

IVD

Gebrauchsanweisung (Deutsch)

1 Zweckbestimmung

Der recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG ist ein qualitativer Test zum Nachweis von IgG-Antikörpern gegen das humane T-Zell-lymphotrope Virus (HTLV) in humanem Serum oder Plasma. Der Test erlaubt eine Unterscheidung zwischen den Virustypen 1 und 2.

2 Anwendungsbereich

Der recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG ist ein Line Immunoassay. Das Testprinzip erlaubt durch das separate Auflinieren der Einzelantigene, im Unterschied zu ELISAs, die Identifizierung von spezifischen Antikörpern gegen die einzelnen Antigene von HTLV. Im Test werden folgende rekombinant hergestellte Antigene verwendet: zur Unterscheidung der beiden HTLV-Typen werden die Antigene GAG-p19, GAG-p24 und ENV-gp46 verwendet. Als Typ-unabhängiger Marker wird ENV-gp21 benutzt.

Der recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG ist ein Bestätigungstest und wird zur Absicherung von Ergebnissen aus HTLV-Screening-Testen eingesetzt.

3 Testprinzip

Hochgereinigte rekombinante Antigene sind auf Nitrozellulosemembran-Teststreifen fixiert.

1. Die Teststreifen werden mit der verdünnten Serum- oder Plasmaprobe inkubiert, wobei sich spezifische Antikörper an die Erreger-Antigene auf den Teststreifen anlagern.
2. Nicht gebundene Antikörper werden anschließend gewaschen.
3. Die Streifen werden in einem zweiten Schritt mit anti-human Immunglobulin-Antikörpern (IgG) inkubiert, die mit Meerrettich-Peroxidase gekoppelt sind.
4. Nicht gebundene Konjugat-Antikörper werden anschließend gewaschen.
5. Mit einer durch die Peroxidase katalysierten Färbereaktion werden spezifisch gebundene Antikörper nachgewiesen. Falls eine Antigen-Antikörper-Reaktion stattgefunden hat, erscheint an der entsprechenden Stelle eine dunkle Bande auf dem Streifen.

Am oberen Ende der Teststreifen befinden sich Kontrollbänder:

- a) Die Reaktionskontrolle unter der Streifennummer, die bei jeder Serum-/Plasmaprobe eine Reaktion zeigen muss.
- b) Die Konjugatkontrolle (IgG) dient zur Kontrolle der nachgewiesenen Antikörperklasse. Wird der Teststreifen zum Nachweis von IgG-Antikörpern benutzt, zeigt die Konjugatkontrollbande IgG eine deutliche Bande.
- c) "Cutoff-Kontrolle": Die Intensität dieser Bande erlaubt die Beurteilung der Reaktivität der einzelnen Antigen-Banden (siehe 9.2 Auswertung).

4 Reagenzien

4.1 Packungsinhalt

Die Reagenzien einer Packung reichen für 20 Bestimmungen. Jeder Reagenziensatz enthält:

DILUBUF	100 ml Verdünnungspuffer (gebrauchsfertig) Enthält Tris-Puffer, NaCl, Detergenz, Konservierungsmittel MIT (0,01 %) und Oxypyryon (0,1 %) und Protein
WASHBUF A 10 X	100 ml Waschpuffer A (zehnfach konzentriert) Enthält Phosphat-Puffer, NaCl, KCl, Detergenz, Konservierungsmittel MIT (0,1 %) und Oxypyryon (0,2 %)
SUBS TMB	40 ml Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin (TMB, gebrauchsfertig)
MILKPOW	5 g Magermilchpulver
INSTRU	1 Gebrauchsanweisung
EVALFORM	1 Auswertebogen
TESTSTR	2 Röhrchen mit je 10 durchnummerierten Teststreifen
CONJ IgG	500 µl Anti-human IgG-Konjugat (hundertfach konzentriert, grüne Verschlusskappe) Aus Kaninchen, enthält Na ₂ S ($<0,1\%$), MIT ($<0,1\%$) und Chlorazetamid ($<0,1\%$)

CONTROL + IgG	140 µl Positive Serumkontrolle IgG (Rote Verschlusskappe) Humaner Ursprung, anti-HCV, anti-HIV-1/2 und HBs-Ag negativ, enthält MIT (0,1 %) und Oxypyryon (0,1 %)
CONTROL - IgG	140 µl Negative Serumkontrolle IgG (Blaue Verschlusskappe) Humaner Ursprung, anti-HCV, anti-HIV-1/2 und HBs-Ag negativ, enthält MIT (0,1 %) und Oxypyryon (0,1 %)

4.2 Zusätzlich benötigte Reagenzien - erforderliches Zubehör

- Inkubationsschalen (sind bei Bedarf von MIKROGEN zu beziehen)
- Deionisiertes Wasser (hohe Qualität)
- Plastikpinzette
- Horizontalschüttler
- Vortex-Mixer oder andere Rotatoren
- Vakuumpumpe oder entsprechendes Gerät
- Messzylinder, 50 ml und 1000 ml
- Mikropipetten mit Einwegspitzen, 20 µl und 1000 µl
- 10 ml Pipette oder Dispenser
- Timer
- Saugfähige Papiertücher
- Einweg-Schutzhandschuhe
- Abfallbehälter für Biogefahrstoffe

5 Haltbarkeitsdauer und Handhabung

- ☞ Reagenzien vor und nach Gebrauch bei +2°C bis +8°C lagern, **nicht einfrieren**.
- ☞ Vor Testbeginn alle Bestandteile für mindestens 30 Minuten auf Raumtemperatur (+18°C bis +25°C) temperieren. Die Testdurchführung erfolgt bei Raumtemperatur, alle verwendeten Reagenzien müssen Raumtemperatur aufweisen.
- ☞ Waschpuffer A, Milchpulver, Verdünnungspuffer, Konjugate und TMB können zwischen verschiedenen recomLine und/oder recomBlot Testsystemen ausgetauscht werden, wenn diese Komponenten das gleiche Symbol tragen. Dabei ist die Haltbarkeit dieser Komponenten zu beachten.
- ☞ Vor Gebrauch die konzentrierten Reagenzien und Patientenserum gut durchmischen. Schaumbildung vermeiden.
- ☞ Röhrchen mit den Teststreifen erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen, um Kondenswasserbildung zu vermeiden. Nicht benötigte Streifen verbleiben im Röhrchen und werden weiterhin bei +2°C bis +8°C gelagert (Röhrchen wieder gut verschließen, Teststreifen dürfen vor Versuchsbeginn nicht feucht werden!).
- Teststreifen können nach Anbruch des Testkits nur maximal für 9 Monate verwendet werden!**
- ☞ Die Streifen sind mit der fortlaufenden Nummer sowie dem Testkürzel gekennzeichnet.
- ☞ Die Packungen tragen ein Verfallsdatum, nach dessen Erreichen keine Qualitätsgarantie mehr übernommen werden kann.
- ☞ Kitkomponenten während der gesamten Testdurchführung vor direktem Sonnenlicht schützen. Insbesondere die Substratlösung (TMB) ist lichtempfindlich.
- ☞ Der Test ist nur von geschultem und autorisiertem Fachpersonal durchzuführen.
- ☞ Bei substanziellen Änderungen am Produkt bzw. der Anwendungsvorschrift durch den Anwender kann die Anwendung außerhalb der von MIKROGEN vorgegebenen Zweckbestimmung liegen.
- ☞ Kreuzkontamination der Patientenproben oder Konjugate kann zu falschen Testergebnissen führen. Fügen Sie Patientenproben, Teststreifen und Konjugatlösung sorgfältig zu. Achten Sie darauf, dass Inkubationslösungen nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden. Flüssigkeiten vorsichtig entfernen.
- ☞ Die Streifen müssen während der gesamten Prozedur vollständig benetzt und untergetaucht sein.
- ☞ Automatisierung ist möglich, nähere Informationen erhalten Sie von MIKROGEN.

6 Warnungen und Sicherheitsvorkehrungen

- ☞ Nur für die In-vitro-Diagnostik verwenden.
- ☞ Sämtliche Blutprodukte müssen als potenziell infektiös behandelt werden.
- ☞ Die Teststreifen wurden mit inaktivierten Ganzzelllysaten und/oder rekombinant hergestellten bakteriellen, viralen oder parasitären Antigenen angefertigt.
- ☞ Nach der Zugabe von Patienten- oder Kontrollmaterial muss der Streifen als potenziell infektiös betrachtet und entsprechend als solcher behandelt werden.
- ☞ Während des gesamten Testverfahrens müssen geeignete Einweg-Handschuhe getragen werden.
- ☞ Die Reagenzien enthalten die antimikrobiellen Mittel und Konservierungsstoffe Natriumazid (NaN₃), MIT (Methylisothiazolon), Oxypyron und Chlorazetamid. Eine Berührung mit der Haut oder Schleimhaut ist zu vermeiden. Natriumazid (NaN₃) kann bei Kontakt mit Schwermetallen wie Kupfer und Blei explosive Azide formen.
- ☞ Alle abgesaugten Flüssigkeiten müssen gesammelt werden. Alle Sammelbehälter müssen geeignete Desinfektionsmittel zur Inaktivierung humanpathogener Erreger enthalten oder autoklaviert werden. Sämtliche Reagenzien und Materialien, die mit potenziell infektiösen Proben in Berührung kommen, müssen mit geeigneten Desinfektionsmitteln behandelt oder entsprechend den Hygienevorschriften entsorgt werden. Die Konzentrationsangaben und Inkubationszeiten der Hersteller müssen beachtet werden.
- ☞ Inkubationsschalen nur einmal verwenden.
- ☞ Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette handhaben.
- ☞ Ersetzen oder mischen Sie die Reagenzien nicht mit Reagenzien anderer Hersteller.
- ☞ Vor Durchführung des Tests die gesamte Gebrauchsanweisung durchlesen und sorgfältig befolgen. Abweichungen vom in der Gebrauchsanweisung aufgeführten Testprotokoll können zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

7 Probenentnahme und Reagenzien-Vorbereitung

7.1 Probenmaterial

Das Probenmaterial kann Serum oder Plasma (EDTA, Citrat, Heparin, CPD) sein, das nach Entnahme möglichst rasch vom Blutkuchen getrennt werden muss, um eine Hämolyse zu vermeiden. Eine mikrobielle Kontamination der Probe ist unbedingt zu vermeiden. Unlösliche Stoffe sind vor der Inkubation aus der Probe zu entfernen. Die Verwendung von ikterischen, hämolytischen, lipämischen oder trüben Proben wird nicht empfohlen.

Achtung!

Sollen die Bestimmungen nicht sofort erfolgen, kann das Probenmaterial bis zu 2 Wochen bei +2°C bis +8°C aufbewahrt werden. Eine längere Lagerung der Proben ist durch Aufbewahrung bei -20°C oder tiefer möglich. Ein wiederholtes Einfrieren und Auftauen der Proben wird wegen der Gefahr fehlerhafter Resultate nicht empfohlen. Mehr als 3 Tiefgefrier- und Auftau-Zyklen sollten vermieden werden.

7.2 Herstellung der Lösungen

7.2.1 Herstellung des gebrauchsfertigen Waschkuffers A

Dieser Puffer wird für die Serum- und Konjugatverdünnung sowie die Waschschrte benötigt. Vor dem Verdünnen ist das Volumen des Waschkuffers A für die entsprechende Anzahl der durchzuführenden Tests zu bestimmen. Das Magermilchpulver wird zuerst in Waschkuffer A-Konzentrat vorgelegt und diese Mischung dann mit deionisiertem Wasser auf das Endvolumen aufgefüllt (Verdünnung 1 + 9). Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln (gerätespezifisches Totvolumen ist nicht berücksichtigt):

Reagenz	Formel	Beispiel: 5 Streifen
Magermilchpulver [g]	= Streifen-Anzahl x 0,1	0,5 g
Waschkuffer A-Konzentrat [ml]	= Streifen-Anzahl x 2	10 ml
Deionisiertes Wasser [ml]	= Streifen-Anzahl x 18	90 ml
Gebrauchsfertiger Waschkuffer A [ml]	= Streifen-Anzahl x 20	100 ml

Gebrauchsfertiger Waschkuffer A kann bei +2°C bis +8°C vier Wochen gelagert werden. Der gebrauchsfertige Waschkuffer A ist geruchlos und leicht getrübt.

7.2.2 Herstellung der Konjugatlösung

Die Konjugatlösung ist **kurz vor Gebrauch** herzustellen, eine Lagerung der gebrauchsfertigen Konjugatlösung ist nicht möglich.

Ein Teil des Konjugat-Konzentrats wird mit 100 Teilen gebrauchsfertigem Waschkuffer A verdünnt (1 + 100).

Die benötigten Mengen für eine definierte Anzahl von Teststreifen sind entsprechend folgender Formeln rechnerisch zu ermitteln:

Reagenz	Formel	Beispiel: 5 Streifen
Konjugat-Konzentrat [µl]	= Streifen-Anzahl x 20	100 µl
Gebrauchsfertiger Waschkuffer A [ml]	= Streifen-Anzahl x 2	10 ml

Die Konjugatmengen sind ohne Totvolumen berechnet. Je nach Abarbeitung (manuell bzw. an einem Gerät) bitte zusätzliche Konjugatlösung für 1 bis 3 Streifen ansetzen.

8 Testverfahren

Nr.	Durchführung	Anmerkung
1	Alle Reagenzien vor Testbeginn für mindestens 30 Minuten auf +18°C bis +25°C (Raumtemperatur) temperieren.	Die Testdurchführung erfolgt bei Raumtemperatur, alle verwendeten Reagenzien müssen Raumtemperatur aufweisen.
2	Teststreifen vorbereiten Streifen in 2 ml gebrauchsfertigen Verdünnungspuffer einlegen.	Die Streifen nicht mit bloßen Händen anfassen, Pinzette verwenden. Die Streifennummer zeigt nach oben. Für jeden Streifen wird eine Vertiefung in einer Inkubationsschale (siehe 4.2) benötigt. Die Streifen müssen komplett untergetaucht sein.
3	Probeninkubation	
a)	20 µl einer unverdünnten Probe (Humanserum oder Plasma) bzw. Kontrolle werden je Inkubationsansatz zum Teststreifen pipettiert (Verdünnung: 1 + 100).	Probe/Kontrolle an einem Ende des untergetauchten Streifens in den Verdünnungspuffer pipettieren und schnellstmöglich durch vorsichtiges Schütteln der Inkubationswanne mischen.
b)	3 Stunden unter leichtem Schütteln inkubieren.	Inkubationsschale mit Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen.
4	Waschen	Waschschritte 8.4a bis 8.4c insgesamt dreimal durchführen.
a)	Kunststoffdeckel vorsichtig von den Inkubationsschalen abnehmen.	Kreuzkontamination vermeiden.
b)	Serumverdünnung vorsichtig aus den einzelnen Vertiefungen absaugen.	Bei maschineller Abarbeitung sind diesbezüglich die Hinweise des Geräteherstellers zu beachten.
c)	2 ml gebrauchsfertigen Waschkuffer A (siehe 7.2.1) in jede Vertiefung pipettieren, für 5 Minuten unter leichtem Schütteln waschen und anschließend den Waschkuffer A absaugen.	
5	Inkubation mit Konjugat 2 ml gebrauchsfertige Konjugatlösung (siehe 7.2.2) zugeben und 45 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren.	Inkubationsschale mit dem Kunststoffdeckel abdecken und auf den Schüttler stellen.
6	Waschen (siehe unter 8.4)	Waschschritte insgesamt dreimal durchführen (siehe 8.4a bis 8.4c).
7	Substratreaktion 1,5 ml der Substratlösung zugeben und 8 Minuten unter leichtem Schütteln inkubieren.	
8	Abstoppen der Reaktion Substratlösung entfernen. Mindestens dreimal kurz mit deionisiertem Wasser waschen.	
9	Trocknen der Streifen Streifen vor der Auswertung 2 Stunden zwischen 2 Lagen saugfähigen Papiers trocknen.	Streifen vorsichtig mit einer Plastikpinzette aus dem Wasser nehmen. Streifen vor Licht geschützt aufbewahren.

Achtung!
Inkubationslösungen dürfen nicht in andere Vertiefungen verschleppt werden. Insbesondere beim Öffnen und Schließen des Deckels sind Spritzer zu vermeiden.

9 Ergebnisse

Achtung:

Verwenden Sie nicht die automatisierte Interpretation ohne die unten beschriebenen Hinweise zur Interpretation zu beachten.

9.1 Validierung – Qualitätskontrolle

Eine Auswertung des Tests kann erfolgen, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

1. Reaktionskontrollbande (oberste Linie): deutlich gefärbt, dunkle Bande.
2. Antikörperklasse (zweite Bande): die IgG-Konjugatkontrollbande muss eine deutliche Färbung zeigen.
3. Cutoff-Kontrolle (dritte Bande): schwache, aber sichtbare Färbung. Negativ- und Positivkontrolle sind für die Auswertung des Tests nicht notwendig. Sie können bei Bedarf für die interne Qualitätskontrolle mitgeführt werden.

Die Kontrollen müssen folgende reaktive Antigenbanden aufweisen:

- **Positivkontrolle:** Die beiden ENV-Antigene gp21 und gp46-1 müssen reaktiv sein. Alle weiteren Antigene können, müssen aber nicht reagieren.
- **Negativkontrolle:** keine

9.2 Auswertung

Die Auswertung der Teststreifen kann visuell oder computergestützt – mit der Teststreifenauswert-Software *recomScan* – erfolgen. Die *recomScan* Software ist zur Unterstützung der Teststreifen-Interpretation bestimmt. Weitere Informationen und entsprechende Anleitungen zur computergestützten Auswertung erhalten Sie auf Anfrage bei MIKROGEN. Die nachfolgende Anleitung bezieht sich auf die visuelle Auswertung.

9.2.1 Bewertung der Bandenintensität

1. Notieren Sie im beigefügten Auswertebogen Datum und Chargen-Nummer sowie die detektierte Antikörperklasse.
2. Tragen Sie die Proben-Identifizierungs-Nummern in den Auswertebogen ein.
3. Kleben Sie nun mit einem Klebestift die dazugehörigen Teststreifen in die entsprechenden Felder des Auswertebogens. Richten Sie dazu die Teststreifen mit der Reaktionskontroll-Bande an der eingezeichneten Markierungslinie aus. Kleben Sie dann mit einem durchsichtigen Klebeband die Teststreifen links von der Markierungslinie an (Reaktionskontroll-Bande nicht überkleben!). Flächiges Ankleben der ganzen Teststreifen mit Klebestift oder Klebeband kann zu Veränderungen der Färbung führen.
4. Identifizieren Sie nun die Banden der entwickelten Teststreifen anhand des aufgedruckten Kontrollstreifens des Auswertebogens und tragen diese in den Auswertebogen ein. Nehmen Sie dazu anhand der Tabelle 1 die Bewertung der Intensität der auftretenden Banden gesondert für die entsprechenden Immunglobulin-Klassen vor.

Tabelle 1: Bewertung der Bandenintensität im Bezug zur Cutoff-Bande

Farbintensität der Banden	Bewertung
Keine Reaktion	-
Sehr schwache Intensität (geringer als Cutoff-Bande)	+/-
Schwache Intensität (entspricht Cutoff-Bande)	+
Starke Intensität (stärker als Cutoff-Bande)	++
Sehr starke Intensität	+++

9.3 Interpretation der Testergebnisse

Das Testergebnis wird durch Addition der Punktwerte gemäß Tabelle 2 der einzelnen \geq Cutoff reaktiven Banden (d.h. mit mindestens + bewertet) bestimmt. Die resultierende Summe wird in die Spalte mit dem Summenzeichen eingetragen.

Die positive, fragliche oder negative Beurteilung der Probe kann dann mit Tabelle 3 direkt bestimmt und im Auswertebogen in die Spalte Beurteilung eingetragen werden.

Zu beachten ist, dass für die Reaktion der p19-, p24- und gp46-Banden nur einmal der Punktwert berechnet wird, unabhängig davon, ob nur ein Typ oder beide Typen reagieren.

Tabelle 2: Punktebewertung der Antigene

Antigen	Punkte IgG
p19	1
p24	1
gp46	2
gp21	2

Tabelle 3: Testinterpretation

Summe der Punkte	Beurteilung IgG
≤ 1	negativ
2	fraglich
≥ 3	positiv

Die Differenzierung erfolgt über die Antikörper-Reaktivität gegenüber der Strukturproteine (GAG) p19 und p24 sowie gegenüber des Hüllproteins (ENV) gp46. **Eine Differenzierung ist nur möglich, wenn das Testergebnis positiv ist (d. h. mindestens 3 Punkte aufweist)** (siehe Tabelle 2 und 3).

Tabelle 4: Differenzierung

Differenzierung	Kriterien*
HTLV-1	<ul style="list-style-type: none"> • gp46-1 reagiert \geq Cutoff <u>und</u> • gp46-1 zeigt im Vergleich eine signifikant höhere Intensität als gp46-2 <u>oder</u> • beide gp46 reagieren mit gleicher Intensität \geq Cutoff, oder beide gp46 reagieren $<$ Cutoff <u>und</u> • p19-1 reagiert \geq Cutoff
HTLV-2	<ul style="list-style-type: none"> • gp46-2 reagiert \geq Cutoff <u>und</u> • gp46-2 zeigt im Vergleich eine signifikant höhere Intensität als gp46-1 <u>oder</u> • beide gp46 reagieren mit gleicher Intensität \geq Cutoff, oder beide gp46 reagieren $<$ Cutoff <u>und</u> • p19-1 reagiert $<$ Cutoff <u>und</u> • p24-2 reagiert \geq Cutoff
nicht typisierbar	<ul style="list-style-type: none"> • Testergebnis ist positiv <u>und</u> • weder die Kriterien für HTLV-1 noch HTLV-2 treffen zu

*Die Reaktivität der Antigene p19-2 und p24-1 gehen nicht in die Differenzierung ein.

10 Grenzen der Methode, Einschränkungen

- Serologische Testergebnisse sind immer in Zusammenhang mit anderen ärztlichen Beurteilungen des Patienten zu sehen. Therapeutische Konsequenzen der serologischen Befundung sind im Zusammenhang mit den klinischen Daten zu ziehen.
- Ein negatives Testresultat kann eine Infektion mit dem humanen T-Zell-lymphotropen Virus nicht ausschließen. In der Frühphase der Infektion können Antikörper noch nicht oder in nicht nachweisbarer Menge vorhanden sein. Besteht ein Verdacht auf eine Infektion mit HTLV, sollte nach drei bis acht Wochen eine weitere Probenentnahme und Testung erfolgen.
- Patienten mit fraglichen Ergebnissen sollten in jedem Fall nach zwei bis sechs Wochen erneut getestet werden. Zur zusätzlichen Absicherung empfiehlt sich eine RT-PCR-Untersuchung zum Nachweis des HTLV-Genoms.
- Die Korrelation zwischen positivem Antikörpernachweis und Infektiosität ist nicht möglich.
- **Dunkle Teststreifen:** Manche Patientenproben können auf dem gesamten Nitrozellulose-Streifen eine dunkle, durchgängige oder gemusterte Färbung erzeugen (z. B. bei Seren von Patienten mit Milcheiweiß-Allergien). Hierfür sind unterschiedliche Faktoren aus dem jeweiligen Patientenserum verantwortlich. Die Auswertung dieser Streifen ist in der Regel nur mit Einschränkungen möglich. So sind z. B. "inverse" Banden (weiße Banden auf dunklem Hintergrund) als negativ zu werten. Das entsprechende Serum sollte in jedem Fall mittels anderer serologischer Methoden überprüft werden.
- Das Auftreten schwacher Banden, deren Intensitäten deutlich unterhalb des Cutoffs liegen, ist in seltenen Fällen möglich, beeinflusst jedoch nicht die Leistung des Tests.

11 Leistungsmerkmale

11.1 Diagnostische Sensitivität

recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG	HTLV-1 (n = 206)	HTLV-2 (n = 110)
Negativ	0	0
Fraglich	2	7
Positiv	204	103
Sensitivität	(2+204)/206 = 100%*	(7+103)/110 = 100%**

*Einschließlich zweier fraglicher Ergebnisse

**Einschließlich sieben fraglicher Ergebnisse

11.2 Differenzierung zwischen HTLV-1 und HTLV-2

recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG	HTLV-1 (n = 204) nur die Positiven der 206 Proben	HTLV-2 (n = 103) nur die Positiven der 110 Proben
Positiv auf HTLV-1	204	0
Positiv auf HTLV-2	0	101
Differenzierung nicht mgl.	0	2
Korrekte Differenzierung	204/204 = 100%*	101/103 = 98,1%**

*181 Einteilungen mit Hilfe des gp46-1/gp46-2 Quotienten; zusätzlich 23 mit p19-1 \geq 1 COI

**99 Einteilungen mit Hilfe des gp46-2/gp46-1 Quotienten; zusätzlich 2 mit p24-2 \geq 1 COI

11.3 Diagnostische Spezifität

Blutspender, klinische und interferierende Proben:

recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG	Blutspender (n = 200)	Klinische Proben* (n = 239)	Potenziell interferierende Proben** (n = 80)
Negativ	193	235	79
Fraglich	7	4	1
Positiv	0	0	0
Spezifität	193/200 = 96,5%	235/239 = 98,3%	79/80 = 98,8%

*Proben von Patienten mit akuter Hepatitis, frischer EBV-Infektion, ANA-positiven Autoimmunerkrankungen, Schwangere und Proben aus der bakteriellen Laborroutine.

**Lipämische, hämolytische und ikterische Proben, RF-positive Proben.

11.4 HIV-Infizierte und HIV/HTLV-doppelt-Infizierte

a) **HIV-1:** Es wurden insgesamt 19 HIV-1-positiv/HTLV-negative Proben aus Zentraleuropa getestet, diese zeigten jeweils ein HTLV-negatives Ergebnis. Weiterhin wurden 5 Proben mit bestätigter HIV-1/HTLV-Doppelinfektion aus Französisch-Guyana, Guadeloupe oder Martinique getestet, alle Proben zeigten ein HTLV-positives Ergebnis.

b) **HIV-2:** Es wurden insgesamt 21 HIV-2-positiv Proben von der Elfenbeinküste getestet. Davon zeigten 17 bestätigt HIV-2-positiv/HTLV-negative Proben ein HTLV-negatives Ergebnis. Weiterhin zeigten 2 Proben mit bestätigter HIV-2/HTLV-Doppelinfektion ein positives und ein fragliches HTLV-Ergebnis. Zusätzlich zeigten 2 Proben mit vermuteter HIV-2/HTLV-Doppelinfektion jeweils ein fragliches HTLV-Ergebnis.

11.5 Analytische Spezifität

Die analytische Spezifität wird definiert als die Kapazität des Tests, den Analyten genau zu bestimmen bei Vorhandensein von potenziellen Interferenz-Faktoren in der Proben-Matrix oder Kreuzreaktionen mit potenziell interferierenden Antikörpern.

a) **Interferenzen:** Kontrollstudien über potenziell interferierende Faktoren haben gezeigt, dass die Leistungen des Tests nicht durch Antikoagulantien (Natriumzitrat, EDTA, Heparin, CPD), Hämolyse, Lipämie, Bilirubinämie oder drei Tiefgefrier- und Auftau-Zyklen der Probe beeinflusst werden.

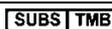
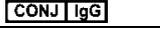
b) **Kreuzreaktionen:** In Kontrollstudien wurden die potenziellen Interferenzen von Antikörpern gegen andere Organismen mit ähnlichen klinischen Symptomen wie bei einer Infektion mit HTLV (z. B. EBV und virale Hepatitiden) sowie einer Infektion mit verwandten Erregern (HIV, HCV) untersucht. Zusätzlich wurden Konditionen, die auf eine atypische Aktivität des Immunsystems zurückzuführen sind (antinukleäre Autoantikörper, Rheumafaktor) getestet. Es wurden keine Kreuzreaktivitäten nachgewiesen (siehe 11.3).

12 Literatur

- Morrison BJ, Labo N, Miley WJ, Whitby D. Serodiagnosis for Tumor Viruses. Semin. Oncol. 2015 42(2): 191–206
- Campos KR, Goncalves MG, Costa NA, de-Araujo AC. Comparative performances of serologic and molecular assays for detecting human T lymphotropic virus type 1 and type 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in patients infected with human immunodeficiency virus Type 1 (HIV-1). Braz. J. Infect. Dis. 2017; 21(3): 297–305
- Kreß A. Humanes T-Zell-Leukämievirus Typ 1 (HTLV-1) – Infektion, Pathogenese und Therapie. RetroVirusBulletin 2012 (4): 1–3
- Hansen DT, Petersen T, Christensen T. Retroviral envelope proteins: Involvement in neuropathogenesis. J. Neurolog. Sciences 380 (2017): 151–163
- Zrein M, Louwagie J, Boeykens H, Govers L, Hendrickx G, Bosman F, Sablon E, Demarquilly C, Boniface M, Saman E. Assessment of a New Immunoassay for Serological Confirmation and Discrimination of Human T-Cell Lymphotropic Virus Infections. Clinical a. Diagn. Laboratory Immunol. Vol 5 Jan. 1998: 45–49
- Robert Koch-Institut. HIV, Hepatitis B und C bei injizierenden Drogengebrauchenden in Deutschland – Ergebnisse der DRUCK-Studie des RKI. Epidemiolog. Bulletin Juni 2015
- Tagaya Y, Matsuoka M, Gallo R. 40 years of the human T-cell leukemia virus: past, present and future. F1000Research 2019, 8: 228
- Oliveira PD, Farre L, Bittencourt AL. Adult T-cell leukemia/lymphoma. Rev. Assoc. Med. Bras 2016, 62: 691–700
- Goncalves DU, Proietti FA, Ribas JGR, Araujo MG, Pinheiro SR, Guedes AC, Carneiro-Proietti ABF. Epidemiology, Treatment, and Prevention of Human T-Cell Leukemia Virus Type 1-Associated Diseases. Clin. Microbiol. Reviews July 2010: 557–589
- Abrams A, Akahata Y, Jacobson S. The Prevalence and Significance of HTLV-1/II Seroindefinite Western Blot Patterns. Viruses 2011, 3: 1320–1331
- Willems L, Hasegawa H, Accolla R, Bangham C, Bazarbachi A, Bertazzoni U, Carneiro-Proietti ABF, Cheng H, Chieco-Bianchi L, Cirinale V, Coelho-Reis J, Esparza J, Gallo RC, Gessain A, Gotuzzo E, Hall W, Harford J, Hermine O, Jacobson S, Macchi B, Macpherson C, Mahieux R, Matsuoka M, Murphy E, Peleponese JM, Simon V, Tagaya Y, Taylor GP, Watanabe T, Yamano Y. Reducing the global burden of HTLV-1 infection: An agenda for research and action. Antiviral Research 137, 2017: 41–48
- Gallo R, The discovery of the first human retrovirus: HTLV-1 and HTLV-2. Retrovirology 2005, 2: 17

Auf Anforderung senden wir Ihnen gerne weiterführende Literatur zur HTLV-Diagnostik zu.

13 Erläuterung der Symbole

	Inhalt ist ausreichend für <n> Ansätze Anzahl der Ansätze
	Verdünnungspuffer
	Waschpuffer A (zehnfach konzentriert)
	Chromogenes Substrat Tetramethylbenzidin
	Magermilchpulver
	Gebrauchsanweisung
	Auswertebogen
	Teststreifen
	Anti-human IgG-Konjugat
	Positive Serumkontrolle IgG
	Negative Serumkontrolle IgG
	Gebrauchsanweisung beachten
	Inhalt, enthält
	In-vitro-Diagnostikum
	Chargen-/Versionsnummer
	Nicht einfrieren
	Bestell-Nummer
	Verwendbar bis Verfallsdatum
	Lagerung bei x°C bis y°C
	Hersteller

14 Hersteller- und Versionsdaten

recomLine HTLV-1 & HTLV-2 IgG		Artikel-Nr. 5272
Gebrauchsanweisung gültig ab		GARLHT004D 2023-02
	MIKROGEN GmbH Anna-Sigmund-Str. 10 82061 Neuried Germany Tel. +49 89 54801-0 Fax +49 89 54801-100 E-Mail mikrogen@mikrogen.de Internet www.mikrogen.de	
		 0483



GARLHT004