



## Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System

### Verwendete Symbole

<b>REF</b>	Bestellnummer		Gebrauchsanleitung beachten
<b>LOT</b>	Chargenbezeichnung	<b>IVD</b>	In-vitro-Diagnostikum
	Haltbarkeitsdatum	<b>CONTROL +</b>	Positivkontrolle
	Temperaturgrenzwert	<b>CONTROL -</b>	Negativkontrolle
	Latexfrei		Enthält ausreichend Materialien für <n> Tests
	Vorsicht		Vor Sonnenlicht geschützt aufbewahren

# Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System



## VERWENDUNGSZWECK

Beim Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System handelt es sich um einen qualitativen enzymgekoppelten Immunadsorptionsassay (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen das humane T-lymphotrope Virus Typ I (HTLV-I) und/oder das humane T-lymphotrope Virus Typ II (HTLV-II) in humanem Serum, Plasma oder Proben von Leichen. Es ist für das Screening einzelner humaner Spender einschließlich freiwilligen Spendern von Vollblut und Blutbestandteilen sowie anderer lebender Spender auf HTLV-I/HTLV-II-Antikörper und zur Verwendung als Hilfsmittel zur klinischen Diagnose einer HTLV-I- oder HTLV-II-Infektion und damit im Zusammenhang stehende Krankheiten bestimmt. Es ist außerdem zur Untersuchung von Serum- und Plasmaproben beim Screening von Organspendern vorgesehen, wenn die Proben entnommen werden während das Herz des Spenders noch schlägt sowie für das Screening von Leichen (kein Herzschlag beim Spender). Es ist nicht für die Verwendung an Nabelschnurblutproben vorgesehen. Der Assay kann sowohl als manueller Assay als auch zusammen mit dem ORTHO® Summit-System (OSS) für das Screening von Blutspendern verwendet werden.

## ZUSAMMENFASSUNG UND ERLÄUTERUNG DES TESTS

Für HTLV-I, ein humanes Typ-C-Retrovirus, ist ein ätiologischer Zusammenhang mit adulter T-Zell-Leukämie (ATL)<sup>1-4</sup> sowie mit tropischer spastischer Paraplegie, einer demyelinisierenden Erkrankung, bzw. mit HTLV-I-assoziierter Myelopathie (TSP/HAM) hergestellt worden. Bei Personen, die an diesen Erkrankungen leiden, werden sehr häufig HTLV-I-Antikörper gefunden. In Studien, die in Regionen durchgeführt wurden, in denen diese Viren endemisch sind, sind jedoch ATL- und TSP/HAM-Formen mit Negativbefund auf diese Viren umfassend nachgewiesen worden. Vor Kurzem ist gezeigt worden, dass eine HTLV-I-Infektion mit chronischer lymphatischer B- und T-Zell-Leukämie (CLL),<sup>5,6</sup> multiplen Myelomen,<sup>7</sup> bestimmten Formen des Non-Hodgkin-Lymphoms (NHL),<sup>8</sup> von Polymyositis,<sup>9</sup> Arthritis,<sup>10,11</sup> des Kapoosi-Sarkoms,<sup>12</sup> von Uveitis,<sup>13</sup> Strongyloidiasis<sup>5</sup> sowie Mycosis fungoides<sup>14,15</sup> in Zusammenhang steht. HTLV-I ist in bestimmten Ländern der Karibik, in Südjapan und möglicherweise in bestimmten Regionen Afrikas<sup>16-21</sup> endemisch. In den Vereinigten Staaten von Amerika ist HTLV-I bei Patienten mit ATL, intravenös Drogenabhängigen und gesunden Personen nachgewiesen worden.

HTLV-II, ein verwandtes Virus, ist bei mehreren indianischen Stämmen Amerikas,<sup>22-25</sup> endemisch, wobei jedoch noch kein eindeutiger Nachweis für seine Pathogenität vorliegt. Ein hoher Prozentsatz von intravenös Drogenabhängigen ist HTLV-II-seropositiv.<sup>26-28</sup> Die ersten Patienten, von denen HTLV-II-Infektionen berichtet wurden, litten an einer atypischen T-Zell-Variante der Haarzell-Leukämie. Jüngste Beobachtungen führen zur Annahme, dass HTLV-II mit Leukämie mit großen granulären Lymphozyten (LGL),<sup>29</sup> chronischer lymphatischer Leukämie vom T-Zelltyp,<sup>30</sup> T-Zell-prolymphozytärer Leukämie,<sup>31</sup> Mycosis fungoides<sup>14</sup> und chronischen neurodegenerativen Erkrankungen<sup>32,33</sup> wie Myelopathie<sup>34</sup> sowie spastischer Ataxie<sup>35</sup> in Zusammenhang stehen kann. Antikörper gegen HTLV-II sind gegenüber HTLV-I-Antigenen signifikant kreuzreaktiv.

Die Übertragung von HTLV-I- und HTLV-II-Infektionen über Blutzellenprodukte auf infizierte Empfänger von Transfusionen ist umfassend dokumentiert. Weitere bekannte Übertragungsarten umfassen Muttermilch, sexuelle Kontakte und die Weitergabe kontaminiierter Nadeln und Spritzen unter intravenös Drogenabhängigen. Eine perinatale Übertragung wird vermutet, ist jedoch noch nicht nachgewiesen worden.

## WIRKUNGSPRINZIP DES TESTS

Beim Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System handelt es sich um einen enzymgekoppelten Immunadsorptionsassay, bei dem die Festphase (Mikrovertiefungen) mit einem gereinigten HTLV-I-Viruslysat, einem gereinigten HTLV-II-Viruslysat und einem rekombinannten HTLV-I-p21E-Antigen beschichtet ist.

Bei Zugabe einer verdünnten Testprobe, die entweder HTLV-I-Antikörper oder HTLV-II-Antikörper enthält, werden durch die Wechselwirkung der Antikörper in der Probe mit den Festphasen-Antigenen Komplexe gebildet. Nach der Inkubation wird die Probe abgesaugt, und die Vertiefung wird mit Puffer gewaschen. Anschließend werden mit Meerrettich-Peroxidase (Horseradish Peroxidase, HRP) konjugierte Ziegen-anti-human-Immunoglobuline zugegeben, die bei einer zweiten Inkubation an den Antikörper-Antigen-Komplex gebunden werden. Nach einem Waschschritt und einer Inkubation mit TMB- (Tetramethylbenzidin-)Substrat wird eine blaue Farbe gebildet. Die Enzymreaktion wird durch die Zugabe einer Schwefelsäurelösung gestoppt, wodurch ein Farbwechsel zu gelb bewirkt wird. Die Menge der in der Probe vorhandenen HTLV-I- bzw. HTLV-II-spezifischen Antikörper ist proportional zur Farbintensität.



## REAGENZIEN

### Komponenten in jedem Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System-Kit

192 Tests	576 Tests	9600 Tests	
2 Streifenhalter	6 Streifenhalter	100 Streifenhalter	<b>HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Streifen</b> – Zwölf pro Halter, wobei jeder Streifen 8 Vertiefungen enthält, die mit inaktiviertem HTLV-I-Viruslysat, einem rekombinannten HTLV-I-Antigen (rp21E) und inaktiviertem HTLV-II-Viruslysat beschichtet sind; in einem Folienbeutel mit Kieselgel-Trockenmittel.
1 Durchstech-flasche (50 mg)	2 Durchstech-flaschen (jeweils 50 mg)	4 Durchstech-flaschen (jeweils 50 mg)	<b>EnzAbody® für HTLV-I/II (EnzAbody-Konzentrat)</b> – mit Meerrettich-Peroxidase konjugiertes Ziegen-anti-human-Immunoglobulin, ~0,06 % w/w oder 30 µg; lyophilisiert mit Ziegenserum, Saccharose und fettfreier Milchtrockenmasse.
1 Flasche (55 ml)	2 Flaschen (jeweils 55 ml)	28 Flaschen (jeweils 55 ml)	<b>EnzAbody® Verdünnungsmittel</b> – Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, die 10 % Ziegenserum und nichtionische Tenside enthält. Konservierungsmittel: 0,2 % Gentamicinsulfat und 0,02 % Zimtaldehyd.
1 Flasche (100 ml)	2 Flaschen (jeweils 100 ml)	16 Flaschen (jeweils 100 ml)	<b>Probenverdünnungsmittel</b> – Phosphatgepufferte Kochsalzlösung, die 10 % Ziegenserum, nichtionische Tenside, Natriumchlorid, 0,14 % Albumin-Rinderserum, fettfreie Milchtrockenmasse und Amaranth (Azofarbstoff) enthält. Konservierungsmittel: 0,03 % (w/v) Bromnitrodiioxan.
1 Flasche (22 ml)	2 Flaschen (jeweils 22 ml)	34 Flaschen (jeweils 22 ml)	<b>TMB-Lösung</b> – Citronensäure, die 0,03 % Tetramethylbenzidin•2HCl enthält.
1 Flasche (22 ml)	2 Flaschen (jeweils 22 ml)	34 Flaschen (jeweils 22 ml)	<b>Peroxidlösung</b> – Citronensäure/Natriumcitrat-Puffer, die 0,04 % Harnstoffperoxid enthält.
1 Durchstech-flasche (1,5 ml)	2 Durchstech-flaschen (jeweils 1,5 ml)	17 Durchstech-flaschen (jeweils 1,5 ml)	<b>Negatives Kontrollserum</b> – Humanes Serum mit Proteinstabilisatoren; in Tests mit FDA-Zulassung nicht reaktiv bei Antikörpern gegen HTLV-I, HTLV-II, HIV-1, HIV-2, HCV und nicht reaktiv bei HBsAg und HIV-Ag. Konservierungsmittel: 0,05 % (w/v) Bromnitrodiioxan.

**CONTROL -**

192 Tests	576 Tests	9600 Tests	
1 Durchstechflasche (1,0 ml)	1 Durchstechflasche (1,0 ml)	12 Durchstechflaschen (jeweils 1,0 ml)  	<b>Positives HTLV-I-Kontrollserum</b> – Inaktiviertes humanes Serum mit Proteinstabilisatoren und Amaranth (Azofarbstoff); reaktiv bei Antikörpern gegen HTLV-I; in Tests mit FDA-Zulassung nicht reaktiv bei Antikörper gegen HIV-1, HIV-2, HCV und nicht reaktiv bei HbsAg und HIV-Ag. Kann mit HTLV-II-Antigen kreuzreagieren. Konservierungsmittel: 0,05 % (w/v) Bromnitrodioxan.
1 Durchstechflasche (1,0 ml)	1 Durchstechflasche (1,0 ml)	12 Durchstechflaschen (jeweils 1,0 ml)  	<b>Positives HTLV-II-Kontrollserum</b> – Inaktiviertes humanes Serum mit Proteinstabilisatoren und Farbstoff Patentblau; reaktiv bei Antikörpern gegen HTLV-II; in Tests mit FDA-Zulassung nicht reaktiv bei Antikörpern gegen HIV-1, HIV-2, HCV und nicht reaktiv bei HbsAg und HIV-Ag. Kann mit HTLV-I-Antigen kreuzreagieren. Konservierungsmittel: 0,05 % (w/v) Bromnitrodioxan.
Jeweils 1	Jeweils 1	Jeweils 5	<b>Klemme und Stab (oder Äquivalent)</b> – Verschluss für Folienpackungen.
10 Bögen	20 Bögen	30 Bögen	<b>Versiegelungsmaterial für Platten</b> – klebend.

**Hinweis: Das Waschpufferkonzentrat wird als Zubehör für den Kit angeboten.**

**Waschpufferkonzentrat**, Produktnummer 559879, besteht aus 1 Flasche (100 ml)

**Waschpufferkonzentrat**, Produktnummer 559880, besteht aus 4 Flaschen (4X100 ml)

**Hinweis: Als Stopplösung wird 2 N Schwefelsäure benötigt. Dieses Produkt wird nicht von Avioq geliefert. Für diesen Assay darf keine andere Stopplösung verwendet werden.**



## WARNUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN

1. **Vorsicht:** Alle biologischen HTLV-I/II-Materialien von Avioq müssen als potenziell infektiös angesehen und mit entsprechender Sorgfalt gehandhabt werden. Die zum Beschichten der Mikro-ELISA-Vertiefungen verwendeten Antigene wurden mittels Spaltung von Detergenzien für Viren inaktiviert, und die positiven **HTLV-I- und HTLV-II-Kontrollseren** wurden durch Zugabe eines Detergenz inaktiviert. Die Positiv- und Negativkontrollen stammen von humanem Serum oder Plasma und wurden auf HIV-1-Antigen, HbsAG, anti-HIV-1, anti-HIV-2 und anti-HCV untersucht, wobei festgestellt wurde, dass sie in Tests mit FDA-Zulassung nicht reaktiv sind. Da mit keiner Testmethode mit letzter Sicherheit ausgeschlossen werden kann, dass infektiöse Erreger vorhanden sind, sollten alle Materialien als potenziell infektiös angesehen und mit entsprechender Sorgfalt gehandhabt werden.
2. Alle Personen, die den Test durchführen, müssen sich die Verordnungen der US-amerikanischen Occupational Safety and Health Administration (OSHA) (29 CFR 1910.1030) halten.
3. Der Bereich, in dem Tests durchgeführt werden, muss von denjenigen Bereichen getrennt sein, in denen Blut oder Blutprodukte für die Transfusion gelagert werden.
4. Die Materialien nicht mit dem Mund pipettieren. In Bereichen, in denen Proben oder Reagenzien des Kits gehandhabt werden, nicht rauchen, essen oder trinken.
5. Den Test nicht in Gegenwart reaktiver Dämpfe (z. B. von Natriumhypochlorit, Säuren, alkalischen Substanzen oder Aldehyden) oder Staub durchführen, weil dadurch die enzymatische Aktivität des Konjugats beeinflusst werden könnte.
6. Einweghandschuhe verwenden und alle für den Test verwendeten Materialien (einschließlich Proben, Kontrollen, Waschlösung, Mikro-ELISA-Streifen und Streifenhalter sowie Pipetten) als potenziell infektiös sehen und mit entsprechender Sorgfalt handhaben. Falls Materialien eingenommen wurden oder in Kontakt mit offenen Schnittwunden, Läsionen oder anderen Verletzungen der Haut oder Schleimhäute oder in die Augen gelangen, ist sofort ein Arzt aufzusuchen.
7. Verschüttetes Material, das Antigen oder Antikörper enthält, ist zur Dekontaminierung sofort mit einer 1:10-Verdünnung von 5%igem Natriumhypochlorit (Endkonzentration 0,5 %) oder einem äquivalenten Desinfektionsmittel zu reinigen. Die für die Reinigung verwendeten Materialien sind mit einer geeigneten Methode zu entsorgen.
8. Alle Materialien, die in Kontakt mit Proben und Reagenzien gekommen sind, müssen unter Einhaltung örtlicher und staatlicher Vorschriften entsorgt werden.<sup>37</sup> Feste Abfälle können verbrannt oder für einen zweckmäßigen Zeitraum autoklaviert werden. Aufgrund der unterschiedlichen Autoklaven und Abfallkonfigurationen hat jeder Benutzer die Wirksamkeit dieser Kontamination durch biologische Indikatoren zu gewährleisten.<sup>38</sup>
9. Einige Komponenten dieses Kits (Waschpufferkonzentrat, Peroxidlösung, TMB-Lösung) enthalten geringe Konzentrationen gefährlicher Chemikalien. Ausführlichere Informationen sind im Materialsicherheitsdatenblatt (MSDS) aufgeführt. Materialsicherheitsdatenblätter sind von Avioq Inc. erhältlich.
10. **2N Schwefelsäure** - Schwefelsäure ist korrosiv und muss vorsichtig gehandhabt werden, um jeglichen Kontakt mit der Haut und mit den Augen zu verhindern. Bei Kontakt mit diesem Reagens die betroffenen Hautstellen bzw. die Augen gründlich mit Wasser waschen.

11. Beim Zusammensetzen der Mikroplatten zur teilweisen Analyse (gemischt beschichtet und unbeschichtete Streifen) Vorsicht walten lassen. Einige Analysatoren können eventuell nicht zwischen beschichteten und unbeschichteten Vertiefungen unterscheiden und erzeugen u.U. Resultate für eine beliebige Vertiefungsposition mit zugewiesener Kennnummer oder Kontrolle.

## HERSTELLUNG DER REAGENZIEN

Die folgenden Reagenzien sind vor oder während des Assayverfahrens herzustellen. Vor der Verdünnung/Herstellung und vor Durchführung des Tests müssen die Reagenzien und die Proben Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) aufweisen. Während des Tests können sie auf Raumtemperatur bleiben. Für die gewünschte Anzahl Tests sind ausreichende Mengen an Arbeitsreagenzien herzustellen. Nach der Verwendung sind die Reagenzien bei 2 °C – 8 °C aufzubewahren.

### Herstellung des EnzAbody-Konzentrats

1. 4,0 ml **EnzAbody-Verdünnungsmittel** in eine Durchstechflasche mit lyophilisiertem **EnzAbody-Konzentrat** pipettieren. Den Inhalt gründlich mischen. Übermäßiges Schäumen vermeiden. Das **EnzAbody-Konzentrat** nach der Rekonstitution mindestens 30 Minuten lang rehydratisieren lassen. Die Durchstechflasche mit **EnzAbody-Konzentrat** nicht mit Handschuhen anfassen, die zuvor mit Serum oder Plasma in Kontakt gekommen sind.
2. Herstellungsdatum und Haltbarkeitsdatum auf die Durchstechflasche schreiben. Das rekonstituierte EnzAbody-Konzentrat ist bei einer Lagertemperatur von 2 °C – 8 °C fünf Wochen lang stabil.

### Herstellung der EnzAbody-Arbeitslösung

1. Für die Herstellung saubere Polypropylenbehälter, vorzugsweise Einwegartikel, verwenden. **Keine Polystyrolbehälter verwenden.** Beim Einsatz eines automatisierten Mikroplattenprozessors sind die Empfehlungen des Herstellers zur Verwendung von Behältern zu befolgen. Eine zweckmäßige Menge **EnzAbody-Verdünnungsmittel** in den Behälter übertragen und eine entsprechende Menge rekonstituiertes **EnzAbody-Konzentrat** zugeben, sodass man eine **EnzAbody-Arbeitslösung** im Verdünnungsverhältnis 1:251 (siehe Tabelle unten) erhält. Darauf achten, dass das **EnzAbody-Konzentrat** vor der Verwendung gut durchgemischt ist. Nicht verwendetes **EnzAbody-Konzentrat** bei 2 °C – 8 °C aufbewahren. Durchstechflaschen mit rekonstituiertem **EnzAbody-Konzentrat** nicht zusammenschütten. Je nach verwendetem Reagenzdispenser wird möglicherweise mehr **EnzAbody-Arbeitslösung** benötigt.

### Herstellung der EnzAbody-Arbeitslösung

Anzahl der Mikro-ELISA-Streifen	Volumen des rekonstituierten EnzAbody-Konzentrats	Volumen des EnzAbody-Verdünnungsmittels
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

Anzahl der Platten	Volumen des rekonstituierten EnzAbody-Konzentrats	Volumen des EnzAbody-Verdünnungsmittels
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. Frisch hergestellte **EnzAbody-Arbeitslösung** ist bei Raumtemperatur vier Stunden lang stabil. Herstellungs- und Haltbarkeitszeitraum der **EnzAbody-Arbeitslösung** notieren. Nach Abschluss des Assays nicht verwendete **EnzAbody-Arbeitslösung** entsorgen.

### Herstellung des Waschpuffers

*Achtung!* Die Formulierung des **Waschpufferkonzentrats** ist speziell für den Avioq HTLV-I/II-Assay konzipiert. Für diesen Assay darf kein anderer Waschpuffer verwendet werden.

1. Das **Waschpufferkonzentrat** auf Kristalle oder Niederschlag überprüfen. Kristalle oder Niederschlag in der Lösung durch Erwärmen auf 37 °C vollständig auflösen. Das **Waschpufferkonzentrat** vor dem Verdünnen mischen.
2. Das **Waschpufferkonzentrat** gemäß der nachfolgenden Tabelle mit gereinigtem Wasser<sup>39</sup> im Verhältnis 1:25 verdünnen.

#### Herstellung des Waschpuffers

Anzahl der Mikro-ELISA-Streifen	Volumen des Waschpufferkonzentrats	Volumen des gereinigten Wassers	Gesamtvolumen des Waschpuffers
1-6	7 ml	168 ml	175 ml
7-12	14 ml	336 ml	350 ml

Anzahl der Platten	Volumen des Waschpufferkonzentrats	Volumen des gereinigten Wassers	Gesamtvolumen des Waschpuffers
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

Bei der Berechnung des Gesamtvolumens an **Waschpuffer** ist zusätzliches, für einen Waschautomat (Entlüften, totes Volumen usw.) benötigtes Volumen, nicht berücksichtigt. Nähere Angaben befinden sich in der Anleitung des Herstellers des Mikro-ELISA-Plattenwäschers.

3. **Waschpuffer** ist zwei Wochen lang stabil, wenn er bei 2 °C – 30 °C gelagert wird. Herstellungs- und Haltbarkeitsdatum notieren.



## Herstellung des TMB-Substrats

**TMB-Substrat** in einem sauberen Polypropylenbehälter herstellen, vorzugsweise in einem Einwegartikel. **Keine Polystyrolbehälter verwenden.** Eine ausreichende Menge **Peroxidlösung** in einen Behälter übertragen und eine entsprechende Menge an **TMB-Lösung** zur **Peroxidlösung** geben und vor der Verwendung gründlich mischen (siehe Tabelle unten).

Für jede Mikrotiterplatte sind mindestens 10 ml **TMB-Substrat** erforderlich. Je nach verwendetem Reagenziendispenser wird möglicherweise mehr **TMB-Substrat** benötigt. Angaben zu zusätzlich benötigten Reagenzienmengen gehen aus der Anleitung des Herstellers hervor.

### Herstellung des TMB-Substrats

Anzahl der Mikro-ELISA-Streifen	Volumen der TMB-Lösung	Volumen der Peroxidlösung
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

Anzahl der Platten	Volumen der TMB-Lösung	Volumen der Peroxidlösung
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

Bei Raumtemperatur ist das **TMB-Substrat** sechs Stunden lang stabil. Bei Verwendung muss es farblos sein. Herstellungs- und Haltbarkeitszeiten notieren. Deutlich blau gefärbtes **TMB-Substrat** muss verworfen und die entsprechende Menge **TMB-Substrat** hergestellt werden.

Hinweis: **TMB-Lösung** und **TMB-Substrat** vor Licht schützen. Den Kontakt mit Metall oder Metallionen vermeiden, da dies zu unerwünschter Blaufärbung führen kann.

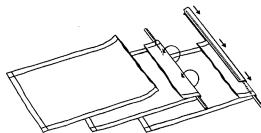
## ANWEISUNGEN FÜR DIE LAGERUNG VON KITS

Alle Komponenten sind bei 2 °C – 8 °C aufzubewahren, wenn sie nicht verwendet werden. Das Produkt nach dem auf dem Kit aufgedruckten Haltbarkeitsdatum nicht mehr verwenden. Die Stabilität von Reagenzien des Kits nach der Rekonstitution oder Verdünnung ist unter „HERSTELLUNG DER REAGENZIEN“ aufgeführt. Nicht tiefgekühlt lagern.

### HTLV-I/II-MIKRO-ELISA-STREIFEN

Vor dem Öffnen die Folienpackung auf Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) bringen, um eine Kondensation auf den **Mikro-ELISA-Streifen** zu vermeiden. Nach dem Öffnen der luftdichten Folienpackung sind die **Streifen** vier Wochen lang bei 2 °C – 8 °C stabil, sofern die Folienpackung mit der Klemme und dem Stab, die im Lieferumfang enthalten sind, oder einem entsprechenden anderen Verschluss wieder verschlossen wird. Datum des Öffnens und Haltbarkeitsdatum auf die Folienpackung schreiben. **Der Kieselgelbeutel darf nicht entfernt werden.**

Abbildung 1: Verschließen der Folienpackung.



1 2 3

Das offene Ende der Folienpackung über dem Stab umklappen.  
Klemme anbringen.

## CHEMISCHE ODER PHYSISCHE ANZEICHEN FÜR INSTABILITÄT

Wenn sich das Aussehen der Testkit-Materialien verändert hat, kann dies auf deren Instabilität oder Zersetzung hindeuten. Die auf dem Kit aufgebrachten Etiketten zeigen das Haltbarkeitsdatum an; das Produkt nach Ablauf dieses Datums nicht mehr verwenden.

Deutlich blau gefärbtes **TMB-Substrat** muss verworfen und eine entsprechende Menge neues **TMB-Substrat** hergestellt werden.

## ENTNAHME, LAGERUNG UND HERSTELLUNG VON PROBEN

### Proben von lebenden Spendern

**Entnahme:** Es sind keine speziellen Vorbereitungen erforderlich. Der Patient muss zur Probenentnahme nicht nüchtern sein. Verwendet werden kann Serum oder Plasma, zu dem Heparin, Citrat, CPD, CPDA-1 oder EDTA (Ethyldiamintetraacetat) als Antikoagulanzien gegeben wurden. Das richtige Volumenverhältnis zwischen Probenvolumen und zu verwendetem Antikoagulans geht aus der Anleitung des Herstellers der Probenahmeröhrchen hervor. Zur Vermeidung einer Hämolyse das Serum oder Plasma sobald wie möglich vom Blutkuchen oder den Erythrozyten entfernen. Es können Proben aus Serumtrennröhrchen und segmentierten Blutbeutelschläuchen verwendet werden. Erhöhte Lipid- (3000 mg/dl), Gesamtbilirubin- (20 mg/dl), Rheumafaktor- oder Hämoglobin- (3051 mg/dl) Spiegel haben keinen Einfluss auf das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System. Proben können 30 Minuten lang bei 56 °C in der Wärme inaktiviert werden, ohne dass ein Reaktivitätsverlust auftritt. Für andere Probenarten einschließlich Pleuraerguss, Speichel, Oralflüssigkeit, Eluate von Trockenblut-Stanzlingen und nicht-humane Proben ist die Leistung nicht ermittelt worden.

**Lagerung:** Proben sollten frei von mikrobiellen Verunreinigungen sein und können bis zu zwei Wochen bei 2°C - 8°C gelagert werden. Zur Langzeitlagerung Proben bei -20 °C einfrieren. Proben nach dem Auftauen mischen. Proben können einmal gefroren und aufgetaut werden, ohne dass ein Reaktivitätsverlust auftritt. Wiederholt gefrorene und aufgetaute Proben oder feststoffhaltige Proben können jedoch falsche Ergebnisse liefern.

**Versand:** Bei der Verpackung von für den Versand vorgesehenen Proben sind die gesetzlichen Vorschriften in Bezug auf den Transport von Krankheitserregern einzuhalten. Proben können bei Umgebungstemperatur, gekühlt (2 °C – 8 °C) oder tiefgekühlt (-20 °C oder kälter) versandt werden. Nach dem Eingang beim Adressaten die Proben bei den oben aufgeführten empfohlenen Lagertemperaturen aufzubewahren.

## Proben von Leichen

**Entnahme:** Proben von Leichen können aus Serum, Serumtrennröhrchen oder EDTA-Plasma entnommen werden. Klare, nicht hämolysierte Proben werden bevorzugt. Eventuellen Niederschlag in den Proben durch Zentrifugieren entfernen.

**Lagerung:** Proben von Leichen können bis zu 14 Tage bei 2 °C bis 8 °C bzw. bei -20 °C mit vier Gefrier-/Auftauzyklen gelagert werden. Nach dem Auftauen und vor dem Testen gründlich mischen.

**VERSAND: BEI DER VERPACKUNG VON FÜR DEN VERSAND VORGSEHENEN PROBEN SIND DIE GESETZLICHEN VORSCHRIFTEN IN BEZUG AUF DEN TRANSPORT VON KRANKHEITSERREGERN EINZUHALTEN. PROBEN KÖNNEN BEI EINER TEMPERATUR VON -20 °C BIS -30 °C VERSANDT WERDEN. NACH DEM EINGANG BEIM ADRESSATEN DIE PROBEN BEI DEN EMPFOHLENEN LAGERTEMPERATUREN MAX. 14 TAGE (EINSCHLIESSLICH VERSANDZEIT) LAGERN.**

## VERFAHREN FÜR DAS AVIOQ HTLV I/II-MIKRO-ELISA-TESTSYSTEM

### **Mitgelieferte Materialien**

HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Streifen

EnzAbody® für HTLV-I/II

EnzAbody®-Verdünnungsmittel

Probenverdünnungsmittel

TMB-Lösung

Peroxidlösung

Negatives Kontrollserum

Positives HTLV-I-Kontrollserum

Positives HTLV-II-Kontrollserum

Klemme und Stab

Versiegelungsmaterial für Platten

### **Zusätzliche benötigte, aber nicht mitgelieferte Materialien**

#### *Instrumente/Ausrüstung*

Hinweis: Weitere Informationen zu den einzelnen Instrumenten sind dem vom Hersteller mitgelieferten Handbuch zu entnehmen:

- a) Aufstellung und spezielle Anforderungen.
- b) Funktionsprinzipien, Anleitungen, Vorsichtsmaßnahmen und Gefahren.
- c) Angaben des Herstellers zu den Technischen Daten und zur Leistungsfähigkeit.
- d) Informationen zu Wartung und Instandhaltung.
- e) Qualitätskontrolle.

Automatisiertes Verdünnungs-/Spendersystem oder vergleichbares

Absaug-/Waschsystem

Das Absaug-/Waschsystem muss in der Lage sein, ein Volumen von mindestens 300 µl abzugeben und einen Einwirkszyklus von 30 ± 5 Sekunden durchzuführen. Abgesaugter Abfall muss in einem geschlossenen System aufgenommen werden.

Einstellbares Mehrkanal-Pipettensystem mit variablem Volumen und einer Kapazität von 50 – 300 µl ± 5 % und Spitzen

Mikropipetten mit einer Kapazität von 20 µl ± 5 %, 100 µl ± 5 % und Spitzen

Inkubator: Trockeninkubator, Heizblock oder Äquivalent, mit dem eine Temperatur von 37 °C ± 2 °C aufrechterhalten werden kann.

Mikro-ELISA-Plattenlesegerät

Verwendet werden kann jedes Mikro-ELISA-Lesegerät für Licht von 450 nm ± 5 nm oder zwei Wellenlängen, 450 nm ± 5 nm und 620/630 nm ± 5 nm als Referenz, mit einem linearen Extinktionsbereich von 0 bis 2,000, einer Verschiebung von weniger als 0,005 % AU/h und einer Bandbreite auf halber Höhe von 10 ± 2 nm.

Zeitgeber

Messzylinder, 50 ml und 1-2,5 l oder Äquivalent

*Reagenzien/Einwegartikel*

Waschpufferkonzentrat (Produktnummer 559879)

2 N Schwefelsäure

Gereinigtes Wasser,<sup>39</sup> USP, NCCLS Typ I<sup>41</sup> oder Äquivalent

Streifenhalter mit unbeschichteten Vertiefungen

Saugfähiges Papier

V-förmige Einwegtröge oder Äquivalent

Einweghandschuhe

Natriumhypochloritlösung (5 %), flüssiges Bleichmittel oder ein äquivalentes Desinfektionsmittel

Zweckmäßige Behälter für biogefährdende Abfälle zur Aufnahme von Materialien, die möglicherweise mit Infektionserregern kontaminiert sind

Polypropylen-Einwegrörchen mit Verschluss (15 oder 50 ml) oder Äquivalent

## **Von Avioq Inc. erhältliche Materialien**

- 100-ml-Flasche mit Waschpufferkonzentrat (Produktnummer 559879)
- 4 X 100-ml-Flaschen mit Waschpufferkonzentrat (Produktnummer 559880)

## **Hinweise zur Testdurchführung**

1. Nichtbefolgen der Anleitung der Packungsbeilage kann falsche Ergebnisse oder ungültige Assays zur Folge haben.
2. **Mikro-ELISA-Streifen, EnzAbody für HTLV-I/II, EnzAbody-Verdünnungsmittel, Probenverdünnungsmittel, TMB-Lösung, Peroxidlösung und Kontrollen**, die in einem Assay verwendet werden, müssen dieselbe Stammchargennummer aufweisen. Für den Waschpuffer ist die Stammchargennummer nicht von Relevanz; er kann mit jeder Stammkit-Chargennummer verwendet werden. Materialien vor dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden. Vor Untersuchungsbeginn sollten die Komponenten und die Proben Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) aufweisen und ggf. gemischt werden. Die Reagenzien nach der Verwendung wieder auf 2 °C – 8 °C abkühlen. Nicht tiefgekühlt lagern.
3. **Streifen** der Mikro-ELISA-Platte sind entfernbar. Unbenutzte **Streifen** gemäß der Beschreibung unter „ANWEISUNGEN FÜR DIE LAGERUNG VON KITS“ aufbewahren. Vor Testbeginn den Mikro-ELISA-Streifenhalter überprüfen und sicherstellen, dass alle Streifen einen festen Sitz haben. Streifenhalter vorsichtig handhaben, damit gewährleistet ist, dass sich die Streifen während des Tests nicht lösen. **Mikro-ELISA-Streifen** können nummeriert werden, damit sie an der richtigen Stelle wieder eingeführt werden können, falls sie sich gelöst haben.
4. **Mikro-ELISA-Streifen und Versiegelungsmaterial für Platten** dürfen nur einmal verwendet werden.
5. Zur Vermeidung von Verunreinigungen die Oberseite der **Streifen** oder den Rand der Vertiefungen nicht mit Fingern oder mit Pipettenspitzen berühren.
6. Alle Reagenzien und Proben müssen vor der Verwendung gut gemischt werden. Die **Positiv- und Negativkontrollen** können vor dem Pipettieren geschwenkt werden. Die **Positiv- und Negativkontrollen** genauso wie Proben dispensieren und verdünnen. Pro Platte (Streifenhalter) jeweils eine **Positivkontrolle** eines jeden Typs und drei **Negativkontrollen** analysieren. Wenn mehr als ein Streifenhalter verarbeitet wird, ist sicherzustellen, dass alle vorgeschriebenen Inkubationszeiten eingehalten werden.
7. Alle Pipettierschritte sind mit äußerster Sorgfalt und Genauigkeit durchzuführen. Kreuzkontaminationen zwischen Reagenzien machen Testergebnisse ungültig. Für die quantitative Übertragung von Proben und Reagenzien Mikropipetten verwenden. Beim manuellen Pipettieren von Kontrollen und Proben einzelne Einweg-Proben spitzen verwenden, um ein Vermischen von Probenmaterialien zu vermeiden. Mikrobielle oder andere Verunreinigungen von Reagenzien vermeiden.
8. Wenn in diesem Assay eine Probe versehentlich nicht zugegeben wird, indem beispielsweise eine Vertiefung ausgelassen wird, können die Assay-Ergebnisse für diese Probe fälschlicherweise als nicht reaktiv interpretiert werden.
9. Die Tür des Inkubators (37 °C) während des Inkubationszeitraums nicht öffnen.
10. Jegliche chemische Verunreinigung von Reagenzien und Ausrüstung vermeiden. Eine routinemäßige Instandhaltung des Saug-/Waschsystems wird dringend empfohlen, um ein Mitschleppen von Antikörper aus hochreaktiven Proben in nicht reaktive Proben zu vermeiden.
11. Mikroplattenwascher nach Abschluss des letzten Waschschritts des Assays mit reichlich Wasser spülen. Die Anleitung des Herstellers zur Instandhaltung des Flüssigkeitshandhabungssystems von automatisierten Mikroplattenprozessoren beachten.
12. Vor dem manuellen Waschen von Platten muss dieses Verfahren validiert werden. Die Verwendung eines Plattenwaschautomats wird empfohlen (Anforderungen an Waschautomaten finden Sie unter „**Zusätzliche benötigte, aber nicht mitgelieferte Materialien**“). Unvollständiges Waschen hat negative Auswirkungen auf die Testergebnisse.
13. Die Analyse des Assays muss unterbrechungsfrei bis zum Abschluss und innerhalb der in der Packungsbeilage aufgeführten Zeitbegrenzungen erfolgen.

14. Übrig gebliebene Reagenzien nicht wieder in die jeweiligen Originalflaschen füllen.
15. Die Mikrovertiefungen nicht unten an der Außenseite berühren. Fingerabdrücke oder Kratzer können die Auswertung der Mikrovertiefungen beeinträchtigen.
16. Sicherstellen, dass die **Mikro-ELISA-Streifen** während des Testverfahrens waagerecht im Mikro-ELISA-Streifenhalter positioniert sind. Die Unterseite der **Mikro-ELISA-Streifen** bei Bedarf mit einem weichen, fusselfreien, saugfähigen Tuch vorsichtig abwischen, um vor dem Ablesen Feuchtigkeit, Staub oder Fremdkörper zu entfernen. Falls erforderlich kann auch getrockneter Puffer von der Unterseite der **Mikro-ELISA-Streifen** entfernt werden, indem die Unterseite der **Mikro-ELISA-Streifen** vor dem Ablesen mit einem mit Wasser befeuchteten, weichen Tuch und dann mit einem trockenen, weichen, fusselfreien Tuch abgewischt wird.
17. Werte von Negativ- oder Positivkontrollen, die nicht innerhalb des erwarteten Wertebereichs liegen (siehe Abschnitt „Qualitätskontrolle“), können auf ein technisches Problem oder eine Zersetzung des Produkts hindeuten.
18. Alle Pipettierzüge nach den Anweisungen des Herstellers mit Sorgfalt verwenden, regelmäßig kalibrieren und instandhalten.
19. Das Lesegerät für Mikro-ELISA-Platten kann einen Referenzfilter von 620 nm oder 630 nm enthalten. Bei Verwendung eines Instruments ohne Referenzfilter können undurchsichtige, verkratzte oder unregelmäßige Bereiche an der Unterseite der Mikrovertiefungen ungenaue Ablesewerte zur Folge haben.
20. Blasen in den Vertiefungen der **Mikro-ELISA-Streifen** können zu ungenauen Ablesewerten für diese Mikrovertiefungen führen. Sorgfältig darauf achten, dass keine Blasen vorhanden sind.
21. Nur richtig kalibrierte Ausrüstung verwenden.

### Waschverfahren

1. Unvollständiges Waschen hat negative Auswirkungen auf die Testergebnisse. **Waschpuffer** muss Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) aufweisen, bevor er verwendet werden kann.
2. Den Inhalt der Vertiefungen in einen Abfallbehälter absaugen. Die Vertiefungen dann mit (etwa 0,3 ml) **Waschpuffer** füllen und etwa  $30 \pm 5$  Sekunden einwirken lassen, sofern nicht anders vorgegeben. Die Waschlösung absaugen und den Wasch- und Einwirkvorgang weitere drei Mal wiederholen, sodass insgesamt vier Waschvorgänge durchgeführt werden.
3. Sicherstellen, dass die **Mikro-ELISA-Streifen** nach dem letzten Saugvorgang vollständig abgesaugt sind. Den Streifenhalter umdrehen und bei Bedarf fest auf einem sauberen Papiertuch ausklopfen, damit überschüssiger **Waschpuffer** aufgesaugt wird.

### Testverfahren

1. Die benötigte Anzahl **Mikro-ELISA-Streifen** in den Streifenhalter einführen. Wenn ein Wascher für 96 Vertiefungen verwendet wird und weniger als zwölf **Streifen** benötigt werden, die Platte mit unbeschichteten Streifen auffüllen.
2. Mittels eines der unten aufgeführten Verfahren eine 1:5-Verdünnung von jeder Testprobe und **Kontrolle** herstellen. Auf jeder Platte sind unabhängig von der Anzahl der verwendeten Streifen drei Vertiefungen für die **Negativkontrolle**, eine Vertiefung für die **HTLV-I-Positivkontrolle** und eine Vertiefung für die **HTLV-II-Positivkontrolle** vorzusehen. Vor dem Pipettieren oder der Aufteilung in Aliquote für die automatisierte Verwendung die **Kontrollen** gründlich (z. B. durch Schütteln) mischen.

**Vorsicht:** Nach Beginn des Assays die Vertiefungen der **Mikro-ELISA-Streifen** nicht austrocknen lassen.

### Direkte Probenzugabe

**Manuelles Verfahren:** Mit einer kalibrierten Pipette 80 µl **Probenverdünnungsmittel** in jede Vertiefung des Mikro-ELISA-Tests geben. 20 µl Probe oder **Kontrolle** unter Verwendung einer Einweg-Mikropipettenspitze zugeben. Durch wiederholtes Ansaugen und Dispensieren der Probe (mindestens 3-4 Mal) die Probe bei jeder Zugabe mit **Probenverdünnungsmittel** vermischen.

**Automatisiertes Verfahren:** Den kalibrierten Verdünnung/Spender so programmieren, dass in jede Vertiefung des **Mikro-ELISA-Streifens** eine 1:5-Verdünnung, typischerweise aus 20 µl einer Probe oder **Kontrolle** und 80 µl

**Probenverdünnungsmittel**, gegeben wird. Die in der Pipettenspitze verbleibende Restmenge berechnen, verifizieren und in die Programmierung integrieren.

Hinweis: Die Probe kann gemäß der Beschreibung für das manuelle Verfahren zum **Probenverdünnungsmittel** dazugefügt werden.

#### Indirekte Probenzugabe

**Manuelles Verfahren:** In ein sauberes Reagenzrörchen 120 µl **Probenverdünnungsmittel** und dann 30 µl Probe oder **Kontrolle** pipettieren. Den Inhalt gut mischen. Verdünnte Proben in verschlossenen Rörchen können bis zu 24 Stunden lang bei 2 °C – 8 °C gelagert werden, müssen zum Zeitpunkt des Testens jedoch Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) aufweisen. In jede Vertiefung des **Mikro-ELISA-Streifens** 100 µl der verdünnten Probe pipettieren.

3. Die **Streifen** mit Klebstoff-Versiegelungsmaterial für die Platten oder einem Äquivalent abdecken. Wenn **Versiegelungsmaterial** für die Platten verwendet wird, darauf achten, dass alle Vertiefungen abgedeckt sind. Innerhalb von 30 Minuten 60 ± 5 Minuten bei 37 °C ± 2 °C inkubieren.
4. Wo erforderlich, das Versiegelungsmaterial für Platten nach der Inkubation entsorgen. Nicht wiederverwenden. Jede Vertiefung vier Mal mit **Waschpuffer** waschen und einwirken lassen (siehe „Waschverfahren“).
5. In jede Vertiefung 100 µl **EnzAbody-Arbeitslösung** pipettieren. (Eine Anleitung ist unter „HERSTELLUNG DER REAGENZIEN“ aufgeführt).

**Vorsicht:** Darauf achten, dass rekonstituiertes **EnzAbody-Konzentrat** oder **EnzAbody-Arbeitslösung** das **TMB-Substrat** nicht verunreinigt. Wenn für die Zugabe der beiden Reagenzien dieselben Geräte verwendet wird, müssen neue Einwegspitzen verwendet werden.

6. Die **Streifen** mit neuem **Versiegelungsmaterial für Platten** oder einem Äquivalent abdecken. Wenn **Versiegelungsmaterial** für die Platten verwendet wird, darauf achten, dass alle Vertiefungen abgedeckt sind. 60 ± 5 Minuten bei 37 °C ± 2 °C inkubieren.

Bei Verwendung mit dem ORTHO® Summit System (OSS) 30 ± 5 Minuten bei 37 °C ± 2 °C inkubieren.

7. Wo erforderlich, das Versiegelungsmaterial für Platten nach der Inkubation entsorgen. Nicht wiederverwenden. Jede Vertiefung vier Mal mit **Waschpuffer** waschen und einwirken lassen. Siehe „Waschverfahren“.
8. In jede Vertiefung 100 µl **TMB-Substrat** pipettieren. Nicht mit einem Klebstoff-Versiegelungsmaterial für Platten abdecken. (Eine Anleitung ist unter „HERSTELLUNG DER REAGENZIEN“ aufgeführt).
9. 30 ± 5 Minuten bei Raumtemperatur (15 °C – 30 °C) inkubieren.
10. Die Reaktion durch Zugabe von 100 µl **2N Schwefelsäure** zu jeder Vertiefung stoppen (dieselbe Reihenfolge und dieselben Zeitintervalle wie bei der Zugabe von **TMB-Substrat** einhalten). **Platten innerhalb von zwei Stunden ablesen.**
11. Mit dem Mikro-ELISA-Lesegerät eine Blindmessung an Luft (ohne Streifenhalter und **Streifen**) durchführen und die Extinktion bei 450 nm ± 5 nm (eine Wellenlänge) oder 450 nm ± 5 nm und 620/630 nm ± 5 nm als Referenz (zwei Wellenlängen) bestimmen.

## Qualitätskontrolle

**Bedingungen für die Werte der Negativkontrolle (NC):** Die Extinktion der Negativkontrolle muss größer gleich 0,000 und kleiner gleich 0,120 sein. Werte für Negativkontrollen außerhalb dieses Bereichs sind auszuschließen. Wenn mehr als zwei Werte kleiner als 0,000 oder größer als 0,120 sind, ist die Analyse ungültig und muss wiederholt werden. Den Mittelwert der Negativkontrollen (NCX) der verbleibenden Kontrollwerte berechnen.

**Bedingungen für die Werte der HTLV-I- (PC-I) und HTLV-II- (PC-II) Positivkontrollen:** Die Extinktion von PC-I und PC-II muss größer gleich 0,500 sein. Wenn der Wert von PC-I bzw. von PC-II kleiner als der vorgeschriebene Wert ist, ist die Analyse ungültig und muss wiederholt werden.

**Gültigkeit eines Tests:** Die Analyse eines Tests ist gültig, wenn die Werte für die Positiv- und Negativkontrollen in den vorgegebenen Bereichen liegen und wenn

$$(\text{PC-I}) - \text{NCX} \geq 0,380 \quad (\text{PC-II}) - \text{NCX} \geq 0,380$$

Wenn die Ergebnisse diese Kriterien nicht erfüllen, könnte es am Verfahren liegen und die Analyse ist ungültig und muss wiederholt werden.

## ERGEBNISSE

### Berechnungen

Die Berechnungen müssen für jeden Streifenhalter getrennt durchgeführt werden.

**Cut-Off-Wert:** Wenn die Analyse des Tests gültig ist, wird der Cut-Off-Wert wie folgt berechnet:

$$\text{Cut-Off-Wert} = \text{NCX} + 0,330$$

Eine Testprobe ist nicht reaktiv, wenn die Extinktion der Probe größer gleich 0,000 und kleiner als der Cut-Off-Wert ist.

Eine Testprobe ist reaktiv, wenn die Extinktion der Probe größer als der Cut-Off-Wert oder gleich diesem ist.

### Berechnungen für Proben

#### Extinktion (eine Wellenlänge)

NC	=	0,065, 0,070, 0,075
NCX	=	0,070
PC-I	=	1,110
PC-II	=	1,050

#### Extinktion (zwei Wellenlängen)

NC	=	0,034, 0,030, 0,035
NCX	=	0,033
PC-I	=	1,073
PC-II	=	1,013

### Annahmekriterien

Extinktionswerte von Kontrollen, die die folgenden Kriterien nicht erfüllen, sind auszuschließen:

$0,000 \leq \text{NC} \leq 0,120$	Kein Ausschluss
$\text{PC-I} \geq 0,500$	Kein Ausschluss
$\text{PC-II} \geq 0,500$	Kein Ausschluss

Es muss gewährleistet sein, dass die vorgegebenen Annahmekriterien für folgende Bedingungen erfüllt sind.

#### (Eine Wellenlänge)

$(\text{PC-I}) - \text{NCX} \geq 0,380$	
$(\text{PC-II}) - \text{NCX} \geq 0,380$	
$1,110 - 0,070 = 1,040$	Bestanden
$1,050 - 0,070 = 0,980$	Bestanden

#### (Zwei Wellenlängen)

$1,073 - 0,033 = 1,040$	Bestanden
$1,013 - 0,033 = 0,980$	Bestanden

### Gültigkeit eines Tests (eine Wellenlänge)

Bestanden

### Berechnung des Cut-Off-Werts (eine Wellenlänge)

$$\begin{aligned} \text{Cut-Off-Wert:} &= \text{NCX} + 0,330 \\ &= 0,070 + 0,330 \\ &= 0,400 \end{aligned}$$

### Gültigkeit eines Tests (zwei Wellenlängen)

Bestanden

### Berechnung des Cut-Off-Werts (zwei Wellenlängen)

$$\begin{aligned} \text{Cut-Off-Wert:} &= \text{NCX} + 0,330 \\ &= 0,033 + 0,330 \\ &= 0,363 \end{aligned}$$

## INTERPRETATION DER ERGEBNISSE

1. Proben mit Extinktionswerten, die größer gleich 0,000 und kleiner als der Cut-Off-Wert sind, werden gemäß den Kriterien des Avioq HTLV-I/II als nicht reaktiv betrachtet und können als negativ für Antikörper gegen HTLV-I und HTLV-II betrachtet werden. Ein negatives Testergebnis schließt die Möglichkeit eines Kontakts oder einer Infektion mit HTLV-I/II nicht aus.
2. Ergebnisse von Proben mit Extinktionswerten kleiner 0,000 müssen noch einmal erneut getestet werden, um das ursprüngliche Ergebnis zu verifizieren. Wenn die Probe beim erneuten Test Extinktionswerte ergibt, die kleiner als der Cut-Off-Wert sind, können die Proben gemäß den Kriterien von Avioq HTLV-I/II als negativ für Antikörper gegen HTLV-I und HTLV-II betrachtet werden.
3. Proben mit Extinktionswerten, die größer als der Cut-Off-Wert oder gleich diesem sind, werden gemäß den Kriterien von Avioq HTLV-I/II zunächst als reaktiv betrachtet. Vor einer Interpretation muss die Probe mittels des Avioq HTLV-I/II-Assays zweimal erneut getestet werden. Wenn einer der zwei Wiederholungstests eine Reaktivität ergibt, wird die Probe gemäß den Kriterien des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems als wiederholt reaktiv gegenüber Antikörpern gegen HTLV-I bzw. HTLV-II betrachtet.
4. Proben, die beim ersten Test als reaktiv betrachtet wurden und bei beiden Wiederholungstests nicht reagieren, werden als negativ für Antikörper gegen HTLV-I/II betrachtet.
5. In den meisten Szenarien ist es zweckmäßig, wiederholt reaktive Proben mit zusätzlichen Tests mit höherer Spezifität zu untersuchen (**LIMITIERUNGEN DES VERFAHRENS**). Proben, bei denen mittels ELISA wiederholt eine Reaktivität festgestellt wurde und für die in zusätzlichen Tests mit höherer Spezifität positive Ergebnisse ermittelt wurden, können als positiv für Antikörper gegen HTLV-I bzw. HTLV-II betrachtet werden. Die Interpretation von Ergebnissen für Proben, die mittels ELISA wiederholt als reaktiv und mittels zusätzlicher Tests mit höherer Spezifität als negativ oder unbestimmt ermittelt wurden, ist unklar; eine weitere Abklärung kann durch die Untersuchung einer weiteren Probe erfolgen, die von derselben Person drei bis sechs Monate später genommen wird.

## LIMITIERUNGEN DES VERFAHRENS

Das „TESTVERFAHREN“ und die „INTERPRETATION DER ERGEBNISSE“ des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems müssen strikt eingehalten werden, wenn Plasma oder Seren von Einzelpersonen auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen HTLV-I bzw. HTLV-II getestet werden. Dieser Assay wurde für die Verwendung mit humanem Serum oder Plasma von einzelnen Patienten- und Spenderproben konzipiert und validiert und vom Serum oder Plasmamustern versammelten sich von cadaveric Spendern. Für andere Probenarten (d. h. Pleuraerguss, Speichel, Oralflüssigkeit, Eluate von Trockenblutstanzlingen, Proben nicht menschlichen Ursprungs usw.), gepoolte Blutproben oder verarbeitetes Plasma und aus solchen gepoolten Proben hergestellten Produkte sind keine Leistungsmerkmale ermittelt worden.

Wenn Proben nicht gemäß der Beschreibung unter „TESTVERFAHREN“ zugegeben werden, können falsch negative Ergebnisse die Folge sein.

Das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System weist Antikörper gegen HTLV-I bzw. HTLV-II in Blut nach und ist somit als Screening-Tool für gespendetes Blut zur Vermeidung einer Übertragung von HTLV-I bzw. HTLV-II auf Empfänger von zellulären Blutkomponenten und als Hilfsmittel für die klinische Diagnose von HTLV-I- oder HTLV-II-Infektionen und damit im Zusammenhang stehende Krankheiten nützlich. Es ist bekannt, dass eine durch Transfusion von infizierten Blutprodukten erworbene HTLV-I-Infektion bei Empfängern Erkrankungen auslösen kann.<sup>36</sup>

In den vom U.S. Public Health Service veröffentlichten Richtlinien<sup>40</sup> wird empfohlen, wiederholt reaktive Proben durch zusätzliche Tests mit höherer Spezifität wie dem Western Blot (WB) und dem Radioimmunpräzipitationsassay (RIPA) zu untersuchen. Diese zusätzlichen Tests sollten zusätzlich zu typspezifischen Peptid- oder Sondentests zur Unterscheidung zwischen HTLV-I und HTLV-II verwendet werden. Bei der Interpretation solcher Tests ist auf die Übereinstimmung mit den hier veröffentlichten Richtlinien zu achten.

Wenn festgestellt wird, dass das Serum oder Plasma einer Person sowohl beim ELISA als auch in zusätzlichen Tests mit höherer Spezifität eine Reaktivität aufweist, wird vermutet, dass diese Person mit dem HTLV-I- oder HTLV-II-Virus infiziert ist. Die medizinischen Auswirkungen einer HTLV-II-Seropositivität sind unbekannt. Diesen Personen sollten eine entsprechende Beratung und eine medizinische Untersuchung gemäß den vom staatlichen Gesundheitswesen veröffentlichten Richtlinien angeboten werden.<sup>40</sup> Eine solche Untersuchung sollte als wichtiger Bestandteil der Untersuchung auf HTLV-I/II-Antikörper betrachtet werden und die Bestätigung der Testergebnisse an einer frisch entnommenen Probe einschließen.

ATL und TSP/HAM sind klinische Syndrome, deren Diagnose nur klinisch gestellt werden kann. Eine Untersuchung nur mit dem Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System ist für die Diagnose dieser Erkrankungen selbst dann nicht ausreichend, wenn die empfohlene Untersuchung von reaktiven Proben das Vorhandensein von HTLV-I-Antikörpern bestätigt. Ein negatives Testergebnis an einem beliebigen Punkt der serologischen Untersuchung schließt die Möglichkeit eines Kontakts oder einer Infektion mit HTLV-I oder HTLV-II nicht aus. Wenn klinische Verdachtsmomente für eine HTLV-I- oder HTLV-II-Infektion vorliegen, sollten wiederholte Tests mit dem Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System in Betracht gezogen werden. Wenn mit diesem Assay negative Ergebnisse für Personen erhalten werden, die zuvor Kontakt mit HTLV-I bzw. HTLV-II hatten, kann dies daran liegen, dass die Antikörper-Spiegel unterhalb der Nachweisgrenze dieses Assays liegen oder die Antikörper keine Reaktivität gegenüber den in diesem Assay verwendeten HTLV-Antigenen aufweisen.

Bei einem Testkit dieses Typs sind falsch positive Ergebnisse zu erwarten. Der Anteil von Proben, die fälschlicherweise als reaktiv nachgewiesen werden, hängt von der Prävalenz der HTLV-I- bzw. HTLV-II-Antikörper in der gescreenten Population und der Sensitivität und Spezifität des eingesetzten Testkits des Herstellers ab.

## **ERWARTETE ERGEBNISSE**

Der Prozentwert der Proben, die in einer normalen Spenderpopulation als wiederholt positiv bestimmt wird, unterscheidet sich in Abhängigkeit von der Prävalenz der HTLV-I- oder HTLV-II-Antikörper in der betreffenden geografischen Region. Zu Regionen mit einer hohen Prävalenz für HTLV-I zählen: Teile von Afrika, Mikronesien, Japan, die hawaiianische Inselgruppe und die karibischen Inseln. Zu Populationen mit einer hohen Prävalenz für HTLV-I zählen: Populationen intravenöser Drogenabhängiger und verschiedene indianische Stämme in Nord- und Südamerika. Erfahrungswerte zu in den USA gescreenten Blutspendern sind im Abschnitt „Spezifität“ aufgeführt. Erfahrungen mit der Untersuchung von Populationen mit HTLV-I-Erkrankungen oder mit einem hohen Risiko für HTLV-I oder HTLV-II sind in den Abschnitten „Sensitivität und endemische Populationen“ aufgeführt.

## LEISTUNGSMERKMALE DES ASSAYS

### Reproduzierbarkeit

Replikationen von Proben, die positiv für HTLV-I- und HTLV-II-Antikörper waren und verschiedene Reaktivitätsgrade aufwiesen, Negativproben und Kontrollen des Kits wurden an mehreren Prüfzentren (n=3) getestet, wobei mehrere Kit-Chargen (n=3) und mehrere Techniker (n=2) an mehreren Tagen (n=4) eingesetzt wurden. Die Gesamt-, die Interassay- und die Intraassay-Präzision sind in der nachfolgenden Tabelle 1 aufgeführt.

**Tabelle 1: Reproduzierbarkeit des Assays**

Kennung	N	Mittelwert	Insgesamt		Interassay		Intraassay	
			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				

Kennung	Identifizierung des Elements der Testreihe
N	Anzahl der Replikationen
MITTELWERT	Mittelwert des Verhältnisses zwischen Signal und Cut-Off-Wert (Signal to Cutoff Ratio, SCR)
SD	Standardabweichung des SCR
CV	Variationskoeffizient des SCR

## Spezifität

Die Spezifität dieses Assays wurde untersucht, indem 11.415 normale humane Serum- und Plasmaproben getestet wurden, die an mehreren Prüfzentren gesammelt worden waren. Eine Aufschlüsselung der nach Prüfzentrum und Probentyp aufgeschlüsselten Daten ist in Tabelle 2 unten aufgeführt. Auf der Grundlage einer angenommenen Prävalenz für HTLV-I- und HTLV-II-Antikörper in normalen humanen Spendern von null betrug die geschätzte Gesamtspezifität dieses Assays 99,95 % (95%-Konfidenzintervalle von 99,89% bis 99,98 %). Für jede Population sind auch 95 %-Konfidenzintervalle für die Rate der wiederholt reaktiven Proben und die geschätzte Spezifität für jedes Prüfzentrum und jeden Probentyp eingeschlossen.

**Tabelle 2: Geschätzte Spezifität in Vollblut und Plasma in nach dem Zufallsprinzip festgelegten Spender- und Source-Plasma-Populationen**

	Getestete Anzahl	Anfänglich nicht reaktiv	Anfänglich reaktiv	Bei Wiederholung reaktiv	Bei Wiederholung reaktiv (%)	95 %-Konfidenzintervalle von bei Wiederholung reaktiven Proben** (%)	Zusätzlicher Test positiv***	*Geschätzte Spezifität (%)	95 %-Konfidenzintervalle der Spezifität* (%)		
Serum Prüfzentrum 1	1315	1314	1	1	0,08	0,004	0,334	0	99,92	99,58	99,99
Serum Prüfzentrum 2	3754	3753	1	1	0,03	0,002	0,117	0	99,97	99,85	99,99
Plasma Prüfzentrum 1	1255	1255	0	0	0,00	0,000	0,153	0	100,00	99,71	100,00
Plasma Prüfzentrum 2	3812	3809	3	3	0,08	0,020	0,204	0	99,92	99,77	99,98
Source-Plasma-Prüfzentrum	1279	1276	3	1	0,08	0,004	0,344	0	99,92	99,57	99,99

$$* = \frac{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl wiederholt reaktiv}) \times 100}{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl bestätigt positiv})}$$

$$** = \text{Die Konfidenzintervalle für die Spezifität wurden mit dem exakten Verfahren berechnet.}$$

\*\*\* = In diesen Studien war ein positives Ergebnis als Vorhandensein von Antikörpern gegen zwei Genprodukte (gag, p19 bzw. p24 und env, gp46 bzw. 61/68) mittels Western Blot bzw. RIPA definiert.

Weitere zusätzliche Tests und die Differenzierung nach den Typen HTLV-I und HTLV-II erfolgten mittels der folgenden Assays für Forschungszwecke: Reaktivität gegenüber rekombinantem oder nativem gp46-I- oder gp46-II-Peptid mittels Western Blot, HTLV-I- und HTLV-II-Peptid-EIAs, HTLV-I- und HTLV-II-IFA bzw. PCR (unter Verwendung spezifischer Primer für die tax- und pol-Regionen).

### Reaktivität bei möglicherweise interferierenden Erkrankungen

In diesem Assay wurden Proben von Personen mit Erkrankungen, die eine nichtspezifische Reaktivität des Assays verursachen könnten, getestet. Die getesteten Proben sind in der nachfolgenden Tabelle 3 aufgeführt. Alle Proben waren nicht reaktiv.

**Tabelle 3: Reaktivität in Proben von Personen mit Erkrankungen, die in keinem Zusammenhang mit einer HTLV-I- oder HTLV-II-Infektion stehen**

Probenkategorie	Anzahl der getesteten Proben	Anzahl der anfänglich reaktiven Proben
Cytomegalovirus-Antikörper	10	0
Epstein-Barr-Virus-Antikörper	10	0
Herpes-simplex-Virus-Antikörper	10	0
HIV-1-Antikörper	10	0
HIV-2-Antikörper	10	0
Hepatitis-B-Virus-Oberflächen-Antigen	10	0
Syphilis-Antikörper	10	0
Antinukleäre Antikörper	10	0
Mehrere Transfusionen	10	0
Multipare Frauen	10	0
Rheumafaktor	10	0
HCV-Antikörper	10	0
Hyper-Gammaglobulinämie-IgG	10	0
Hyper-Gammaglobulinämie-IgM	10	0
Toxoplasmose-Antikörper	10	0
Empfänger von Influenzaimpfstoff	36	0

### Reaktivität in Proben mit möglicherweise interferierenden Substanzen

In diesem Assay wurden Proben, die lipäisch (n=10), hämolysiert (n=10) waren oder einen erhöhten Bilirubinspiegel (n=10) enthielten, auf nichtspezifische Reaktivität untersucht. Alle Proben waren nicht reaktiv. Darüber hinaus wurde, weil dieser Assay ein in *E. coli* produziertes rekombinantes Protein enthält, eine Reihe von zweihundzwanzig (22) Proben, von denen zuvor bestimmt worden war, dass sie positiv in Bezug auf das Vorhandensein von Antikörpern gegen *E. coli* waren, getestet, um das Potenzial für eine Kreuzreakтивität im Testsystem zu beurteilen. Alle Proben waren nicht reaktiv.

## Sensitivität

Die Sensitivität dieses Assays wurde untersucht, indem Proben beurteilt wurden, für die in zusätzlichen Tests für Forschungszwecke (Western Blot, RIPA, IFA und in einigen Fällen PCR) ermittelt worden war, dass sie seropositiv waren. Diese Proben stammten von Populationen mit Erkrankungen im Zusammenhang mit HTLV, intravenös drogenabhängigen Populationen und mit HTLV infizierten Blutspendern. Eine Auflistung der Ergebnisse ist in Tabelle 4 unten aufgeführt. Dieser Assay war bei allen 636 Proben, die mit den zusätzlichen Tests für Forschungszwecke positive Ergebnisse ergaben, reaktiv. Dieser Assay wies anhand der Binomialverteilung bei einer Konfidenz von 95 % eine geschätzte Sensitivität von 100 % (Intervall: 99,97 % bis 100 %) für 636 Proben, die mit zusätzlichen Tests für Forschungszwecke positiv getestet worden waren, auf.

**Tabelle 4: Reaktivität gegenüber Proben, die in zusätzlichen Tests für HTLV-I-, HTLV-II- und HTLV-I/II-Antikörper positiv getestet worden waren**

Gruppe	Ergebnis des zusätzlichen Tests <sup>a</sup>	Anz. getestet	Anz. der wiederholt reaktiven Proben in zugelassenen HTLV-I-Tests	Anz. der wiederholt reaktiven Proben im Avioq HTLV-I/II
Adulte T-Zell-Leukämie	HTLV-I	47	47	47
Tropische spastische Paraplegie	HTLV-I	43	43	43
Nasopharyngeales Lymphom	HTLV-I	1	1	1
Intravenöse Drogenabhängige	HTLV-I	5	5	5
	HTLV-II	95	94 <sup>c</sup>	95
Patienten in Krankenhäusern <sup>b</sup>	HTLV-I	107	107	107
	HTLV-II	38	38	38
Blutspender	HTLV-I	146	146	146
	HTLV-II	138	138	138
	HTLV-I/II	16	16	16
<b>INSGESAMT</b>		<b>636</b>	<b>635</b>	<b>636</b>

<sup>a</sup> In diesen Studien war ein positives Ergebnis als Vorhandensein von Antikörpern gegen zwei Genprodukte (gag, p19 bzw. p24 und env, gp46 bzw. 61/68) mittels Western Blot bzw. RIPA definiert.

Weitere zusätzliche Tests und die Differenzierung nach den Typen HTLV-I und HTLV-II erfolgten mittels der folgenden Assays für Forschungszwecke: Reaktivität gegenüber rekombinantem oder nativem gp46-I- oder gp46-II-Peptid mittels Western Blot, HTLV-I- und HTLV-II-Peptid-EIAs, HTLV-I- und HTLV-II-IFA bzw. PCR (unter Verwendung spezifischer Primer für die *tax*- und *pol*-Regionen).

<sup>b</sup> Asymptomatisch und einige Symptome, die auf eine HTLV-Erkrankung hindeuten.

<sup>c</sup> Der zugelassene HTLV-I-Test erfasste ein IVDA (Signal/Cut-Off-Werte 0,8, 0,9, 0,9), das mittels Western Blot (nur p21) nicht bestimmbar war und mittels PCR als HTLV-II typisiert wurde, nicht.

## Populationen in endemischen Regionen für HTLV-I und HTLV-II

Die Leistung dieses Assays wurde anhand von Proben aus einer Population in einer endemischen Region für HTLV-I und zwei Populationen in endemischen Regionen für HTLV-II untersucht. Für die Population aus einer endemischen Region für HTLV-I wurden 532 Proben einer Population aus Pazifikinseln mit hoher Prävalenz ausgewertet. Mit zusätzlichen Tests für Forschungszwecke (Western Blot, IFA oder RIPA) wurde ermittelt, dass 20 Proben aus dieser Population positiv für HTLV-I-Antikörper waren. Alle 20 der HTLV-I-Antikörper-positiven Proben erwiesen sich in diesem Assay und in einem zugelassenen HTLV-I-Assay wiederholt als reaktiv. Weitere 3 Proben, für die mit dem zugelassenen HTLV-I-Test wiederholt eine Reaktivität festgestellt wurde, waren in diesem Assay nicht reaktiv; mit den verwendeten zusätzlichen Tests wurde festgestellt, dass keine dieser 3 Proben HTLV-I-Antikörper-positiv war. Die Ergebnisse dieser Studie sind in der Tabelle unten zusammengefasst.

In den Studien zu endemischen Regionen für HTLV-II wurden insgesamt 525 Proben von einer Population nordamerikanischer Indianer aus New Mexico (361) und dem Kayapo-Stamm aus dem Amazonasgebiet in Brasilien (164) verwendet. In zusätzlichen Tests für Forschungszwecke (Western Blot, IFA, RIPA oder in manchen Fällen PCR) wurde ermittelt, dass 60 Proben aus beiden Populationen HTLV-II-positiv waren. Von den Proben waren 58 in diesem Assay wiederholt reaktiv. Die beiden Proben, die sich in diesem Assay als nicht reaktiv erwiesen, stammten von der Population der Kayapo-Indianer. Alle HTLV-II-Proben der Population nordamerikanischer Indianer, die in zusätzlichen Tests positiv getestet wurden, waren in diesem Assay wiederholt reaktiv. Eine Probe aus der Population nordamerikanischer Indianer war in diesem Assay wiederholt reaktiv, aber im zusätzlichen Test (Western Blot) nicht positiv für HTLV-II-Antikörper. Die Ergebnisse dieser Studie sind in der nachfolgenden Tabelle 5 zusammengefasst.

**Tabelle 5: Reaktivität gegenüber Proben von Populationen aus endemischen Regionen für HTLV-I und HTLV-II**

Endemische Region	Anz. getestet	Anzahl positiver Proben in den zusätzlichen Tests <sup>a</sup>	Anz. wiederholt reaktiver Proben	Anz. (Prozent) positiver Proben in den zusätzlichen Tests, die in EIAs wiederholt reaktiv waren
Pazifikinseln (HTLV-I)	532	20 <sup>b</sup>	20	20 (100 %)
New Mexico (HTLV-II)	361	7 <sup>c</sup>	8	7 (100 %)
Brasilien (HTLV-II)	164	53 <sup>c</sup>	51 <sup>d</sup>	51 (96,2 %)

<sup>a</sup> In diesen Studien war ein positives Ergebnis als Vorhandensein von Antikörpern gegen zwei Genprodukte (gag, p19 bzw. p24 und env, gp46 bzw. 61/68) mittels Western Blot bzw. RIPA definiert.

Weitere zusätzliche Tests und die Differenzierung nach den Typen HTLV-I und HTLV-II erfolgten mittels der folgenden Assays für Forschungszwecke: Reaktivität gegenüber rekombinantem oder nativem gp46-I- oder gp46-II-Peptid mittels Western Blot, HTLV-I- und HTLV-II-Peptid-EIAs, HTLV-I- und HTLV-II-IFA bzw. PCR (unter Verwendung spezifischer Primer für die *tax*- und *pol*-Regionen).

<sup>b</sup> Die Anzahl der in den zusätzlichen Tests positiven Proben basierte auf den Ergebnissen von Western-Blot-, IFA- und RIPA-Tests für HTLV-I/II für Forschungszwecke für alle Proben, die wiederholt reaktiv waren oder im ELISA innerhalb einer negativen 20 %-Grauzone lagen.

<sup>c</sup> Die Anzahl der in zusätzlichen Tests positiven Proben basierte auf den Ergebnissen von Western-Blot-, IFA- und RIPA-Tests für Forschungszwecke für HTLV-I/II für alle Proben (361 aus New Mexico und 164 aus Brasilien).

<sup>d</sup> Die beiden Proben waren im Western Blot unbestimmt, im RIPA positiv für HTLV-Antikörper, im IFA positiv für HTLV-II-Antikörper und in der PCR positiv für HTLV-DNA.

## LEISTUNGSMERKMALE DES IN EINER NEUEN ANLAGE HERGESTELLTEN ASSAYS

Das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System ist identisch mit dem Vironostika® HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System, das zuvor von bioMerieux, Inc. hergestellt wurde, wird aber in einer anderen Produktionsstätte hergestellt. Studien, die durchgeführt wurden, um die Leistung des in der neuen Produktionsstätte hergestellten Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems zu untersuchen, zeigten, dass der in der neuen Produktionsstätte hergestellte Assay eine Reproduzierbarkeit, Spezifität und Sensitivität aufweist, die mit den Werten der in der früheren Produktionsstätte hergestellten Testkits vergleichbar sind.

### Reproduzierbarkeit

Um die Reproduzierbarkeit des in der neuen Produktionsstätte hergestellten Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems zu demonstrieren, wurde eine Testreihe, die aus HTLV-I- und HTLV-II-Antikörper-positiven Proben mit verschiedenen Reaktivitätsgraden (vier HTLV-I und vier HTLV-II) und zwei negativen Proben bestand, mit jeder von drei Chargen des Kits in einem Zeitraum von vier Tagen unter Verwendung des manuellen Testverfahrens von zwei Analytikern getestet. Jede Probe wurde an jedem der vier Tage viermal getestet. Der Gesamt-CV für die positiven Proben lag bei Verwendung der drei Validierungsschichten im Bereich von 8,9 - 19,7 % (n=96) im Vergleich zum Gesamt-CV-Bereich von 11,1 - 15,9 % für die positiven Proben bei Verwendung des in der früheren Produktionsstätte hergestellten Assays (n=288, 3 Prüfzentren, 3 Chargen, 2 die Tests durchführende Personen, 4 Tage und viermal durchgeführte Tests).

**Tabelle 6: Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsstudie für das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System (manuelles Verfahren)**

Test-reihen-kennung	Status	N	S/C-Mittel-wert	Insgesamt				Interassay		Intraassay	
				SD	%CV	S/C kleiner 95 % CI	S/C größer 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 <sup>a</sup>	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 <sup>a</sup>	Neg	96	0,23	0,020	8,7	0,22	0,23	0,016	7,2	0,012	5,4

a Probe negativ für Antikörper gegen HTLV-I und Antikörper gegen HTLV-II

### Spezifität

Um zu demonstrieren, dass die klinische Spezifität des in der neuen Produktionsstätte hergestellten Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems mit derjenigen des ursprünglich zugelassenen Tests vergleichbar ist, wurden Serum- (n = 1000) und Plasma- (n = 1000) Proben mit unbekanntem Status aus Populationen mit niedrigem Risiko (Blutspender) mit drei Kit-Chargen getestet, wobei das manuelle Testverfahren verwendet wurde. Mit jeder Charge wurde eine ähnliche Anzahl von Proben getestet. Von den 200 getesteten Proben waren zwei wiederholt reaktiv (siehe Tabelle 7). Beide Proben waren in einem IFA und Western Blot für HTLV-I und HTLV-II für Forschungszwecke negativ. Daher betrug die in dieser Studie beobachtete geschätzte Spezifität des Avioq Assays 1998/2000 = 99,90 % (95 % CI von 99,44 – 100 %) im Vergleich zu 11409/11415 = 99,95 % (95 % CI von 99,89 – 99,98 %) für den in der vorherigen Anlage hergestellten Assay.

**Tabelle 7: Geschätzte Spezifität des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems bei nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Blutspendern**

Anz. getestet	Nicht reaktiv	Wiederholt reaktiv	Positiv in zusätzlichen Tests	Geschätzte Spezifität (%)	95 %-Konfidenzintervalle der Spezifität (%)	
<b>Serum</b>	1000	999	1	0	99,90	99,44 100,00
<b>Plasma</b>	1000	999	1	0	99,90	99,44 100,00

### Sensitivität

Um zu untersuchen, ob die klinische Sensitivität des in der neuen Produktionsstätte hergestellten Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems mit derjenigen des ursprünglich zugelassenen Tests vergleichbar war, wurde eine Testreihe von 200 gelagerten seropositiven Proben (100 HTLV-I und 100 HTLV-II) mittels des manuellen Testverfahrens an drei Kit-Chargen getestet (Tabelle 8). Bei allen Proben war zuvor mit einem von der FDA zugelassenen HTLV-I/II-Spender-Screening-Test festgestellt worden, dass sie wiederholt reaktiv waren, und mit einem zusätzlichen Tests für Forschungszwecke (WB, IFA bzw. RIPA) war bestätigt worden, dass sie positiv waren. Siebenundachtzig Prozent dieser Proben stammten von Blutspendern aus den USA, und keine davon war zuvor mit dem ursprünglich zugelassenen Vironostika-Assay getestet worden. Die in dieser Studie beobachtete geschätzte Sensitivität des Assays betrug 200/200 = 100 % (95 % CI von 98,17 – 100 %) im Vergleich zu 636/636 = 100 % (95 % CI von 99,97 – 100 %) für den in der vorherigen Anlage hergestellten Assay.

**Tabelle 8: Reaktivität des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems gegenüber gelagerten HTLV-I/II-seropositiven Proben**

Getestete Anzahl	Anz. der wiederholt als reaktiv getesteten Proben	Anz. nicht reaktiver Proben	Geschätzte Sensitivität (%)	95 %-Konfidenzintervalle der Sensitivität (%)	
200	200	0	100,00	98,17	100,00

### LEISTUNGSMERKMALE DES ORTHO® SUMMIT-SYSTEMS (OSS) MIT DEM ORTHO® SUMMIT-PROBENHANDHABUNGSSYSTEM (SUMMIT-PIPETTIERAUTOMAT)

## Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems in Verbindung mit dem OSS-Instrument wurde mit einer Testreihe von 10 Proben bestimmt, die jeweils zweimal getestet wurden (vier HTLV-I-positiv, vier HTLV-II-positiv und zwei negativ). Die Studie wurde an zwei Prüfzentren mit insgesamt drei Instrumenten zweimal täglich über vier Tage durchgeführt, wobei eine Validierungscharge des Assay-Kits verwendet wurde, und mit einer Untersuchung dieser Testreihe unter Verwendung des manuellen Verfahrens und derselben Validierungscharge verglichen. Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 9 zusammengefasst.

**Tabelle 9: Reproduzierbarkeitsstudie für das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System mit dem OSS (automatisiertes Verfahren)**

Testreihen-kennung	Status	N	S/C-Mittel-wert	Insgesamt				Zwischen den Prüfzentren		Innerhalb der Prüfzentren	
				SD	%CV	S/C kleiner 95 % CI	S/C größer 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 <sup>a</sup>	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 <sup>a</sup>	Neg	96	0,13	0,028	20,7	0,13	0,14	0,023	17,0	0,016	12,1

<sup>a</sup> Probe negativ auf Antikörper gegen HTLV-I und HTLV-II

Die Reproduzierbarkeitsstudie zeigte, dass die Gesamt-Variabilität für die positiven Proben bei Verwendung des OSS-Verfahrens von 6 % bis 10 % im Vergleich zu 8,9 bis 19,7 % für die positiven Proben unter Verwendung des manuellen Verfahrens reichte (siehe Tabelle 6).

## Analytische Sensitivität

Um zu zeigen, dass die analytische Sensitivität des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems mit dem OSS-Instrument mit derjenigen des manuellen Verfahrens vergleichbar ist, wurden acht Verdünnungstestreihen (zweifache serielle Verdünnungen von vier HTLV-I- und vier HTLV-II-Antikörper-positiven Proben bis zum Cut-Off-Wert des Assays) sowohl mit dem manuellen als auch mit dem automatisierten Verfahren getestet. Zum Vergleich der Korrelation der beiden Verfahren wurde die Deming-Regressionsanalyse durchgeführt. Diese Analyse zeigte, dass für das S/CO-Verhältnis beider Formate eine hohe Korrelation bestand, wobei der Korrelationskoeffizient 0,94 betrug. Ein gepaarter t-Test wurde durchgeführt, um die Äquivalenz des S/CO-Verhältnisses zwischen den beiden Verfahren zu belegen. Der Gesamt-S/CO-Mittelwert für das manuelle Verfahren betrug 3,143 (n=459) im Vergleich zu einem Gesamtmittelwert von 4,198 (n=459) mit dem OSS-Instrument. Obwohl dieser Unterschied statistisch signifikant ist, war die anhand der Endpunktverdünnungen bestimmte Sensitivität der beiden Verfahren vergleichbar (d. h., dass der mit dem OSS-Instrument durchgeführte Assay keine geringere Sensitivität aufwies).

## Sensitivität

Eine Testreihe von 100 Proben von Blutspendern, die in einem Assay mit FDA-Zulassung wiederholt reaktiv waren, wurde mit dem Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System getestet, wobei beide Verfahren (das manuelle Verfahren und das automatisierte Verfahren mit dem OSS-Instrument) verwendet wurden. Fünfundneunzig (95) Proben waren mit beiden Assayverfahren (manuell und automatisiert) wiederholt reaktiv (Konkordanz 100 %). Fünf (5) der 100 Proben der Testreihe waren bei Verwendung des Avioq Assays (sowohl manuell als auch automatisiert) nicht reaktiv. Eine zusätzliche Bestätigungsuntersuchung dieser fünf Proben zeigte, dass keine davon bei einem zusätzlichen Test positiv war. Es sei darauf hingewiesen, dass diese Proben vor der Untersuchung fünf Gefrier-/Auftauzyklen unterzogen worden waren; von Avioq erhaltene Daten deuten darauf hin, dass Proben einmal gefroren und aufgetaut werden können, ohne einen Aktivitätsverlust zu erleiden.

Das mittels des Avioq Assays bestimmte S/CO-Verhältnis der 95 Proben reichte beim manuellen Verfahren von 1,058 – 8,400 und beim automatisierten Verfahren mit dem OSS von 1,280 – 7,403; der Korrelationskoeffizient für das S/CO-Verhältnis betrug 0,94. Bei einem zusätzlichen Test für Forschungszwecke erwiesen sich 29 dieser Proben als positiv für Antikörper gegen HTLV-I, 46 als positiv für Antikörper gegen HTLV-II und 20 als positiv für Antikörper gegen HTLV-I/II (nicht typisiert).

## Klinische Spezifität

Zur Beurteilung der Spezifität des Assays bei Verwendung des automatisierten ORTHO® Summit-Systems (OSS) wurde eine Studie an zwei Prüfzentren durchgeführt. Untersucht wurden insgesamt 16.339 Serum- und Plasmaproben, die nach dem Zufallsprinzip von freiwilligen Blutspendern gesammelt worden waren. Die Ergebnisse dieser Tests sind in Tabelle 10 zusammengefasst.

**Tabelle 10: Zusammenfassung der Ergebnisse für die klinische Spezifität für das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System mit dem OSS (automatisiertes Verfahren)**

	Prüfzentrum 1			Prüfzentrum 2			Alle Prüfzentren/Chargen kombiniert			
	Charge 10003	Charge 10004	Charge 10005	Charge 10003	Charge 10004	Charge 10005				
Getestete Anzahl	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16.339			
Nicht reaktiv	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16.330			
Anfänglich reaktiv	2	0	1	3	3	2	11			
Wiederholt reaktiv	2	0	0	3	2	2	9			
Bestätigte positive Proben	0	N/V	N/V	0	0	0	0			
Falsch-positive Proben insgesamt	2			7			9			
Insgesamt getestet	4.090			12.249			16.339			
Geschätzte Spezifität	99,95 %			99,94 %			99,94 %			
95 % CI	99,82 %-99,99 %			99,88 %-99,98 %			99,90 %-99,97 %			
Geschätzte Gesamtspezifität	99,95 %									
95 % CI	99,89 % bis 99,98 %									

Von den 16.339 getesteten Proben von Blutspendern waren neun wiederholt reaktiv. Auf der Grundlage der Testergebnisse, die mit einem Western Blot für Forschungszwecke (Prüfzentrum 1) oder einer IFA (Prüfzentrum 2)

erhalten worden waren, wurden alle neun als falsch positiv eingestuft. Die Konfidenzintervalle für die geschätzte Spezifität für den Avioq Assay für alle drei Chargen an allen Prüfzentren und kombiniert für alle Prüfzentren und Chargen überlappten mit denjenigen für den Vironostika-Assay (95% CI: 99,89 – 99,98 %). Die geschätzte Gesamtspezifität des Avioq HTLV-I/II-Assays mit dem OSS betrug  $16.330/16.339 = 99,94\%$  (95 % CI: 99,90 - 99,97 %) im Vergleich zu  $11.409/11.415 = 99,95\%$  (95 % CI: 99,89 - 99,98 %) unter Verwendung des manuellen Verfahrens.

Diese Studien belegten, dass die Leistung des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems mit dem OSS-Instrument mit derjenigen vergleichbar ist, die mit dem manuellen Testverfahren erhalten wurde.

## LEISTUNGSMERKMALE DES ORTHO® SUMMIT-SYSTEMS (OSS) MIT DEM ORTHO VERSEIA® PIPETTIERAUTOMATEN

### Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems bei Verwendung des OSS mit dem ORTHO VERSEIA® Pipettierautomaten wurde mit einer Testreihe untersucht, die aus drei HTLV-I-positiven, zwei HTLV-II-positiven Proben und einer negativen Probe bestand. Die Studie wurde an drei Prüfzentren mit insgesamt fünf VERSEIA® und zum Vergleich mit SUMMIT-Pipettierautomaten durchgeführt, wobei mit jedem der Pipettierautomaten sechs Wiederholungen in zwei Analysedurchgängen pro Tag in einem Zeitraum von fünf nicht aufeinanderfolgenden Tagen untersucht wurden. Die Ergebnisse dieser Studie sind in Tabelle 11 zusammengefasst. Die Reproduzierbarkeitsstudie zeigte, dass die Gesamtvariabilität der beiden Instrumententypen vergleichbar war.

**Tabelle 11: Reproduzierbarkeitsstudie für das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System mit dem OSS**

Testreihen- kennung	SUMMIT-Pipettierautomat					VERSEIA® Pipettierautomat						
	N	Mittel- wert	SD	%CV	S/C 95 % CI		N	Mittel- wert	SD	%CV	S/C 95 % CI	
					Untere Grenze	Obere Grenze					Untere Grenze	Obere Grenze
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 (negativ)	150	0,061	0,016	26,0	0,059	0,064	149	0,060	0,016	26,6	0,058	0,063

### Analytische Sensitivität

Um zu zeigen, dass die analytische Sensitivität des Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-Systems bei Verwendung des OSS mit dem VERSEIA® Pipettierautomaten mit derjenigen mit dem SUMMIT-Pipettierautomaten vergleichbar ist, wurden zehn Verdünnungstestreihen (vier Verdünnungen mit einem Ziel-S/C im Bereich von 0,5 bis 3,0 von fünf HTLV-I- und fünf HTLV-II-Antikörper-positiven Proben bis zum Cut-Off-Wert des Assays) mit beiden Instrumenten getestet. Zum Vergleich der Korrelation der beiden Verfahren wurde die Deming-Regressionsanalyse durchgeführt. Diese Analyse zeigte, dass für das S/CO-Verhältnis bei beiden Instrumenten eine hohe Korrelation bestand, wobei der Anstieg 1,00, der Schnittpunkt 0,01 und der Pearson-Korrelationskoeffizient (r) 1,00 betrugen.

### Sensitivität

In dieser Studie wurde eine Sensitivitätstestreihe aus 104 gefrorenen HTLV-Antikörper-positiven Proben (52 HTLV-I- und 52 HTLV-II-Antikörper-positive Proben) verwendet. Diese Proben wurden hergestellt, indem gefrorene positive Proben so verdünnt wurden, dass man eine Kombination von Proben mit geringer bis mäßiger Reaktivität erhielt. Somit war zu erwarten, dass die Ergebnisse einiger dieser Proben mit Signal-Cut-Off-Werten bei 1,000 sich dahingehend ändern, dass sie oberhalb (positiv) oder unterhalb (negativ) des Cut-Off-Wertes liegen.

Jeweils drei Proben wurden an jedem der drei Prüfzentren mit den SUMMIT- und VERSEIA® Pipettierautomaten getestet. Insgesamt erhielt man 935 gültige Ergebnisse, für die Datenanalyse für jedes

Instrument verwendet wurden. Von den 935 Beobachtungen waren 98,1 % (917/935) der Ergebnisse für den Summit-Pipettierautomaten reaktiv, während 98,5 % (921/935) der Ergebnisse für den VERSEIA® Pipettierautomaten reaktiv waren. Der McNemar-Test auf Diskordanzen ergab einen *p*-Wert von 0,3438 und damit keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Pipettierautomaten, was darauf hindeutet, dass das Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System mit dem VERSEIA® Pipettierautomaten kompatibel ist.

### Klinische Spezifität

Insgesamt 3.146 nach dem Zufallsprinzip ausgewählte Serum- und Plasmaproben von Spendern wurden einmalig mit beiden Instrumententypen (SUMMIT und VERSEIA®) an drei Prüfzentren getestet, wobei an jedem Prüfzentrum eine ähnliche Anzahl Proben getestet wurde. Von den 3.146 getesteten Proben waren 3.140 bei beiden Instrumententypen nicht reaktiv. Fünf der übrigen 6 Proben waren bei beiden Pipettierautomaten reaktiv, wobei eine bei den beiden Typen von Pipettierautomaten nicht übereinstimmende Testergebnisse ergab (reakтив mit VERSEIA®, aber nicht reaktiv mit Summit); alle sechs Proben ergaben bei einer Western-Blot-Analyse unbestimmte Ergebnisse. Unter der Annahme, dass alle Proben negativ für HTLV-Antikörper waren, betrug die Spezifität des Assays 99,81 % (95 % CI: 99,59 % - 99,93 %) bzw. 99,84 % (95 % CI: 99,63 % - 99,95 %), wenn sie mit VERSEIA® bzw. Summit- Instrumenten verwendet wurden (Tabelle 12). Eine statistische Analyse belegte, dass es hinsichtlich der Spezifität keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Instrumententypen gab (99,81 % im Vergleich zu 99,84 %).

**Tabelle 12: Zusammenfassung der Ergebnisse für die klinische Spezifität**

		SUMMIT-Pipettierautomat			Insgesamt
		Positiv	Negativ		
VERSEIA® Pipettier- automat	Positiv	5	1	6 (0,19 %)	
	Negativ	0	3140	3140 (99,81 %)	
	Insgesamt	5 (0,16 %)	3141 (99,84 %)	3146 (100,00 %)	

### LEISTUNGSMERKMALE DER UNTERSUCHUNGEN AN PROBEN VON LEICHEN

#### Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit wurde anhand von 20 nicht reaktiven Proben von Leichen (10 Serum/10 Plasma) und 20 nicht-reaktiven Proben von lebenden Spendern (10 Serum/10 Plasma) beurteilt. Je 5 Serum- und 5 Plasmaproben von jeder Spender-Source (Leichen und lebende Spender) wurden mit Anti-HTLV-I- oder Anti-HTLV-II-Source-Material auf eine Zielreaktivität von 2,0 S/CO (Verhältnis zwischen Signal und Cut-Off-Wert, signal to cutoff ratio) dotiert. Die dotierten Proben wurden jeweils einmal an sechs verschiedenen Tagen mit jeder der drei Kit-Chargen an einem Prüfzentrum getestet. Der prozentuale CV der Spenden von Leichen und lebenden Spendern war vergleichbar.

**Tabelle 13: Reproduzierbarkeit des Assays bei Proben von Leichen und von lebenden Spendern**

Prä/P ost	Typ	Matrix	N	Mit- tel- wert	Klein- er 95 %	Größer 95 %	Gesamt _SD	Gesamt _CV	Inter_S D	Inter_C V	Intra_S D	Intra_C V
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
PRÄ	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

Prä/P ost	Typ	Matrix	N	Mit- tel- wert	Klein- er 95 %	Größer 95 %	Gesamt _SD	Gesamt _CV	Inter_S D	Inter_C V	Intra_S D	Intra_C V
		Serum	90	1,96	1,88779	2,03181	0,344	17,5	0,280	14,3	0,208	10,6

## Sensitivität

Die getesteten Proben umfassen etwa eine gleich große Anzahl an Serum- und Plasmaproben aus Post-mortem-Proben (C; n=91; 46 Serum, 45 Plasma) und Proben von normalen Spendern (N; n=91; 45 Serum, 46 Plasma). Die Proben wurden zuvor auf HTLV-I/II getestet, wobei keine Reaktivität festgestellt wurde. Anhand der Proben wurden HTLV-I- und HTLV-II-dotierte Testreihen zusammengestellt. Die Proben wurden jeweils halbiert und mit einer vordefinierten Menge an HTLV-I- oder HTLV-II-positivem Antikörperserum dotiert. Zur Ermittlung der Sensitivität wurden die HTLV-I- und HTLV-II-seropositiven Proben sowohl von Leichen als auch von lebenden Spendern anhand von drei HTLV-I/II-Kit-Chargen an zwei Prüfzentren getestet. Negative Ergebnisse des ELISA-Tests wurden als falsch-negative betrachtet. Die Sensitivität und das 95 %-Konfidenzintervall wurden sowohl für Proben von Leichen als auch für Proben von lebenden Spendern berechnet, die jeweils mit HTLV-I- und HTLV-II-positiven Antikörpern dotiert waren (siehe nachfolgende Tabelle 14). Die geschätzte Gesamtsensitivität des Avioq HTLV-I/II-Microelisa-Systems bei dotierten Proben von Leichen liegt bei 100 % mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 92,29 % bis 100,00 % für Serum bzw. 92,13 % bis 100 % für Plasma.

**Tabelle 14: Reaktivität bei dotierten Post-mortem-Proben und Proben von normalen Spendern**

Prüf zent rum	Chargen- nummer	Proben- typ (Serum)	Getest- ete Anzahl	Anfänglich nicht-reaktiv	Anfänglich reaktiv	Reaktiv (%)	95 %- Konfidenzinter- vall
1	1	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
	2	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
	3	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
2	1	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
	2	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
	3	C	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
		N	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
Prüf zent rum	Chargen- nummer	Proben- typ (Serum)	Getest- ete Anzahl	Anfänglich nicht-reaktiv	Anfänglich reaktiv	Reaktiv (%)	95 %- Konfidenzinter- vall
1	1	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
	2	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
	3	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00

2	1	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
	2	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00
	3	C	45	0	45	100 %	92,13 – 100,00
		N	46	0	46	100 %	92,29 – 100,00

## Spezifität

Es wurden sowohl Post-mortem-Proben (C) von Leichen (n=45) als auch normale Proben (N) von lebenden Spendern (n=45; aus einer Population mit niedrigem Risiko (Blutbank) gesammelt) gemäß der Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage) für das Avioq HTLV-I/II-Microelisa-System anhand von drei HTLV-I/II-Kit-Chargen an zwei Prüfzentren getestet. Die Spezifität und das 95 %-Konfidenzintervall wurden sowohl für Proben von Leichen als auch für Proben von lebenden Spendern berechnet (siehe nachfolgende Tabelle 15). Die geschätzte Gesamtspezifität des Avioq HTLV-I/II-Microelisa-Systems bei Plasmaproben von Leichen liegt bei 100 % mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 92,13 % bis 100,00 %.

**Tabelle 15: Geschätzte Spezifität bei Post-mortem-Plasmaproben und nach dem Zufallsprinzip ausgewählten Plasmaproben**

Prüfzentrum	Charge	Probentyp (Plasma)	Getestete Anzahl	Nicht reaktiv	Bei Wiederholung reaktiv	Geschätzte Spezifität (%) <sup>*</sup>	95 %-Konfidenzintervall für Spezifität (%) <sup>**</sup>
Prüfzentrum 1	Charge 1	Leiche	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0
	Charge 2	Leiche	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0
	Charge 3	Leiche-	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0
Prüfzentrum 2	Charge 1	Leiche	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0
	Charge 2	Leiche	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0
	Charge 3	Leiche	45	45	0	100	92,13 – 100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13 – 100,0

$$* = \frac{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl wiederholt reaktiv})}{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl bestätigt positiv})} \times 100$$

\*\* = Die Konfidenzintervalle für die Spezifität wurden mit dem exakten Verfahren berechnet.

Es wurden Serumproben von 218 verschiedenen Post-mortem-Spendern gemäß der Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage) des Avioq HTLV-I/II-Microelisa-Systems mit einer von drei HTLV-I/II-Kit-Chargen (etwa 1/3 der Proben pro Charge) an einem einzelnen Prüfzentrum getestet. Die Spezifität und das 95 %-Konfidenzintervall wurden gemäß der nachfolgenden Tabelle 16 berechnet. Die geschätzte Gesamtspezifität des Avioq HTLV-I/II-Microelisa-Systems bei Proben von Leichen liegt bei 100 % mit einem 95 %-Konfidenzintervall von 98,32 % bis 100,00 %.

**Tabelle 16 – Geschätzte Spezifität bei Post-mortem-Serumproben**

Charge	Probentyp (Serum)	Getestete Anzahl***	Anfänglich nicht-reakтив	Bei Wiederholung reaktiv	Geschätzte Spezifität (%)*	95 %-Konfidenzintervall für Spezifität (%)**
Charge	Leiche	73	73	0	100	95,07 – 100,0
Charge	Leiche	73	73	0	100	95,07 – 100,0
Charge	Leiche	72	71	0	100	95,01 – 100,0
	Total	218	217	0	100	98,32 – 100,0

$$* = \frac{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl wiederholt reaktiv})}{(\text{Anzahl gescreent} - \text{Anzahl bestätigt positiv})} \times 100$$

\*\* = Die Konfidenzintervalle für die Spezifität wurden mit dem exakten Verfahren berechnet.

\*\*\* = In einer separaten Studie wurden jeweils 46 Proben von Leichen und 46 normale Proben von lebenden Spendern anhand von drei verschiedenen HTLV-I/II-Kit-Chargen an zwei Prüfzentren getestet. Eine Probe von einer Leiche war an beiden Prüfzentren über alle drei Kit-Chargen hinweg wiederholt reaktiv. Eine zweite Probe von einer Leiche war an einem Prüfzentren über alle drei Kit-Chargen hinweg sowie am anderen Prüfzentrum über zwei Kit-Chargen wiederholt reaktiv.

## Literatur

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. Pharmacopoeia 23 / National Formulary 18: 1995; Purified Water: S. 1637 und 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.

## VERFÜGBARKEIT

Avioq Inc.

### Avioq HTLV-I/II-Mikro-ELISA-System

Kit, 192 Tests



Produktnummer 500192

Kit, 576 Tests



Produktnummer 500576

Kit, 9600 Tests



Produktnummer 509600

Waschpuffer, 100-ml-Flasche



Produktnummer 559879

Waschpuffer, 4 X 100-ml-Flaschen



Produktnummer 559880

In den USA erhalten Sie vom Avioq Customer Service unter der Telefonnummer 1-919- 314- 5535 technische Unterstützung.

Außerhalb der USA erhalten Sie technische Unterstützung von Emergo Europe unter der Telefonnummer (31)(0)70345-8570.

EnzAbody ist eine eingetragene Marke von bioMérieux in den USA und in anderen Ländern.



Avioq, Inc.  
76 T.W. Alexander Drive  
Durham, North Carolina 27713  
[www.Avioq.com](http://www.Avioq.com)



EMERGO EUROPE  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT, Arnhem  
The Netherlands

Hergestellt in den Vereinigten Staaten

US-Lizenznummer 1856

Oktober 2025

CE 2797