunnarna som är ogenomskinliga, rispade eller oregelbundna orsaka felaktiga avläsningar.
20. Bubblor i the **Microelisa-remsornas** brunnar kan orsaka felaktiga avläsningar. Kontrollera noggrant att det inte finns några bubblor
21. Använd endast korrekt kalibrerad utrustning.

Tvättprocedur

1. Ofullständig rengöring har en negativ inverkan på utfallet av analysen. **Tvättbuffert** måste uppnå rumstemperatur (15–30 °C) före användning.
2. Aspirera innehållet i brunnen i en avfallsflaska. Fyll därefter brunnarna (cirka 0.3 ml) med **tvättbuffert** och låt dem blötas upp i 30 ± 5 sekunder, om inget annat angivits. Aspirera och upprepa tvätt- och blötlägningsproceduren ytterligare tre gånger i totalt fyra tvättar.
3. Kontrollera att **Microelisa-remsorna** är helt aspirerade efter den sista aspirationen. Vänd remsehållaren och knacka bestämt mot en ren pappershandduk för att vid behov absorbera överflödigt **tvättbuffert**.

Analysprocedur

1. Förse remsehållaren med det antal **Microelisa-remsor** som krävs. Om färre än tolv **remsor** krävs ska du använda otäckta remsor för att fylla ut plattan vid användning av en 96-brunnstvätt.
2. Bered en 1:5-spädning av varje prov och **kontroll** med hjälp av en av procedurerna som anges nedan. Inkludera tre brunnar av den **negativa kontrollen**, en brunn av den **HTLV-I-positiva kontrollen** och en brunn av den **HTLV-II-positiva kontrollen** på varje platta, oavsett det antal remsor som används. Blanda **kontroller** grundligt (t.ex. vortex) före pipettering eller alikvotering för automatiserad användning.

Försiktighet: Låt inte **Microelisa-remsans** brunnar torka när analysen har börjat.

Direkt provtillsats

Manuell metod: Med hjälp av en kalibrerad pipett tillsätter du 80 µl **provspädningslösning** i varje testbrunn. Tillsätt 20 µl prov eller **kontroll** med en mikropipettspets för engångsbruk. Blanda provet med **spädningslösning** genom att aspirera och dispensera provet upprepade gånger (minst 3–4 gånger) vid varje tillsats.

Automatiserad metod: Den kalibrerade dispenseraren ska programmeras att fördela en 1:5-spädning, vanligen 20 µl prov eller **kontroll** med 80 µl **provspädning** i varje **Microelisa-remsas** brunn. Pipettspetsretention ska beräknas, verifieras och vara inbyggd i programmeringen.

Observera! Prov kan tillsättas till **spädningslösningen** enligt beskrivningen i den manuella metoden.

Indirekt provtillsats

Manuell metod: Pipettera 120 µl **provspädningslösning** i ett rent provrör följt av 30 µl prov eller **kontroll**. Blanda innehållet väl. Spädda prover i täckta rör kan förvaras i upp till 24 timmar vid 2–8 °C men måste ha uppnått rumstemperatur (15–30 °C) vid tiden för analysen. Pipettera 100 µl av det spädda provet i varje brunn på **Microelisa-remsan**.

3. Täck **remsona** med självhäftande plattförslutare eller motsvarande. Om du använder **plattförslutare** ska du säkerställa alla brunnar är täckta. Inkubera inom 30 minuter vid 37 ± 2 °C under 60 ± 5 minuter.
4. Efter inkubation ska du kasta eventuella plattförslutare. Återanvänd ej. Tvätta och blötlägg varje brunn fyra gånger med **tvättbuffert** (läs avsnittet "Tvättprocedur").
5. Pipettera 100 µl **EnzAbody-arbetslösning** till varje brunn. (Läs anvisningarna i avsnittet "REAGENSBEREDNING".)

Försiktighet: Låt inte spädd **EnzAbody-koncentrat** eller **EnzAbody-arbetslösning** kontaminera **TMB-substrat**. Om samma utrustning används till att tillsätta båda reagensen måste nya engångspetsar användas.

6. Täck **remsona** med en ny **plattförslutare** eller motsvarande. Om du använder **plattförslutare** ska du säkerställa alla brunnar är täckta. Inkubera vid 37 ± 2 °C under 60 ± 5 minuter.

Vid användning med ORTHO® Summit System (OSS), ska du inkubera vid 37 ± 2 °C under 30 ± 5 minuter.

7. Efter inkubation ska du kasta eventuella **plattförslutare**. Återanvänd ej. Tvätta och blötlägg varje brunn fyra gånger med **tvättbuffert**. Läs avsnittet "Tvättprocedur".
8. Pipettera 100 µl **TMB-substrat** till varje brunn. Täck inte med en självhäftande plattförslutare. (Läs anvisningarna i avsnittet "REAGENSBEREDNING".)
9. Inkubera vid rumstemperatur (15–30 °C) under 30 ± 5 minuter.
10. Stoppa reaktionen genom att tillsätta 100 µl **2N-svavelsyra** till varje brunn (bibehåll samma sekvens- och tidsintervall som används för tillsats av **TMB-substrat**). **Plattor ska avläsas inom två timmar.**
11. Blanka microelisa-läsaren på luft (utan remsehållare och **remsor**) och avläs absorbansen för lösningen till varje brunn vid $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ (enkel våglängd) eller $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ och $620/630 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ som referens (dubbel våglängd).

Kvalitetskontroll

Villkor för värden för negativ kontroll (NC) Absorbans för NC måste vara större än eller lika med 0.000 och mindre än eller lika med 0.120. Eliminera alla NC-värden utanför detta intervall. Om två eller fler värden är mindre än 0.000 eller större än 0.120 är körningen ogiltig och bör upprepas. Beräkna NC- medelvärde (NCX) för de återstående kontrollvärdena.

Villkor för HTLV-I (PC-I)- och HTLV-II (PC-II)-positiva kontrollvärden: Absorbans för PC-I och PC-II måste vara större än eller lika med 0.500. Om PC-I-värdet och/eller PC-II-värdet är under gränsvärdet är körningen ogiltig och måste upprepas.

Testets validitet: En testkörning är giltig om de positiva och negativa kontrollvärdena är godkända och

$$(PC-I) - NCX \geq 0.380$$

$$(PC-II) - NCX \geq 0.380$$

Om resultatet inte uppfyller dessa kriterier är något fel och körningen är ogiltig och måste upprepas.

RESULTAT

Beräkningar

Beräkningar måste utföras separat för varje remsehållare.

Cutoff-värde: Om testkörningen är ogiltig ska du beräkna cutoff-värdet på följande sätt:

$$\text{Cutoff-värde} = NCX + 0.330$$

Ett testprov är icke-reaktivt om provabsorbansen är större än eller lika med 0.000 och mindre än cutoff- värdet.

Ett testprov är reaktivt om provabsorbansen är större än eller lika med cutoff-värdet.

Provberäkningar

Absorbans (enkel våglängd)

$$NC = 0.065, 0.070, 0.075$$

$$NCX = 0.070$$

$$PC-I = 1.110$$

$$PC-II = 1.050$$

Absorbans (dubbel våglängd)

$$NC = 0.034, 0.030, 0.035$$

$$NCX = 0.033$$

$$PC-I = 1.073$$

$$PC-II = 1.013$$

Acceptanskriterier

Eliminate any Control absorbance values not meeting the following criteria:

$$0.000 \leq NC \leq 0.120$$

Ingen eliminerad

$$PC-I \geq 0.500$$

Ingen eliminerad

$$PC-II \geq 0.500$$

Ingen eliminerad

Se till så att följande är inom specificerade acceptanskriterier.

(Enkel våglängd)

$$(PC-I) - NCX \geq 0.380$$

$$(PC-II) - NCX \geq 0.380$$

$$1.110 - 0.070 = 1.040$$

Godkänt

$$1.050 - 0.070 = 0.980$$

Godkänt

(Dubbel våglängd)

$$1.073 - 0.033 = 1.040$$

Godkänt

$$1.013 - 0.033 = 0.980$$

Godkänt

Test Validity (enkel våglängd)

Godkänt

Test Validity (dubbel våglängd)

Godkänt

Calculate Cutoff Value (enkel våglängd)

$$\text{Cutoff-värde} = NCX + 0.330$$

$$= 0.070 + 0.330$$

$$= 0.400$$

Calculate Cutoff Value (dubbel våglängd)

$$\text{Cutoff- värde} = NCX + 0.330$$

$$= 0.033 + 0.330$$

$$= 0.363$$

TOLKNING AV RESULTAT

1. Prover med absorbansvärden som är lika med eller större än 0.000 och mindre än cutoff-värdet anses vara icke-reaktiva med kriterier från Avioq HTLV-I/II och kan anses vara negativa för antikroppar mot HTLV-I och HTLV-II. Ett negativt testresultat utesluter inte möjligheten för exponering för eller infektion med HTLV-I/II.
2. Provresultat som har absorbansvärden under 0.000 måste analyseras om enskilt för att verifiera det initiala resultatet. Om provet har ett absorbansvärde mindre än cutoff-värdet vid omtestningen, kan provet anses vara negativt för antikroppar mot HTLV-I och HTLV-II med kriterierna för Avioq HTLV-I/II.
3. Prover med absorbansvärden som är lika med eller större än cutoff-värdet anses vara initialt reaktiva med kriterierna för Avioq HTLV-I/II, men innan resultatet tolkas bör provet analyseras om i duplikat med hjälp av Avioq HTLV-I/II-analysen. Om något av duplikattesterna är reaktivt anses provet vara upprepat reaktivt för antikroppar mot HTLV-I och/eller HTLV-II med kriterierna för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet.
4. Initialt reaktiva prover som inte reagerar i något av de båda upprepade duplikattesterna anses vara negativa för antikroppar mot HTLV-I/II.
5. På de flesta platser är det rimligt att undersöka upprepat reaktiva prover med ytterligare och mer specifika analyser (**PROCEDURBEGRÄNSNINGAR**). Prover som befunnits vara upprepat reaktiva med ELISA och positiva med ytterligare och mer specifika analyser anses vara positiva för antikroppar mot HTLV-I och/eller HTLV-II. Tolkning av resultat från prover som befunnits vara upprepat reaktiva med ELISA och negativa eller obestämbara med ytterligare och mer specifika analyser är oklar; vidare klagörande kan erhållas med analys av ett nytt prov som tagits från samma person tre till sex månader senare.

PROCEDURBEGRÄNSNINGAR

”ANALYSPROCEDUR” och ”TOLKNING AV RESULTAT” i Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet måste följas noggrant vid analys av närvaro av antikroppar till HTLV-I och/eller HTLV-II i plasma eller serum från olika individer. Analysen har utformats och validerats för användning med humanserum eller plasma från individuella patienter och givare och från serum eller plasmaprover som samlats in från avlidna donatorer. Prestandaegenskaper har inte fastställts för andra provtyper (dvs. pleural vätska, saliv, oral vätska, torkat blodfläckseluat, icke-humana prover etc.), poolat blod eller processad plasma samt produkter som tagits fram från sådana pooler.

Om man frångår anvisningarna i ”ANALYSPROCEDUR” kan det leda till en falskt negativ analys.

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet påvisar antikroppar mot HTLV-I och/eller HTLV-II i blod och är således användbar vid screening av donerat blod för att förhindra överföring av HTLV-I och/eller HTLV-II till mottagare av blodkomponenter, och som en hjälp vid klinisk diagnos av HTLV-I- eller HTLV-II-infektion och relaterade sjukdomar. Det är ett känt faktum att HTLV-I-infektion som förvärvats genom transfusion av infekterade blodprodukter kan leda till sjukdom hos mottagaren.³⁶

Riktlinjer⁴⁰ som publicerats av U.S. Public Health Service rekommenderar att upprepat reaktiva prover undersöks genom ytterligare och mer specifika analyser, t.ex. Western Blot (WB) och radioimmunoprecipitationsanalys (RIPA). Dessa analyser ska användas utöver typspecifika peptider eller prover för separat påvisning av HTLV-I och HTLV-II. Tolkning av sådana tester ska följa dessa publicerade riktlinjer.

En person vars serum eller plasma visar sig reagera i både ELISA och en annan mer specifik analys förmodas vara infekterad med HTLV-I- eller HTLV-II virus. Medicinska konsekvenser vid HTLV-II- seropositivitet är inte kända. Lämplig rådgivning och medicinsk utvärdering ska erbjudas, i enlighet med publicerade riktlinjer från Socialstyrelsen.⁴⁰ Sådan utvärdering ska anses vara en viktig del av HTLV-I/II antikroppsanalys och bör inkludera bekräftelse av testresultatet med ett nytt prov.

ATL och TSP/HAM är kliniska syndrom och deras diagnos kan endast fastställas kliniskt. Analys enbart med Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet kan inte användas vid diagnos av dessa tillstånd, även om den rekommenderade undersökningen av reaktiva prover bekräftar närvaron av HTLV-I-antikroppar. Ett negativt testresultat vid någon punkt i den serologiska undersökningen utesluter inte risken att utsättas för eller vara drabbad av infektion med HTLV-I eller HTLV-II. Upprepning av analysen med Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet ska övervägas där det finns misstanke om HTLV-I- eller HTLV-II-infektion. Negativa resultat i analysen för personer som tidigare utsatts för HTLV-I och/eller HTLV-II kan bero på antikroppsnivåer under detektionsgränsen för analysen eller brist på antikroppsreaktivitet mot de HTLV- antigener som används vid denna analys.

Falskt positiva resultat kan förväntas med ett testkit av detta slag. Andelen av falskt positiva resultat beror på förekomsten av HTLV-I- och/eller HTLV-II-antikroppar i den population som screenats samt sensitiviteten och specificiteten för det av tillverkarens testkit som används.

FÖRVÄNTADE RESULTAT

Procentandelen prover som bestämts vara upprepat reaktiva hos en normal grupp med givare skiljer sig åt beroende på förekomsten av HTLV-I- eller HTLV-II- antikroppar i det geografiska området. Områden med hög förekomst av HTLV-I innefattar: delar av Afrika, Mikronesien, Japan, Hawaii och Karibien. Områden med hög förekomst av HTLV-II innefattar: grupper med sprutnarkomaner (IVDA) och olika indianstammar i Nord- och Sydamerika. Erfarenhet med blodgivare som screenats i USA visas i avsnittet Specificitet. Erfarenhet vid testing av populationer med HTLV-I-sjukdom eller hög risk för HTLV-I eller HTLV-II sammanfattas i avsnitten Sensitivitet och Endemiska populationer.

PRESTANDAEGENSKAPER FÖR ANALYSEN

Reproducerbarhet

Replikat av HTLV-I- och HTLV-II-antikropp, positiva prover med olika grader av reaktivitet, negativa prover, och kitkontroller analyserades på flera platser (n=3), med hjälp av flera kitloter (n=3) och flera tekniker (n=2) under flera dagar (n=4). Totalt, precision för mellanserie och inomserie visas i tabell 1 nedan.

Tabell 1: Analysreproducerbarhet

ID	N	Medelvärde	Totalt		Mellanserie		Inomserie	
			SD	CV	SD	CV	SD	CV
HTLV-I S1	288	2.93	0.346	11.8	0.328	11.2	0.115	3.9
HTLV-I S2	288	1.95	0.246	12.6	0.231	11.8	0.090	4.6
HTLV-I S3	288	1.55	0.228	14.7	0.214	13.8	0.080	5.2
HTLV-I S4	288	1.62	0.206	12.7	0.196	12.1	0.067	4.1
HTLV-I S5	288	0.19	0.024	12.6	0.018	9.5	0.016	8.4
HTLV-II S1	288	3.13	0.348	11.1	0.331	10.6	0.113	3.6
HTLV-II S2	288	2.13	0.270	12.7	0.241	11.3	0.123	5.8
HTLV-II S3	288	2.16	0.248	11.5	0.234	10.8	0.084	3.9
HTLV-II S4	288	1.41	0.201	14.3	0.184	13.0	0.082	5.8
HTLV-II S5	288	0.18	0.029	15.9	0.020	11.1	0.021	11.7
NC	216	0.18	0.027	15.0	0.021	11.7	0.018	10.0
PC HTLV-I	72	2.69	0.338	12.6				

ID	Identifiering för panelmedlem
N	Antal replikat
MEDELVÄRDE	Medelvärdessignal till cutoff-förhållande (SCR)
SD	Standardavvikelse för SCR
CV	Variationskoefficient för SCR

Specificitet

Specificiteten för analysen bedömdes genom analys av 11415 normala humanserum- och plasmaprover som samlats upp på flera platser. En uppdelning av data, efter plats och provtyp, sammanfattas i tabell 2 nedan. Baserat på en förmodad nollförekomst av HTLV-I- och HTLV-II-antikroppar hos normala humana givare var den totala förväntade specificiteten för analysen 99.95 % (95 % konfidensintervall på 99.89 % till 99.98 %). 95-procentiga konfidensintervall är också inkluderade för varje population för upprepat reaktiv grad och förväntad specificitet för varje plats och provtyp.

Tabell 2: Förväntad specificitet i helblod och plasma hos slumpvisa givar- och ursprungliga plasmapopulationer

	Antal analyserade	Initialt icke-reaktiva	Initialt reaktiva	Upprepat reaktiva	Upprepat reaktiva (%)	Upprepat reaktiva 95 % konfidensintervall** (%)		Kompletterande analys positiv***	*Förväntad specificitet (%)	Specificitet 95 % konfidensintervall* (%)	
Serum plats 1	1315	1314	1	1	0.08	0.004	0.334	0	99.92	99.58	99.99
Serum plats 2	3754	3753	1	1	0.03	0.002	0.117	0	99.97	99.85	99.99
Plasma plats 1	1255	1255	0	0	0.00	0.000	0.153	0	100.00	99.71	100.00
Plasma plats 2	3812	3809	3	3	0.08	0.020	0.204	0	99.92	99.77	99.98
Ursprunglig plasmaplats	1279	1276	3	1	0.08	0.004	0.344	0	99.92	99.57	99.99

* = $(\text{Antal screenade} - \text{antal upprepat reaktiva}) \times 100$

(Antal screenade – antal bekräftat positiva)

** = Konfidensintervall för specificitet beräknades med hjälp av nämnda metod.

*** = Ett positivt resultat i dessa studier definierades genom närvaro av antikroppar mot två genprodukter (gag; p19 och/eller p24 och env; gp46 och/eller 61/68) med hjälp av Western Blot och/eller RIPA.

Ytterligare tester och differentiering mellan HTLV-I- och HTLV-II-typ utfördes med hjälp av följande forskningsanalyser: reaktivitet mot rekombinant eller ursprunglig gp46-I- eller gp46-II- peptider på en Western Blot, HTLV-I- och HTLV-II-peptid EIA, HTLV-I- och HTLV-II-IFA, och/eller PCR (med hjälp av specifik primer för *tax* och *pol*-regioner).

Reaktivitet med potentiellt interferande medicinska tillstånd

Prover från personer med medicinska tillstånd som kan orsaka icke-specifik analysreaktivitet testades med analysen. Prover som testades visas i tabell 3 nedan. Alla prover var icke-reaktiva.

Tabell 3: Reaktivitet i prover från personer med medicinska tillstånd som inte förknippas med HTLV-I- eller HTLV-II-infektion

Provkategori	Antal analyserade prover	Antal prover som var initialt reaktiva
Cytomegalovirusantikroppar	10	0
Epstein-Barr-virusantikroppar	10	0
Herpes simplexvirusantikroppar	10	0
HIV-1-antikroppar	10	0
HIV-2-antikroppar	10	0
Hepatit B-virusytantigen	10	0
Syfilis-antikroppar	10	0
Antinukleära antikroppar	10	0
Flera transfusioner	10	0
Kvinnor som fött flera barn	10	0
Reumatoid faktor	10	0
HCV-antikroppar	10	0
Hypergammaglobulinemi IgG	10	0
Hypergammaglobulinemi IgM	10	0
Toxoplasmosantikroppar	10	0
Mottagare av influensavaccin	36	0

Reaktivitet i prover med potentiellt interferande substanser

Prover som var lipemiska (n=10), hemolyserade (n=10) eller innehöll förhöjt bilirubin (n=10) testades för icke-specifik reaktivitet i analysen. Alla prover var icke-reaktiva. Därutöver, eftersom analysen innehåller ett rekombinant protein som producerats i *E. coli*, testades en serie om tjugotvå (22) prover som tidigare bestämts vara positiva för närvaro av antikroppar mot *E. coli* för att bedöma risken för korsreaktivitet i testsystemet. Alla prover var icke-reaktiva.

Sensitivitet

Sensitiviteten för analysen bedömdes genom utvärdering av prover som befunnits vara seropositiva genom kompletterande analyser (Western blot, RIPA, IFA och, i vissa fall, PCR). Dessa prover kom från populationer med HTLV-associerade sjukdomar, populationer med sprutnarkomaner (IVDA) och HTLV-infekterade blodgivare. En lista över resultaten anges i tabell 4 nedan. Analysen var reaktiv med alla de 636 prover som var positiva bland de kompletterande analyserna. Analysen har en uppskattad sensitivitet på 100 % (intervall på 99.97 % till 100 %) för 636 prover som var positiva bland kompletterande analyser genom binomial distribution vid 95 % konfidens.

Tabell 4: Reaktivitet med kompletterande analys HTLV-I, HTLV-II och HTLV-I/II antikroppspositiva prover

Grupp	Resultat för kompletterande analys ^a	Antal analyserade	Antal upprepat reaktiva med Licensed HTLV-I Tests	Antal upprepat reaktiva med Avioq HTLV-I/II
Adult T-cellsleukemi	HTLV-I	47	47	47
Tropisk spastisk parapares	HTLV-I	43	43	43
Nasofaryngeal lymfom	HTLV-I	1	1	1
Sprutnarkomaner	HTLV-I HTLV-II	5 95	5 94 ^c	5 95
Inlagda patienter ^b	HTLV-I HTLV-II	107 38	107 38	107 38
Blodgivare	HTLV-I HTLV-II HTLV-I/II	146 138 16	146 138 16	146 138 16
TOTALT		636	635	636

^a Ett positivt resultat i dessa studier definierades genom närvaro av antikroppar mot två genprodukter (gag; p19 och/eller p24 och env; gp46 och/eller 61/68) med hjälp av Western Blot och/eller RIPA.

Ytterligare tester och differentiering mellan HTLV-I- och HTLV-II-typ utfördes med hjälp av följande forskningsanalyser: reaktivitet mot rekombinant eller ursprunglig gp46-I- eller gp46-II-peptider på en Western Blot, HTLV-I- och HTLV-II-peptid EIA, HTLV-I- och HTLV-II-IFA, och/eller PCR (med hjälp av specifik primer för *tax* och *pol*-regioner).

^b Asymptomatiskt och vissa symptom indikativt för HTLV-sjukdom.

^c Den licensierade HTLV-I-analysen missade en IVDA (signal/cutoff-värden 0.8, 0.9, 0.9) som var obestämbara med Western Blot (endast p21) och typbestämda som HTLV-II med PCR.

Populationer i HTLV-I- och HTLV-II-endemiska områden

Prestanda för denna analys utvärderades med prover från en population i ett HTLV-I-endemiskt område och från två populationer i HTLV-II-endemiska områden. För populationen från det HTLV-I-endemiska området utvärderades 532 prover från en population från Stilla havsöar med hög förekomst. 20 av dessa prover befanns ha positiva antikroppar för HTLV-I vid kompletterande analyser (Western blot, IFA eller RIPA). Alla dessa 20 positiva antikroppar för HTLV-I var upprepat reaktiva i analysen och i en licensierad HTLV-I-analys. Ytterligare 3 prover som var upprepat reaktiva i det licensierade HTLV-I-testet var icke-reaktiva i denna analys; inget av dessa 3 prover befanns ha positiva antikroppar för HTLV-I i den kompletterande analys som användes. Resultat för denna studie sammanfattas i tabellen nedan.

I studierna med de HTLV-II-endemiska områdena erhöles totalt 525 prover från en indianpopulation i New Mexico, USA (361) och från en Amazonasstam, kayapo, i Brasilien (164). Från båda populationerna, befanns 60 prover vara HTLV-II-positiva genom kompletterande analyser (Western blot, IFA, RIPA eller, i vissa fall, PCR). Av dessa prover var 58 upprepat reaktiva med denna analys. De två prover som rapporteras vara icke-reaktiva med denna analys kom från kayapopopulationen. Alla HTLV-II-prover som var positiva kompletterande analyser från den nordamerikanska populationen var upprepat reaktiva i analysen. Ett prov från den nordamerikanska populationen var upprepat reaktivt i analysen, men hade inte positiva antikroppar för HTLV-II i den kompletterande analysen (Western blot). Resultat för denna studie sammanfattas i tabell 5 nedan.

Tabell 5: Reaktivitet med prover från populationer i HTLV-I- och HTLV-II-endemiska områden

Endemiskt område	Antal analyserade	Antal positiva vid kompletterande analyser ^a	Antal upprepat reaktiva	Antal (i procent) positiva vid kompletterande analyser som var upprepat reaktiva enligt EIA
Stilla havsöar (HTLV-I)	532	20 ^b	20	20 (100%)
New Mexico (HTLV-II)	361	7 ^c	8	7 (100%)
Brasilien (HTLV-II)	164	53 ^c	51 ^d	51 (96.2%)

^a Ett positivt resultat i dessa studier definierades genom närvaro av antikroppar mot två genprodukter (gag; p19 och/eller p24 och env; gp46 och/eller 61/68) med hjälp av Western Blot och/eller RIPA.

Ytterligare tester och differentiering mellan HTLV-I- och HTLV-II-typ bestämdes med hjälp av följande analyser: reaktivitet mot rekombinant eller ursprunglig gp46-I- eller gp46-II-peptider på en Western Blot, HTLV-I- och HTLV-II-peptid EIA, HTLV-I- och HTLV-II-IFA, och/eller PCR (med hjälp av specifik primer för tax och pol-regioner).

^b Antalet positiva prover vid kompletterande analyser baserades på resultat från HTLV-I/HTLV-II-forskningsanalyser med Western blot, IFA och RIPA för de prover som var upprepat reaktiva eller initialt reaktiva inom en 20-procentig negativ gränzon med ELISA.

^c Antalet positiva prover vid kompletterande analyser baserades på resultat från HTLV-I/HTLV-II-forskningsanalyser med Western blot, IFA och RIPA för samtliga prover (361 från New Mexico och 164 från Brasilien).

^d De två proverna var obestämbara med Western Blot, positiva för HTLV-antikroppar med RIPA, positiva för HTLV-II-antikroppar med IFA och positiva för HTLV-dna med PCR.

PRESTANDAEGENSKAPER FÖR ANALYS SOM TILLVERKAS PÅ NY PLATS

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet är identiskt med Vironostika® HTLV-I/II Microelisa-systemet som tidigare tillverkades av bioMérieux, Inc., men med ny plats för tillverkning. Studier genomfördes för att utvärdera prestandan hos Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet som tillverkats på nya platsen visade att analysen som tillverkats på nya platsen har reproducerbarhet, specificitet och sensitivitet som är jämförbar med de testkit som tillverkades på den ursprungliga platsen.

Reproducerbarhet

För att demonstrera reproducerbarheten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet som tillverkats på den nya platsen testades en panel bestående av positiva prover med HTLV-I- och HTLV-II-antikroppar med olika grader av reaktivitet (fyra HTLV-I och fyra HTLV-II) och två negativa prover med var och en av de tre kitloterna under en fyradagarsperiod med hjälp av två analytiker som använde sig av den manuella testmetoden. Varje prov testades fyrdubbelt under var och en av de fyra dagarna. Det totala CV-intervallet för de positiva proverna med hjälp av de tre utvärderingsloterna var 8.9–19.7 % (n = 96) jämfört med det totala CV-intervallet för de positiva proverna på 11.1–15.9 % för analysen som tillverkats på den ursprungliga platsen (n = 288, 3 platser, 3 loter, 2 användare, 4 dagar och där testning utfördes fyrdubbelt).

Tabell 6: Sammanfattning för reproducerbarhetsstudie för Avioq HTLV-I/II Microelisa- systemet (manuell metod)

Panel ID	Status	N	Medelvärde S/C	Totalt				Mellanserie		Inomserie	
				SD	%CV	S/C nedre 95% CI	S/C övre 95% CI	SD	%CV	SD	%CV
HTLV-I S1	Pos	96	3.10	0.276	8.9	3.04	3.15	0.244	7.9	0.136	4.4
HTLV-I S2	Pos	96	2.92	0.300	10.3	2.85	2.98	0.246	8.4	0.176	6.0
HTLV-I S3	Pos	96	2.50	0.312	12.5	2.44	2.56	0.259	10.4	0.180	7.2
HTLV-I S4	Pos	96	2.18	0.226	10.4	2.13	2.22	0.190	8.7	0.126	5.8
HTLV-I S5 ^a	Neg	96	0.25	0.023	9.2	0.24	0.25	0.020	8.0	0.012	4.8
HTLV-II S1	Pos	96	3.29	0.561	17.1	3.17	3.40	0.482	14.7	0.298	9.1
HTLV-II S2	Pos	96	3.15	0.569	18.1	3.03	3.26	0.537	17.1	0.210	6.7
HTLV-II S3	Pos	96	2.46	0.486	19.7	2.36	2.56	0.462	18.8	0.170	6.9
HTLV-II S4	Pos	96	2.22	0.364	16.4	2.14	2.29	0.300	13.5	0.214	9.6
HTLV-II S5 ^a	Neg	96	0.23	0.020	8.7	0.22	0.23	0.016	7.2	0.012	5.4

a Prov som är negativt för antikroppar mot HTLV-I och HTLV-II

Specificitet

För att visa att den kliniska specificiteten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet som tillverkats på nya platsen var jämförbar med den för den ursprungliga licensierade analysen, testades serum- (n = 1000) och plasmaprover (n = 1000) med okänd status från populationer (blodgivare) med låg risk med tre kitloter där den manuella testmetoden användes. Varje lot användes till att testa ett liknande antal prover. Av de 2000 prover som testats var två upprepat reaktiva (se tabell 7). Båda proverna var negativa vid försök med HTLV-I och HTLV-II IFA och Western blot. Därför var den förväntade specificiteten för Avioq-analysen som observerades i den här studien 1998/2000 = 99.90 % (95 % CI 99.44–100 %), jämfört med 11409/11415 = 99.95 % (95 % CI 99.89–99.98 %) för analysen som tillverkats på den ursprungliga platsen.

Tabell 7: Förväntad specificitet för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet hos slumpmässigt valda blodgivare

	Antal testade	Icke-reaktiv	Upprepat reaktiva	Ytterligare testpositiva	Förväntad Specificitet (%)	Sensitivitet 95 % Konfidensintervall (%)	
Serum	1000	999	1	0	99.90	99.44	100.00
Plasma	1000	999	1	0	99.90	99.44	100.00

Sensitivitet

För att utvärdera om den kliniska sensitiviteten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet som tillverkats på den nya platsen var jämförbar med den ursprungliga analysen, testades en panel med 200 lagrade seropositiva serum- eller plasmaprover (100 HTLV-I och 100 HTLV-II) på tre kitloter med hjälp av den manuella analysmetoden (tabell 8). Alla prover befanns tidigare vara upprepat reaktiva med ett FDA-licensierat screeningtest för HTLV-I/II-givare och de bekräftades vara positiva för HTLV-I/II-antikroppar med en kompletterande analys för forskning (WB, IFA och/eller RIPA). Åttiosju procent av dessa prover kom från blodgivare i USA och inget hade tidigare testats med den ursprungliga licensierade Vironostika-analysen. Analysens förväntade sensitivitet som observerades i denna studie var 200/200 = 100 % (95 % CI 98.17–100 %) jämfört med 636/636 = 100 % (95 % CI 99.97–100 %) för analysen som tillverkades på den ursprungliga platsen.

Tabell 8: Reaktivitet för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet med HTLV-I/II-seropositiva lagrade prover

Antal testade	Antal upprepat reaktiva	Antal Icke-reaktiva	Förväntad Sensitivitet (%)	Sensitivitet 95 % Konfidensintervall (%)	
200	200	0	100.00	98.17	100.00

PRESTANDAEGENSKAPER FÖR ORTHO® SUMMIT-SYSTEMET (OSS) MED ORTHO® SUMMIT-PROVHANTERINGSSYSTEMET (SUMMIT PIPETTER)

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS-instrumentet utfördes med hjälp av en panel med 10 prover som testats i duplikat (fyra HTLV-I-positiva, fyra HTLV-II-positiva och två negativa). Studien utfördes på två platser och totalt tre instrument två gånger dagligen under fyra dagar med hjälp av en valideringslot för analyskitet och jämfördes med testning av denna panel med hjälp av den manuella metoden och samma valideringslot. Resultaten för denna studie sammanfattas i tabell 9.

Tabell 9: Reproducerbarhetsstudie för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS (automatiserad metod)

Panel ID	Status	N	Medelvärde S/C	Totalt				Inter-Center		Intra-Center	
				SD	%CV	S/C nedre 95% CI	S/C övre 95% CI	SD	%CV	SD	%CV
HTLV-I S1	Pos	96	4.54	0.375	8.3	4.47	4.62	0.305	6.7	0.226	5.0
HTLV-I S2	Pos	96	4.03	0.366	9.1	3.95	4.10	0.288	7.1	0.232	5.8
HTLV-I S3	Pos	96	3.63	0.325	8.9	3.57	3.70	0.253	7.0	0.208	5.7
HTLV-I S4	Pos	96	2.84	0.283	10.0	2.78	2.89	0.218	7.7	0.184	6.5
HTLV-I S5 ^a	Neg	96	0.26	0.052	20.3	0.25	0.27	0.045	17.5	0.028	10.8
HTLV-II S1	Pos	96	5.86	0.421	7.2	5.77	5.94	0.323	5.5	0.276	4.7
HTLV-II S2	Pos	96	5.75	0.347	6.0	5.68	5.82	0.270	4.7	0.224	3.9
HTLV-II S3	Pos	96	4.95	0.463	9.4	4.85	5.04	0.385	7.8	0.268	5.4
HTLV-II S4	Pos	96	4.22	0.332	7.9	4.16	4.29	0.277	6.6	0.189	4.5
HTLV-II S5 ^a	Neg	96	0.13	0.028	20.7	0.13	0.14	0.023	17.0	0.016	12.1

^a Prov som är negativt för antikroppar mot HTLV-I och HTLV-II

Reproducerbarhetsstudien visade att den totala variationen för de positiva proverna var i intervallet från 6 till 10 % med hjälp av OSS-metoden jämfört med 8.9 till 19.7 % för de positiva proverna med hjälp av den manuella metoden (se tabell 6).

Analytisk Sensitivitet

För att visa att den analytiska sensitiviteten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS-instrumentet är jämförbar med den manuella metoden, testades åtta spädningspaneler (tvåfaldiga seriespädningar för fyra HTLV-I- och fyra HTLV-II-antikroppspositiva prover ner till analysens cutoff-värde) med hjälp av de båda manuella och automatiserade metoderna. För att utvärdera korrelationen hos de två metoderna utfördes Demings regressionsanalys. Denna analys visade att det fanns en hög korrelation för S/CO-förhållandet för båda formaten, med en korrelationskoefficient på 0.94. För att visa på överensstämmelsen för S/CO-förhållandet mellan de två metoderna utfördes ett parat t-test. Det totala S/CO-medelvärdet för den manuella metoden var 3.143 (n = 459) jämfört med ett totalt medelvärde på 4.198 (n = 459) på OSS-instrumentet. Även om denna skillnad är statistiskt betydelsefull var sensitiviteten genom end-point-spädningar jämförbara genom de två metoderna (*dvs.* analysen på OSS-instrumentet hade inte förminskad sensitivitet).

Sensitivitet

En panel med 100 blodgivarprover som var upprepat reaktiva på en FDA-licensierad analys testades med hjälp av Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet med båda metoder (manuell metod och automatiserad metod på OSS-instrumentet). Nittiofem (95) av proverna var upprepat reaktiva (100 % överensstämmelse) med båda analysmetoderna (manuell och automatiserad). Fem (5) av de 100 proverna i panelen var icke-reaktiva med Avioq-analysen (både manuell och automatiserad). Ytterligare bekräftelsetester på dessa fem prover visade att inget var positivt vid en kompletterande analys. Det bör poängteras att dessa prover tidigare genomgått fem frys-/upptiningscykler före analys; data som erhållits med Avioq indikerar att prover kan frysas och tinas en gång utan att reaktiviteten går förlorad.

S/CO-förhållandet för de 95 proverna som påvisades med Avioq-analysen varierade från 1.058–8.400 för den manuella metoden och 1.280–7.403 för den automatiserade metoden på OSS; korrelationskoefficienten för S/CO-förhållandet var 0.94. Tjugonio (29) av dessa prover var positiva för antikroppar mot HTLV-I och 46 var positiva för antikroppar mot HTLV-II med en kompletterande analys för forskning, och 20 var positiva för antikroppar mot HTLV-I/II (ej klassificerade).

Klinisk specificitet

En studie utfördes på två platser för att bedöma specificiteten för analysen vid användning med det automatiserade ORTHO® Summit-systemet (OSS). Totalt 16339 serum- och plasmaprover slumpvis utvalda från frivilliga blodgivare analyserades.. Resultaten för denna analys visas i tabell 10.

Tabell 10: Sammanfattning för resultaten för klinisk specificitet för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS (automatiserad metod)

	Plats 1			Plats 2			Alla platser/loter kombinerat
	Lot 10003	Lot 10004	Lot 10005	Lot 10003	Lot 10004	Lot 10005	
Antal analyserade	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16,339
Icke-reaktiva	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16,330
Initialt reaktiva	2	0	1	3	3	2	11
Upprepat reaktiva	2	0	0	3	2	2	9
Bekräftat positiva	0	N/A	N/A	0	0	0	0
Totalt antal falskt positiva	2			7			9
Totalt antal testade	4,090			12,249			16,339
Förväntad specificitet	99.95%			99.94%			99.94%
95 % CI	99.82%-99.99%			99.88%-99.98%			99.90%-99.97%
Totalt förväntad specificitet	99.95%						
95% CI	99.89% to 99.98%						

Av de 16339 blodprover som analyserades var nio upprepat reaktiva. Alla nio klassificerades som falskt positiva baserat på resultaten av testning med hjälp av Western blot (plats 1) eller IFA (plats 2). Konfidensintervallen för den förväntade specificiteten för Avioq-analysen för alla tre loter på varje plats och för alla platser och loter kombinerat överlappade med den för Vironostika-analysen (95% CI: 99.89–99.98 %). Den totala förväntade specificiteten för Avioq HTLV-I/II-analysen på OSS var $16330/16339 = 99.94\%$ (95 % CI: 99.90–99.97 %) jämfört med $11409/11415 = 99.95\%$ (95 % CI: 99.89–99.98 %) med den manuella metoden.

Dessa studier visar att prestandan för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS-instrumentet är jämförbar med prestandan hos den manuella analysmetoden.

PRESTANDAEGENSKAPER FÖR ORTHO® SUMMIT-SYSTEMET (OSS) MED ORTHO VERSEIA® - PIPETTERARE

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS med ORTHO VERSEIA®-pipetteraren utfördes med en panel bestående av tre HTLV-I-positiva prover, två HTLV-II-positiva och ett negativt prov. Studien utfördes på tre platser på totalt fem VERSEIA® och SUMMIT-pipetterare (för jämförelse), där var och en analyserades sexdubbelt i två körningar per dag under fem dagar som inte följde på varandra. Resultaten för denna studie sammanfattas i tabell 11. Reproducerbarhetsstudien visade att den totala variationen för de två instrumenttyperna var jämförbara.

Tabell 11: Reproducerbarhetsstudie för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS

Panel ID	SUMMIT-pipetterare						VERSEIA®-pipetterare					
	N	Medelvärde	SD	%CV	S/C 95% CI		N	Medelvärde	SD	%CV	S/C 95% CI	
					nerde	övre					nerde	övre
A (HTLV-I)	150	2.549	0.515	20.2	2.468	2.631	150	2.602	0.503	19.3	2.524	2.680
B (HTLV-I)	150	2.623	0.480	18.3	2.548	2.699	150	2.708	0.491	18.1	2.632	2.785
C (HTLV-I)	150	1.718	0.416	24.2	1.653	1.783	149	1.869	0.448	24.0	1.798	1.939
D (HTLV-II)	150	2.802	0.562	20.1	2.713	2.891	150	2.823	0.601	21.3	2.728	2.918
E (HTLV-II)	150	1.985	0.365	18.4	1.928	2.042	150	2.114	0.421	19.9	2.049	2.180
F (negativt)	150	0.061	0.016	26.0	0.059	0.064	149	0.060	0.016	26.6	0.058	0.063

Analytisk sensitivitet

För att visa att den analytiska sensitiviteten för Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet på OSS med VERSEIA®-pipetterare är jämförbar med den för SUMMIT-pipetteraren, testades tio spädningspaneler (fyra spädningar med target S/C från 0.5 till 3.0 av fem HTLV-I och fem HTLV- II-antikroppspositiva prover genom analysens cutoff-värde) med hjälp av båda instrumenten. För att utvärdera korrelationen hos de två metoderna utfördes Demings regressionsanalys. Denna analys visade att det fanns en hög korrelation för S/CO-förhållandet för båda instrumenten, med en lutning på 1.00, skärningspunkt på 0.01 och Pearson korrelationskoefficient (r) på 1.00.

Sensitivitet

En sensitivitetspanel bestående av 104 frusna HTLV-antikroppspositiva prover (52 HTLV-I- och 52 HTLV-II-antikroppspositiva prover) användes i denna studie. Dessa prover genererades genom spädning av frusna positiva prover för att skapa en kombination av prover som är lågt till måttligt reaktiva. Således är det förväntat att vissa av dessa prover med signal till cutoff-värden nära 1.000 varierar från över (positiva) till under (negativa) cutoffen.

Prover analyserades i triplikat på var och en av dessa tre platser med SUMMIT- och VERSEIA[®]-pipetterarna. Totalt 935 giltiga resultat erhöles och användes för dataanalys för varje instrument. Av de 935 observationerna var 98.1 % (917/935) av Summit-resultaten reaktiva medan 98.5 % (921/935) av VERSEIA[®]-resultaten var reaktiva. McNemars test för ej överensstämmande resultat visar ingen signifikant skillnad mellan de två pipetterarna med ett *p*-värde på 0.3438, vilket indikerar att Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet är kompatibelt med VERSEIA[®]-pipetteraren.

Klinisk specificitet

Totalt 3146 slumpvis utvalda serum- och plasmaprover analyserades som enstaka tester med båda instrumenttyperna (SUMMIT och VERSEIA[®]) på tre platser, var och en med samma antal prover. Av de analyserade 3146 proverna var 3140 icke-reaktiva med respektive instrumenttyp. Av de återstående 6 proverna var 5 reaktiva med båda pipetterarna medan ett uppvisade avvikande testresultat mellan de två pipetterarter (reaktiv med VERSEIA[®] och icke-reaktiv med Summit); alla sex prover var obestämbara med Western blot-analys. Förutsatt att alla prover var negativa för HTLV-antikropp var specificiteten för analys 99.81 % (95 % CI: 99.59–99.93 %) och 99.84 % (95 % CI: 99.63–99.95%) vid användning med VERSEIA[®]- respektive Summit- instrument (tabell 12). Statistisk analys visade att det inte fanns någon signifikant skillnad i specificitet för de två instrumenttyperna (99.81 % respektive 99.84 %).

Tabell 12: Sammanfattning av kliniska specificitetsresultat

		SUMMIT-pipetterare		Totalt
		Positivt	Negativt	
VERSEIA [®] - pipetterare	Positivt	5	1	6 (0.19%)
	Negativt	0	3140	3140 (99.81%)
	Totalt	5(0.16%)	3141 (99.84%)	3146 (100.00%)

PRESTANDAEGENSKAPER FÖR TESTNING AV KADAVERPROVER

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten utvärderades med hjälp av 20 icke-reaktiva kadaverprover (10 serum/10 plasma) och 20 icke-reaktiva prover från levande givare (10 serum/10 plasma). Till 5 serumprover och 5 plasmaprover tillsattes, från varje givarkälla (kadaver och levande), antingen anti-HTLV-I eller anti-HTLV-II-källmaterial till en målreaktivitet på 2.0 signal/cutoff-förhållande (S/CO). Varje prov med tillsats testades en gång under sex olika dagar med var och en av de tre kitloterna på en plats. Procentuell CV var jämförbar mellan kadaverproverna och proverna från levande givare.

Tabell 13 – Reproducerbarhetsanalys av plasmaprover från kadaverdonatorer och levande givare

Pre / Post	Typ	Matris	N	Medelvärde	Nedre 95 %	Övre 95 %	total_sd	total_cv	inter_sd	inter_cv	intra_sd	intra_cv
POST	HTLV-I	Plasma	90	2.13	2.05472	2.21510	0.383	17.9	0.324	15.2	0.215	10.1
		Serum	90	2.31	2.20140	2.41140	0.501	21.7	0.430	18.7	0.273	11.8
	HTLV-II	Plasma	90	2.09	2.00987	2.17973	0.405	19.4	0.348	16.6	0.221	10.6
		Serum	90	1.94	1.86472	2.02168	0.375	19.3	0.288	14.8	0.248	12.8
PRE	HTLV-I	Plasma	90	1.89	1.81144	1.96652	0.370	19.6	0.290	15.4	0.238	12.6
		Serum	90	1.97	1.89267	2.05320	0.383	19.4	0.322	16.3	0.219	11.1
	HTLV-II	Plasma	90	2.22	2.11903	2.32092	0.482	21.7	0.373	16.8	0.315	14.2
		Serum	90	1.96	1.88779	2.03181	0.344	17.5	0.280	14.3	0.208	10.6

Sensitivitet

Proverna som testades inkluderade ungefär lika många serum- och plasmaprover från kadaverdonatorer (K) (n=91; 46 serum, 45 plasma) som från normala givare (N) (n=91; 45 serum, 46 plasma). Proverna testades tidigare för HTLV-I/II och visade sig vara icke-reaktiva. Proverna användes för att preparera paneler med tillsatt HTLV-I och HTLV-II. Varje prov delades upp i två delar och en förutbestämd mängd HTLV-I- eller HTLV-II-antikroppspositiv sera tillsattes. Sensitiviteten bedömdes genom att testa HTLV-I- och HTLV-II-seropositiva prover både från kadaverdonatorer och normala givare med tre HTLV-I/II-kitloter på två testplatser. Negativa testresultat från ELISA-testet ansågs vara falskt negativa. Sensitivitet och 95 % konfidensintervall beräknades för HTLV-I- och HTLV-II-antikroppspositiva prover både från kadaverdonatorer och normala givare som visas i tabell 14 nedan. Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet har en total beräknad sensitivitet för kadaverprover på 100 % med ett konfidensintervall på 95 % på 92.29–100.00 % för serum och 92.13–100.00 % för plasma.

Tabell 14 - Reaktivitet mot prover från kadaverdonatorer och normala givare med tillsats

Plats	Lotnummer	Provtyp (Serum)	Antal testade	Initialt icke-reaktiva	Initialt reaktiva	Procentuellt reaktiva	95 % konfidensintervall
1	1	K	46	0	46	100 %	92.29–100.00
		N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
	2	K	46	0	46	100 %	92.29–100.00
		N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
	3	K	46	0	46	100 %	92.29–100.00
		N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
	1	K	46	0	46	100 %	92.29–100.00
		N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
	2	K	46	0	46	100 %	92.29–100.00

2	3	N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		K	46	0	46	100 %	92.29–100.00
		N	45	0	45	100 %	92.13–100.00
Plats	Lotnummer	Provtyp (Plasma)	Antal testade	Initialt icke- reaktiva	Initialt reaktiva	100 %	95 % konfidensintervall
1	1	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00
	2	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00
	3	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00
2	1	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00
	2	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00
	3	K	45	0	45	100 %	92.13–100.00
		N	46	0	46	100 %	92.29–100.00

Specificitet

Plasmaprover från både kadaverdonatorer (K) (n = 45) och normala (N) levande givare (n = 45; samlades in från en lågriskpopulation (blodbank)) och testades enligt bipacksedeln för Avioq HTLV-I/II Microelisa-system, med tre HTLV-I/II-kitloter på två testplatser. Specificitet och 95 % konfidensintervall beräknades för prover både från kadaverdonatorer och normala givare som visas i tabell 15 nedan. Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet har en total beräknad specificitet för kadaverprover på 100 % med 95 % konfidensintervall på 92.13–100.00 %.

Tabell 15 – Beräknad specificitet för kadaverprover och slumpmässiga plasmaprover

Plats	Lot	Provtyp (Plasma)	Antal testade	Icke- reaktiva	Upprepat reaktiva	Uppskattad specificitet (%) *	Specificitet 95 % konfidensintervall (%) **
Plats 1	Lot 1	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0
	Lot 2	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0
	Lot 3	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0
Plats 2	Lot 1	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0
	Lot 2	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0
	Lot 3	Kadaver	45	45	0	100	92.13–100.0
		Normal	45	45	0	100	92.13–100.0

$(\text{Antal screenade} - \text{antal upprepat reaktiva}) \times 100$

$(\text{Antal screenade} - \text{antal bekräftat positiva})$

** = Konfidensintervall för specificitet beräknades med hjälp av nämnda metod.

Serumprover från 218 individuella kadaverdonatorer testades enligt bipacksedeln för Avioq HTLV-I/II Microelisa-system med en av tre HTLV-I/II-kitloter (cirka 1/3 av proverna per lot) på en enda plats. Specificitet och 95 % konfidensintervall beräknades som visas i tabell 15 nedan. Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet har en total beräknad specificitet för kadaverprover på 100 % med 95 % konfidensintervall på 98.32–100.00 %.

Tabell 16 – Beräknad specificitet för kadaverprover från serum

Lot	Provtyp (Serum)	Antal testade***	Initialt icke- reaktiva	Upprepat reaktiva	Uppskattad specificitet (%) *	Specificitet 95 % konfidensintervall (%) **
Lot 1	Kadaver	73	73	0	100	95.07–100.0
Lot 2	Kadaver	73	73	0	100	95.07–100.0
Lot 3	Kadaver	72	71	0	100	95.01–100.0
Totalt		218	217	0	100	98.32–100.0

* = $(\text{Antal screenade} - \text{antal upprepat reaktiva}) \times 100$

$(\text{Antal screenade} - \text{antal bekräftat positiva})$

** = Konfidensintervall för specificitet beräknades med hjälp av nämnda metod.

***= I en separat studie testades 46 serumprover från kadaver och 46 från normala levande givare genom användning av tre olika HTLV-I/II-kitloter på två platser. Ett kadaverprov var upprepat reaktivt med alla tre

kitloter på båda platserna. Ett andra kadaverprov var upprepat reaktivt med alla tre kitloter på en plats och med två av kitloterna på den andra platsen.

Referenser

1. Poiesz BJ, *et al.* Detection and Isolation of type C Retrovirus Particles from Fresh and Cultured Lymphocytes of a Patient with Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 (12): 7415-7419.
2. Blattner WA, *et al.* Epidemiology of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus. *J Infect Dis* 1983; 147(3): 406-416.
3. Hinuma Y, *et al.* Antibodies of Adult T-Cell Leukemia-Virus-Associated Antigen (ATLA) in Sera from Patients with ATL and Controls in Japan: A Nationwide Sero-epidemiologic Study. *Int J Cancer* 1982; 29: 631-635.
4. Tajima K, *et al.* HTLV-I Carriers Among Migrants from an ATL-Endemic Area to ATL Non-Endemic Metropolitan Areas in Japan. *Int J Cancer* 1986; 37: 383-387.
5. Mann DL, *et al.* HTLV-I associated B-cell CLL: indirect role for retrovirus in leukemogenesis. *Science* 1987; 236: 1103-6.
6. Manns A, *et al.* The epidemiology of HTLV-I and -II: etiologic role in human disease. *Transfusion* 1991; 31(1): 67-75.
7. D'Aquila RT: Newly recognized human viruses. *Mediguide to Inf. Diseases* 1993; 12(4): 2-6.
8. Manns A, *et al.* Role of HTLV-I in development of NHL in Jamaica and Trinidad and Tobago. *The Lancet* 1993; 342: 1447-50.
9. Morgan OS, *et al.* HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet*, 1989; 2:1184-87.
10. Sato K, *et al.* Arthritis in patients infected with HTLV-I. *Arthritis and Rheumatism* 1991; 34(6): 714-21.
11. Sato K, *et al.* HTLV-I and Arthritis. *Rheumatol. Rev.* 1992; 1: 185-92.
12. Zucker-Franklin, *et al.* KS in a HIV negative patient with asymptomatic HTLV-I infection: *J. Infect. Dis.* 1993; 167: 987-89.
13. Mochizuki M, *et al.* Uveitis associated with HTLV-I: seroepidemiologic, clinical and virologic studies. *J. Inf. Diseases* 1992; 166: 943-46.
14. Zucker-Franklin D, *et al.* Human Lymphotropic Retroviruses Associated With Mycosis Fungoides: Evidence That Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II (HTLV-II) as Well as HTLV-I May Play a Role in the Disease. *Blood* 1992; 80(6): 1537-45.
15. Bazarbachi A, *et al.* HTLV-I provirus and mycosis fungoides. *Science* 1993; 259: 1470-71.
16. Clark J, *et al.* Seroepidemiologic Studies of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I in Jamaica. *Int J Cancer* 1985; 36: 37-41.
17. Manzari V, *et al.* HTLV-I is Endemic in Southern Italy: Detection of the First Infectious Cluster in a White Population. *Int J Cancer* 1985; 36: 557-559.
18. Blayney DW, *et al.* The Human T-Cell Leukemia-Lymphoma Virus in the Southeastern United States. *JAMA* 1983; 250(8): 1048-1052.
19. Botha MC, *et al.* Distribution and Possible Spread of Human T-Cell Leukemia Virus Type I in Human Communities in the Northern and Eastern Transvaal. *South African Med J* 1985; 67: 668-671.

20. Wong-Staal F and Gallo RC: Human T-lymphotropic Retroviruses. *Nature* 1985; 317: 395-403.
21. Yoshida M: Human Leukemia Virus Associated with Adult T-Cell Leukemia. *Gann* 1983; 74: 777-789.
22. Levine P, *et al.* HTLV-II infection in Florida Indians. *Aids Res. and Human Retroviruses* 1993; 9(2): 123-27.
23. Hjelle B, *et al.* Endemic HTLV-II infection in southwestern US Indians involves two prototype variants of virus. *J. Infect. Diseases* 1993; 168: 737-40.
24. Lal RB, *et al.* Sequence variation within the immunodominant epitope-coding region from external glycoprotein of HTLV-II in isolates from Seminole Indians. *J. Infect. Diseases* 1994; 169: 407-11.
25. Maloney EM, *et al.* Endemic HTLV-II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J. Infect. Diseases* 1992; 166: 100-107.
26. Lee H, *et al.* High rate of HTLV-II infection in seropositive drug abusers in New Orleans. *Science*, 1989; 244: 471-5.
27. DeRossi A, *et al.* Serological and molecular evidence of infection by HTLV-II in Italian drug addicts by use of synthetic peptides and PCR. *Eur. J. Cancer* 1991; 27: 835-8.
28. Zella D, *et al.* Molecular characterization of two isolates from HTLV-II from Italian drug abusers and comparison of genome structure with other isolates. *J. Gen. Virol.* 1993; 74: 437-44.
29. Loughran TP, *et al.* Detection of HTLV-II in a patient with LGL. *Blood* 1992; 80(5): 1116-19.
30. Sohn CC, *et al.* Leukopenic chronic T-cell leukemia: association with human retroviruses. *Blood* 1986; 67(4): 949-56.
31. Cervantes J, *et al.* T-Prolymphocytic Leukemia associated with HTLV-II. *Clin. Res.* 1986; (2): 454.
32. Hjelle B, *et al.* Chronic neurodegenerative disease associated with HTLV-II infection. *The Lancet* 1992; 339: 645-46.
33. Jacobson S, *et al.* Isolation of HTLV-II from a patient with chronic, progressive neurological disease clinically indistinguishable from HAM/TSP. *Ann. Neurol.* 1993; 33(4): 392.
34. Murphy EL, *et al.* HTLV-II associated myelopathy in 43-year-old woman. *The Lancet* 1993; 341: 757-58.
35. Harrington WJ, *et al.* Spastic Ataxia associated with HTLV-II infection. *Annals of Neurology* 1993; 33(4): 411-15.
36. Kaplan JE, *et al.* United States: Epidemiologic and Molecular Evidence Linking Donor and Recipient. *Neurology* 1991; 41 (2): 192-197.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guidelines*. NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS, 1993.
38. U.S. Environmental Protection Agency. *EPA guide for infectious waste management*. Publication No. EPA / 530-5w-86-014, Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1986.
39. The U.S. Pharmacopeia 23 / National Formulary 18: 1995; Purified Water: pg. 1637 and 1984.
40. Centers for Disease Control, U.S. Public Health Service Working Group. Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II). *Ann. Intern. Med.* 118(6):448-454, 1993.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory*. Approved Guidelines – Third Edition. Villanova, PA: October 1997, NCCLS C3-A3: Vol. 17 No. 18.

TILLGÄNGLIGHET

Avioq Inc.

Avioq HTLV-I/II Microelisa-systemet

192 testkit



produktnummer 500192

576 testkit



produktnummer 500576

9600 testkit



produktnummer 509600

Tvättbuffert 100 ml flaska



produktnummer 559879

Tvättbuffert 4 X 100 ml flaskor



produktnummer 559880

För teknisk support i USA, kontakta Avioq Customer Service: 1-919- 314- 5535.

För teknisk support utanför USA, kontakta Emergo Europe (31)(0)70345-8570.

EnzAbody är ett registrerat varumärke som tillhör bioMérieux i USA och andra länder.



Avioq, Inc.
76 TW Alexander Drive
PO Box 12808
Research Triangle Park, North Carolina 27709
www.Avioq.com



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands

Licensnummer i USA 1856

Dec 2022

CE 2797