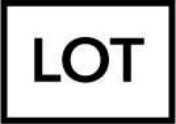




Σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II

Κυριότερα σύμβολα που χρησιμοποιούνται

	Αριθμός καταλόγου		Συμβουλευτείτε τις οδηγίες χρήσης
	Κωδικός παρτίδας		Ιατροτεχνολογικό βοήθημα που χρησιμοποιείται στη διάγνωση in vitro
	Ημερομηνία λήξης		Ορός θετικού ελέγχου
	Όριο θερμοκρασίας		Ορός αρνητικού ελέγχου
	Δεν περιέχει λατέξ		Περιεχόμενο επαρκές για <n> δοκιμασίες
	Προσοχή		Μακριά από τις ηλιακές ακτίνες

Σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II



ΠΡΟΒΛΕΠΟΜΕΝΗ ΧΡΗΣΗ

Το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II είναι μια ποιοτική ανοσοπροσροφητική ανάλυση με σύνδεση ενζύμου (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) για την ανίχνευση αντισωμάτων έναντι του ανθρώπινου Τ-κυτταρικού λεμφοτρόπου ιού τύπου Ι (Human T-Lymphotropic Virus Type I, HTLV-I) ή/και του ανθρώπινου Τ-κυτταρικού λεμφοτρόπου ιού τύπου ΙΙ (HTLV-II) σε ορό, πλάσμα και πτωματικά δείγματα ανθρώπου. Προορίζεται για τον έλεγχο διαλογής μεμονωμένων ατόμων που είναι δότες, συμπεριλαμβανομένων των εθελοντών αιμοδοτών ολικού αίματος και παραγώγων αίματος καθώς και άλλων ζώντων δοτών, για την ανίχνευση της παρουσίας αντισωμάτων έναντι των HTLV-I/HTLV-II, καθώς επίσης και για χρήση ως βοήθημα στην κλινική διάγνωση της λοίμωξης από HTLV-I ή HTLV-II και των σχετικών ασθενειών. Προορίζεται επίσης για χρήση στην εξέταση δειγμάτων ορού και πλάσματος για τον έλεγχο διαλογής δοτών οργάνων, εφόσον τα δείγματα λαμβάνονται ενόσω εξακολουθεί να πάλλεται η καρδιά του δότη, καθώς και στην εξέταση δειγμάτων για τον έλεγχο διαλογής πτωματικών (χωρίς πάλλουσα καρδιά) δοτών. Δεν προορίζεται για χρήση σε δείγματα αίματος ομφαλίου λώρου. Η μέθοδος προορίζεται για εκτέλεση είτε μη αυτόματα είτε σε συνδυασμό με το σύστημα ORTHO® Summit System (OSS) για τον έλεγχο διαλογής αιμοδοτών.

ΠΕΡΙΛΗΨΗ ΚΑΙ ΕΠΕΞΗΓΗΣΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Ο HTLV-I είναι ένας ανθρώπινος ρετροϊός τύπου C, ο οποίος εμπλέκεται στην αιτιολογία της λευχαιμίας εκ Τ κυττάρων των ενηλίκων (Adult T-Cell Leukemia, ATL)¹⁻⁴ και μιας απομυελινωτικής νευρολογικής διαταραχής που ονομάζεται τροπική σπαστική παραπάρεση ή μυελοπάθεια σχετιζόμενη με τον HTLV-I (Tropical Spastic Paraparesis / HTLV-I Associated Myelopathy, TSP/HAM). Αντισώματα έναντι του HTLV-I ανευρίσκονται σε υψηλό ποσοστό των ατόμων που πάσχουν από τις διαταραχές αυτές. Ωστόσο, μελέτες σε περιοχές όπου ενδημεί ο ιός έδειξαν με υψηλή βεβαιότητα ότι υπάρχουν και περιστατικά ATL και TSP/HAM αρνητικά ως προς τον ιό. Πιο πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι η λοίμωξη από τον HTLV-I συνδέεται με χρόνια λεμφοκυτταρική λευχαιμία (ΧΛΛ) εκ Β και Τ κυττάρων,^{5,6} με πολλαπλό μύελωμα,⁷ με ορισμένες περιπτώσεις λεμφώματος μη Hodgkin (NHL),⁸ με πολυμυοσίτιδα,⁹ αρθρίτιδα,^{10,11} σάρκωμα Kaposi,¹² ραγοειδίτιδα,¹³ στρογγυλοειδίτιση⁵ και σπογγιοειδή μυκητίαση.^{14,15} Ο HTLV-I ενδημεί σε ορισμένες χώρες της Καραϊβικής, στη νότια Ιαπωνία και πιθανώς σε κάποιες περιοχές της Αφρικής.¹⁶⁻²¹ Στις Ηνωμένες Πολιτείες έχει εντοπιστεί HTLV-I σε ασθενείς με ATL, σε χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών και σε υγιή άτομα.

Ένας άλλος συγγενικός ιός, ο HTLV-II, ενδημεί σε αρκετές φυλές ιθαγενών Αμερικανών²²⁻²⁵ αλλά η παθογόνος δράση του ιού αυτού δεν έχει αποδειχθεί με βεβαιότητα. Υψηλό ποσοστό ατόμων οροθετικών στον HTLV-II έχει παρατηρηθεί μεταξύ των χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών.²⁶⁻²⁸ Οι πρώτες περιπτώσεις ασθενών που αναφέρθηκαν με λοίμωξη HTLV-II παρουσίαζαν μια άτυπη μορφή της λευχαιμίας εκ τριχωτών κυττάρων, η οποία οφειλόταν σε Τ κύτταρα. Άλλες, πιο πρόσφατες παρατηρήσεις οδήγησαν στην υπόθεση πως ο HTLV-II συνδέεται με λευχαιμία εκ μεγάλων κοκκιωδών λεμφοκυττάρων (large granular lymphocyte leukemia, LGL),²⁹ με λευκοπενική χρόνια λευχαιμία εκ Τ κυττάρων,³⁰ με Τ-προλεμφοκυτταρική λευχαιμία,³¹ με σπογγιοειδή μυκητίαση¹⁴ και με χρόνιες νευροεκφυλιστικές νόσους^{32,33} όπως η μυελοπάθεια³⁴ και η σπαστική αταξία.³⁵ Τα αντισώματα έναντι του HTLV-II παρουσιάζουν σημαντική διασταυρούμενη αντίδραση με τα αντιγόνα του HTLV-I.

Η μετάδοση λοιμώξεων HTLV-I και HTLV-II σε μεταγχιζόμενους λήπτες μολυσμένων κυτταρικών παραγώγων αίματος έχει τεκμηριωθεί επαρκώς. Άλλοι γνωστοί τρόποι μετάδοσης είναι μέσω του μητρικού γάλακτος, μέσω σεξουαλικής επαφής και μέσω χρήσης μολυσμένων βελονών και συρίγγων από χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών. Η δυνατότητα περιγεννητικής μετάδοσης θεωρείται πιθανή αλλά δεν έχει αποδειχθεί ακόμη.

ΑΡΧΗ ΤΗΣ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ

Το σύστημα Microelisa Ανιोध HTLV-I/II είναι μια ανοσοπροσροφητική ανάλυση με σύνδεση ενζύμου, στην οποία η στερεά φάση (μικροβοθρία) έχει επικαλυφθεί με ένα κεκαθαρωμένο λύμα ιού HTLV-I, με ένα κεκαθαρωμένο λύμα ιού HTLV-II και με ένα ανασυνδυασμένο αντιγόνο HTLV-I p21E.

Μετά την προσθήκη ενός αραιωμένου εξεταζομένου δείγματος που περιέχει αντισώματα έναντι του HTLV-I ή του HTLV-II, σχηματίζονται συμπλέγματα λόγω αλληλεπίδρασης των αντισωμάτων του δείγματος με τα αντιγόνα της στερεάς φάσης. Μετά από επώαση, το δείγμα απομακρύνεται με αναρόφηση και το βοθρίο εκπλένεται με ρυθμιστικό διάλυμα. Κατόπιν προστίθενται ανοσοσφαιρίνες αιγός κατά ανθρωπίνων πρωτεϊνών συζευγμένες με υπεροξειδάση χρένου (HRP), οι οποίες δεσμεύονται στο σύμπλεγμα αντισώματος-αντιγόνου κατά τη διάρκεια μιας δεύτερης επώασης. Μετά από νέα έκπλυση και επώαση με υπόστρωμα τετραμεθυλοβενζιδίνης (TMB), παράγεται μπλε χρώμα. Η ενζυμική αντίδραση διακόπτεται με την προσθήκη διαλύματος θεικού οξέος, το οποίο αλλάζει το χρώμα σε κίτρινο. Η ποσότητα των ειδικών αντισωμάτων έναντι του HTLV-I ή του HTLV-II που υπάρχει στο δείγμα είναι ανάλογη της έντασης του χρώματος.



ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΑ

Συστατικά κάθε κιτ συστήματος Microelisa Ανιोध HTLV-I/II

192 δοκιμασίες	576 δοκιμασίες	9600 δοκιμασίες	
2 υποδοχείς ταινιών	6 υποδοχείς ταινιών	100 υποδοχείς ταινιών	Ταινίες Microelisa HTLV-I/II – Δώδεκα ανά υποδοχέα, καθεμία με 8 βοθρία επικαλυμμένα με αδρανοποιημένο λύμα ιού HTLV-I, με ένα ανασυνδυασμένο αντιγόνο του HTLV-I (p21E) και με αδρανοποιημένο λύμα ιού HTLV-II – περιέχονται σε θήκη από μεταλλικό φύλλο μαζί με ξηραντικό από γέλη πυριτίας.
1 φιαλίδιο (50 mg)	2 φιαλίδια (50 mg έκαστο)	4 φιαλίδια (50 mg έκαστο)	Πυκνό διάλυμα EnzAbody® για HTLV-I/II (EnzAbody Concentrate) – Ανοσοσφαιρίνη αιγός κατά πρωτεϊνών ανθρώπου συζευγμένη με υπεροξειδάση χρένου, ~0,06% κ.β. ή 30 μg, λυοφιλοποιημένη με ορό αιγός, σακχαρόζη και αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη.
1 φιάλη (55 ml)	2 φιάλες (55 ml έκαστη)	28 φιάλες (55 ml έκαστη)	Αραιωτικό EnzAbody® (EnzAbody Diluent) – Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει 10% ορό αιγός και μη ιοντικές επιφανειοδραστικές ουσίες. Συντηρητικά: θειική γενταμικίνη 0,2% και κινναμαλδεΰδη 0,02%.
1 φιάλη (100 ml)	2 φιάλες (100 ml έκαστη)	16 φιάλες (100 ml έκαστη)	Αραιωτικό δειγμάτων (Sample Diluent) – Αλατούχο ρυθμιστικό διάλυμα φωσφορικών που περιέχει 10% ορό αιγός, μη ιοντικές επιφανειοδραστικές ουσίες, χλωριούχο νάτριο, 0,14% αλβουμίνη ορού βοοειδών, αποβουτυρωμένο γάλα σε σκόνη και χρωστική αμαράνθη. Συντηρητικό: βρωμονιτροδιοξάνη 0,03% (κ.ό.).
1 φιάλη (22 ml)	2 φιάλες (22 ml έκαστη)	34 φιάλες (22 ml έκαστη)	Διάλυμα TMB (TMB Solution) – Κιτρικό οξύ με 0,03% τετραμεθυλοβενζιδίνη•2HCl.
1 φιάλη	2 φιάλες	34 φιάλες	Διάλυμα υπεροξειδίου (Peroxide Solution) –

(22 ml)	(22 ml έκαστη)	(22 ml έκαστη)	Ρυθμιστικό διάλυμα κιτρικού οξέος/κιτρικού νατρίου με 0,04% υπεροξειδίου καρβαμίδιου.
1 φιαλίδιο (1,5 ml)	2 φιαλίδια (1,5 ml έκαστο)	17 φιαλίδια (1,5 ml έκαστο) CONTROL -	Ορός αρνητικού ελέγχου (Negative Control Serum) – Ορός ανθρώπου με σταθεροποιητές πρωτεΐνες, μη αντιδρών για αντισώματα έναντι των HTLV-I, HTLV-II, HIV-1, HIV-2, HCV με βάση δοκιμασίες εγκεκριμένες από την FDA, και μη αντιδρών για τα αντιγόνα HBsAg και HIV-Ag. Συντηρητικό: βρωμονιτροδιοξάνη 0,05% (κ.ό.).
192 δοκιμασίες	576 δοκιμασίες	9600 δοκιμασίες	
1 φιαλίδιο (1,0 ml)	1 φιαλίδιο (1,0 ml)	12 φιαλίδια (1,0 ml έκαστο) CONTROL +	Ορός θετικού ελέγχου HTLV-I (HTLV-I Positive Control Serum) – Αδρανοποιημένος ορός ανθρώπου με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και χρωστική αμαράνθη E123, αντιδρών για αντισώματα έναντι του HTLV-I και μη αντιδρών για αντισώματα έναντι των HIV-1, HIV-2 και HCV με βάση δοκιμασίες εγκεκριμένες από την FDA, και μη αντιδρών για τα αντιγόνα HBsAg και HIV-Ag. Ενδέχεται να παρουσιάσει διασταυρούμενη αντίδραση με αντιγόνο HTLV-II. Συντηρητικό: βρωμονιτροδιοξάνη 0,05% (κ.ό.).
1 φιαλίδιο (1,0 ml)	1 φιαλίδιο (1,0 ml)	12 φιαλίδια (1,0 ml έκαστο) CONTROL +	Ορός θετικού ελέγχου HTLV-II (HTLV-II Positive Control Serum) – Αδρανοποιημένος ορός ανθρώπου με σταθεροποιητές πρωτεϊνών και χρωστική μπλε πατεντέ E131, αντιδρών για αντισώματα έναντι του HTLV-I και μη αντιδρών για αντισώματα έναντι των HIV-1, HIV-2 και HCV με βάση δοκιμασίες εγκεκριμένες από την FDA, και μη αντιδρών για τα αντιγόνα HBsAg και HIV-Ag. Ενδέχεται να παρουσιάσει διασταυρούμενη αντίδραση με αντιγόνο HTLV-I. Συντηρητικό: βρωμονιτροδιοξάνη 0,05% (κ.ό.).
1 έκαστο	1 έκαστο	5 έκαστο	Σφιγκτήρας και ράβδος (ή αντίστοιχο) – Εξαρτήματα κλεισίματος για τις θήκες από μεταλλικό φύλλο.
10 φύλλα	20 φύλλα	30 φύλλα	Σφραγίσματα πλακιδίων – Αυτοκόλλητα.

Σημείωση: Το πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (Wash Buffer Concentrate) παρέχεται συμπληρωματικά στο κιτ.

Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, αρ. προϊόντος 559879, παρέχεται σε 1 φιάλη (100 ml)

Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, αρ. προϊόντος 559880, παρέχεται σε 4 φιάλες (4X100 ml)

Σημείωση: Το απαιτούμενο διάλυμα διακοπής (Stop Solution) είναι διάλυμα θεικού οξέος 2N και δεν παρέχεται από την Ανίοq. Μη χρησιμοποιήσετε κανένα άλλο διάλυμα διακοπής για αυτή την ανάλυση.



ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΕΙΣ ΚΑΙ ΠΡΟΦΥΛΑΞΕΙΣ

1. **Προσοχή:** Να χειρίζεστε όλα τα βιολογικά υλικά του κιτ **Ανιοq HTLV-I/II** ως υλικά ικανά να μεταδώσουν λοιμογόνους παράγοντες. Τα αντιγόνα με τα οποία επικαλύπτονται τα βοηθία Microelisa έχουν υποβληθεί σε διαδικασίες αδρανοποίησης ιών μέσω διάρρηξης με απορρυπαντικά, ενώ οι **οροί θετικού ελέγχου HTLV-I και HTLV-II** έχουν αδρανοποιηθεί μέσω προσθήκης απορρυπαντικού. Οι οροί θετικού και αρνητικού ελέγχου παράγονται από ορό ή πλάσμα ανθρώπου και έχουν ελεγχθεί για την παρουσία αντιγόνων HIV-1 και HBsAg και αντισωμάτων έναντι των HIV-1, HIV-2 και HCV, και έχουν βρεθεί μη αντιδρώντες με βάση δοκιμασίες εγκεκριμένες από την FDA. Δεδομένου ότι καμία μέθοδος δοκιμασίας δεν παρέχει απόλυτη εξασφάλιση για την απουσία λοιμογόνων παραγόντων, όλα τα υλικά ανθρώπινης προέλευσης θα πρέπει να αντιμετωπίζονται ως δυνητικά μεταδιδόμενα λοιμογόνα.
2. Όλοι οι χρήστες του κιτ δοκιμασίας θα πρέπει να τηρούν τους κανονισμούς της Διεύθυνσης Ασφάλειας και Υγείας στην Εργασία (Occupational Safety and Health Administration, OSHA) των ΗΠΑ (κανονισμός 29 CFR 1910.1030).
3. Οι δοκιμασίες θα πρέπει να εκτελούνται σε χώρο διαφορετικό από τους χώρους φύλαξης αίματος και παραγώγων αίματος για μετάγγιση.
4. Μην αναρροφάτε κανένα υλικό με το στόμα. Απαγορεύεται το κάπνισμα και η κατανάλωση τροφών και ποτών στους χώρους όπου γίνεται χειρισμός δειγμάτων ή αντιδραστηρίων του κιτ.
5. Μην εκτελείτε τη δοκιμασία παρουσία δραστικών αναθυμιάσεων (π.χ. από υποχλωριώδες νάτριο, οξέα, αλκάλια ή αλδεϋδες) ή παρουσία σκόνης, καθώς ενδέχεται να επηρεαστεί η ενζυμική δραστηριότητα του συζευγμένου μορίου.
6. Να φοράτε γάντια μίας χρήσης και να μεταχειρίζεστε όλα τα υλικά που χρησιμοποιούνται στη δοκιμασία (όπως δείγματα, ορούς ελέγχου, διάλυμα έκπλυσης, ταινίες microelisa και υποδοχείς ταινιών, και πιπέτες) με προσοχή, ως υλικά ικανά να μεταδώσουν λοιμογόνους παράγοντες. Συμβουλευτείτε αμέσως ιατρό εάν κάποιο υλικό καταποθεί ή έρθει σε επαφή με ανοικτή αμυχή, βλάβη ή άλλη πληγή του δέρματος, με βλεννογόνο υμένα ή με τους οφθαλμούς.
7. Σε περίπτωση διαφυγής υλικού που περιέχει αντιγόνο ή αντίσωμα, καθαρίστε το αμέσως με διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου 5% σε αραιώση 1:10 (τελική συγκέντρωση 0,5%) ή άλλο αντίστοιχο απολυμαντικό για να απολυμανθεί. Απορρίψτε τα υλικά καθαρισμού με κατάλληλο τρόπο.
8. Απορρίψτε όλα τα υλικά που έρχονται σε επαφή με δείγματα και αντιδραστήρια όπως καθορίζεται από τους τοπικούς και τους εθνικούς κανονισμούς.³⁷ Τα στερεά απόβλητα μπορούν να αποτεφρωθούν ή να αποστειρωθούν σε αυτόκαυστο για κατάλληλο χρονικό διάστημα. Λόγω των διαφορών μεταξύ των τύπων αυτόκαυστων και του είδους των αποβλήτων, κάθε χρήστης οφείλει να επιβεβαιώσει την αποτελεσματικότητα του κύκλου απολύμανσης χρησιμοποιώντας βιολογικούς δείκτες.³⁸

Σημείωση: Τα υγρά απόβλητα που περιέχουν οξέα πρέπει να ουδετεροποιούνται πριν από την προσθήκη απολυμαντικών ή την απόρριψή τους.
9. Ορισμένα από τα συστατικά του κιτ αυτού περιέχουν επικίνδυνες χημικές ουσίες σε μικρές συγκεντρώσεις (πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, διάλυμα υπεροξειδίου, διάλυμα TMB). Ανατρέξτε στο δελτίο δεδομένων ασφαλείας υλικού (MSDS) για αναλυτικές πληροφορίες. Για να προμηθευτείτε ένα δελτίο MSDS, απευθυνθείτε στην Avioq Inc.
10. **Θεικό οξύ 2N** - Το θεικό οξύ είναι διαβρωτικό και ο χειρισμός του πρέπει να γίνεται με προσοχή για να αποφευχθεί η έκθεση του δέρματος και των οφθαλμών σε αυτό. Εάν το αντιδραστήριο αυτό έρθει σε επαφή με το δέρμα ή τους οφθαλμούς, πλύντε με άφθονο νερό.
11. Επιδεικνύετε προσοχή κατά τη συναρμολόγηση των μικροπλακιδίων για μερικές εκτελέσεις πλακιδίων (με την ανάμιξη επικαλυμμένων και μη επικαλυμμένων ταινιών). Ορισμένοι αναλυτές ενδεχομένως να μην έχουν τη δυνατότητα διάκρισης μεταξύ επικαλυμμένων και μη επικαλυμμένων βοηθίων και μπορεί να παράγουν αποτελέσματα για οποιαδήποτε θέση βοηθίου με εκχωρημένο αριθμό αναγνώρισης ή ορό ελέγχου.

ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ

Παρασκευάστε τα παρακάτω αντιδραστήρια πριν ή κατά τη διάρκεια της διαδικασίας ανάλυσης. Τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) πριν από την αραιώση ή την παρασκευή και πριν από την έναρξη της δοκιμασίας, και μπορούν να παραμείνουν σε θερμοκρασία δωματίου καθ' όλη τη διάρκεια της δοκιμασίας. Θα πρέπει να παρασκευαστεί επαρκής ποσότητα αντιδραστηρίων εργασίας για να ολοκληρωθεί ο επιθυμητός αριθμός δοκιμασιών. Μετά τη χρήση, τοποθετήστε ξανά τα αντιδραστήρια στους 2-8°C.

Παρασκευή του πυκνού διαλύματος EnzAbody (EnzAbody Concentrate)

1. Αναρροφήστε 4,0 ml **αραιωτικού EnzAbody** και μεταφέρετέ το με πιπέτα σε 1 φιαλίδιο λυοφιλοποιημένου **πυκνού διαλύματος EnzAbody**. Αναμίξτε καλά το περιεχόμενο. Αποφύγετε τον υπερβολικό σχηματισμό αφρού. Αφήστε το **πυκνό διάλυμα EnzAbody** να επανυδατωθεί επί 30 τουλάχιστον λεπτά μετά την ανασύσταση. Μην αγγίζετε το φιαλίδιο **πυκνού διαλύματος EnzAbody** φορώντας γάντια που έχουν έρθει σε επαφή με ορό ή πλάσμα.
2. Σημειώστε την ημερομηνία παρασκευής και την ημερομηνία λήξης πάνω στο φιαλίδιο. Το ανασυσταθέν πυκνό διάλυμα EnzAbody παραμένει σταθερό επί 5 εβδομάδες όταν φυλάσσεται στους 2-8°C.

Παρασκευή του διαλύματος εργασίας EnzAbody (EnzAbody Working Solution)

1. Θα πρέπει να χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία πολυπροπυλενίου, κατά προτίμηση μίας χρήσης. **Μη χρησιμοποιείτε δοχεία πολυστυρενίου**. Εάν χρησιμοποιείτε αυτόματο σύστημα επεξεργασίας μικροπλακιδίων, ανατρέξτε στις συστάσεις του κατασκευαστή σχετικά με τη χρήση των δοχείων. Μεταφέρετε μια κατάλληλη ποσότητα **αραιωτικού EnzAbody** στο δοχείο και προσθέστε την κατάλληλη ποσότητα του ανασυσταθέντος **πυκνού διαλύματος EnzAbody** ώστε να προκύψει **διάλυμα εργασίας EnzAbody** με αναλογία 1:251 (βλ. πίνακα παρακάτω). Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν **πυκνό διάλυμα EnzAbody** έχει αναμιχθεί καλά πριν τη χρήση. Τοποθετήστε ξανά το αχρησιμοποίητο ανασυσταθέν **πυκνό διάλυμα EnzAbody** στους 2-8°C. Μην αναμιγνύετε το περιεχόμενο διαφορετικών φιαλιδίων **ανασυσταθέντος πυκνού διαλύματος EnzAbody**. Πιθανόν να χρειαστεί μεγαλύτερη ποσότητα **διαλύματος εργασίας EnzAbody** ανάλογα με το είδος του διανεμητή αντιδραστηρίων που χρησιμοποιείτε.

Παρασκευή του διαλύματος εργασίας EnzAbody (EnzAbody Working Solution)

Αριθμός ταινιών microelisa	Όγκος ανασυσταθέντος πυκνού διαλύματος EnzAbody	Όγκος αραιωτικού EnzAbody
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

Αριθμός πλακιδίων	Όγκος ανασυσταθέντος πυκνού διαλύματος EnzAbody	Όγκος αραιωτικού EnzAbody
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. Μετά την παρασκευή του, το **διάλυμα εργασίας EnzAbody** παραμένει σταθερό επί τέσσερις ώρες σε θερμοκρασία δωματίου. Σημειώστε την ώρα παρασκευής και λήξης του **διαλύματος εργασίας EnzAbody**. Απορρίψτε τυχόν αχρησιμοποίητο **διάλυμα εργασίας EnzAbody** μετά την ολοκλήρωση της ανάλυσης.

Παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης (Wash Buffer)

Σημαντικό! Το πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (Wash Buffer Concentrate) έχει ειδική σύσταση για την ανάλυση Ανιούχ HTLV-I/II. Μη χρησιμοποιήσετε κανένα άλλο ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης με αυτή την ανάλυση.

1. Εξετάστε το **πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** για να βεβαιωθείτε ότι δεν περιέχει κρυστάλλους ή ίζημα. Εάν έχουν σχηματιστεί κρύσταλλοι ή ίζημα στο διάλυμα, θερμάνετε το στους 37°C μέχρι οι κρύσταλλοι ή το ίζημα να διαλυθούν. Αναμίξτε το **πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** πριν την αρραίωση.
2. Αραιώστε το **πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** σε αναλογία 1:25 με κεκαθαρμένο νερό,³⁹ σύμφωνα με τον παρακάτω πίνακα.

Παρασκευή του ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης

Αριθμός ταινιών Microelisa	Όγκος πυκνού ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης	Όγκος κεκαθαρμένου νερού	Συνολικός όγκος ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης
1-6	7 ml	168 ml	175 ml
7-12	14 ml	336 ml	350 ml

Αριθμός πλακιδίων	Όγκος πυκνού ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης	Όγκος κεκαθαρμένου νερού	Συνολικός όγκος ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης
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

Ο συνολικός όγκος **ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης** δεν περιλαμβάνει τον πρόσθετο όγκο που τυχόν απαιτείται για τα αυτόματα συστήματα έκπλυσης (αρχική πλήρωση, νεκρός όγκος κ.λπ.). Ανατρέξτε στις οδηγίες του κατασκευαστή του συστήματος έκπλυσης πλακιδίων microelisa.

3. Το **ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** παραμένει σταθερό επί δυο εβδομάδες εφόσον φυλάσσεται στους 2-30°C. Σημειώστε την ημερομηνία παρασκευής και λήξης.



Παρασκευή του υποστρώματος TMB (TMB Substrate)

Παρασκευάστε το **υπόστρωμα TMB** μέσα σε καθαρό δοχείο πολυπροπυλενίου, κατά προτίμηση μίας χρήσης. **Μη χρησιμοποιείτε δοχεία πολυστυρενίου.** Μεταφέρετε επαρκή ποσότητα **διαλύματος υπεροξειδίου** σε ένα δοχείο, προσθέστε την κατάλληλη ποσότητα **υποστρώματος TMB** στο διάλυμα **υπεροξειδίου** και αναμίξτε πλήρως πριν τη χρήση (βλ. πίνακα παρακάτω).

Κάθε πλακίδιο μικροβοθρίων χρειάζεται τουλάχιστον 10 ml **υποστρώματος TMB**. Πιθανόν να χρειαστεί μεγαλύτερη ποσότητα **υποστρώματος TMB** ανάλογα με το είδος του διανεμητή αντιδραστηρίων που χρησιμοποιείτε. Ανατρέξτε στις οδηγίες του κατασκευαστή του οργάνου για τις υπόλοιπες απαιτήσεις σχετικά με τα αντιδραστήρια.

Παρασκευή του υποστρώματος TMB

Αριθμός ταινιών microelisa	Όγκος διαλύματος TMB	Όγκος διαλύματος υπεροξειδίου
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

Αριθμός πλακιδίων	Όγκος διαλύματος TMB	Όγκος διαλύματος υπεροξειδίου
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

Το **υπόστρωμα TMB** παραμένει σταθερό επί 6 ώρες εφόσον φυλάσσεται σε θερμοκρασία δωματίου και θα πρέπει να είναι άχρωμο για να χρησιμοποιηθεί. Σημειώστε την ώρα παρασκευής και την ώρα λήξης. Εάν το διάλυμα έχει εμφανές μπλε χρώμα, απορρίψτε το και παρασκευάστε νέα ποσότητα **υποστρώματος TMB** όπως απαιτείται.

Σημείωση: Το **διάλυμα TMB** και το **υπόστρωμα TMB** πρέπει να προστατεύονται από την έκθεση στο φως. Αποφύγετε την επαφή με μέταλλα ή με ιόντα μετάλλων, καθώς αυτό μπορεί να οδηγήσει σε ανεπιθύμητη παραγωγή μπλε χρώματος.

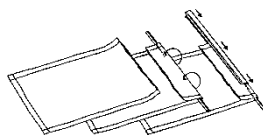
ΟΔΗΓΙΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ ΤΟΥ ΚΙΤ

Φυλάξτε όλα τα συστατικά στους 2-8°C όταν δεν χρησιμοποιούνται. Η ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στο κιτ είναι η ημερομηνία πέρα από την οποία δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί το προϊόν. Η σταθερότητα των αντιδραστηρίων του κιτ μετά την ανασύσταση ή την αραιώση περιγράφεται στην ενότητα «ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ». Μην τα φυλάσσετε σε κατάψυξη.

ΤΑΙΝΙΕΣ MICROELISA HTLV-I/II

Η θήκη από μεταλλικό φύλλο πρέπει να φθάσει σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) προτού ανοιχθεί, ώστε να αποφευχθεί η συμπύκνωση υδρατμών πάνω στις **ταινίες microelisa**. Αφού ανοιχθεί η αεροστεγής θήκη μεταλλικού φύλλου, οι **ταινίες** παραμένουν σταθερές επί 4 εβδομάδες στους 2-8°C, εφόσον η θήκη σφραγιστεί ξανά με τον παρεχόμενο σφικκτήρα και τη ράβδο ή άλλο αντίστοιχο μηχανισμό. Σημειώστε την ημερομηνία ανοίγματος και την ημερομηνία λήξης πάνω στη θήκη μεταλλικού φύλλου. **Ο φακελίσκος με γέλη πυριτίας δεν πρέπει να αφαιρεθεί.**

Σχήμα 1: Κλείσιμο θήκης μεταλλικού φύλλου.



1 2 3

Διπλώστε το ανοικτό άκρο της θήκης πάνω από τη ράβδο.
Τοποθετήστε τον σφικκτήρα.

ΧΗΜΙΚΕΣ Ή ΦΥΣΙΚΕΣ ΕΝΔΕΙΞΕΙΣ ΑΣΤΑΘΕΙΑΣ

Οι αλλαγές στη φυσική όψη των υλικών του κιτ δοκιμασίας ίσως υποδηλώνουν αστάθεια ή αλλοίωση. Η ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα των αντιδραστηρίων του κιτ είναι η ημερομηνία πέρα από την οποία δεν θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί το προϊόν.

Εάν το **υπόστρωμα TMB** έχει εμφανές μπλε χρώμα, απορρίψτε το και παρασκευάστε νέα ποσότητα **υποστρώματος TMB** όπως απαιτείται.

ΣΥΛΛΟΓΗ, ΦΥΛΑΞΗ ΚΑΙ ΠΡΟΕΤΟΙΜΑΣΙΑ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Δείγματα ζώντων δοτών

Συλλογή: Δεν απαιτείται ιδιαίτερη προετοιμασία ή νηστεία του ασθενούς. Μπορεί να χρησιμοποιηθεί ορός ή πλάσμα με ηπαρίνη, κιτρικό, CPD, CPDA-1 ή EDTA (αιθυλενοδιαμινοτετραοξικό οξύ) ως αντιπηκτικά. Ανατρέξτε στις οδηγίες του κατασκευαστή των σωληναρίων συλλογής δειγμάτων για πληροφορίες σχετικά με τη σωστή αναλογία όγκου δείγματος προς αντιπηκτικό. Διαχωρίστε τον ορό ή το πλάσμα από το πήγμα ή τα ερυθροκύτταρα όσο το δυνατόν συντομότερα, για να αποφευχθεί η αιμόλυση. Μπορούν να χρησιμοποιηθούν δείγματα από σωληνάκια διαχωρισμού ορού και από διαιρεμένες σωληνώσεις ασκών αίματος. Το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II δεν επηρεάζεται από τα αυξημένα επίπεδα λιπιδίων (3000 mg/dl), ολικής χολερυθρίνης (20 mg/dl), ρευματοειδούς παράγοντα ή αιμοσφαιρίνης (3051 mg/dl). Τα δείγματα μπορεί να αδρανοποιηθούν με θερμότητα στους 56°C επί 30 λεπτά χωρίς μείωση της αντιδραστικότητάς τους. Δεν έχει εξακριβωθεί η απόδοση με άλλους τύπους δειγμάτων, όπως υπεζωκοτικό υγρό, σίελο, στοματικά υγρά, έκλουσμα κηλίδων αποξηραμένου αίματος και δείγματα μη ανθρώπινης προέλευσης.

Φύλαξη: Τα δείγματα πρέπει να είναι απαλλαγμένα από κάθε μικροβιακή μόλυνση και μπορεί να φυλαχθούν στους 2-8°C μέχρι και για 14 ημέρες. Για μακροχρόνια φύλαξη, τα δείγματα θα πρέπει να καταψυχθούν στους -20°C. Τα δείγματα θα πρέπει να αναμιχθούν μετά την απόψυξη. Κάθε δείγμα μπορεί να καταψυχθεί και να αποψυχθεί μία φορά χωρίς να απολεσθεί η αντιδραστικότητά του. Ωστόσο, τα δείγματα που έχουν καταψυχθεί και αποψυχθεί επανειλημμένα ή τα δείγματα που περιέχουν σωματιδιακό υλικό ενδέχεται να δώσουν λανθασμένα αποτελέσματα.

Αποστολή: Τα δείγματα προς αποστολή πρέπει να συσκευάζονται σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς που διέπουν τη μεταφορά παθογόνων παραγόντων. Τα δείγματα μπορούν να σταλούν σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, σε ψύξη (2-8°C) ή σε κατάψυξη (-20°C ή χαμηλότερη). Μετά την παραλαβή τους, τα δείγματα θα πρέπει να φυλαχθούν στη συνιστώμενη θερμοκρασία φύλαξης όπως περιγράφηκε προηγουμένως.

Δείγματα πτωματικών δοτών

Συλλογή: Η συλλογή των πτωματικών δειγμάτων μπορεί να γίνει από ορό, σωληνάρια διαχωρισμού ορού ή πλάσμα με EDTA. Προτιμάται η χρήση διαυγών, μη αιμολυμένων δειγμάτων. Τυχόν ιζήματα των δειγμάτων πρέπει να απομακρύνονται με φυγοκέντρηση.

Αποθήκευση: Τα πτωματικά δείγματα μπορούν να αποθηκεύονται έως και για 14 ημέρες σε θερμοκρασία 2-8°C και στους -20°C και μπορούν να υποβληθούν σε 4 κύκλους κατάψυξης/απόψυξης. Αναμίξτε καλά μετά την απόψυξη και πριν από την ανάλυση.

Αποστολή: Τα δείγματα προς αποστολή πρέπει να συσκευάζονται σύμφωνα με τους ισχύοντες κανονισμούς που διέπουν τη μεταφορά αιτιολογικών παραγόντων. Τα δείγματα μπορούν να αποστέλλονται σε θερμοκρασία από -20°C έως 30°C. Κατά την παραλαβή τους, τα δείγματα θα πρέπει να φυλάσσονται στις συνιστώμενες θερμοκρασίες φύλαξης έως και για 14 ημέρες συνολικά, συμπεριλαμβανομένου του χρόνου αποστολής.

ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ MICROELISA AVIOQ HTLV I/II

Παρεχόμενα υλικά

Ταινίες Microelisa HTLV-I/II
EnzAbody[®] για HTLV-I/II
Αραιωτικό[®] EnzAbody
Αραιωτικό δειγμάτων
Διάλυμα TMB
Διάλυμα υπεροξειδίου
Ορός αρνητικού ελέγχου
Ορός θετικού ελέγχου HTLV-I
Ορός θετικού ελέγχου HTLV-II
Σφιγκτήρας και ράβδος
Σφραγίσματα πλακιδίων

Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται

Όργανα/Εξοπλισμός

Σημείωση: Για κάθε όργανο, θα πρέπει να μελετήσετε το εγχειρίδιο που παρέχει ο κατασκευαστής για να βρείτε πληροφορίες σχετικά με τα παρακάτω:

- Εγκατάσταση και ιδιαίτερες απαιτήσεις.
- Αρχές λειτουργίας, οδηγίες, προφυλάξεις και κίνδυνοι.
- Πληροφορίες προδιαγραφών και δυνατότητες απόδοσης σύμφωνα με τον κατασκευαστή.
- Πληροφορίες επισκευής και συντήρησης.
- Έλεγχος ποιότητας.

Αυτόματο σύστημα αραιώσης/διανομής ή αντίστοιχο

Σύστημα αναρρόφησης/έκπλυσης

Το σύστημα αναρρόφησης/έκπλυσης πρέπει να έχει δυνατότητα διανομής ελάχιστου όγκου 300 μl και να μπορεί να εκτελέσει έναν κύκλο διαβροχής 30 ± 5 δευτερολέπτων. Τα αναρροφούμενα απόβλητα πρέπει να διατηρούνται μέσα σε κλειστό σύστημα.

Ρυθμιζόμενο πολυκάναλο σύστημα πιπετών μεταβλητού όγκου με δυνατότητα χορήγησης 50 – 300 μl $\pm$ 5%, και ρύγχη

Μικροπιπέτα(ες) με δυνατότητα χορήγησης 20 μl $\pm$ 5%, 100 μl $\pm$ 5%, και ρύγχη

Επωαστήρας – Ξηρός επωαστήρας, θερμοαντικό σώμα ή αντίστοιχο, με δυνατότητα διατήρησης θερμοκρασίας $37 \pm 2^\circ\text{C}$.

Συσκευή ανάγνωσης πλακιδίων microelisa

Μπορεί να χρησιμοποιηθεί οποιαδήποτε συσκευή ανάγνωσης microelisa με δυνατότητα εκπομπής φωτός στα 450 nm $\pm$ 5 nm ή διπλού μήκους κύματος στα 450 nm $\pm$ 5 nm και τα 620/630 nm $\pm$ 5 nm για μέτρηση αναφοράς, με γραμμικό εύρος απορρόφησης 0 έως 2.000, εκτροπή μικρότερη από 0,005% AU/hr και εύρος ζώνης 10 ± 2 nm στο ήμισυ του ύψους.

Χρονόμετρο

Ογκομετρικός κύλινδρος των 50 ml και του 1-2,5 l ή αντίστοιχος

Αντιδραστήρια/Αναλώσιμα

Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης (Wash Buffer Concentrate, αρ. προϊόντος 559879)

Θειικό οξύ 2N

Κεκαθαρμένο ύδωρ³⁹ κατά USP, NCCLS τύπου I⁴¹ ή ισοδύναμο

Υποδοχέας ταινιών με μη επικαλυμμένα βοηθία (αρ. προϊόντος 259576)

Απορροφητικό χαρτί

Λεκάνες μίας χρήσης σχήματος V ή αντίστοιχες

Γάντια μίας χρήσης

Διάλυμα υποχλωριώδους νατρίου (5%), υγρό λευκαντικό ή άλλο αντίστοιχο απολυμαντικό

Δοχεία κατάλληλα για επικίνδυνα βιολογικά απόβλητα, για τα υλικά που ίσως έχουν μολυνθεί από λοιμογόνους παράγοντες

Σωληνάκια πολυπροπυλενίου μίας χρήσης με πώμα (15 ή 50 ml) ή αντίστοιχα

Υλικά που διατίθενται από την Anviox Inc.

Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, φιάλη των 100 ml (αρ. προϊόντος 559879)

Πυκνό ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, 4 φιάλες των 100 ml (αρ. προϊόντος 559880)

Σημειώσεις διαδικασίας

1. Η ελλιπής τήρηση των οδηγιών στο ένθετο συσκευασίας μπορεί να οδηγήσει σε λανθασμένα αποτελέσματα ή σε άκυρες αναλύσεις.
2. **Οι ταινίες microelisa, το EnzAbody για HTLV-I/II, το αραιωτικό EnzAbody, το αραιωτικό δειγμάτων, το διάλυμα TMB, το διάλυμα υπεροξειδίου και οι οροί ελέγχου** που χρησιμοποιούνται σε μια ανάλυση πρέπει να έχουν τον ίδιο κύριο αριθμό παρτίδας. Το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης δεν έχει συγκεκριμένο κύριο αριθμό παρτίδας κιτ και μπορεί να χρησιμοποιηθεί με οποιονδήποτε κύριο αριθμό παρτίδας κιτ. Τα υλικά πρέπει να χρησιμοποιηθούν πριν από την ημερομηνία λήξης που αναγράφεται στην ετικέτα της συσκευασίας. Τα συστατικά και τα εξεταζόμενα δείγματα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) και να αναμιγνύονται (εάν χρειάζεται) προτού ξεκινήσει η δοκιμασία. Μετά τη χρήση, τοποθετήστε ξανά τα αντιδραστήρια στους 2-8°C. Μην τα φυλάσσετε σε κατάψυξη.
3. **Οι ταινίες** κάθε πλακιδίου microelisa μπορούν να αφαιρεθούν. Φυλάξτε τις αχρησιμοποίητες **ταινίες** όπως περιγράφεται στην ενότητα «ΟΔΗΓΙΕΣ ΦΥΛΑΞΗΣ ΚΙΤ». Προτού ξεκινήσει η δοκιμασία, ελέγξτε τον υποδοχέα ταινιών microelisa και βεβαιωθείτε ότι όλες οι ταινίες είναι σταθερά τοποθετημένες. Ο χειρισμός των υποδοχέων ταινιών πρέπει να γίνεται με προσοχή ώστε να μη μετατοπιστεί κάποια ταινία κατά την δοκιμασία. Μπορείτε να αριθμήσετε τις **ταινίες microelisa** για να τις επανατοποθετήσετε σε περίπτωση μετατόπισης.
4. **Οι ταινίες microelisa** και τα **σφραγίσματα πλακιδίων** μπορούν να χρησιμοποιηθούν μόνο μία φορά.
5. Για να αποφευχθεί η μόλυνση, μην αγγίζετε την κορυφή των **ταινιών** ή το άκρο των βοθρίων με τα δάκτυλά σας ή με τα ρύγχη των πιπετών.
6. Όλα τα αντιδραστήρια και τα δείγματα πρέπει να αναμιγνύονται καλά πριν τη χρήση. Ο **ορός θετικού ελέγχου** και ο **ορός αρνητικού ελέγχου** μπορούν να περιδινιστούν σε vortex πριν την αναρρόφηση. Η διανομή και η αραιώση του **ορού θετικού ελέγχου** και του **ορού αρνητικού ελέγχου** πρέπει να γίνεται με τον ίδιο τρόπο όπως και τα δείγματα. Σε κάθε πλακίδιο (υποδοχέα ταινιών) πρέπει να αναλύεται ένα δείγμα από κάθε **ορό θετικού ελέγχου** και τρία δείγματα **ορού αρνητικού ελέγχου**. Εάν αναλύονται περισσότεροι από ένας υποδοχείς ταινιών, θα πρέπει να φροντίσετε να τηρηθούν όλοι οι καθορισμένοι χρόνοι επώασης.
7. Όλα τα βήματα αναρρόφησης με πιπέτα θα πρέπει να εκτελεστούν με τη μεγαλύτερη δυνατή φροντίδα και ακρίβεια. Τυχόν διασταυρούμενη μόλυνση μεταξύ αντιδραστηρίων θα ακυρώσει τα αποτελέσματα των δοκιμασιών. Χρησιμοποιήστε μικροπιπέτες για την ποσοτικά ακριβή χορήγηση δειγμάτων και αντιδραστηρίων. Για μη αυτόματη αναρρόφηση ορών ελέγχου και δειγμάτων, χρησιμοποιήστε ρύγχη δειγμάτων μίας χρήσης για να αποφευχθεί η μόλυνση των δειγμάτων. Αποφύγετε τη μικροβιακή ή κάθε άλλη μόλυνση των αντιδραστηρίων.
8. Εάν ένα αντιδραστήριο δεν προστεθεί από αβλεψία στην ανάλυση (π.χ. λόγω παράλειψης ενός βοθρίου), το αποτέλεσμα της ανάλυσης του συγκεκριμένου δείγματος ενδέχεται να ερμηνευτεί λανθασμένα ως μη αντιδρών.
9. Αποφύγετε το άνοιγμα της θύρας του επωαστήρα (37°C) κατά τη διάρκεια της επώασης.
10. Αποφύγετε τη μόλυνση των αντιδραστηρίων και του εξοπλισμού από χημικές ουσίες. Συνιστάται ιδιαίτερα η τακτική συντήρηση του συστήματος αναρρόφησης/έκπλυσης ώστε να αποφευχθεί η μεταφορά αντισώματος από τα ισχυρώς αντιδρώντα στα μη αντιδρώντα δείγματα.
11. Τα συστήματα έκπλυσης μικροπλακιδίων θα πρέπει να πλένονται με άφθονο νερό μετά την ολοκλήρωση της τελευταίας έκπλυσης της ανάλυσης. Ανατρέξτε στις συστάσεις του κατασκευαστή σχετικά με τη συντήρηση του συστήματος μεταφοράς υγρών των αυτόματων συστημάτων επεξεργασίας μικροπλακιδίων.
12. Οι διαδικασίες μη αυτόματης έκπλυσης των πλακιδίων θα πρέπει να επικυρωθούν πριν τη χρήση. Συνιστάται η χρήση αυτόματου συστήματος έκπλυσης πλακιδίων (ανατρέξτε στην ενότητα **Απαιτούμενα υλικά που δεν παρέχονται** για να πληροφορηθείτε τις απαιτήσεις για τα αυτόματα συστήματα έκπλυσης). Τυχόν ατελής έκπλυση θα επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα των δοκιμασιών.

13. Η εκτέλεση ανάλυσης πρέπει να ολοκληρωθεί χωρίς διακοπή και μέσα στα χρονικά όρια που καθορίζονται στο ένθετο συσκευασίας.
14. Μην επιστρέφετε τα υπολείμματα των αντιδραστηρίων στις αρχικές φιάλες.
15. Μην αγγίζετε την εξωτερική επιφάνεια του κάτω μέρους των μικροβοθρίων. Τυχόν δακτυλικά αποτυπώματα ή γρατζουνιές ενδέχεται να παρεμποδίσουν την ανάγνωση των μικροβοθρίων.
16. Βεβαιωθείτε ότι οι **ταινίες microelisa** είναι οριζόντιες μέσα στον υποδοχέα ταινιών microelisa κατά τη διάρκεια της διαδικασίας δοκιμασίας. Εάν χρειάζεται, σκουπίστε προσεκτικά την κάτω πλευρά των **ταινιών microelisa** με μαλακό απορροφητικό χαρτί που δεν αφήνει χνούδι για να αφαιρέσετε τυχόν υγρασία, σκόνη ή υπολείμματα πριν την ανάγνωση. Μπορείτε επίσης να αφαιρέσετε τυχόν αποξηραμένο ρυθμιστικό διάλυμα από την κάτω πλευρά των **ταινιών microelisa** πριν την ανάγνωση, σκουπίζοντάς τις **ταινίες microelisa** με μαλακό ύφασμα νοτισμένο με νερό, και κατόπιν με στεγνό μαλακό απορροφητικό χαρτί που δεν αφήνει χνούδι.
17. Οι τιμές των ορών θετικού ή αρνητικού ελέγχου που βρίσκονται εκτός του αναμενόμενου εύρους (ανατρέξτε στην ενότητα «Έλεγχος ποιότητας») ίσως υποδηλώνουν προβλήματα τεχνικής ή αλλοίωση του προϊόντος.
18. Όλες οι πιπέτες και ο σχετικός εξοπλισμός πρέπει να χρησιμοποιούνται με προσοχή, να βαθμονομούνται τακτικά και να συντηρούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή τους.
19. Η συσκευή ανάγνωσης πλακιδίων microelisa μπορεί να περιλαμβάνει φίλτρο αναφοράς στα 620 nm ή τα 630 nm. Εάν χρησιμοποιείται όργανο χωρίς φίλτρο αναφοράς, τα αδιαφανή, ακανόνιστα ή χαραγμένα σημεία στην κάτω πλευρά των μικροβοθρίων ενδέχεται να οδηγήσουν σε ανακριβείς μετρήσεις.
20. Η παρουσία φυσαλίδων μέσα στα βοθρία των **ταινιών microelisa** ενδέχεται να οδηγήσει σε ανακριβείς μετρήσεις. Απαιτείται προσοχή ώστε να αποφευχθεί η παρουσία φυσαλίδων.
21. Να χρησιμοποιείτε σωστά βαθμονομημένο εξοπλισμό μόνο.

Διαδικασία έκπλυσης

1. Η ατελής έκπλυση θα επηρεάσει αρνητικά τα αποτελέσματα των δοκιμασιών. Το **ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** πρέπει να βρίσκεται σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) πριν τη χρήση.
2. Αναρροφήστε το περιεχόμενο των βοθρίων σε κωνική φιάλη αποβλήτων. Κατόπιν, γεμίστε τα βοθρία (0,3 ml περίπου) με **ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** και αφήστε τις να διαβραχούν επί 30 ± 5 δευτερόλεπτα, εκτός εάν έχει καθοριστεί διαφορετικός χρόνος κατά την επικύρωση της μεθόδου. Αναρροφήστε και επαναλάβετε τις διαδικασίες έκπλυσης και διαβροχής τρεις ακόμη φορές (συνολικά τέσσερις εκπλύσεις).
3. Βεβαιωθείτε ότι έχουν αναρροφηθεί όλα τα υγρά από τις **ταινίες microelisa** μετά την τελευταία αναρρόφηση. Αναστρέψτε τον υποδοχέα ταινιών και κτυπήστε τον δυνατά πάνω σε καθαρό απορροφητικό χαρτί για να αφαιρεθεί τυχόν περίσσεια **ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης**, εάν χρειάζεται.

Διαδικασία δοκιμασίας

1. Τοποθετήστε στον υποδοχέα ταινιών τον απαιτούμενο αριθμό **ταινιών microelisa**. Εάν χρησιμοποιείτε σύστημα έκπλυσης 96 βοθρίων και χρειάζεστε λιγότερες από δώδεκα **ταινίες**, χρησιμοποιήστε ταινίες χωρίς επικάλυψη για να συμπληρώσετε το πλακίδιο.
2. Παρασκευάστε μια αραιώση 1:5 από κάθε εξεταζόμενο δείγμα και κάθε **ορό ελέγχου** με μία από τις διαδικασίες που περιγράφονται παρακάτω. Συμπεριλάβετε τρία βοθρία με **ορό αρνητικού ελέγχου**, ένα βοθρίο με **ορό θετικού ελέγχου HTLV-I** και ένα βοθρίο με **ορό θετικού ελέγχου HTLV-II** σε κάθε πλακίδιο, ανεξάρτητα από τον αριθμό των ταινιών που χρησιμοποιούνται. Αναμίξτε σχολαστικά τους **ορούς ελέγχου** (π.χ. με περιδίνηση) πριν την αναρρόφηση ή το διαχωρισμό σε κλάσματα για χρήση σε αυτόματα συστήματα.

Προσοχή: Μην αφήσετε τις **ταινίες microelisa** να στεγνώσουν από τη στιγμή που θα ξεκινήσει η ανάλυση.

Άμεση προσθήκη δείγματος

Μη αυτόματη μέθοδος: Χρησιμοποιώντας μια βαθμονομημένη πιπέτα, προσθέστε 80 µl **αραιωτικού δειγμάτων** σε κάθε βοθρίο δοκιμασίας microelisa. Προσθέστε 20 µl δείγματος ή **ορού ελέγχου** χρησιμοποιώντας ρύγχος μικροπιπέτας μίας χρήσης. Αναμίξτε το δείγμα με το **αραιωτικό δειγμάτων** μέσω επανειλημμένης αναρρόφησης και εξώθησης του δείγματος από την πιπέτα (3-4 φορές τουλάχιστον) σε κάθε προσθήκη.

Αυτόματη μέθοδος: Η βαθμονομημένη συσκευή αραιώσης/διανομής θα πρέπει να προγραμματιστεί έτσι ώστε να παράγει αραιώσεις 1:5, κατά κανόνα με προσθήκη 20 µl δείγματος ή **ορού ελέγχου** σε 80 µl **αραιωτικού δειγμάτων** για κάθε βοθρίο των **ταινιών microelisa**. Ο όγκος που παραμένει στο ρύγχος της πιπέτας πρέπει να υπολογιστεί, να επαληθευτεί και να συμπεριληφθεί στον προγραμματισμό.

Σημείωση: Επιτρέπεται η προσθήκη δείγματος στο **αραιωτικό δειγμάτων** όπως περιγράφεται στη μη αυτόματη μέθοδο.

Εμμεση προσθήκη δείγματος

Μη αυτόματη μέθοδος: Αναρροφήστε 120 µl **αραιωτικού δειγμάτων** και μεταφέρετέ τα με πιπέτα σε καθαρό δοκιμαστικό σωληνάριο και προσθέστε κατόπιν 30 µl δείγματος ή **ορού ελέγχου**. Αναμίξτε καλά το περιεχόμενο. Τα αραιωμένα δείγματα μπορεί να φυλαχθούν σε θερμοκρασία 2-8°C μέσα σε πωματισμένα σωληνάρια επί έως 24 ώρες, αλλά πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) τη στιγμή της δοκιμασίας. Αναρροφήστε 100 µl του αραιωμένου δείγματος και μεταφέρετέ τα σε κάθε βοθρίο των **ταινιών microelisa**.

3. Καλύψτε τις **ταινίες** με αυτοκόλλητα σφραγίσματα πλακιδίων ή άλλο αντίστοιχο εξάρτημα. Εάν χρησιμοποιείτε **σφραγίσματα πλακιδίων**, βεβαιωθείτε ότι καλύπτονται όλα τα βοθρία. Μέσα στα 30 επόμενα λεπτά, επώαστε στους $37 \pm 2^\circ\text{C}$ επί 60 ± 5 λεπτά.
4. Μετά την επώαση απορρίψτε το σφράγισμα πλακιδίων, εάν χρειάζεται. Μην το επαναχρησιμοποιήσετε. Εκπλύνετε και διαβρέξτε κάθε βοθρίο τέσσερις φορές με **ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης** (ανατρέξτε στην ενότητα «Διαδικασία έκπλυσης»).
5. Αναρροφήστε 100 µl **διαλύματος εργασίας EnzAbody** και μεταφέρετέ τα με πιπέτα σε κάθε βοθρίο. (Ανατρέξτε στην ενότητα «ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ» για οδηγίες).

Προσοχή: Μην αφήσετε το ανασυσταθέν **πυκνό διάλυμα EnzAbody** ή το **διάλυμα εργασίας EnzAbody** να μολύνει το **υπόστρωμα TMB**. Εάν χρησιμοποιείται ο ίδιος εξοπλισμός για την προσθήκη των δύο αντιδραστικών, θα πρέπει να τοποθετούνται νέα ρύγχη μίας χρήσης.

6. Καλύψτε τις **ταινίες** με νέο **σφράγισμα πλακιδίων** ή αντίστοιχο εξάρτημα. Εάν χρησιμοποιείτε **σφραγίσματα πλακιδίων**, βεβαιωθείτε ότι καλύπτονται όλα τα βοθρία. Επώαστε στους $37 \pm 2^\circ\text{C}$ επί 60 ± 5 λεπτά.

Εάν η δοκιμασία χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με το σύστημα ORTHO® Summit System (OSS), επώαστε στους $37 \pm 2^\circ\text{C}$ επί 30 ± 5 λεπτά.

7. Μετά την επώαση απορρίψτε το **σφράγισμα πλακιδίων**, εάν χρειάζεται. Μην το επαναχρησιμοποιήσετε. Εκπλύνετε και διαβρέξτε κάθε βοθρίο τέσσερις φορές με **ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης**. Ανατρέξτε στην ενότητα «Διαδικασία έκπλυσης».
8. Αναρροφήστε 100 µl **υποστρώματος TMB** και μεταφέρετέ τα με πιπέτα σε κάθε βοθρίο. Μην καλύψετε το πλακίδιο με αυτοκόλλητο σφράγισμα. (Ανατρέξτε στην ενότητα «ΠΑΡΑΣΚΕΥΗ ΑΝΤΙΔΡΑΣΤΗΡΙΩΝ» για οδηγίες).
9. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου (15-30°C) επί 30 ± 5 λεπτά.
10. Διακόψτε την αντίδραση προσθέτοντας 100 µl διαλύματος **θειικού οξέος 2N** σε κάθε βοθρίο (με την ίδια σειρά και στα ίδια χρονικά διαστήματα στα οποία έγινε η προσθήκη του **υποστρώματος TMB**). **Η ανάγνωση των πλακιδίων πρέπει να γίνει μέσα σε διάστημα δύο ωρών.**
11. Μηδενίστε τη συσκευή ανάγνωσης microelisa με αέρα (χωρίς να υπάρχουν υποδοχείς ταινιών και **ταινίες**) και κατόπιν μετρήστε την απορρόφηση του διαλύματος σε κάθε βοθρίο στα $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ (μονό μήκος κύματος) ή στα $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ και στα $620/630 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ ως μέτρηση αναφοράς (διπλό μήκος κύματος).

Έλεγχος ποιότητας

Προϋποθέσεις για τις τιμές αρνητικού ελέγχου (Negative Control, NC): Η απορρόφηση των δειγμάτων NC πρέπει να είναι ίση με ή μεγαλύτερη από 0,000 και ίση με ή μικρότερη από 0,120. Απορρίψτε κάθε τιμή NC που βρίσκεται εκτός της κλίμακας αυτής. Εάν δύο ή περισσότερες τιμές είναι μικρότερες από 0,000 ή μεγαλύτερες από 0,120, η εκτέλεση δοκιμασίας είναι άκυρη και θα πρέπει να επαναληφθεί. Υπολογίστε τη μέση τιμή NC (NCX) των υπόλοιπων τιμών ελέγχου.

Προϋποθέσεις για τις τιμές θετικού ελέγχου (Positive Control) HTLV-I (PC-I) και HTLV-II (PC-II): Η απορρόφηση του PC-I και του PC-II πρέπει να είναι ίση με ή μεγαλύτερη από 0,500. Εάν η τιμή PC-I ή/και η τιμή PC-II είναι μικρότερη της προδιαγραφής, η εκτέλεση δοκιμασίας είναι άκυρη και πρέπει να επαναληφθεί.

Εγκυρότητα δοκιμασίας: Μια εκτέλεση δοκιμασίας είναι έγκυρη εφόσον οι τιμές θετικού και αρνητικού ελέγχου είναι αποδεκτές και

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

Εάν τα αποτελέσματα δεν πληρούν τα κριτήρια αυτά, η τεχνική ίσως είναι προβληματική και η εκτέλεση δοκιμασίας είναι άκυρη και πρέπει να επαναληφθεί.

ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Υπολογισμοί

Οι υπολογισμοί πρέπει να εκτελούνται χωριστά για κάθε υποδοχέα ταινιών.

Τιμή αποκοπής (cutoff): Αν η εκτέλεση δοκιμασίας είναι έγκυρη, υπολογίστε την τιμή αποκοπής ως εξής:

$$\text{τιμή αποκοπής} = NCX + 0,330$$

Ένα εξεταζόμενο δείγμα θεωρείται μη αντιδρών εάν η απορρόφηση του δείγματος είναι ίση με ή μεγαλύτερη από 0,000 και μικρότερη από την τιμή αποκοπής.

Ένα εξεταζόμενο δείγμα θεωρείται αντιδρών εάν η απορρόφηση του δείγματος είναι ίση με ή μεγαλύτερη από την τιμή αποκοπής.

Υπολογισμοί δειγμάτων

Απορρόφηση (απλό μήκος κύματος)

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

Απορρόφηση (διπλό μήκος κύματος)

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

Κριτήρια αποδοχής

Απορρίψτε κάθε τιμή απορρόφησης ορού ελέγχου που δεν πληροί τα παρακάτω κριτήρια:

$0,000 \leq NC \leq 0,120$	Καμία απορριφθείσα τιμή
$PC-I \geq 0,500$	Καμία απορριφθείσα τιμή
$PC-II \geq 0,500$	Καμία απορριφθείσα τιμή

Βεβαιωθείτε ότι τα παρακάτω βρίσκονται εντός των καθορισμένων κριτηρίων αποδοχής.

(απλό μήκος κύματος)

$$(PC-I) - NCX \geq 0,380$$

$$(PC-II) - NCX \geq 0,380$$

$1,110 - 0,070 = 1,040$	Αποδεκτό
$1,050 - 0,070 = 0,980$	Αποδεκτό

(διπλό μήκος κύματος)

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

Εγκυρότητα δοκιμασίας (απλό μήκος κύματος)

Αποδεκτό

Εγκυρότητα δοκιμασίας (διπλό μήκος κύματος)

Αποδεκτό

Υπολογισμός τιμής αποκοπής (απλό μήκος κύματος)

$$\begin{aligned} \text{Τιμή αποκοπής} &= NCX + 0,330 \\ &= 0,070 + 0,330 \\ &= 0,400 \end{aligned}$$

Υπολογισμός τιμής αποκοπής (διπλό μήκος κύματος)

$$\begin{aligned} \text{Τιμή αποκοπής} &= NCX + 0,330 \\ &= 0,033 + 0,330 \\ &= 0,363 \end{aligned}$$

ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ

1. Τα δείγματα με τιμές απορρόφησης ίσες με ή μεγαλύτερες από 0,000 και μικρότερες από την τιμή αποκοπής θεωρούνται μη αντιδρώντα με βάση τα κριτήρια της μεθόδου Avioq HTLV-I/II και μπορούν να θεωρηθούν αρνητικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I και του HTLV-II. Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δοκιμασίας δεν αποκλείει την πιθανότητα έκθεσης στον ιό ή λοίμωξης από ιό HTLV-I/II.
2. Τα δείγματα με τιμές απορρόφησης μικρότερες από 0,000 πρέπει να επανεξεταστούν για να επιβεβαιωθεί το αρχικό αποτέλεσμα. Εάν το δείγμα έχει τιμή απορρόφησης μικρότερη από την τιμή αποκοπής κατά την επαναληπτική δοκιμασία, μπορεί να θεωρηθεί αρνητικό για αντισώματα έναντι του HTLV-I και του HTLV-II με βάση τα κριτήρια της μεθόδου Avioq HTLV-I/II.
3. Τα δείγματα με τιμές απορρόφησης ίσες με ή μεγαλύτερες από την τιμή αποκοπής θεωρούνται αρχικώς αντιδρώντα με βάση τα κριτήρια της μεθόδου Avioq HTLV-I/II, αλλά πριν την ερμηνεία του αποτελέσματος το δείγμα θα πρέπει να επανεξεταστεί εις διπλούν με τη μέθοδο Avioq HTLV-I/II. Εάν διαπιστωθεί αντίδραση σε τουλάχιστον μία από τις επαναληπτικές δοκιμασίες, το δείγμα θεωρείται επανειλημμένα αντιδρών για αντισώματα έναντι του HTLV-I ή/και του HTLV-II με βάση τα κριτήρια του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II.
4. Τα αρχικώς αντιδρώντα δείγματα που δεν δίνουν αντίδραση σε καμία από τις διπλές επαναληπτικές δοκιμασίες θεωρούνται αρνητικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I/II.
5. Στις περισσότερες περιπτώσεις, ενδείκνυται η περαιτέρω διερεύνηση των επανειλημμένα αντιδρώντων δειγμάτων με άλλες δοκιμασίες μεγαλύτερης ειδικότητας (**ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ**). Τα δείγματα που είναι επανειλημμένα αντιδρώντα σε δοκιμασίες ELISA και είναι θετικά σε άλλες δοκιμασίες μεγαλύτερης ειδικότητας θεωρούνται θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I ή/και του HTLV-II. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων από δείγματα που είναι επανειλημμένα αντιδρώντα σε δοκιμασίες ELISA και αρνητικά ή απροσδιόριστα σε άλλες δοκιμασίες μεγαλύτερης ειδικότητας δεν είναι σαφής, αλλά ενδέχεται να διευκρινιστεί με τη δοκιμασία ενός νέου δείγματος από το ίδιο άτομο μετά από διάστημα τριών έως έξι μηνών.

ΠΕΡΙΟΡΙΣΜΟΙ ΤΗΣ ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑΣ

Οι πληροφορίες στις ενότητες «ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ» και «ΕΡΜΗΝΕΙΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΩΝ» του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II πρέπει να ακολουθούνται επακριβώς κατά την δοκιμασία δειγμάτων ορού ή πλάσματος ως προς την παρουσία αντισωμάτων έναντι του HTLV-I ή/και του HTLV-II. Αυτή η ανάλυση έχει σχεδιαστεί και επικυρωθεί για χρήση με ορό ή πλάσμα ανθρώπου, από μεμονωμένα δείγματα ασθενών και δοτών και από τα δείγματα ορού ή πλάσματος που συλλέγονται από πτωματικούς δότες. Δεν έχουν εξακριβωθεί τα χαρακτηριστικά απόδοσης με άλλους τύπους δειγμάτων (δηλαδή, υπεζωκοτικό υγρό, σίελο, στοματικά υγρά, έκλουσμα κηλίδων αποξηραμένου αίματος και δείγματα από άλλα ζωικά είδη), με αναμειγμένες ποσότητες αίματος ή επεξεργασμένου πλάσματος, ή με προϊόντα από τέτοιες αναμειγμένες ποσότητες.

Εάν το δείγμα δεν προστεθεί σύμφωνα με τις οδηγίες στην ενότητα «ΔΙΑΔΙΚΑΣΙΑ ΔΟΚΙΜΑΣΙΑΣ», ενδέχεται να ληφθεί ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα.

Το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II ανιχνεύει αντισώματα έναντι του HTLV-I ή/και του HTLV-II στο αίμα και συνεπώς είναι χρήσιμο για τον έλεγχο διαλογής των μονάδων αίματος από αιμοδότες με σκοπό να αποφευχθεί η μετάδοση του HTLV-I ή/και του HTLV-II στους αποδέκτες κυτταρικών παραγώγων του αίματος, καθώς και ως βοήθημα στην κλινική διάγνωση της λοίμωξης από HTLV-I ή HTLV-II και των σχετικών ασθενειών. Είναι γνωστό ότι η λοίμωξη HTLV-I λόγω μετάγγισης μολυσμένων παραγώγων αίματος μπορεί να οδηγήσει σε νόσηση του λήπτη.³⁶

Κατευθυντήριες οδηγίες⁴⁰ που δημοσιεύτηκαν από την Υπηρεσία Δημόσιας Υγείας των ΗΠΑ (Public Health Service, PHS) συνιστούν την περαιτέρω διερεύνηση των επανειλημμένα αντιδρώντων δειγμάτων με χρήση άλλων δοκιμασιών υψηλότερης ειδικότητας, όπως η ανοσοαποτύπωση Western Blot και η μέθοδος ραδιοανοσοκατακρήμνισης (radioimmuno precipitation assay, RIPA). Αυτές οι συμπληρωματικές δοκιμασίες θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν μαζί με δοκιμασίες πεπτιδίων ή ανιχνευτών ειδικές για τον κάθε τύπο ιού, ώστε να διακριθεί ο HTLV-I από τον HTLV-II. Η ερμηνεία των δοκιμασιών αυτών θα πρέπει να συνάδει με αυτές τις δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες.

Ένα άτομο του οποίου ο ορός ή το πλάσμα δίνει αντίδραση τόσο με τη μέθοδο ELISA όσο και με μια άλλη μέθοδο υψηλότερης ειδικότητας θεωρείται μολυσμένο με τον ιό HTLV-I ή HTLV-II. Οι ιατρικές συνέπειες της οροθετικότητας για τον HTLV-II δεν είναι γνωστές. Θα πρέπει να προσφέρεται κατάλληλη συμβουλευτική υποστήριξη και ιατρική αξιολόγηση, όπως ορίζουν οι δημοσιευμένες κατευθυντήριες οδηγίες των Υπηρεσιών Δημόσιας Υγείας.⁴⁰ Η αξιολόγηση αυτή θα πρέπει να θεωρείται σημαντικό μέρος των αντισωματικών ελέγχων για τον HTLV-I/II και θα πρέπει να συμπεριλαμβάνει την επιβεβαίωση των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας με ένα πρόσφατο δείγμα.

Η ATL και η TSP/HAM είναι κλινικά σύνδρομα και η διάγνυσή τους μπορεί να τεκμηριωθεί μόνο κλινικά. Η δοκιμασία με το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II δεν μπορεί από μόνη της να χρησιμοποιηθεί για τη διάγνωση των παθήσεων αυτών, ακόμα κι όταν η συνιστώμενη διερεύνηση των αντιδρώντων δειγμάτων επιβεβαιώνει την παρουσία αντισωμάτων έναντι του HTLV-I. Η λήψη αρνητικού αποτελέσματος δοκιμασίας σε οποιοδήποτε στάδιο της ορολογικής διερεύνησης δεν αποκλείει το ενδεχόμενο έκθεσης σε ή λοίμωξης από HTLV-I ή HTLV-II. Η επαναληπτική δοκιμασία με το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II ίσως είναι σκόπιμη όταν υπάρχουν κλινικές υποψίες λοίμωξης από τον HTLV-I ή τον HTLV-II. Η λήψη αρνητικού αποτελέσματος με την ανάλυση αυτή από άτομα με προηγούμενη έκθεση στον HTLV-I ή/και τον HTLV-II ενδέχεται να οφείλεται στην παρουσία αντισωμάτων σε επίπεδα χαμηλότερα από το όριο ανίχνευσης της ανάλυσης αυτής ή στην έλλειψη αντιδραστικότητας στα αντιγόνα HTLV που χρησιμοποιούνται στην ανάλυση αυτή.

Η λήψη ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων είναι αναμενόμενη για τα κιτ δοκιμασίας αυτού του είδους. Το ποσοστό των ψευδώς αντιδρώντων δειγμάτων εξαρτάται από τον επιπολασμό των αντισωμάτων έναντι του HTLV-I ή/και του HTLV-II στον εξεταζόμενο πληθυσμό και από την ευαισθησία και την ειδικότητα του χρησιμοποιούμενου κιτ δοκιμασίας.

ΑΝΑΜΕΝΟΜΕΝΑ ΑΠΟΤΕΛΕΣΜΑΤΑ

Το ποσοστό δειγμάτων που θα βρεθούν επανειλημμένα αντιδρώντα σε έναν φυσιολογικό πληθυσμό δοτών ποικίλλει ανάλογα με τον επιπολασμό των αντισωμάτων έναντι του HTLV-I ή του HTLV-II στη συγκεκριμένη γεωγραφική περιοχή. Οι περιοχές με υψηλό επιπολασμό του HTLV-I περιλαμβάνουν: κάποιες περιοχές της Αφρικής, τη Μικρονησία, την Ιαπωνία, τα νησιά της Χαβάης και τα νησιά της Καραϊβικής. Οι πληθυσμοί με υψηλό επιπολασμό του HTLV-II περιλαμβάνουν: πληθυσμούς χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών και διάφορες φυλές ιθαγενών Αμερικανών στη Βόρεια και τη Νότια Αμερική. Η εμπειρία που συγκεντρώθηκε από αιμοδότες που εξετάστηκαν στις ΗΠΑ περιγράφεται στην ενότητα «Ειδικότητα». Η εμπειρία από την εξέταση πληθυσμών με νόσο οφειλόμενη στον HTLV-I ή υπό υψηλό κίνδυνο για προσβολή από HTLV-I ή HTLV-II συνοψίζεται στις ενότητες «Ευαισθησία» και «Πληθυσμοί σε ενδημικές περιοχές».

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ

Αναπαραγωγιμότητα

Αντίγραφα δειγμάτων θετικών για αντισώματα έναντι του HTLV-I και του HTLV-II με ποικίλο βαθμό αντιδραστικότητας, αρνητικά δείγματα και οροί ελέγχου του kit εξετάστηκαν σε πολλαπλά κέντρα (n=3), με χρήση kit από πολλαπλές παρτίδες (n=3) και από πολλαπλούς εργαστηριακούς τεχνικούς (n=2) σε πολλαπλές ημέρες (n=4). Η συνολική ακρίβεια, η ακρίβεια μεταξύ αναλύσεων και η ακρίβεια εντός της ίδιας ανάλυσης δίνονται στον Πίνακα 1 παρακάτω.

Πίνακας 1: Αναπαραγωγιμότητα της ανάλυσης

			Σύνολο		Μεταξύ αναλύσεων		Εντός της ίδιας ανάλυσης	
ID	N	Μέση τιμή	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
Τιμή αρνητικού ελέγχου (NC)	216	0,18	0,027	15,0	0,021	11,7	0,018	10,0
Τιμή θετικού ελέγχου (PC)	72	2,69	0,338	12,6				
HTLV-I								

ID Ταυτότητα μέλους ομάδας

N Αριθμός αντιγράφων

Μέση τιμή Μέσος λόγος σήματος προς τιμή αποκοπής (Signal to Cutoff Ratio, SCR)

SD Τυπική απόκλιση (Standard Deviation) της τιμής SCR

CV Συντελεστής μεταβλητότητας (Coefficient of Variation) της τιμής SCR

Ειδικότητα

Η ειδικότητα της παρούσας ανάλυσης προσδιορίστηκε με εξέταση 11415 φυσιολογικών δειγμάτων ορού και πλάσματος ανθρώπου που συλλέχθηκαν από πολλαπλά κέντρα. Ο Πίνακας 2 παρακάτω παρουσιάζει συνοπτικά τα δεδομένα κατά κέντρο και κατά είδος δείγματος. Με βάση την παραδοχή ότι ο επιπολασμός των αντισωμάτων έναντι του HTLV-I και του HTLV-II στους φυσιολογικούς δότες είναι μηδενικός, η εκτίμηση συνολικής ειδικότητας της παρούσας ανάλυσης ήταν 99,95% (όρια εμπιστοσύνης 95%: 99,89% έως 99,98%). Σε κάθε πληθυσμό συμπεριλαμβάνονται τα όρια εμπιστοσύνης 95% για το ποσοστό επανειλημμένα αντιδρώντων δειγμάτων και η εκτίμηση ειδικότητας για κάθε κέντρο και για κάθε είδος δείγματος.

Πίνακας 2: Εκτίμηση ειδικότητας σε πληθυσμούς τυχαίων δοτών ολικού αίματος και πλάσματος και δοτών πλασμαφαίρεσης

	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Αρχικώς μη αντιδρώντα	Αρχικώς αντιδρώντα	Επανει- λημμένα αντιδρώντα	Επανει- λημμένα αντιδρώντα (%)	Διάστημα εμπιστοσύνης 95% για τα επανελημμένα αντιδραστικά** (%)		Θετικά στη συμπλη- ρωματική εξέταση***	*Εκτίμηση ειδικότητας (%)	Διάστημα εμπιστοσύνης 95% για την ειδικότητα** (%)	
Κέντρο ορού 1	1315	1314	1	1	0,08	0,004	0,334	0	99,92	99,58	99,99
Κέντρο ορού 2	3754	3753	1	1	0,03	0,002	0,117	0	99,97	99,85	99,99
Κέντρο πλάσματος 1	1255	1255	0	0	0,00	0,000	0,153	0	100,00	99,71	100,00
Κέντρο πλάσματος 2	3812	3809	3	3	0,08	0,020	0,204	0	99,92	99,77	99,98
Κέντρο πλασμα- φαίρεσης	1279	1276	3	1	0,08	0,004	0,344	0	99,92	99,57	99,99

* =
$$\frac{(\text{αριθμός επιλεγμένων με διαλογή δειγμάτων} - \text{αριθμός επανειλημμένα αντιδρώντων}) \times 100}{(\text{αριθμός επιλεγμένων με διαλογή δειγμάτων} - \text{αριθμός επιβεβαιωμένα θετικών})}$$

** = Τα όρια εμπιστοσύνης για την ειδικότητα υπολογίστηκαν με εξέταση ακριβούς ελέγχου.

*** = Το θετικό αποτέλεσμα στις μελέτες αυτές ορίζεται ως η παρουσία αντισωμάτων εναντίον δύο γονιδιακών προϊόντων (gag, p19 ή/και p24 και env, gp46 ή/και 61/68) με βάση την ανοσοαποτύπωση Western Blot ή/και τη μέθοδο RIPA.

Πρόσθετες συμπληρωματικές δοκιμασίες και διάκριση μεταξύ των τύπων HTLV-I και HTLV-II πραγματοποιήθηκαν με τις παρακάτω αναλύσεις για ερευνητική χρήση: αντιδραστικότητα προς ανασυνδυασμένα ή φυσικά πεπτίδια gp46-I ή gp46-II σε ανοσοαποτύπωση Western Blot, σε ανάλυση EIA για πεπτίδια των HTLV-I και HTLV-II, σε ανάλυση IFA για τους HTLV-I και HTLV-II ή/και σε PCR (με χρήση ειδικών εκκινητών για τις περιοχές *tax* και *pol*).

Αντιδραστικότητα σε παθήσεις με δυνητική αλληλεπίδραση

Δείγματα από άτομα με παθήσεις οι οποίες ενδέχεται να δώσουν μη ειδική αντιδραστικότητα με την παρούσα ανάλυση εξετάστηκαν με την ανάλυση αυτή. Τα δείγματα που εξετάστηκαν φαίνονται στον Πίνακα 3 παρακάτω. Όλα τα δείγματα βρέθηκαν μη αντιδρώντα.

Πίνακας 3: Αντιδραστικότητα δειγμάτων από άτομα με παθήσεις που δεν σχετίζονται με λοίμωξη από τον HTLV-I ή τον HTLV-II

Κατηγορία δείγματος	Αριθμός δειγμάτων που εξετάστηκαν	Αριθμός αρχικώς αντιδρώντων δειγμάτων
Αντισώματα έναντι του κυτταρομεγαλοϊού	10	0
Αντισώματα έναντι του ιού Epstein-Barr	10	0
Αντισώματα έναντι του απλού έρπητα	10	0
Αντισώματα έναντι του HIV-1	10	0
Αντισώματα έναντι του HIV-2	10	0
Επιφανειακό αντιγόνο ιού ηπατίτιδας Β	10	0
Αντισώματα έναντι της σύφιλης	10	0
Αντιπυρηνικά αντισώματα	10	0
Πολλαπλές μεταγγίσεις	10	0
Πολύτοκες γυναίκες	10	0
Ρευματοειδής παράγοντας	10	0
Αντισώματα έναντι του HCV	10	0
Υπεργαμμασφαιριναιμία IgG	10	0
Υπεργαμμασφαιριναιμία IgM	10	0
Αντισώματα έναντι του τοξοπλάσματος	10	0
Εμβολιασμός κατά της γρίπης	36	0

Αντιδραστικότητα σε δείγματα με δυνητικώς αλληλεπιδρώσες ουσίες

Δείγματα λιπαιμικά (n=10), αιμολυμένα (n=10) ή με αυξημένα επίπεδα χολερυθρίνης (n=10) εξετάστηκαν ως προς τη μη ειδική αντιδραστικότητα με την παρούσα μέθοδο. Όλα τα δείγματα βρέθηκαν μη αντιδρώντα. Επιπλέον, και επειδή η ανάλυση αυτή περιλαμβάνει μια ανασυνδυασμένη πρωτεΐνη που παράγεται από την *E. coli*, μια σειρά 22 δειγμάτων που ήταν διαπιστωμένα θετικά για την παρουσία αντισωμάτων έναντι της *E. coli* εξετάστηκε για να προσδιοριστεί το ενδεχόμενο διασταυρούμενης αντιδραστικότητας στο σύστημα δοκιμασίας. Όλα τα δείγματα βρέθηκαν μη αντιδρώντα.

Ευαισθησία

Η ευαισθησία της παρούσας ανάλυσης εκτιμήθηκε με αξιολόγηση δειγμάτων που ήταν διαπιστωμένα οροθετικά με βάση συμπληρωματικές δοκιμασίες για ερευνητική χρήση (ανοσοαποτύπωση Western Blot, RIPA, IFA και, σε κάποιες περιπτώσεις, PCR). Τα δείγματα αυτά προέρχονταν από πληθυσμούς με νόσους σχετιζόμενες με τον HTLV, από πληθυσμούς χρηστών ενδοφλέβιων ναρκωτικών (intravenous drug abusers, IVDA) και από αιμοδότες μολυσμένους με HTLV. Ένας κατάλογος των αποτελεσμάτων φαίνεται στον Πίνακα 4 παρακάτω. Η παρούσα ανάλυση ήταν αντιδρώσα και στα 636 δείγματα που έδωσαν θετικό αποτέλεσμα σε συμπληρωματική δοκιμασία για ερευνητική χρήση. Η εκτιμώμενη ευαισθησία της ανάλυσης ήταν 100% (διάστημα 99,97% έως 100%) για 636 δείγματα που έδωσαν θετικό αποτέλεσμα σε μια συμπληρωματική δοκιμασία για ερευνητική χρήση, με βάση τη διωνυμική κατανομή σε επίπεδο εμπιστοσύνης 95%.

Πίνακας 4: Αντιδραστικότητα με δείγματα θετικά για αντισώματα έναντι των HTLV-I, HTLV-II και HTLV-I/II με βάση συμπληρωματικές δοκιμασίες

Ομάδα	Αποτέλεσμα συμπληρωματικής δοκιμασίας ^α	Αρ. δειγμάτων	Αρ. επανειλημμένα αντιδρώντων σε εγκεκριμένες δοκιμασίες HTLV-I	Αρ. επανειλημμένα αντιδρώντων με την Avioq HTLV-I/II
Λευχαιμία εκ Τ κυττάρων των ενηλίκων	HTLV-I	47	47	47
Τροπική σπαστική παραπάρεση	HTLV-I	43	43	43
Λέμφωμα ρινοφάρυγγα	HTLV-I	1	1	1
Χρήστες ενδοφλέβιων ναρκωτικών	HTLV-I HTLV-II	5 95	5 94 ^γ	5 95
Νοσηλευόμενοι ασθενείς ^β	HTLV-I HTLV-II	107 38	107 38	107 38
Αιμοδότες	HTLV-I HTLV-II HTLV-I/II	146 138 16	146 138 16	146 138 16
ΣΥΝΟΛΟ		636	635	636

^α Το θετικό αποτέλεσμα στις μελέτες αυτές ορίζεται ως η παρουσία αντισωμάτων εναντίον δύο γονιδιακών προϊόντων (gag, p19 ή/και p24 και env, gp46 ή/και 61/68) με βάση την ανοσοαποτύπωση Western Blot ή/και τη μέθοδο RIPA.

Πρόσθετες συμπληρωματικές δοκιμασίες και διάκριση μεταξύ των τύπων HTLV-I και HTLV-II πραγματοποιήθηκαν με τις παρακάτω μεθόδους για ερευνητική χρήση: αντιδραστικότητα προς ανασυνδυασμένα ή φυσικά πεπτίδια gp46-I ή gp46-II σε αποτύπωση Western, σε δοκιμασία EIA για πεπτίδια των HTLV-I και HTLV-II, σε δοκιμασία IFA για τους HTLV-I και HTLV-II ή/και σε PCR (με χρήση ειδικών εκκινήτων για τις περιοχές *tax* και *pol*).

^β Ασυμπτωματικοί και κάποια συμπτώματα που υποδεικνύουν νόσο HTLV.

^γ Η εγκεκριμένη δοκιμασία HTLV-I παρέβλεψε έναν IVDA (τιμές λόγου σήματος/αποκοπής 0,8, 0,9, 0,9) ο οποίος ήταν απροσδιόριστος μέσω της ανοσοαποτύπωσης Western Blot (p21 μόνο) και ταυτοποιήθηκε ως HTLV-II μέσω PCR.

Πληθυσμοί σε περιοχές όπου ενδημεί ο HTLV-I και ο HTLV-II

Η απόδοση της παρούσας μεθόδου αξιολογήθηκε με δείγματα από έναν πληθυσμό μιας περιοχής όπου ενδημεί ο HTLV-I και από δύο πληθυσμούς μιας περιοχής όπου ενδημεί ο HTLV-II. Για τον πληθυσμό της περιοχής με ενδημικό HTLV-I, αξιολογήθηκαν 532 δείγματα από έναν πληθυσμό υψηλού επιπολασμού από τα νησιά του Ειρηνικού. Από αυτόν τον πληθυσμό, 20 δείγματα βρέθηκαν θετικά για αντίσωμα HTLV-I με βάση συμπληρωματικές μεθόδους για ερευνητική χρήση (ανοσοαποτύπωση Western Blot, IFA ή RIPA). Και τα 20 από τα θετικά για αντίσωμα HTLV-I δείγματα ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα με την παρούσα ανάλυση και με μια εγκεκριμένη ανάλυση για τον HTLV-I. Άλλα 3 δείγματα που ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα με την εγκεκριμένη δοκιμασία HTLV-I ήταν μη αντιδρώντα με την παρούσα ανάλυση, ενώ κανένα από τα 3 αυτά δείγματα δεν βρέθηκε θετικό για αντίσωμα HTLV-I με τις συμπληρωματικές δοκιμασίες που χρησιμοποιήθηκαν. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα.

Στις μελέτες στις περιοχές με ενδημικό HTLV-II, ελήφθησαν συνολικά 525 δείγματα από έναν πληθυσμό ιθαγενών Αμερικανών στο Νέο Μεξικό (361) και από μια φυλή του Αμαζονίου, τους Καγιαπό, στη Βραζιλία (164). Από τους δύο πληθυσμούς, 60 δείγματα βρέθηκαν θετικά στον HTLV-II με βάση συμπληρωματικές δοκιμασίες για ερευνητική χρήση (ανοσοαποτύπωση Western Blot, IFA, RIPA ή, σε κάποιες περιπτώσεις, PCR). Τα 58 από τα δείγματα ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα με την παρούσα ανάλυση. Τα δύο δείγματα που βρέθηκαν μη αντιδρώντα με την παρούσα μέθοδο προήλθαν από τον πληθυσμό Ινδιάνων Καγιαπό. Όλα τα δείγματα από τον πληθυσμό αυτόχθονων Αμερικανών που ήταν θετικά για HTLV-II σε συμπληρωματικές δοκιμασίες βρέθηκαν επανειλημμένα αντιδρώντα με την παρούσα ανάλυση. Ένα δείγμα από τον πληθυσμό αυτόχθονων Αμερικανών ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα με την παρούσα ανάλυση, αλλά δεν ήταν θετικό για αντίσωμα έναντι του HTLV-II με βάση τη συμπληρωματική δοκιμασία (ανοσοαποτύπωση Western Blot). Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συνοψίζονται στον Πίνακα 5 παρακάτω.

Πίνακας 5: Αντιδραστικότητα δειγμάτων από πληθυσμούς σε περιοχές όπου ενδημεί ο HTLV-I και ο HTLV-II

Ενδημική περιοχή	Αρ. εξεταζομένων δειγμάτων	Αρ. θετικών με τις συμπληρωματικές δοκιμασίες ^α	Αρ. επανειλημμένα αντιδρώντων	Αρ. (ποσοστό) θετικών με τις συμπληρωματικές δοκιμασίες και επανειλημμένα αντιδρώντων με την EIA
Νησιά Ειρηνικού (HTLV-I)	532	20 ^β	20	20 (100%)
Νέο Μεξικό (HTLV-II)	361	7 ^γ	8	7 (100%)
Βραζιλία (HTLV-II)	164	53 ^γ	51 ^δ	51 (96,2%)

^α Το θετικό αποτέλεσμα στις μελέτες αυτές ορίζεται ως η παρουσία αντισωμάτων εναντίον δύο γονιδιακών προϊόντων (gag, p19 ή/και p24 και env, gp46 ή/και 61/68) με βάση την ανοσοαποτύπωση Western Blot ή/και τη μέθοδο RIPA.

Πρόσθετες συμπληρωματικές δοκιμασίες και διάκριση μεταξύ των τύπων HTLV-I και HTLV-II πραγματοποιήθηκαν με τις παρακάτω μεθόδους για ερευνητική χρήση: αντιδραστικότητα προς ανασυνδυασμένα ή φυσικά πεπτίδια gp46-I ή gp46-II σε ανοσοαποτύπωση Western Blot, σε δοκιμασία EIA για πεπτίδια των HTLV-I και HTLV-II, σε δοκιμασία IFA για τους HTLV-I και HTLV-II ή/και σε PCR (με χρήση ειδικών εκκινητών για τις περιοχές tax και pol).

^β Ο αριθμός των δειγμάτων που βρέθηκαν θετικά στη συμπληρωματική δοκιμασία βασίστηκε στα αποτελέσματα δοκιμασιών ανοσοαποτύπωσης Western Blot, IFA και RIPA ερευνητικής χρήσης για τον HTLV-I/HTLV-II για όλα τα δείγματα που ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα ή ήταν αρχικά αντιδρώντα και εντός μιας αρνητικής «γκρίζας ζώνης» 20% στην ELISA.

^γ Ο αριθμός των δειγμάτων που βρέθηκαν θετικά στη συμπληρωματική δοκιμασία βασίστηκε στα αποτελέσματα δοκιμασιών αποτύπωσης Western Blot, IFA και RIPA ερευνητικής χρήσης για τον HTLV-I/HTLV-II για όλα τα δείγματα (361 από το Νέο Μεξικό και 164 από τη Βραζιλία).

^δ Τα δύο δείγματα ήταν απροσδιόριστα με την ανοσοαποτύπωση Western Blot, θετικά για αντισώματα HTLV με τη RIPA, θετικά για αντισώματα HTLV-II με την IFA, και θετικά για HTLV DNA με βάση την PCR.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΟΥ ΠΑΡΑΓΕΤΑΙ ΣΤΙΣ ΝΕΕΣ ΕΓΚΑΤΑΣΤΑΣΕΙΣ

Το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II είναι πανομοιότυπο με το σύστημα Microelisa Vironostika® HTLV-I/II που παραγόταν παλαιότερα από την bioMerieux, Inc., αλλά παράγεται πλέον σε διαφορετικές εγκαταστάσεις. Οι μελέτες που διεξήχθησαν για να αξιολογηθεί η απόδοση του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II που παράγεται στις νέες εγκαταστάσεις έδειξαν ότι η ανάλυση έχει αναπαραγωγιμότητα, ειδικότητα και ευαισθησία συγκρίσιμες με αυτές των κιτ δοκιμασιών που παράγονταν στις αρχικές εγκαταστάσεις.

Αναπαραγωγιμότητα

Προκειμένου να αποδειχθεί η αναπαραγωγιμότητα του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II που παράγεται στις νέες εγκαταστάσεις, μια ομάδα δειγμάτων αποτελούμενη από δείγματα θετικά για αντισώμα έναντι του HTLV-I και του HTLV-II με ποικίλο βαθμό αντιδραστικότητας (τέσσερα HTLV-I και τέσσερα HTLV-II) και δύο αρνητικά δείγματα εξετάστηκαν με κάθε μία από τις τρεις παρτίδες κιτ, σε μια περίοδο τεσσάρων ημερών, από δύο τεχνικούς εργαστηρίου με τη μη αυτόματη μέθοδο δοκιμασίας. Κάθε δείγμα εξετάστηκε εις τετραπλούν σε καθεμία από τις τέσσερις ημέρες. Ο συνολικός CV για τα θετικά δείγματα με χρήση των τριών παρτίδων επικύρωσης κυμαινόταν από 8,9 έως 19,7% (n=96) έναντι συνολικού εύρους CV 11,1 – 15,9% για τα θετικά δείγματα από τη μέθοδο που παραγόταν στις προηγούμενες εγκαταστάσεις (n=288, 3 κέντρα, 3 παρτίδες, 2 χειριστές, 4 ημέρες και δοκιμασία εις τετραπλούν).

Πίνακας 6: Περίληψη της μελέτης αναπαραγωγιμότητας για το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II (μη αυτόματη μέθοδος)

ID ομάδας (πάνελ)	Κατάσταση	N	Μέσος Σ/Α	Σύνολο				Μεταξύ αναλύσεων		Εντός της ίδιας ανάλυσης	
				SD	%CV	Σ/Α κάτω από 95% CI	Σ/Α πάνω από 95% CI	SD	%CV	SD	%CV
HTLV-I S1	Θετ.	96	3,10	0,276	8,9	3,04	3,15	0,244	7,9	0,136	4,4
HTLV-I S2	Θετ.	96	2,92	0,300	10,3	2,85	2,98	0,246	8,4	0,176	6,0
HTLV-I S3	Θετ.	96	2,50	0,312	12,5	2,44	2,56	0,259	10,4	0,180	7,2
HTLV-I S4	Θετ.	96	2,18	0,226	10,4	2,13	2,22	0,190	8,7	0,126	5,8
HTLV-I S5 ^a	Αρν.	96	0,25	0,023	9,2	0,24	0,25	0,020	8,0	0,012	4,8
HTLV-II S1	Θετ.	96	3,29	0,561	17,1	3,17	3,40	0,482	14,7	0,298	9,1
HTLV-II S2	Θετ.	96	3,15	0,569	18,1	3,03	3,26	0,537	17,1	0,210	6,7
HTLV-II S3	Θετ.	96	2,46	0,486	19,7	2,36	2,56	0,462	18,8	0,170	6,9
HTLV-II S4	Θετ.	96	2,22	0,364	16,4	2,14	2,29	0,300	13,5	0,214	9,6
HTLV-II S5 ^a	Αρν.	96	0,23	0,020	8,7	0,22	0,23	0,016	7,2	0,012	5,4

^a Δείγμα αρνητικό για αντισώματα έναντι του HTLV-I και έναντι του HTLV-II

Ειδικότητα

Προκειμένου να αποδειχθεί ότι η κλινική ειδικότητα του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II που παράγεται στις νέες εγκαταστάσεις είναι συγκρίσιμη με την ειδικότητα της αρχικώς εγκεκριμένης δοκιμασίας, δείγματα ορού ($n = 1000$) και πλάσματος ($n = 1000$) άγνωστης κατάστασης από πληθυσμούς χαμηλού κινδύνου (αιμοδότες) εξετάστηκαν με κιτ από τρεις παρτίδες με τη μη αυτόματη μέθοδο δοκιμασίας. Κάθε παρτίδα χρησιμοποιήθηκε για να εξεταστεί παρόμοιος αριθμός δειγμάτων. Από τα 2000 δείγματα που εξετάστηκαν, τα δύο ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα (βλ. Πίνακα 7). Και τα δύο δείγματα ήταν αρνητικά με βάση μια δοκιμασία HTLV-I και HTLV-II IFA και μια ανοσοαποτύπωση Western Blot για ερευνητική χρήση. Συνεπώς, η εκτιμώμενη ειδικότητα της ανάλυσης Avioq που παρατηρήθηκε στη μελέτη αυτή ήταν $1998/2000 = 99,90\%$ (95% CI 99,44 – 100%), έναντι $11409/11415 = 99,95\%$ (95% CI 99,89 – 99,98%) για την ανάλυση μέθοδο που παραγόταν στις προηγούμενες εγκαταστάσεις.

**Πίνακας 7: Εκτίμηση ειδικότητας του συστήματος
Microelisa Avioq HTLV-I/II σε τυχαίους αιμοδότες**

	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Μη αντιδρώντα	Επανε- λημμένα αντιδρώντα	Θετικά στη συμπληρωματική δοκιμασία	Εκτίμηση ειδικότητας (%)	Όρια εμπιστοσύνης 95% για την ειδικότητα (%)	
Ορός	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00
Πλάσμα	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00

Ευαισθησία

Προκειμένου να διαπιστωθεί εάν η κλινική ευαισθησία του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II που παράγεται στις νέες εγκαταστάσεις είναι συγκρίσιμη με την ευαισθησία της αρχικώς εγκεκριμένης δοκιμασίας, μια ομάδα (πάνελ) 200 αποθηκευμένων οροθετικών δειγμάτων ορού ή πλάσματος (100 HTLV-I και 100 HTLV-II) εξετάστηκε με κιτ από τρεις παρτίδες με τη μη αυτόματη μέθοδο δοκιμασίας (Πίνακας 8). Όλα τα δείγματα είχαν βρεθεί προηγουμένως επανειλημμένα αντιδρώντα με μια εγκεκριμένη από την FDA δοκιμασία διαλογής δοτών για τον HTLV-I/II και επιβεβαιωμένα θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I/II με μια συμπληρωματική δοκιμασία για ερευνητική χρήση (ανοσοαποτύπωση Western Blot, IFA ή/και RIPA). Το 87% αυτών των δειγμάτων προέρχονταν από αιμοδότες στις ΗΠΑ και κανένα δεν είχε εξεταστεί παλαιότερα με την αρχικά εγκεκριμένη μέθοδο Vironostika. Η εκτιμώμενη ευαισθησία της μεθόδου που παρατηρήθηκε στη μελέτη αυτή ήταν $200/200 = 100\%$ (95% CI 98,17 – 100%), έναντι $636/636 = 100\%$ (95% CI 99,97 – 100%) για τη μέθοδο που παραγόταν στις προηγούμενες εγκαταστάσεις.

**Πίνακας 8: Αντιδραστικότητα του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II με
αποθηκευμένα δείγματα οροθετικά για HTLV-I/II**

Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Αριθμός επανειλημμένα αντιδρώντων	Αριθμός μη αντιδρώντων	Εκτίμηση ευαισθησίας (%)	Ευαισθησία Όρια εμπιστοσύνης 95% (%)	
200	200	0	100,00	98,17	100,00

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ORTHO® SUMMIT SYSTEM (OSS) ΜΕ ΣΥΣΤΗΜΑ ΧΕΙΡΙΣΜΟΥ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ ORTHO® SUMMIT (ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΙΠΕΤΑΣ SUMMIT)

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II στο όργανο OSS πραγματοποιήθηκε με μια ομάδα 10 δειγμάτων που εξετάστηκαν εις διπλούν (τέσσερα θετικά για HTLV-I, τέσσερα θετικά για HTLV-II και δύο αρνητικά). Η μελέτη διεξήχθη σε δύο κέντρα, με τρία όργανα συνολικά, δύο φορές την ημέρα επί τέσσερις ημέρες, με χρήση μίας παρτίδας επικύρωσης του κιτ ανάλυσης και συγκρίθηκε με την εξέταση της ομάδας (πάνελ) αυτής με τη μη αυτόματη μέθοδο χρησιμοποιώντας την ίδια παρτίδα επικύρωσης. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συνοψίζονται στον Πίνακα 9.

Πίνακας 9: Μελέτη αναπαραγωγιμότητας για το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II με το OSS (αυτόματη μέθοδος)

ID ομάδας (πάνελ)	Κατάσταση	N	Μέσος Σ/Α	Σύνολο				Μεταξύ κέντρων		Εντός του ίδιου κέντρου	
				SD	%CV	Σ/Α κάτω από 95% CI	Σ/Α πάνω από 95% CI	SD	%CV	SD	%CV
HTLV-I S1	Θετ.	96	4,54	0,375	8,3	4,47	4,62	0,305	6,7	0,226	5,0
HTLV-I S2	Θετ.	96	4,03	0,366	9,1	3,95	4,10	0,288	7,1	0,232	5,8
HTLV-I S3	Θετ.	96	3,63	0,325	8,9	3,57	3,70	0,253	7,0	0,208	5,7
HTLV-I S4	Θετ.	96	2,84	0,283	10,0	2,78	2,89	0,218	7,7	0,184	6,5
HTLV-I S5 ^a	Αρν.	96	0,26	0,052	20,3	0,25	0,27	0,045	17,5	0,028	10,8
HTLV-II S1	Θετ.	96	5,86	0,421	7,2	5,77	5,94	0,323	5,5	0,276	4,7
HTLV-II S2	Θετ.	96	5,75	0,347	6,0	5,68	5,82	0,270	4,7	0,224	3,9
HTLV-II S3	Θετ.	96	4,95	0,463	9,4	4,85	5,04	0,385	7,8	0,268	5,4
HTLV-II S4	Θετ.	96	4,22	0,332	7,9	4,16	4,29	0,277	6,6	0,189	4,5
HTLV-II S5 ^a	Αρν.	96	0,13	0,028	20,7	0,13	0,14	0,023	17,0	0,016	12,1

^a Δείγμα αρνητικό για αντισώματα έναντι του HTLV-I και έναντι του HTLV-II

Η μελέτη αναπαραγωγιμότητας έδειξε ότι η συνολική μεταβλητότητα για τα θετικά δείγματα κυμαινόταν μεταξύ 6% και 10% με τη μέθοδο OSS έναντι 8,9 έως 19,7% για τα θετικά δείγματα με τη μη αυτόματη μέθοδο (βλ. Πίνακα 6).

Αναλυτική ευαισθησία

Προκειμένου να αποδειχθεί ότι η αναλυτική ευαισθησία του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II στο όργανο OSS είναι συγκρίσιμη με τη μη αυτόματη μέθοδο, οκτώ ομάδες (πάνελ) δειγμάτων αραιώσης (διπλές διαδοχικές αραιώσεις 1:1 σε τέσσερα δείγματα θετικά για αντισώματα HTLV-I και τέσσερα δείγματα θετικά για αντισώματα HTLV-II μέχρι το όριο αποκοπής της ανάλυσης) εξετάστηκαν με τη μη αυτόματη και την αυτόματη μέθοδο. Για να αξιολογηθεί η συσχέτιση των δύο μεθόδων, εκτελέστηκε ανάλυση παλινδρόμησης κατά Deming. Η ανάλυση αυτή έδειξε υψηλή συσχέτιση του λόγου σήματος/τιμής αποκοπής (Σ/Α) των δύο μορφών, με συντελεστή συσχέτισης 0,94. Για να αποδειχθεί η ισοδυναμία του λόγου Σ/Α μεταξύ των δύο μεθόδων εκτελέστηκε έλεγχος t κατά ζεύγη. Η συνολική μέση τιμή Σ/Α για τη μη αυτόματη μέθοδο ήταν 3,143 (n=459) έναντι συνολικής μέσης τιμής 4,198 (n=459) με το όργανο OSS. Η διαφορά αυτή είναι στατιστικώς σημαντική, αλλά η ευαισθησία στις αραιώσεις τελικού σημείου ήταν συγκρίσιμη με τις δύο μεθόδους (δηλαδή, η ανάλυση με το όργανο OSS δεν παρουσίασε χαμηλότερη ευαισθησία).

Εναισθησία

Μια ομάδα 100 δειγμάτων από αιμοδότες, τα οποία ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα με ανάλυση εγκεκριμένη από την FDA, εξετάστηκε με το σύστημα Microelisa Ανίοq HTLV-I/II και με τις δύο μεθόδους (τη μη αυτόματη και την αυτόματη μέθοδο με το όργανο OSS). Τα 95 δείγματα ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα (100% συμφωνία) με τις δύο μεθόδους ανάλυσης (τη μη αυτόματη και την αυτόματη). Τα 5 από τα 100 δείγματα της ομάδας (πάνελ) ήταν μη αντιδρώντα με την ανάλυση Ανίοq (μη αυτόματα και αυτόματα). Περαιτέρω δοκιμασία επιβεβαίωσης σε αυτά τα 5 δείγματα έδειξε ότι κανένα από αυτά δεν ήταν θετικό στη συμπληρωματική δοκιμασία. Πρέπει να σημειωθεί ότι αυτά τα δείγματα είχαν υποβληθεί προηγουμένως σε πέντε κύκλους κατάψυξης/απόψυξης πριν τη δοκιμασία. Τα στοιχεία που συγκεντρώθηκαν από την Ανίοq δείχνουν ότι τα δείγματα μπορούν να καταψυχθούν και να αποψυχθούν μία φορά χωρίς μείωση της αντιδραστικότητάς τους.

Ο λόγος Σ/Α των 95 δειγμάτων που ανιχνεύθηκαν με τη μέθοδο Ανίοq κυμαινόταν από 1,058 έως 8,400 για τη μη αυτόματη μέθοδο και από 1,280 έως 7,403 για την αυτόματη μέθοδο με το OSS. Ο συντελεστής συσχέτισης για τον λόγο Σ/Α ήταν 0,94. Τα 29 από τα δείγματα αυτά ήταν θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I και τα 46 ήταν θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-II με βάση μια συμπληρωματική δοκιμασία για ερευνητική χρήση, ενώ 20 ήταν θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I/II (μη ταυτοποιημένα).

Κλινική ειδικότητα

Μια μελέτη διεξήχθη σε δύο κέντρα με σκοπό την αξιολόγηση της ειδικότητας της ανάλυσης όταν αυτή χρησιμοποιείται με το αυτόματο σύστημα ORTHO® Summit System (OSS). Εξετάστηκαν συνολικά 16.339 δείγματα ορού και πλάσματος, που συγκεντρώθηκαν τυχαία από εθελοντές αιμοδότες. Τα αποτελέσματα των δοκιμασιών αυτών φαίνονται στον Πίνακα 10.

Πίνακας 10: Περίληψη των αποτελεσμάτων κλινικής ειδικότητας για το σύστημα Microelisa Ανίοq HTLV-I/II με το OSS (αυτόματη μέθοδος)

	Κέντρο 1			Κέντρο 2			Ενοποιημένα αποτελέσματα όλων των κέντρων/παρτίδων
	Παρτίδα 10003	Παρτίδα 10004	Παρτίδα 10005	Παρτίδα 10003	Παρτίδα 10004	Παρτίδα 10005	
Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16,339
Μη αντιδρώντα	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16,330
Αρχικώς αντιδρώντα	2	0	1	3	3	2	11
Επανελημμένα αντιδρώντα	2	0	0	3	2	2	9
Επιβεβαιωμένα θετικά	0	Δ/Ε	Δ/Ε	0	0	0	0
Σύνολο ψευδώς θετικών	2			7			9
Σύνολο εξεταζόμενων δειγμάτων	4.090			12.249			16.339
Εκτίμηση ειδικότητας	99,95%			99,94%			99,94%
95% CI	99,82%-99,99%			99,88%-99,98%			99,90%-99,97%
Συνολική εκτίμηση ειδικότητας	99,95%						
95% CI	99,89% έως 99,98%						

Από τα 16.339 δείγματα αιμοδοτών που εξετάστηκαν, τα 9 ήταν επανειλημμένα αντιδρώντα. Και τα 9 χαρακτηρίστηκαν ψευδώς θετικά με βάση τα αποτελέσματα δοκιμασίας με ανοσοαποτύπωση Western Blot για ερευνητική χρήση (κέντρο 1) ή IFA (κέντρο 2). Τα διαστήματα εμπιστοσύνης για την εκτίμηση ειδικότητας της ανάλυσης Avioq και για τις τρεις παρτίδες σε κάθε κέντρο, καθώς και για τα ενοποιημένα αποτελέσματα όλων των κέντρων και των παρτίδων αλληλοεπικαλύπτονται με τα διαστήματα για την ανάλυση Vironostika (95% CI: 99,89 – 99,98%). Η συνολική εκτίμηση ειδικότητας για την ανάλυση Avioq HTLV-I/II στο σύστημα OSS ήταν $16.330/16.339 = 99,94\%$ (95% CI: 99,90 - 99,97%) έναντι $11.409/11.415 = 99,95\%$ (95% CI: 99,89 - 99,98%) με τη μη αυτόματη μέθοδο.

Αυτές οι μελέτες έδειξαν ότι η απόδοση του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II στο όργανο OSS είναι συγκρίσιμη με την απόδοση με τη μη αυτόματη μέθοδο δοκιμασίας.

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΟΥ ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ ORTHO® SUMMIT SYSTEM (OSS) ΜΕ ΤΟ ΣΥΣΤΗΜΑ ΠΙΠΕΤΑΣ ORTHO VERSEIA®

Αναπαραγωγικότητα

Η αναπαραγωγικότητα του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II με το OSS και το σύστημα πιπέτας ORTHO VERSEIA® πραγματοποιήθηκε με μια ομάδα (πάνελ) που περιλάμβανε τρία δείγματα θετικά για HTLV-I, δύο δείγματα θετικά για HTLV-II και ένα αρνητικό δείγμα. Η μελέτη διεξήχθη σε τρία κέντρα, με πέντε συνολικά συστήματα VERSEIA® και συστήματα πιπέτας SUMMIT για σύγκριση, καθένα από τα οποία χρησιμοποιήθηκε για τη δοκιμασία έξι αντιγράφων σε δύο εκτελέσεις ανά ημέρα, για μια περίοδο πέντε μη διαδοχικών ημερών. Τα αποτελέσματα της μελέτης αυτής συνοψίζονται στον Πίνακα 11. Η μελέτη αναπαραγωγικότητας έδειξε ότι η συνολική μεταβλητότητα των δύο τύπων οργάνων ήταν συγκρίσιμη.

Πίνακας 11: Μελέτη αναπαραγωγικότητας για το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II με το OSS

ID ομάδας (πάνελ)	Πιπέτα SUMMIT						Πιπέτα VERSEIA®					
	N	Μέση τιμή	SD	%CV	95% CI του Σ/Α		N	Μέση τιμή	SD	%CV	95% CI του Σ/Α	
					Κάτω	Άνω					Κάτω	Άνω
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 (αρνητικό)	150	0,061	0,016	26,0	0,059	0,064	149	0,060	0,016	26,6	0,058	0,063

Αναλυτική ευαισθησία

Για να αποδειχθεί ότι η αναλυτική ευαισθησία του συστήματος Microelisa Avioq HTLV-I/II με το OSS και το σύστημα πιπέτας VERSEIA® είναι συγκρίσιμη με την ευαισθησία με το σύστημα SUMMIT, δέκα ομάδες (πάνελ) αραιώσεων (τέσσερις αραιώσεις με τιμή Σ/Α στόχο μεταξύ 0,5 και 3,0 από πέντε δείγματα θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-I και πέντε δείγματα θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV-II πέρα από την τιμή αποκοπής της ανάλυσης) εξετάστηκαν και με τα δύο όργανα. Για να αξιολογηθεί η συσχέτιση των δύο μεθόδων, εκτελέστηκε ανάλυση παλινδρόμησης κατά Deming. Η ανάλυση αυτή έδειξε υψηλή συσχέτιση του λόγου Σ/Α των δύο οργάνων, με κλίση 1,00, σημείο τομής 0,01 και συντελεστή συσχέτισης Pearson (r) 1,00.

Ευαισθησία

Μια ομάδα δειγμάτων ευαισθησίας αποτελούμενη από 104 κατεψυγμένα δείγματα θετικά για αντισώματα έναντι του HTLV (52 δείγματα θετικά για HTLV-I και 52 θετικά για HTLV-II) χρησιμοποιήθηκε στη μελέτη αυτή. Τα δείγματα αυτά παρήχθησαν με αραιώση κατεψυγμένων θετικών δειγμάτων προκειμένου να σχηματιστεί ένας συνδυασμός δειγμάτων χαμηλής έως μέτριας αντιδραστικότητας. Συνεπώς, αναμένεται ότι κάποια από τα δείγματα αυτά, με λόγο σήματος προς τιμή αποκοπής κοντά στο 1,000, θα παρουσιάζουν διακύμανση από επάνω (θετικά) μέχρι κάτω (αρνητικά) από την τιμή αποκοπής.

Τα δείγματα εξετάστηκαν εις τριπλούν σε καθένα από τα τρία κέντρα με τα συστήματα πιπέτας SUMMIT και VERSEIA®. Συνολικά 935 έγκυρα αποτελέσματα ελήφθησαν και χρησιμοποιήθηκαν για ανάλυση δεδομένων για κάθε όργανο. Από τις 935 παρατηρήσεις, το 98,1% (917/935) των αποτελεσμάτων με το Summit ήταν αντιδρώντα ενώ το 98,5% (921/935) των αποτελεσμάτων με το VERSEIA® ήταν αντιδρώντα. Ο έλεγχος McNemar για ασύμφωνα αποτελέσματα δεν έδειξε σημαντική διαφορά μεταξύ των δύο συστημάτων πιπέτας, με τιμή p 0,3438, γεγονός που δείχνει ότι το σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II είναι συμβατό με το σύστημα πιπέτας VERSEIA®.

Κλινική ειδικότητα

Συνολικά 3.416 δείγματα ορού και πλάσματος από τυχαίους δότες εξετάστηκαν χωρίς επανάληψη με χρήση και των δύο οργάνων (SUMMIT και VERSEIA®) σε τρία κέντρα, καθένα από τα οποία εξέτασε παρόμοιο αριθμό δειγμάτων. Από τα 3.146 δείγματα που εξετάστηκαν, τα 3.140 ήταν μη αντιδρώντα και με τους δύο τύπους οργάνου. Από τα υπόλοιπα 6 δείγματα, τα 5 ήταν αντιδρώντα και με τα δύο συστήματα πιπέτας ενώ το ένα έδωσε ασύμφωνα αποτελέσματα δοκιμασίας με τους δύο τύπους πιπέτας (αντιδρών με το VERSEIA® και μη αντιδρών με το Summit). Και τα έξι δείγματα ήταν απροσδιόριστα με βάση την ανάλυση της ανοσοαποτύπωσης Western Blot. Εάν θεωρηθεί ότι όλα τα δείγματα ήταν αρνητικά για αντισώματα έναντι του HTLV, η ειδικότητα της ανάλυσης είναι 99,81% (95% CI: 99,59% - 99,93%) και 99,84% (95% CI: 99,63% - 99,95%) κατά τη χρήση με τα όργανα VERSEIA® και Summit αντίστοιχα (Πίνακας 12). Η στατιστική ανάλυση έδειξε ότι δεν υπάρχει σημαντική διαφορά στην ειδικότητα μεταξύ των δύο τύπων οργάνων (99,81% έναντι 99,84%).

Πίνακας 12: Περίληψη των αποτελεσμάτων κλινικής ειδικότητας

		Πιπέτα SUMMIT		Σύνολο
		Θετικό	Αρνητικό	
Σύστημα πιπέτας VERSEIA®	Θετικό	5	1	6 (0,19%)
	Αρνητικό	0	3140	3140 (99,81%)
	Σύνολο	5(0,16%)	3141 (99,84%)	3146 (100,00%)

ΧΑΡΑΚΤΗΡΙΣΤΙΚΑ ΑΠΟΔΟΣΗΣ ΤΗΣ ΑΝΑΛΥΣΗΣ ΠΤΩΜΑΤΙΚΩΝ ΔΕΙΓΜΑΤΩΝ

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα αξιολογήθηκε με τη χρήση 20 μη αντιδραστικών πτωματικών δειγμάτων (10 δείγματα ορού/10 δείγματα πλάσματος) και 20 μη αντιδραστικών δειγμάτων ζώντων δοτών (10 δείγματα ορού/10 δείγματα πλάσματος). Σε 5 δείγματα ορού και 5 δείγματα πλάσματος από κάθε πηγή δοτών (πτωματικών και ζώντων) προστέθηκε εξωγενώς πρώτη ύλη αντισωμάτων anti-HTLV-I ή anti-HTLV-II μέχρι μιας στοχευόμενης αντιδραστικότητας που αντιστοιχεί σε λόγο σήματος προς τιμή αποκοπής (S/CO) 2,0. Κάθε δείγμα εξωγενούς προσθήκης εξετάστηκε μία φορά, σε έξι διαφορετικές ημέρες, σε καθεμία από τις τρεις παρτίδες κιτ, σε ένα κέντρο. Οι ποσοστιαίες τιμές CV ήταν συγκρίσιμες μεταξύ των δειγμάτων πτωματικών και ζώντων δοτών.

Πίνακας 13 – Αναπαραγωγιμότητα της μεθόδου σε δείγματα πλάσματος πτωματικών και ζώντων δοτών

Προ / Μετά θανάτου	Τύπος	μήτρα	N	Μέση τιμή	Κατώτ ατο 95%	Ανώτατο 95%	συνολικ ή τιμή_sd	συνολικ ή τιμή_cv	sd μεταξύ των αναλύσεω ν	cv μεταξύ των αναλύσεω ν	sd εντός της ίδιας ανάλυσης	cv εντός της ίδιας ανάλυσης
ΜΕΤΑ ΘΑΝΑΤΟΥ	HTLV-I	Πλάσμα	90	2,13	2,05472	2,21510	0,383	17,9	0,324	15,2	0,215	10,1
		Ορός	90	2,31	2,20140	2,41140	0,501	21,7	0,430	18,7	0,273	11,8
	HTLV-II	Πλάσμα	90	2,09	2,00987	2,17973	0,405	19,4	0,348	16,6	0,221	10,6
		Ορός	90	1,94	1,86472	2,02168	0,375	19,3	0,288	14,8	0,248	12,8
ΠΡΟ ΘΑΝΑΤΟΥ	HTLV-I	Πλάσμα	90	1,89	1,81144	1,96652	0,370	19,6	0,290	15,4	0,238	12,6
		Ορός	90	1,97	1,89267	2,05320	0,383	19,4	0,322	16,3	0,219	11,1
	HTLV-II	Πλάσμα	90	2,22	2,11903	2,32092	0,482	21,7	0,373	16,8	0,315	14,2
		Ορός	90	1,96	1,88779	2,03181	0,344	17,5	0,280	14,3	0,208	10,6

Ευαισθησία

Τα δείγματα που εξετάστηκαν περιελάμβαναν περίπου ίσο αριθμό δειγμάτων ορού και πλάσματος τόσο από νεκροτομικά (C) δείγματα (n=91, 46 δείγματα ορού, 45 δείγματα πλάσματος), όσο και από δείγματα φυσιολογικών δοτών (N) (n=91, 45 δείγματα ορού, 46 δείγματα πλάσματος). Τα δείγματα εξετάστηκαν προηγουμένως για HTLV-I/II και βρέθηκαν μη αντιδραστικά. Τα δείγματα χρησιμοποιήθηκαν για την παρασκευή ομάδων HTLV-I και HTLV-II με εξωγενή προσθήκη. Κάθε δείγμα χωρίστηκε στα δύο και προστέθηκαν εξωγενώς προκαθορισμένες ποσότητες ορών θετικών για αντισώματα κατά του HTLV-I ή κατά του HTLV-II. Η ευαισθησία αξιολογήθηκε με την εξέταση των οροθετικών για HTLV-I και HTLV-II δειγμάτων, τόσο των νεκροτομικών δειγμάτων όσο και των δειγμάτων φυσιολογικών δοτών, με τη χρήση τριών παρτίδων kit HTLV-I/II σε δύο εξεταστικά κέντρα. Τα αρνητικά αποτελέσματα της ανάλυσης με τη μέθοδο ELISA θεωρήθηκαν ψευδώς αρνητικά. Η ευαισθησία και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκαν τόσο για τα νεκροτομικά δείγματα όσο και για τα δείγματα φυσιολογικών δοτών στα οποία προστέθηκε εξωγενώς HTLV-I και HTLV-II θετικό αντίσωμα, όπως φαίνεται στον Πίνακα 14 παρακάτω. Το σύστημα Ανίοq HTLV-I/II Microelisa έχει συνολική εκτιμώμενη ευαισθησία 100% στα πτωματικά δείγματα εξωγενούς προσθήκης, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% της τάξης του 92,29%-100,00% για τα δείγματα ορού και της τάξης του 92,13-100% για τα δείγματα πλάσματος.

Πίνακας 14 – Αντιδραστικότητα έναντι δειγμάτων εξωγενούς προσθήκης, νεκροτομικών και φυσιολογικών δοτών

Κέντρο	Αριθμός παρτίδας	Τύπος δείγματος (Ορός)	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Αρχικώς μη αντιδραστικά	Αρχικώς αντιδραστικά	Ποσοστό αντιδραστικών	Όριο εμπιστοσύνης 95%
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
Κέντρο	Αριθμός παρτίδας	Τύπος δείγματος (Πλάσμα)	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Αρχικώς μη αντιδραστικά	Αρχικώς αντιδραστικά	Ποσοστό αντιδραστικών	Όριο εμπιστοσύνης 95%
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

Ειδικότητα

Εξετάστηκαν δείγματα πλάσματος τόσο από νεκροτομικά δείγματα (C) δοτών (n=45), όσο και από δείγματα φυσιολογικών (N) ζώντων δοτών (n=45, συλλέχθηκαν από πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (τράπεζα αίματος)), σύμφωνα με τις οδηγίες του ένθετου συσκευασίας του συστήματος Ανίοq HTLV-I/II Microelisa, με τρεις παρτίδες κιτ HTLV-I/II σε δύο εξεταστικά κέντρα. Η ειδικότητα και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95% υπολογίστηκαν τόσο για τα νεκροτομικά δείγματα, όσο και για τα δείγματα φυσιολογικών δοτών, όπως φαίνεται στον Πίνακα 15 παρακάτω. Το σύστημα Ανίοq HTLV-I/II Microelisa έχει συνολική εκτιμώμενη ειδικότητα 100% στα πτωματικά δείγματα πλάσματος, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% της τάξης του 92,13-100 %.

Πίνακας 15 – Εκτιμώμενη ειδικότητα σε νεκροτομικά δείγματα πλάσματος και δείγματα πλάσματος από τυχαίους δότες

Κέντρο	Παρτίδα	Τύπος δείγματος (Πλάσμα)	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων	Μη αντιδραστικά	Επανειλημμένα αντιδραστικά	Εκτιμώμενη ειδικότητα (%)*	Όρια εμπιστοσύνης 95% για την ειδικότητα (%)**
Κέντρο 1	Παρτίδα 1	Πτωματικά	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0
	Παρτίδα 2	Πτωματικά	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0
	Παρτίδα 3	Πτωματικά-	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0
Κέντρο 2	Παρτίδα 1	Πτωματικά	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0
	Παρτίδα 2	Πτωματικά	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0
	Παρτίδα 3	Πτωματικά	45	45	0	100	92,13-100,0
		Φυσιολογικά	45	45	0	100	92,13-100,0

* = $\frac{(\text{Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων} - \text{Αριθμός επανειλημμένα αντιδραστικών})}{(\text{Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων} - \text{Αριθμός επιβεβαιωμένα θετικών})} \times 100$

** = Τα όρια εμπιστοσύνης για την ειδικότητα υπολογίστηκαν με τη μέθοδο ακριβούς ελέγχου.

Εξετάστηκαν νεκροτομικά δείγματα ορού από 218 δότες σύμφωνα με τις οδηγίες του ένθετου συσκευασίας του συστήματος Avioq HTLV-I/II Microelisa με μία από τις τρεις παρτίδες κιτ HTLV-I/II (περίπου το 1/3 των δειγμάτων ανά παρτίδα) σε ένα κέντρο. Υπολογίστηκαν η ειδικότητα και τα διαστήματα εμπιστοσύνης 95%, όπως φαίνεται στον Πίνακα 16 παρακάτω. Το σύστημα Avioq HTLV-I/II Microelisa έχει συνολική εκτιμώμενη ειδικότητα 100% στα πτωματικά δείγματα, με διάστημα εμπιστοσύνης 95% της τάξης του 98,32-100 %.

Πίνακας 16 – Εκτιμώμενη ειδικότητα σε νεκροτομικά δείγματα ορού

Παρτίδα	Τύπος δείγματος (Ορός)	Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων***	Αρχικώς μη αντιδραστικά	Επανειλημμένα αντιδραστικά	Εκτιμώμενη ειδικότητα (%)*	Όρια εμπιστοσύνης 95% για την ειδικότητα (%)**
Παρτίδα 1	Πτωματικά	73	73	0	100	95,07-100,0
Παρτίδα 2	Πτωματικά	73	73	0	100	95,07-100,0
Παρτίδα 3	Πτωματικά	72	71	0	100	95,01-100,0

Σύνολο	218	217	0	100	98,32-100,0
--------	-----	-----	---	-----	-------------

* = $\frac{(\text{Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων} - \text{Αριθμός επανειλημμένα αντιδραστικών})}{(\text{Αριθμός εξεταζόμενων δειγμάτων} - \text{Αριθμός επιβεβαιωμένα θετικών})} \times 100$

** = Τα όρια εμπιστοσύνης για την ειδικότητα υπολογίστηκαν με τη μέθοδο ακριβούς ελέγχου.

*** = Σε ξεχωριστή μελέτη, εξετάστηκαν 46 πτωματικά δείγματα και 46 δείγματα φυσιολογικών

ζώντων δοτών με τη χρήση τριών διαφορετικών παρτίδων kit HTLV-I/II σε δύο κέντρα. Ένα πτωματικό δείγμα ήταν επανειλημμένα αντιδραστικό και στις τρεις παρτίδες kit και στα δύο κέντρα. Ένα δεύτερο πτωματικό δείγμα ήταν επανειλημμένα αντιδραστικό και στις τρεις παρτίδες kit στο ένα κέντρο και στις δύο παρτίδες kit στο άλλο κέντρο.

Βιβλιογραφία

- 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.
- Blattner WA, *et al.* Epidemiology of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus. *J Infect Dis* 1983; 147(3): 406-416.
- 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.
- 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.
- Mann DL, *et al.* HTLV-I associated B-cell CLL: indirect role for retrovirus in leukemogenesis. *Science* 1987; 236: 1103-6.
- Manns A, *et al.* The epidemiology of HTLV-I and -II: etiologic role in human disease. *Transfusion* 1991; 31(1): 67-75.
- D'Aquila RT: Newly recognized human viruses. *Mediguide to Inf. Diseases* 1993; 12(4): 2-6.
- Manns A, *et al.* Role of HTLV-I in development of NHL in Jamaica and Trinidad and Tobago. *The Lancet* 1993; 342: 1447-50.
- Morgan OS, *et al.* HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet*, 1989; 2:1184-87.
- Sato K, *et al.* Arthritis in patients infected with HTLV-I. *Arthritis and Rheumatism* 1991; 34(6): 714-21.
- Sato K, *et al.* HTLV-I and Arthritis. *Rheumatol. Rev.* 1992; 1: 185-92.
- Zucker-Franklin, *et al.* KS in a HIV negative patient with asymptomatic HTLV-I infection: *J. Infect. Dis.* 1993; 167: 987-89.
- Mochizuki M, *et al.* Uveitis associated with HTLV-I: seroepidemiologic, clinical and virologic studies. *J. Inf. Diseases* 1992; 166: 943-46.
- 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.
- Bazarbachi A, *et al.* HTLV-I provirus and mycosis fungoides. *Science* 1993; 259: 1470-71.
- Clark J, *et al.* Seroepidemiologic Studies of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I in Jamaica. *Int J Cancer* 1985; 36: 37-41.
- 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: 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.

ΔΙΑΘΕΣΙΜΟΤΗΤΑ

Avioq Inc.

Σύστημα Microelisa Avioq HTLV-I/II

Κιτ 192 δοκιμασιών



Αριθμός προϊόντος 500192

Κιτ 576 δοκιμασιών



Αριθμός προϊόντος 500576

Κιτ 9600 δοκιμασιών



Αριθμός προϊόντος 509600

Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, φιάλη 100 ml



Αριθμός προϊόντος 559879

Ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης, 4 φιάλες των 100 ml



Αριθμός προϊόντος 559880

Για τεχνική υποστήριξη εντός των ΗΠΑ, απευθυνθείτε στο τμήμα εξυπηρέτησης πελατών της Avioq στον αριθμό τηλεφώνου 1-919- 314- 5535.

Για τεχνική υποστήριξη εκτός των ΗΠΑ, απευθυνθείτε στην Emergo Europe στον αριθμό τηλεφώνου (31)(0)70345-8570

Το EnzAbody είναι σήμα κατατεθέν της bioMérieux στις ΗΠΑ και άλλες χώρες.



Avioq, Inc.
76 T.W. Alexander Drive
Durham, North Carolina 27713
www.Avioq.com



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands

Κατασκευασμένο στις Ηνωμένες Πολιτείες

Αριθμός άδειας για τις ΗΠΑ: 1856

Οκτώβριος 2025

CE 2797