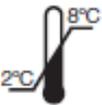




## Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq

### Símbolos clave utilizados

	Número de catálogo		Consulte Instrucciones de uso
	Código de lote		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de vencimiento		Control positivo
	Límite de temperatura		Control negativo
	No contiene látex		Contiene cantidad suficientes para <n> pruebas
	Precaución		Mantener alejado de la luz solar

## Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq



### USO PREVISTO

El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq es un inmunoanálisis enzimático (ELISA) de absorción cualitativo para la detección de anticuerpos del virus linfotrópico T humano de tipo I (HTLV-I) y/o el virus linfotrópico T humano de tipo II (HTLV-II) en suero, plasma humano y muestras de cadáver. Está destinado al cribado de donantes humanos individuales, lo que incluye a donantes voluntarios de sangre completa y hemoderivados, y a otros donantes vivos para detectar la presencia de anticuerpos para HTLV-I/HTLV-II y para contribuir al diagnóstico clínico de infección por HTLV-I o HTLV-II y enfermedades relacionadas. También está destinado a su uso en el análisis de muestras de suero y plasma para el cribado de donantes de órganos cuando las muestras se obtienen mientras el corazón del donante aún late y en muestras de prueba para el cribado de donantes cadáver (a corazón parado). No está destinado para uso en muestras de sangre de cordón umbilical. Además de utilizarlo como una prueba manual, también está destinado a utilizarlo con el sistema ORTHO® Summit (OSS) para el cribado de donantes de sangre.

### RESUMEN Y EXPLICACIÓN DE LA PRUEBA

El HTLV-I, un retrovirus humano de tipo C, ha estado etiológicamente asociado a la leucemia de linfocitos T del adulto (ATL)<sup>1-4</sup> y a un trastorno neurológico desmielinizante denominado paraparesia espástica tropical y/o mielopatía asociada al HTLV-I (TSP/HAM). Los anticuerpos anti HTLV-I se encuentran con una frecuencia elevada en personas afectadas por estos trastornos. Sin embargo, está bien establecido en estudios de áreas virales endémicas que se observan ATL y TSP/HAM negativas para el virus. Más recientemente, se ha demostrado que la infección por HTLV-I está asociada a leucemia linfocítica crónica (CLL) de linfocitos B y T,<sup>5,6</sup> mieloma múltiple,<sup>7</sup> algunos casos de linfoma no Hodgkiniano (NHL),<sup>8</sup> polimiositis,<sup>9</sup> artritis,<sup>10,11</sup> sarcoma de Kaposi,<sup>12</sup> uveítis,<sup>13</sup> estrongiloidiasis<sup>5</sup> y micosis fungoide.<sup>14,15</sup> El HTLV-I es endémico en algunos países del Caribe, el sur de Japón y posiblemente en algunas áreas de África.<sup>16-21</sup> En los Estados Unidos, se ha identificado al HTLV-I en pacientes con ATL, drogodependientes que consumen drogas inyectables y en personas sanas.

El HTLV-II, un virus relacionado, es endémico en varias tribus amerindias,<sup>22-25</sup> pero no se ha comprobado de manera inequívoca que sea un patógeno. Se ha observado una alta tasa de resultados serológicos positivos para el HTLV-II en drogodependientes que consumen drogas inyectables.<sup>26-28</sup> Los primeros pacientes para los que se notificaron infecciones por HTLV-II presentaban una variante atípica de leucemia de células pilosas en linfocitos T. Las observaciones más recientes llevaron a suponer que el HTLV-II puede estar asociado a leucemia de linfocitos grandes granulares (LGL),<sup>29</sup> leucemia linfopénica crónica de linfocitos T,<sup>30</sup> leucemia prolinfocítica de linfocitos T,<sup>31</sup> micosis fungoide<sup>14</sup> y enfermedades neurodegenerativas crónicas<sup>32,33</sup> como mielopatía<sup>34</sup> y ataxia espástica.<sup>35</sup> Los anticuerpos contra el HTLV-II presentan una reactividad cruzada significativa a los antígenos del HTLV-I.

La transmisión de infecciones por HTLV-I y HTLV-II a receptores de transfusiones de hemoderivados infectados está bien documentada. Otras vías conocidas de transmisión son la leche materna, el contacto sexual y compartir agujas y jeringas contaminadas entre consumidores de drogas inyectables. Se sospecha la transmisión perinatal pero aún no está comprobada.

## PRINCIPIO DE LA PRUEBA

El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq es un inmunoanálisis enzimático en el que la fase sólida (micropocillos) está cubierta por un lisado vírico purificado de HTLV-I, un lisado vírico purificado de HTLV-II y un antígeno recombinante de p21E del HTLV-I.

Con la adición de una muestra diluida para prueba que contiene anticuerpos anti HTLV-I o anti HTLV-II, los complejos se forman por la interacción de los anticuerpos en la muestra y los antígenos de la fase sólida. Después de la incubación, la muestra se aspira y se lava el pocillo con solución amortiguadora. Posteriormente, se agregan inmunoglobulinas antihumanas de cabra conjugadas con peroxidasa de rábano picante (HRP), las cuales ligan el complejo antígeno anticuerpo durante una segunda incubación. Después de un lavado e incubación con sustrato TMB (tetrametilbenzidina), se produce un color azul. La reacción enzimática se detiene con la adición de una solución de ácido sulfúrico, que cambia el color a amarillo. La cantidad de anticuerpos específicos para HTLV-I o HTLV-II presente en la muestra es proporcional a la intensidad del color.



## REACTIVOS

### Componentes en cada kit del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq

192 pruebas	576 pruebas	9600 pruebas	
2 porta tiras	6 porta tiras	100 porta tiras	<b>Tiras para Microelisa HTLV-I/II</b> – Doce por porta tiras, cada una contiene 8 pocillos recubiertos por lisado vírico de HTLV-I inactivado, un antígeno recombinante de HTLV-I (rp21E) y lisado vírico de HTLV-II inactivado; contenidas en una bolsa de aluminio con gel de sílice como desecante.
1 vial (50 mg)	2 viales (50 mg cada uno)	4 viales (50 mg cada uno)	<b>EnzAbody® para HTLV-I/II (concentrado EnzAbody)</b> – Inmunoglobulina antihumana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano picante, ~0,06% en peso o 30 µg; liofilizada con suero de cabra, sacarosa y leche desnatada en polvo.
1 frasco (55 ml)	2 frascos (55 ml cada uno)	28 frascos (55 ml cada uno)	<b>Diluyente EnzAbody®</b> – Solución salina amortiguada con fosfato que contiene un 10% de suero de cabra y surfactantes no iónicos. Conservantes: sulfato de gentamicina al 0,2% y cinamaldehído al 0,02%.
1 frasco (100 ml)	2 frascos (100 ml cada uno)	16 frascos (100 ml cada uno)	<b>Diluyente para muestras</b> – Solución salina amortiguada con fosfato que contiene un 10% de suero de cabra, surfactantes no iónicos, cloruro de sodio, albúmina de suero bovino al 0,14%, leche desnatada en polvo y colorante amaranto. Conservante: bromonitrodioxano al 0,03% (p/v).
1 frasco (22 ml)	2 frascos (22 ml cada uno)	34 frascos (22 ml cada uno)	<b>Solución TMB</b> – ácido cítrico que contiene tetrametilbenzidina al 0,03%•2HCl.
1 frasco (22 ml)	2 frascos (22 ml cada uno)	34 frascos (22 ml cada uno)	<b>Solución de peróxido</b> – solución amortiguadora de ácido cítrico y citrato de sodio que contiene

			peróxido de urea al 0,04%.
1 vial (1,5 ml)	2 viales (1,5 ml cada uno)	17 viales (1,5 ml cada uno) <b>CONTROL -</b>	<b>Suero control negativo</b> – suero humano con estabilizadores de proteínas; no reactivo según pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra HTLV-I, HTLV-II, VIH-1, VIH-2, VHC y no reactivo para HBsAg y VIH-Ag. Conservante: bromonitrodioxano al 0,05% (p/v).

192 pruebas	576 pruebas	9600 pruebas	
1 vial (1,0 ml)	1 vial (1,0 ml)	12 viales (1,0 ml cada uno) <b>CONTROL +</b>	<b>Suero control positivo para HTLV-I</b> – suero humano inactivado con estabilizadores de proteínas y colorante rojo amaranto; reactivo para anticuerpos contra el HTLV-I; no reactivo según pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra VIH-1, VIH-2, VHC y no reactivo para HBsAg y VIH-Ag. Puede presentar reactividad cruzada con el antígeno HTLV-II. Conservante: bromonitrodioxano al 0,05% (p/v).
1 vial (1,0 ml)	1 vial (1,0 ml)	12 viales (1,0 ml cada uno) <b>CONTROL +</b>	<b>Suero control positivo para HTLV-II</b> – suero humano inactivado con estabilizadores de proteínas y colorante azul patente; reactivo para anticuerpos contra el HTLV-II; no reactivo según pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra VIH-1, VIH-2, VHC y no reactivo para HBsAg y VIH-Ag. Puede presentar reactividad cruzada con el antígeno HTLV-I. Conservante: bromonitrodioxano al 0,05% (p/v).
1 cada uno	1 cada uno	5 cada uno	<b>Abrazadera y varilla (o equivalente)</b> – cierre para el envase de aluminio.
10 hojas	20 hojas	30 hojas	<b>Selladores para placas</b> – adhesivo.

**Nota:** el concentrado de solución amortiguadora de lavado se proporciona como accesorio del kit.

**Concentrado de solución amortiguadora de lavado**, número de referencia 559879, compuesto por 1 frasco (100 ml)

**Concentrado de solución amortiguadora de lavado**, número de referencia 559880, compuesto por 4 frascos (4x100 ml)

**Nota:** la solución quelante requerida es ácido sulfúrico 2N y no la suministra Avioq. No utilice ninguna otra solución quelante para esta prueba.



## ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. **Precaución: manipule todos los materiales biológicos HTLV-I/II de Avioq como si fueran agentes infecciosos con capacidad de contagio.** Los antígenos utilizados para recubrir los pocillos de microelisa han sido inactivados para virus mediante disrupción con detergente y los **sueros de control positivo para HTLV-I y HTLV-II** han sido inactivados mediante el agregado de detergente. Los controles positivos y negativos derivan de suero o plasma humano y se les han hecho pruebas de antígenos de VIH-1, HBsAg, anti-VIH-1, anti-VIH-2 y anti-VHC y se ha descubierto que no son reactivos según pruebas aprobadas por la FDA. Como ningún método de prueba puede ofrecer una garantía completa de la ausencia de agentes infecciosos, todos los materiales de origen humano se deberán manipular como si fueran agentes infecciosos con capacidad de contagio.
2. Todos los operadores de pruebas deberán atenerse a los reglamentos (29 CFR 1910.1030) del organismo de salud y seguridad laboral estadounidense (Occupational Safety and Health Administration, OSHA).
3. Mantenga el área de prueba separada de las áreas en las que se almacenan la sangre o los hemoderivados para transfusión.
4. No pipetee ninguno de los materiales con la boca. No fume, coma ni beba en áreas en las que se manipulan muestras o reactivos del kit.
5. No realice la prueba en presencia de vapores de reactivos (por ej., del hipoclorito de sodio, ácidos, álcalis o aldehídos) ni polvo porque puede verse afectada la actividad enzimática del conjugado.
6. Use guantes desechables y manipule con cuidado todos los materiales utilizados en la prueba (esto incluye muestras, controles, solución de lavado, tiras y porta tiras para microelisa y pipetas) como si fueran agentes infecciosos con capacidad de contagio. Consulte inmediatamente a un médico en caso de que los materiales sean ingeridos o entren en contacto con laceraciones abiertas, lesiones u otros cortes en la piel, membranas mucosas u ojos.
7. Para descontaminar, limpie inmediatamente cualquier derrame de material que contenga antígenos o anticuerpos utilizando una dilución 1:10 de hipoclorito de sodio al 5% (concentración final 0,5%) o desinfectante equivalente. Deseche el material de limpieza mediante un método aceptable.
8. Deseche todos los materiales que hayan entrado en contacto con muestras y reactivos siguiendo los reglamentos locales, estatales y federales.<sup>37</sup> Los residuos sólidos se pueden incinerar o limpiar en autoclave durante un lapso adecuado. Debido a las variaciones entre los autoclaves y en las configuraciones de los residuos, cada usuario deberá verificar la eficacia de este ciclo de descontaminación utilizando indicadores biológicos.<sup>38</sup>  
  
Nota: los residuos líquidos que contengan ácido deberán ser neutralizados antes de agregar desinfectantes o antes de desecharlos.
9. Algunos componentes de este kit contienen pequeñas concentraciones de sustancias químicas peligrosas (concentrado de solución amortiguadora de lavado, solución de peróxido, solución TMB). Consulte la Ficha de datos de seguridad del material (MSDS) para obtener información específica. Póngase en contacto con Avioq Inc. para obtener una MSDS.
10. **Ácido sulfúrico 2N** – el ácido sulfúrico es corrosivo y se deberá manipular con cuidado para evitar exponer la piel o los ojos. Si este reactivo entra en contacto con la piel o los ojos, lávelos meticulosamente con agua.
11. Proceda con precaución al montar las microplatas para ciclos de placas parciales (que combinan tiras cubiertas y no recubiertas). Es posible que algunos analizadores no puedan diferenciar entre pocillos

recubiertos y no recubiertos y se obtengan resultados para cualquier posición de pocillo con un número de ID o control asignado.

## PREPARACIÓN DE REACTIVOS

Prepare los siguientes reactivos antes o durante el procedimiento de la prueba. Los reactivos y las muestras deben estar a temperatura ambiente (15-30°C) antes de la dilución/preparación y antes de iniciar la prueba y pueden permanecer a temperatura ambiente durante la misma. Se deberá preparar una cantidad suficiente de reactivos de prueba para completar la cantidad de pruebas deseada. Vuelva a colocar los reactivos a 2-8 °C después del uso.

### Preparación del concentrado EnzAbody

1. Pipetee 4,0 ml de **diluyente EnzAbody** a un 1 vial de **concentrado EnzAbody** liofilizado. Mezcle minuciosamente el contenido. Evite formar una cantidad excesiva de espuma. Deje rehidratar el **concentrado EnzAbody** un mínimo de 30 minutos después de la reconstitución. No manipule el vial de **concentrado EnzAbody** con guantes que hayan entrado en contacto con suero o plasma.
2. Registre la fecha de preparación y la de caducidad en el vial. El concentrado EnzAbody es estable durante 5 semanas cuando se lo almacena a 2-8 °C.

### Preparación de la solución de trabajo EnzAbody

1. Se deben usar recipientes limpios de polipropileno, preferiblemente desechables. **No utilice recipientes de poliestireno.** Cuando utilice un procesador automático de microplacas, consulte las recomendaciones del fabricante para el uso de recipientes. Transfiera la cantidad adecuada de **diluyente EnzAbody** al recipiente y agregue la cantidad adecuada de **concentrado EnzAbody** reconstituido para fabricar una **solución de trabajo EnzAbody** 1:251 (consulte la tabla a continuación). Asegúrese de que el **concentrado EnzAbody** esté bien mezclado antes de usarlo. Vuelva a colocar el **concentrado EnzAbody** no utilizado a 2-8 °C. No combine viales de **concentrado EnzAbody reconstituido**. Es posible que necesite más **solución de trabajo EnzAbody** según el dispensador de reactivo utilizado.

#### Preparación de la solución de trabajo EnzAbody

Cantidad de tiras para microelisa	Volumen de concentrado EnzAbody reconstituido	Volumen de diluyente 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

Cantidad de placas	Volumen de concentrado EnzAbody reconstituido	Volumen de diluyente 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. Una vez preparada, la **solución de trabajo EnzAbody** permanece estable durante cuatro horas a temperatura ambiente. Registre los horarios de preparación y caducidad de la **solución de trabajo EnzAbody**. Deseche toda la **solución de trabajo EnzAbody** no utilizada después de completar la prueba.

### Preparación de la solución amortiguadora de lavado

**¡Importante!** El **concentrado de solución amortiguadora de lavado** está formulado específicamente para la prueba HTLV-I/II de Avioq. No utilice ninguna otra solución amortiguadora de lavado para esta prueba.

1. Revise el **concentrado de solución amortiguadora de lavado** para detectar la presencia de cristales o precipitado. Si se han formado cristales o precipitado en la solución, vuelva a solubilizarla calentándola a 37 °C hasta la disolución de los cristales o el precipitado. Mezcle el **concentrado de solución amortiguadora de lavado** antes de diluirlo.
2. Diluya el **concentrado de solución amortiguadora de lavado** en una proporción 1:25 con agua purificada,<sup>39</sup> según el esquema indicado en la tabla siguiente.

#### Preparación de la solución amortiguadora de lavado

Cantidad de tiras para microelisa	Volumen de solución amortiguadora de lavado	Volumen de agua purificada	Volumen total de solución amortiguadora de lavado
1-6	7 ml	168 ml	175 ml
7-12	14 ml	336 ml	350 ml

Cantidad de placas	Volumen de solución amortiguadora de lavado	Volumen de agua purificada	Volumen total de solución amortiguadora de lavado
1	14 ml	336 ml	350 ml
2	28 ml	672 ml	700 ml
4	56 ml	1.344 ml	1.400 ml
6	84 ml	2.016 ml	2.100 ml
10	140 ml	3.360 ml	3.500 ml

El volumen total de **solución amortiguadora de lavado** no incluye ningún volumen adicional requerido para una lavadora automática (cebado, volumen muerto, etc.). Consulte las instrucciones del fabricante de la lavadora de placas para microelisa.

3. La **solución amortiguadora de lavado** permanece estable durante dos semanas cuando se la almacena a 2-30° C. Registre las fechas de preparación y de caducidad.



## Preparación del sustrato TMB

Prepare **sustrato TMB** en un recipiente limpio de polipropileno, preferiblemente desechable. **No utilice recipientes de poliestireno.** Transfiera la cantidad adecuada de **solución de peróxido** a un recipiente, agregue una cantidad adecuada de **solución TMB** a la **solución de peróxido** y mezcle minuciosamente antes del uso (consulte la tabla a continuación).

Cada placa de micropocillos requiere al menos 10 ml de **sustrato TMB**. Es posible que necesite más **sustrato TMB** según el dispensador de reactivo utilizado. Consulte las instrucciones del fabricante del instrumento para averiguar requisitos adicionales de reactivos.

### Preparación del sustrato TMB

Cantidad de tiras para microelisa	Volumen de solución TMB	Volumen de solución de peróxido
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

Cantidad de placas	Volumen de solución TMB	Volumen de solución de peróxido
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

El **sustrato TMB** permanece estable durante 6 horas cuando se lo mantiene a temperatura ambiente y debería ser incoloro cuando se lo utilice. Registre los horarios de preparación y caducidad. Si presenta un color visiblemente azul, deséchelo y prepare más **sustrato TMB** según sea necesario.

Nota: la **solución TMB** y el **sustrato TMB** se deben proteger de la exposición a la luz. Evite el contacto con metal o iones metálicos ya que puede dar como resultado la formación no deseada del color azul.

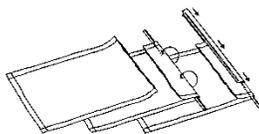
## INSTRUCCIONES PARA EL ALMACENAMIENTO DEL KIT

Almacene todos los componentes a 2-8 °C cuando no estén en uso. La fecha de caducidad impresa en el kit indica la fecha después de la cual no se debe utilizar el producto. La estabilidad de los reactivos del kit después de la reconstitución o dilución está listada en «PREPARACIÓN DE REACTIVOS». No almacenar congelado.

### TIRAS PARA MICROELISA HTLV-I/II

Se deberá llevar el envase de aluminio a temperatura ambiente (15-30 °C) antes de abrirlo para evitar la condensación de las **tiras para microelisa**. Después de abrir el envase hermético de aluminio, las **tiras** permanecen estables durante 4 semanas a 2-8 °C, si se vuelve a sellar el envase de aluminio con la abrazadera y la varilla provistas o con un equivalente. Registre la fecha de abertura y la fecha de caducidad en el envase de aluminio. **No se deberá quitar la bolsa de gel de sílice.**

Figura 1: Cierre del envase de aluminio.



1 2 3

Pliegue el extremo abierto del envase de aluminio sobre la varilla.

Coloque la abrazadera.

## INDICACIONES QUÍMICAS O FÍSICAS DE INESTABILIDAD

Las alteraciones en la apariencia física de los materiales del kit de prueba pueden indicar inestabilidad o deterioro. Las fechas de vencimiento que figuran en las etiquetas de los reactivos del kit indican la fecha después de la cual no se debe utilizar el producto.

Si el **sustrato TMB** presenta un color visiblemente azul, deseche y prepare más **sustrato TMB** según sea necesario.

## RECOGIDA, CONSERVACIÓN Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

### Muestras de donantes vivos

**Recogida:** no es necesario que el paciente ayune ni se prepare especialmente. Se puede usar suero o plasma tratado con heparina, citrato, CPD, CPDA-1 o EDTA (etilen-diamino-tetra-acetato) como anticoagulantes. Consulte las instrucciones proporcionadas por el fabricante de los tubos de recogida de muestras para obtener información sobre la proporción correcta entre el volumen de la muestra y el anticoagulante que debe utilizar. Extraiga el suero o el plasma del coágulo o los eritrocitos lo antes posible para evitar la hemólisis. Se pueden utilizar muestras de los tubos separadores de suero y de los tubos segmentados de bolsas de sangre. El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq no se ve afectado por niveles elevados de lípidos (3000 mg/dl), bilirrubina total (20 mg/dl), factor reumatoideo o hemoglobina (3051 mg/dl). Las muestras pueden ser inactivadas por calor durante 30 minutos a 56 °C sin pérdida de reactividad. El rendimiento no se ha establecido para otros tipos de muestras, como líquido pleural, saliva, líquido bucal, eluidos en manchas de sangre seca y muestras no humanas.

**Conservación:** las muestras deberán carecer de contaminación microbiana y se las puede conservar a 2-8 °C por un lapso máximo de 14 días. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras se deberán congelar a -20 °C. Después de descongelarlas, se deberá mezclarlas. Las muestras se pueden congelar y descongelar una vez sin pérdida de reactividad. Sin embargo, las muestras congeladas y descongeladas repetidamente o aquellas que contengan material particulado pueden arrojar resultados erróneos.

**Envío:** las muestras para enviar deberán estar envasadas de conformidad con los reglamentos aplicables que rigen el transporte de agentes etiológicos. Las muestras se pueden enviar a temperatura ambiente, refrigeradas (2-8 °C) o congeladas (-20 °C o más baja). Al recibirlas, se las deberá almacenar a la temperatura recomendada para conservación indicada previamente.

### **Muestras de donantes cadáver**

**Recogida:** las muestras de cadáver pueden recogerse de suero, de tubos separadores de suero o de plasma EDTA. Son preferibles las muestras claras no hemolizadas. Los precipitados en las muestras deben eliminarse mediante centrifugación.

**Conservación:** las muestras de cadáver pueden conservarse durante un máximo de 14 días a una temperatura de entre 2 y 8 °C, y a una temperatura de -20 °C si se someten a 4 ciclos de congelación/descongelación. Mezcle bien el contenido después de la descongelación y antes de iniciar la prueba.

**Envío:** las muestras para enviar deberán envasarse de conformidad con los reglamentos aplicables que rigen el transporte de agentes etiológicos. Las muestras deben enviarse a una temperatura de entre -20 °C y 30 °C. Una vez recibidas, las muestras deben almacenarse a la temperatura de conservación recomendada, sin superar un total de 14 días, incluido el tiempo de transporte.

## PROCEDIMIENTO PARA LA PRUEBA CON EL SISTEMA MICROELISA HTLV I/II DE AVIOQ

### Materiales proporcionados

Tiras para microelisa HTLV-I/II  
EnzAbody<sup>®</sup> para HTLV-I/II  
Diluyente EnzAbody<sup>®</sup>  
Diluyente para muestras  
Solución TMB  
Solución de peróxido  
Suero control negativo  
Suero control positivo para HTLV-I  
Suero control positivo para HTLV-II  
Abrazadera y varilla  
Selladores para placas

### Materiales adicionales requeridos pero no provistos

#### *Instrumental/Equipamiento*

Nota: para cualquier pieza de instrumental, se deberá revisar el manual proporcionado por el fabricante para obtener información adicional con respecto a lo siguiente:

- a) Instalación y requisitos especiales.
- b) Principios de operación, instrucciones, precauciones y peligros.
- c) Especificaciones del fabricante y capacidad de rendimiento.
- d) Información sobre servicio y mantenimiento.
- e) Control de calidad.

Sistema dispensador/diluidor automático o equivalente

Sistema de aspiración/lavado

El sistema de aspiración/lavado debe ser capaz de dispensar un volumen mínimo de 300  $\mu$ l y capaz de realizar un ciclo de remojo de  $30 \pm 5$  segundos. Los residuos aspirados deben estar contenidos en un sistema cerrado.

Sistema de pipetas multicanales de volumen variable y ajustables capaces de administrar 50 – 300  $\mu$ l  $\pm 5\%$  y puntas

Micropipeta(s) capaces de administrar 20  $\mu$ l  $\pm 5\%$ , 100  $\mu$ l  $\pm 5\%$  y puntas

Incubadora – Una incubadora de baño seco, bloque calentador o equivalente, capaz de mantener  $37 \pm 2$  °C.

Lector de placas de microelisa

Se puede utilizar cualquier lector de microelisa capaz de transmitir luz a 450 nm  $\pm 5$  nm o doble longitud de onda 450 nm  $\pm 5$  nm y 620/630 nm  $\pm 5$  nm como referencia, con un rango lineal de absorbancia de 0 a 2,000, un desplazamiento de menos del 0,005% AU/h y un ancho de banda a una altura media  $10 \pm 2$  nm.

Temporizador

Cilindro graduado, 50 ml y 1-2,5 l o equivalente

#### **Reactivos/Desechables**

Concentrado de solución amortiguadora de lavado (número de referencia 559879)

Ácido sulfúrico 2N

Agua purificada,<sup>39</sup> USP, NCCLS tipo I<sup>41</sup> o equivalente

Porta tiras con pocillos no recubiertos

Papel absorbente

Cubetas desechables en V o equivalente

Guantes desechables

Solución de hipoclorito de sodio (5%), lejía líquida o desinfectante equivalente

Recipientes para residuos con riesgo biológico adecuados para materiales potencialmente contaminados con agentes infecciosos

Tubos desechables de polipropileno con tapón (15 o 50 ml) o equivalente

## Materiales disponibles en Avioq Inc.

Concentrado de solución amortiguadora de lavado, frasco de 100 ml (número de referencia 559879)

Concentrado de solución amortiguadora de lavado, 4 frascos de 100 ml (número de referencia 559880)

## Notas de procedimiento

1. El cumplimiento inadecuado de las instrucciones del prospecto puede dar como resultado resultados erróneos o pruebas inválidas.
2. Las **tiras para microelisa**, **EnzAbody para HTLV-I/II**, el **diluyente EnzAbody**, el **diluyente para muestras**, la **solución TMB**, la **solución de peróxido** y los **controles** utilizados en una prueba deberán ser del mismo número de lote maestro. La solución amortiguadora de lavado no es específica del número de lote del kit maestro y se puede utilizar con cualquier número de lote del kit maestro. Los materiales se deben utilizar antes de la fecha de caducidad que aparece en la etiqueta del envase. Los componentes y las muestras para la prueba deben estar a temperatura ambiente (15-30 °C) y se los debe mezclar (según corresponda) antes de iniciar la prueba. Vuelva a colocar los reactivos a 2-8 °C después del uso. No almacenar congelado.
3. Las **tiras** de la placa para microelisa son extraíbles. Almacene las **tiras** no utilizadas tal como se describe en las «INSTRUCCIONES PARA EL ALMACENAMIENTO DEL KIT». Antes del inicio de la prueba, revise el porta tiras microelisa y asegúrese de que todas las tiras estén fijas. Los porta tiras se deben manipular con cuidado para asegurarse de que ninguna tira se salga de lugar durante la prueba. Las **tiras para microelisa** se pueden numerar para garantizar su reinsertión si alguna tira se saliera de lugar.
4. Las **tiras para microelisa** y los **selladores para placas** se pueden usar una sola vez.
5. Para evitar la contaminación, no toque la parte superior de las **tiras** ni el borde de los pocillos con los dedos o con las puntas de las pipetas.
6. Todos los reactivos y las muestras se deben mezclar bien antes del uso. Los **controles positivo** y **negativo** se pueden mezclar en un agitador vórtex antes de pipetearlas. Los **controles positivo** y **negativo** se deben dispensar y diluir de la misma forma que las muestras. Uno de cada **control positivo** y tres **controles negativos** se deben colocar en cada placa (porta tiras). Si se procesa más de un porta tiras, deberá garantizar que se cumplan con todos los tiempos de incubación especificados.
7. Se deberán llevar a cabo todos los pasos del pipeteado con sumo cuidado y exactitud. La contaminación cruzada entre reactivos invalidará los resultados de la prueba. Use micropipetas para la administración cuantitativa de muestras y reactivos. Para el pipeteo manual de controles y muestras, use puntas para muestras individuales y desechables a fin de prevenir el arrastre de muestras. Evite la contaminación de los reactivos, ya sea microbiana o de otro tipo.
8. Si de forma involuntaria no se agrega una muestra a esta prueba, por ejemplo, se salta un pocillo, los resultados de la prueba para esta muestra se pueden interpretar erróneamente como no reactivos.
9. Evite abrir la puerta de la incubadora (37 °C) durante el tiempo de incubación.
10. Evite la contaminación química de los reactivos y el equipamiento. Se recomienda enfáticamente el mantenimiento rutinario del sistema de aspiración/lavado para evitar arrastrar anticuerpos de muestras altamente reactivas a muestras no reactivas.
11. Las microplacas se deben enjuagar con abundante cantidad de agua al completar el lavado final de la prueba. Consulte las recomendaciones del fabricante sobre el mantenimiento del sistema de manipulación de líquidos para los procesadores automáticos de microplacas.
12. El lavado manual de placas debe ser validado antes del uso. Se recomienda el uso de un sistema de lavado automático de placas (consulte la sección **Materiales adicionales requeridos pero no provistos** para ver los requisitos de sistemas de lavado automáticos). El lavado incompleto afectará negativamente al resultado de la prueba.
13. Se deberá completar la prueba sin interrumpirla y dentro de los límites de tiempo establecidos en el prospecto.
14. No vuelva a colocar los reactivos sobrantes en sus frascos originales.

15. No toque la superficie externa inferior de los micropocillos. Las huellas digitales o los rayones pueden interferir con su lectura .
16. Asegúrese de que las **tiras para microelisa** estén niveladas en el porta tiras para microelisa durante el procedimiento de la prueba. Si fuera necesario, limpie cuidadosamente la parte inferior de las **tiras para microelisa** con un papel absorbente suave sin pelusas para quitar cualquier resto de humedad, polvo o residuos antes de la lectura. Si fuera necesario, también se puede quitar la solución amortiguadora seca de la parte inferior de las **tiras para microelisa** limpiándolas con un paño suave humedecido con agua y luego con un papel absorbente suave sin pelusas antes de la lectura.
17. Los valores de los controles negativos o positivo que no estén dentro del rango esperado (consulte la sección de Control de calidad) pueden indicar un problema en la técnica o el deterioro del producto.
18. Todo el equipo para pipeteado se deberá usar con cuidado, se lo deberá calibrar con regularidad y mantener siguiendo las instrucciones del fabricante del equipamiento.
19. El lector de placas para microelisa puede contener un filtro de referencia de 620 nm o 630 nm. Si se utiliza un instrumento sin un filtro de referencia, las áreas del fondo de los micropocillos que estén opacas, rayadas o irregulares pueden causar lecturas inexactas.
20. Las burbujas en los pocillos para **tiras de microelisa** pueden causar lecturas inexactas de los micropocillos. Se deberá tener cuidado para asegurarse de que no haya burbujas.
21. Use solo equipamiento correctamente calibrado.

#### Procedimiento de lavado

1. El lavado incompleto afectará negativamente al resultado de la prueba. La **solución amortiguadora de lavado** debe estar a temperatura ambiente (15-30 °C) antes del uso.
2. aspire el contenido de los pocillos en un matraz para residuos. Luego llene los pocillos (aproximadamente 0,3 ml) con **solución amortiguadora de lavado** y deje remojar  $30 \pm 5$  segundos, a menos que se haya validado otra cosa. aspire y repita el procedimiento de lavado y remojo otras tres veces para un total de cuatro lavados.
3. Asegúrese de que las **tiras para microelisa** estén completamente aspiradas después de la aspiración final. Invierta el porta tiras y golpéelo firmemente sobre una toalla de papel limpia para absorber el exceso de **solución amortiguadora de lavado** si fuera necesario.

#### Procedimiento de la prueba

1. Arme el sujetador para tiras con la cantidad requerida de **tiras para microelisa**. Si se necesitan menos de doce tiras, use tiras no recubiertas para completar la placa cuando use una placa de 96 pocillos.
2. Prepare una dilución 1:5 de cada muestra para prueba y **control** usando uno de los procedimientos enumerados a continuación. Incluya tres pocillos de **control negativo**, un pocillo de **control positivo para HTLV-I** y un pocillo de **control positivo para HTLV-II** en cada placa independientemente de la cantidad de tiras utilizada. Mezcle los **controles** completamente (p. ej. en vórtex) antes de pipetearlos o dividirlos en partes alícuotas para el uso automatizado.

**Precaución:** no permita que los pocillos con **tiras para microelisa** se sequen una vez que la prueba haya comenzado.

### Agregado directo de la muestra

*Método manual:* con una pipeta calibrada, agregue 80 µl de **diluyente para muestras** en cada pocillo de prueba microelisa. Agregue 20 µl de muestra o **control** con una punta de micropipeta desechable. Mezcle la muestra con el **diluyente para muestras** aspirando y dispensando repetidamente la muestra (al menos 3 a 4 veces) con cada agregado.

*Método automático:* se deberá programar el dispensador/diluidor calibrado para que distribuya una dilución 1:5, típicamente 20 µl de muestra o **control** con 80 µl de **diluyente para muestras** en cada pocillo con **tira para microelisa**. Se deberá calcular la retención en la punta de la pipeta y se la deberá verificar e incluir en la programación.

Nota: se puede agregar la muestra al **diluyente para muestras** tal como se describe en el método manual.

### Agregado indirecto de la muestra

*Método manual:* pipetee 120 µl de **diluyente para muestras** en un tubo limpio seguido de 30 µl de muestra o **control**. Mezcle bien el contenido. Las muestras diluidas en tubos con tapón se pueden conservar a 2-8 °C hasta 24 horas pero deben estar a temperatura ambiente (15-30 °C) en el momento de realizar la prueba. Pipetee 100 µl de la muestra diluida en cada pocillo con **tira para microelisa**.

3. Cubra las **tiras** con selladores adhesivos para placas o su equivalente. Si usa **selladores para placas**, asegúrese de que todos los pocillos estén cubiertos. En el plazo de 30 minutos, incube a  $37 \pm 2$  °C durante  $60 \pm 5$  minutos.
4. Después de la incubación, deseche el sellador para placas tras el uso, si corresponde. No lo reutilice. Lave y remoje cada pocillo cuatro veces con **solución amortiguadora de lavado** (consulte el «Procedimiento de lavado»).
5. Pipetee 100 µl de la **solución de trabajo EnzAbody** en cada pocillo. (Consulte la «PREPARACIÓN DE REACTIVOS» para obtener instrucciones).

**Precaución:** no permita que el **concentrado EnzAbody** reconstituido o la **solución de trabajo EnzAbody** contaminen el **sustrato TMB**. Si se utiliza el mismo equipamiento para agregar ambos reactivos, se deberán usar puntas nuevas desechables.

6. Cubra las **tiras** con un nuevo **sellador para placas** o su equivalente. Si usa **selladores para placas**, asegúrese de que todos los pocillos estén cubiertos. Incube a  $37 \pm 2$  °C durante  $60 \pm 5$  minutos.

Cuando se utilice con el sistema ORTHO® Summit (OSS), incube a  $37 \pm 2$  °C durante  $30 \pm 5$  minutos.

7. Después de la incubación, deseche el **sellador para placas** tras el uso, si corresponde. No lo reutilice. Lave y remoje cada pocillo cuatro veces con **solución amortiguadora de lavado**. Consulte el «Procedimiento de lavado».
8. Pipetee 100 µl de **sustrato TMB** en cada pocillo. No cubra con un sellador adhesivo para placas. (Consulte la «PREPARACIÓN DE REACTIVOS» para obtener instrucciones).
9. Incube a temperatura ambiente (15-30 °C) durante  $30 \pm 5$  minutos.
10. Detenga la reacción agregándole 100 µl de **ácido sulfúrico 2N** a cada pocillo (mantenga la misma secuencia e intervalos de tiempo utilizados para agregar **sustrato TMB**). **Deberá leer las placas en el plazo de dos horas.**
11. Ponga el lector de microelisa en blanco al aire (sin porta tiras ni **tiras**) y lea la absorbancia de la solución en cada pocillo a  $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$  (longitud de onda única) o a  $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$  y  $620/630 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$  como referencia (doble longitud de onda).

## Control de calidad

**Calificación de los valores del control negativo (NC):** la absorbancia del NC debe ser mayor o igual que 0,000 y menor o igual que 0,120. Elimine todo valor de NC que esté fuera de este rango. Si hay dos o más valores menores que 0,000 o mayores que 0,120, la prueba es inválida y deberá repetirla. Calcule la media de NC (NCX) de los valores de control restantes.

**Calificación de los valores de los controles positivos de HTLV-I (PC-I) y HTLV-II (PC-II):** la absorbancia de PC-I y PC-II debe ser mayor o igual que 0,500. Si el valor de PC-I y/o el valor de PC-II están por debajo de esta especificación, la prueba es inválida y deberá ser repetida.

**Validez de la prueba:** una prueba es válida si los valores de control negativo y positivo están calificados y

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

Si los resultados no cumplen con estos criterios, la técnica puede ser sospechosa y la prueba no es válida y deberá ser repetida.

## RESULTADOS

### Cálculos

Los cálculos se deberán realizar separadamente para cada porta tiras.

**Valor de corte:** si la prueba es válida, calcule el valor de corte como sigue:

$$\text{Valor de corte} = NCX + 0,330$$

Una muestra para prueba no es reactiva si la absorbancia de la muestra es mayor o igual que 0,000 y menor que el valor de corte.

Una muestra para prueba es reactiva si la absorbancia de la muestra es mayor o igual que el valor de corte.

### Cálculos para la muestra

#### Absorbancia (longitud de onda única)

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

#### Absorbancia (doble longitud de onda)

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

### Criterios de aceptación

Elimine todo valor de absorbancia del control que no cumpla con los siguientes criterios:

$0,000 \leq NC \leq 0,120$	No se eliminó ninguno
$PC-I \geq 0,500$	No se eliminó ninguno
$PC-II \geq 0,500$	No se eliminó ninguno

Asegúrese de que lo siguiente esté dentro de los criterios de aceptación especificados.

#### (Longitud de onda única)

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

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

#### Validez de la prueba (longitud de onda única)

Aprobada

#### (Doble longitud de onda)

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

#### Validez de la prueba (doble longitud de onda)

Aprobada

#### Calcular valor de corte (longitud de onda única)

$$\begin{aligned} \text{Valor de corte} &= NCX + 0,330 \\ &= 0,070 + 0,330 \\ &= 0,400 \end{aligned}$$

#### Calcular valor de corte (doble longitud de onda)

$$\begin{aligned} \text{Valor de corte} &= NCX + 0,330 \\ &= 0,033 + 0,330 \\ &= 0,363 \end{aligned}$$

## INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

1. Las muestras con valores de absorbancia iguales o mayores que 0,000 y menores que el valor de corte se consideran no reactivas según los criterios de Avioq para HTLV-I/II y se las puede considerar negativas para los anticuerpos anti HTLV-I y anti HTLV-II. Un resultado negativo en la prueba no excluye la posibilidad de exposición o infección por HTLV-I/II.
2. Las muestras con resultados con valores de absorbancia por debajo de 0,000 se deberán volver a analizar en solitario para verificar el resultado inicial. Si la muestra tiene un valor de absorbancia menor que el valor de corte cuando se vuelve a analizar, se puede considerar que la muestra es negativa para anticuerpos anti HTLV-I y anti HTLV-II según los criterios de Avioq para HTLV-I/II.
3. Las muestras con valores de absorbancia iguales o mayores que el valor de corte se consideran inicialmente reactivas según los criterios de Avioq para HTLV-I/II, pero antes de la interpretación se deberá volver a analizar la muestra por duplicado utilizando la prueba HTLV-I/II de Avioq. Si alguno de los análisis repetidos por duplicado resulta reactivo, se considera que la muestra es repetidamente reactiva para anticuerpos anti HTLV-I y/o anti HTLV-II según los criterios del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq.
4. Las muestras inicialmente reactivas que no reaccionen en alguno de los análisis repetidos por duplicado se consideran negativas para anticuerpos anti HTLV-I/II.
5. En la mayoría de los ámbitos, es adecuado estudiar repetidamente las muestras reactivas mediante pruebas adicionales, más específicas (**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Las muestras que tengan un resultado repetidamente reactivo según ELISA y positivo según pruebas adicionales más específicas se consideran positivas para anticuerpos anti HTLV-I y/o anti HTLV-II. La interpretación de los resultados de las muestras que tengan un resultado repetidamente reactivo según ELISA y negativo o indeterminado en pruebas adicionales más específicas no queda clara; se puede obtener una mayor aclaración realizando la prueba a otra muestra tomada de la misma persona de tres a seis meses más tarde.

## LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

El «PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA» y la «INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS» del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq se deberán seguir minuciosamente cuando se hagan pruebas para detectar la presencia de anticuerpos anti HTLV-I y/o anti HTLV-II en el plasma o suero de pacientes individuales. Esta prueba fue diseñada y validada para el uso en suero o plasma humano de muestras de pacientes individuales y donantes y a partir de muestras de suero o plasma de cadáveres donados. No se han establecido las características de rendimiento para otros tipos de muestras (es decir, líquido pleural, saliva, líquido bucal, eluidos en manchas de sangre seca, muestras no humanas, etc.), sangre mezclada o plasma procesado y productos fabricados a partir de esas mezclas.

Si no se agrega la muestra tal como se indica en el «PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA», podría dar un resultado falso negativo de la prueba.

El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq detecta anticuerpos anti HTLV-I y/o anti HTLV-II en sangre y, por lo tanto, es útil para cribar sangre donada a fin de evitar el contagio de HTLV-I y/o HTLV-II a receptores de hemoderivados celulares y como ayuda para el diagnóstico clínico de la infección por HTLV-I o HTLV-II y enfermedades relacionadas. Se sabe que la infección por HTLV-I adquirida por transfusión o hemoderivados infectados puede provocar la enfermedad en los receptores.<sup>36</sup>

Las pautas<sup>40</sup> publicadas por el Servicio de Salud Pública de los EE. UU. recomiendan que las muestras repetidamente reactivas sean investigadas mediante pruebas adicionales más específicas tales como Western Blot (WB) y la prueba de radioinmunoprecipitación (RIPA). Estas pruebas complementarias se deberían utilizar además de pruebas con péptidos específicos o pruebas de sondeo para la discriminación entre HTLV-I y HTLV-II. La interpretación de esas pruebas deberá concordar con estas pautas publicadas.



Se supondrá que el suero o plasma de una persona que reaccione tanto con la prueba de ELISA como con la prueba adicional más específica está infectado con el virus HTLV-I o HTLV-II. Se desconocen las consecuencias médicas de la seropositividad al HTLV-II. Se deberá ofrecer el asesoramiento adecuado y una evaluación médica que concuerde con las pautas de los Servicios de Salud Pública.<sup>40</sup> Tal evaluación se considerará como parte importante de la prueba de anticuerpos contra HTLV-I/II y deberá incluir la confirmación del resultado de la prueba realizada sobre una muestra recién extraída.

La ATL y la TSP/HAM son síndromes clínicos y su diagnóstico solo se puede establecer clínicamente. La prueba con el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq solo no se puede utilizar para diagnosticar estas enfermedades, aunque el estudio recomendado de muestras reactivas confirme la presencia de anticuerpos anti HTLV-I. Un resultado negativo para la prueba en cualquier punto del estudio serológico no descarta la posibilidad de exposición o infección por HTLV-I o HTLV-II. Se debería considerar repetir la prueba con el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq cuando existe la sospecha clínica de infección por HTLV-I o HTLV-II. Los resultados negativos en esta prueba para personas con exposición previa al HTLV-I y/o HTLV-II pueden deberse a que los niveles de anticuerpos estén por debajo del límite de detección de esta prueba o a la falta de reactividad de los anticuerpos a los antígenos HTLV utilizados en esta prueba.

Se pueden esperar resultados positivos con un kit de prueba de esta naturaleza. La proporción de reactivos falsos dependerá de la prevalencia de anticuerpos al HTLV-I y/o HTLV-II en la población evaluada y de la sensibilidad y la especificidad del kit de prueba del fabricante utilizado.

## **RESULTADOS ESPERADOS**

El porcentaje de muestras que se determinen como repetidamente reactivas en una población de donantes normales difiere en función de la prevalencia de anticuerpos contra el HTLV-I o el HTLV-II en esa área geográfica. Las áreas de prevalencia elevada para HTLV-I son: partes de África, Micronesia, Japón, islas de Hawai e islas del Caribe. Las áreas de prevalencia elevada para HTLV-II son: poblaciones de consumidores de drogas inyectables (CDIV) y varias tribus amerindias en América del Norte y del Sur. La experiencia con donantes de sangre examinados en los EE. UU. se muestra en la sección de Especificidad. La experiencia con el análisis de poblaciones con enfermedad por HTLV-I o en alto riesgo de adquirir HTLV-I o HTLV-II se resume en las secciones de Sensibilidad y Poblaciones endémicas.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DE LA PRUEBA

### Reproducibilidad

Se analizaron réplicas de muestras positivas para anticuerpos contra el HTLV-I y el HTLV-II con varios grados de reactividad, muestras negativas y controles del kit en varios centros (n=3), utilizando varios lotes de kits (n=3) y varios técnicos (n=2) en varios días (n=4). La precisión total, entre pruebas e intra prueba se expone en la Tabla 1 a continuación.

**Tabla 1: Reproducibilidad de la prueba**

ID	N	Pro-medio	Total		Entre pruebas		Intra prueba	
			DE	CV	DE	CV	DE	CV
HTLV-I S1	288	2,93	0,346	11,8	0,328	11,2	0,115	3,9
HTLV-I S2	288	1,95	0,246	12,6	0,231	11,8	0,090	4,6
HTLV-I S3	288	1,55	0,228	14,7	0,214	13,8	0,080	5,2
HTLV-I S4	288	1,62	0,206	12,7	0,196	12,1	0,067	4,1
HTLV-I S5	288	0,19	0,024	12,6	0,018	9,5	0,016	8,4
HTLV-II S1	288	3,13	0,348	11,1	0,331	10,6	0,113	3,6
HTLV-II S2	288	2,13	0,270	12,7	0,241	11,3	0,123	5,8
HTLV-II S3	288	2,16	0,248	11,5	0,234	10,8	0,084	3,9
HTLV-II S4	288	1,41	0,201	14,3	0,184	13,0	0,082	5,8
HTLV-II S5	288	0,18	0,029	15,9	0,020	11,1	0,021	11,7
NC	216	0,18	0,027	15,0	0,021	11,7	0,018	10,0
PC HTLV-I	72	2,69	0,338	12,6				

ID	Identificación del miembro del panel
N	Cantidad de réplicas
PROMEDIO	Promedio de proporción de señal y corte (SCR)
DE	Desviación estándar del SCR
CV	Coefficiente de variación de SCR

## Especificidad

Se evaluó la especificidad de esta prueba analizando 11415 muestras de suero y plasma humano normal tomadas en varios centros. En la Tabla 2 siguiente se resume un desglose de los datos por centro y por tipo de muestra. Basándose en una prevalencia cero supuesta de anticuerpos contra el HTLV-I y el HTLV-II en donantes humanos normales, la especificidad global calculada para esta prueba fue del 99,95% (límites de confianza del 95% de 99,89% a 99,98%). Para cada población también se incluyen límites de confianza del 95% para la tasa de pruebas reactivas repetidas y una especificidad calculada para cada centro y tipo de muestra.

**Tabla 2: Especificidad calculada en sangre completa y plasma de donantes aleatorios y de poblaciones de plasma original**

	Cantidad analizada	Inicial no reactivo	Inicial reactivo	Repetido reactivo	Repetido reactivo (%)	Repetido reactivo Límites de confianza 95%** (%)		Prueba complementaria positiva***	*Especificidad calculada (%)	Especificidad Límites de confianza 95%** (%)	
						0,004	0,334			99,58	99,99
Suero Centro 1	1315	1314	1	1	0,08	0,004	0,334	0	99,92	99,58	99,99
Suero Centro 2	3754	3753	1	1	0,03	0,002	0,117	0	99,97	99,85	99,99
Plasma Centro 1	1255	1255	0	0	0,00	0,000	0,153	0	100,00	99,71	100,00
Plasma Centro 2	3812	3809	3	3	0,08	0,020	0,204	0	99,92	99,77	99,98
Centro de Plasma fuente	1279	1276	3	1	0,08	0,004	0,344	0	99,92	99,57	99,99

$$* = \frac{(Cantidad\ analizada - Cantidad\ repetido\ reactivo) \times 100}{(Cantidad\ analizada - Cantidad\ confirmado\ positivo)}$$

\*\* = Se calcularon los límites de confianza para la especificidad utilizando el método exacto.

\*\*\* = Un resultado positivo en estos estudios estuvo definido por la presencia de anticuerpos a dos productos de genes (gag, p19 y/o p24 y env, gp46 y/o 61/68) utilizando Western Blot y/o RIPA.

Las pruebas complementarias adicionales y la diferenciación de tipos entre HTLV-I y HTLV-II se hicieron utilizando los siguientes ensayos de uso en investigación: reactividad a los péptidos gp46-I o gp46-II recombinantes o nativos en un Western Blot, enzimoimmunoanálisis para péptidos de HTLV-I y HTLV-II, estudio IFA para HTLV-I y HTLV-II y/o PCR (utilizando cebadores específicos para las regiones *tax* y *pol*).

### Reactividad con enfermedades que pueden interferir

Se analizaron con esta prueba muestras de individuos con enfermedades que pueden producir reactividad no específica a la prueba. Las muestras analizadas se muestran en la Tabla 3 a continuación. Todas las muestras fueron no reactivas.

**Tabla 3: Reactividad en muestras de pacientes con enfermedades no relacionadas con la infección por HTLV-I o HTLV-II**

Categoría de la muestra	Cantidad de muestras analizadas	Cantidad de muestras inicialmente reactivas
Anticuerpos contra el citomegalovirus	10	0
Anticuerpos contra el virus de Epstein-Barr	10	0
Anticuerpos contra el virus del herpes simple	10	0
Anticuerpos contra el VIH-1	10	0
Anticuerpos contra el VIH-2	10	0
Antígeno de superficie del virus de la hepatitis B	10	0
Anticuerpos para sífilis	10	0
Anticuerpos antinucleares	10	0
Transfusiones múltiples	10	0
Múltiparas	10	0
Factor reumatoideo	10	0
Anticuerpos contra el VHC	10	0
Hipergammaglobulinemia IgG	10	0
Hipergammaglobulinemia IgM	10	0
Anticuerpos para toxoplasmosis	10	0
Receptores de vacuna de la gripe	36	0

### Reactividad en muestras con sustancias que pueden interferir

Se analizaron muestras lipémicas (n=10), hemolizadas (n=10) o que contenían niveles elevados de bilirrubina (n=10) en busca de reactividad no específica en esta prueba. Todas las muestras fueron no reactivas. Además, como esta prueba incorpora una proteína recombinante producida en *E. coli*, se analizó una serie de veintidós (22) muestras en las que previamente se había determinado que eran positivas para la presencia de anticuerpos contra *E. coli* a fin de evaluar el potencial de reactividad cruzada en el sistema de prueba. Todas las muestras fueron no reactivas.

## Sensibilidad

Se evaluó la sensibilidad de esta prueba mediante la evaluación de muestras con resultado seropositivo según pruebas complementarias de uso en investigación (Western blot, RIPA, IFA y, en algunos casos, PCR). Estas muestras procedían de poblaciones con enfermedades asociadas al HTLV, poblaciones de consumidores de drogas inyectables (CDIV) y de donantes de sangre infectados con HTLV. Una lista de estos resultados se muestra en la Tabla 4 a continuación. Esta prueba fue reactiva en las 636 muestras positivas en pruebas complementarias de uso en investigación. Esta prueba tiene una sensibilidad estimada del 100% (intervalo del 99,97% al 100%) para las 636 muestras positivas en pruebas complementarias de uso en investigación por la distribución binomial con una confianza del 95%.

**Tabla 4: Reactividad con pruebas suplementarias de HTLV-I, HTLV-II, y muestras con resultado positivo para anticuerpos anti HTLV-I/II**

Grupo	Resultado de prueba complementaria <sup>a</sup>	Cantidad analizada	Cantidad repetidamente reactiva con pruebas aprobadas para HTLV-I	Cantidad repetidamente reactiva con HTLV-I/II de Avioq
Leucemia de linfocitos T del adulto	HTLV-I	47	47	47
Paraparesia espástica tropical	HTLV-I	43	43	43
Linfoma nasofaríngeo	HTLV-I	1	1	1
Consumidores de drogas inyectables	HTLV-I	5	5	5
	HTLV-II	95	94 <sup>c</sup>	95
Pacientes hospitalarios <sup>b</sup>	HTLV-I	107	107	107
	HTLV-II	38	38	38
Donantes de sangre	HTLV-I	146	146	146
	HTLV-II	138	138	138
	HTLV-I/II	16	16	16
<b>TOTAL</b>		<b>636</b>	<b>635</b>	<b>636</b>

<sup>a</sup> Un resultado positivo en estos estudios estuvo definido por la presencia de anticuerpos contra dos productos de genes (gag, p19 y/o p24 y env, gp46 y/o 61/68) utilizando Western Blot y/o RIPA.

Las pruebas complementarias adicionales y la diferenciación de tipos entre HTLV-I y HTLV-II se realizaron utilizando los siguientes ensayos de uso en investigación: reactividad a los péptidos gp46-I o gp46-II recombinantes o nativos en un Western Blot, enzimoimmunoanálisis para péptidos de HTLV-I y HTLV-II, estudio IFA para HTLV-I y HTLV-II y/o PCR (utilizando cebadores específicos para las regiones *tax* y *pol*).

<sup>b</sup> Asintomáticos y algunos síntomas indicativos de enfermedad por HTLV.

<sup>c</sup> La prueba aprobada para HTLV-I falló en un CDIV (señal/valores de corte 0,8, 0,9, 0,9) con resultado indeterminado por Western Blot (sólo p21) y tipificado como HTLV-II por PCR.

### Poblaciones en áreas endémicas para HTLV-I y HTLV-II

Se evaluó el rendimiento de esta prueba con muestras de una población en un área endémica para HTLV-I y de dos poblaciones en áreas endémicas para HTLV-II. Para la población del área endémica para HTLV-I, se evaluaron 532 muestras de una población de alta prevalencia de las islas del Pacífico. Se encontró que 20 muestras de esta población eran positivas para anticuerpos contra el HTLV-I mediante métodos complementarios de uso en investigación (Western blot, IFA o RIPA). La totalidad de las 20 muestras positivas para anticuerpos al HTLV-I fueron repetidamente reactivas según esta prueba y una prueba aprobada para HTLV-I. Otras 3 muestras que fueron repetidamente reactivas según la prueba aprobada para HTLV-I no fueron reactivas en esta prueba; no se encontró que ninguna de las 3 muestras fuera positiva para anticuerpos anti HTLV-I en las pruebas complementarias utilizadas. Los resultados de este estudio se resumen en la tabla siguiente.

En los estudios de las áreas endémicas para HTLV-II, se obtuvo un total de 525 muestras de una población nativa americana en Nuevo México (361) y de una tribu amazónica, los kayapo, en Brasil (164). De ambas poblaciones, se determinó que 60 muestras eran positivas para HTLV-II según pruebas complementarias de uso en investigación (Western blot, IFA, RIPA o, en algunos casos, PCR). De las muestras, 58 fueron repetidamente reactivas con esta prueba. Las dos muestras descritas como no reactivas según esta prueba pertenecían a la población indígena de los kayapo. Todas las muestras positivas para HTLV-II según las pruebas complementarias de la población de nativos americanos fueron repetidamente reactivas en esta prueba. Una muestra de la población nativa americana fue repetidamente reactiva en esta prueba, pero no fue positiva para anticuerpos anti HTLV-II en la prueba complementaria (Western blot). Los resultados de este estudio se resumen en la Tabla 5 siguiente.

**Tabla 5: Reactividad con muestras de poblaciones en áreas endémicas para HTLV-I y HTLV-II**

Área endémica	Cantidad analizada	Cantidad de positivos por pruebas complementarias <sup>a</sup>	Cantidad de resultados repetidamente reactivos	Cantidad (porcentaje) de positivos por pruebas complementarias que fueron repetidamente reactivos por EIA
Islas del Pacífico (HTLV-I)	532	20 <sup>b</sup>	20	20 (100%)
Nuevo México (HTLV-II)	361	7 <sup>c</sup>	8	7 (100%)
Brasil (HTLV-II)	164	53 <sup>c</sup>	51 <sup>d</sup>	51 (96,2%)

<sup>a</sup> Un resultado positivo en estos estudios estuvo definido por la presencia de anticuerpos contra dos productos de genes (gag, p19 y/o p24 y env, gp46 y/o 61/68) utilizando Western Blot y/o RIPA.

Las pruebas complementarias adicionales y la diferenciación de tipos entre HTLV-I y HTLV-II se determinaron utilizando los siguientes ensayos de uso en investigación: reactividad a los péptidos gp46-I o gp46-II recombinantes o nativos en un Western Blot, enzoinmunoanálisis para péptidos de HTLV-I y HTLV-II, estudio IFA para HTLV-I y HTLV-II y/o PCR (utilizando cebadores específicos para las regiones tax y pol).

<sup>b</sup> La cantidad de muestras con resultado positivo en las pruebas complementarias se basó en los resultados de las pruebas de uso en investigación Western blot, IFA y RIPA para HTLV-I/HTLV-II de cualquier muestra que fuera repetidamente reactiva o que fuera inicialmente reactiva dentro de una zona gris negativa del 20% según ELISA.

<sup>c</sup> La cantidad de muestras positivas en las pruebas complementarias se basó en los resultados de pruebas de uso en investigación Western blot, IFA y RIPA para HTLV-I/HTLV-II de todas las muestras (361 de Nuevo México y 164 de Brasil).

<sup>d</sup> La dos muestras fueron indeterminadas por Western Blot, positivas para anticuerpos contra el HTLV según RIPA, positivas para anticuerpos contra el HTLV-II según IFA, y positivas para ADN del HTLV según PCR.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DE LA PRUEBA FABRICADA EN UN NUEVO SITIO

El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq es idéntico al Sistema Microelisa HTLV-I/II de Vironostika® fabricado previamente por bioMérieux, Inc., con un cambio en el sitio de fabricación. Los estudios llevados a cabo para evaluar el rendimiento del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq fabricado en el nuevo sitio demostraron que la prueba fabricada en el nuevo sitio cuenta con reproducibilidad, especificidad y sensibilidad comparables con las de los kits de prueba fabricados en el sitio original.

### Reproducibilidad

Para demostrar la reproducibilidad del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq fabricado en el nuevo sitio un panel que consistía en muestras positivas para anticuerpos anti HTLV-I y HTLV-II con distintos grados de reactividad (cuatro HTLV-I y cuatro HTLV-II) y dos muestras negativas fue analizado con cada uno de los tres lotes del kit durante un lapso de cuatro días utilizando dos analistas que usaron el método de prueba manual. Cada muestra fue sometida a pruebas por cuadruplicado cada uno de los cuatro días. El CV total para las muestras positivas utilizando los tres lotes de validación estuvo en un intervalo de 8,9 – 19,7% (n=96) comparado con un intervalo de CV total para las muestras positivas de 11,1 – 15,9% para la prueba fabricada en el sitio previo (n=288, 3 sitios, 3 lotes, 2 operadores, 4 días y pruebas realizadas por cuadruplicado).

**Tabla 6: Resumen del estudio de reproducibilidad para el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq (método manual)**

ID del panel	Estado	N	S/C promedio	Total				Entre pruebas		Intra prueba	
				DE	CV%	S/C Inferior IC 95%	S/C Superior IC 95%	DE	CV%	DE	CV%
HTLV-I S1	Pos	96	3,10	0,276	8,9	3,04	3,15	0,244	7,9	0,136	4,4
HTLV-I S2	Pos	96	2,92	0,300	10,3	2,85	2,98	0,246	8,4	0,176	6,0
HTLV-I S3	Pos	96	2,50	0,312	12,5	2,44	2,56	0,259	10,4	0,180	7,2
HTLV-I S4	Pos	96	2,18	0,226	10,4	2,13	2,22	0,190	8,7	0,126	5,8
HTLV-I S5 <sup>a</sup>	Neg	96	0,25	0,023	9,2	0,24	0,25	0,020	8,0	0,012	4,8
HTLV-II S1	Pos	96	3,29	0,561	17,1	3,17	3,40	0,482	14,7	0,298	9,1
HTLV-II S2	Pos	96	3,15	0,569	18,1	3,03	3,26	0,537	17,1	0,210	6,7
HTLV-II S3	Pos	96	2,46	0,486	19,7	2,36	2,56	0,462	18,8	0,170	6,9
HTLV-II S4	Pos	96	2,22	0,364	16,4	2,14	2,29	0,300	13,5	0,214	9,6
HTLV-II S5 <sup>a</sup>	Neg	96	0,23	0,020	8,7	0,22	0,23	0,016	7,2	0,012	5,4

<sup>a</sup> Muestra negativa para anticuerpos anti HTLV-I y anticuerpos anti HTLV-II

## Especificidad

Para demostrar que la especificidad clínica del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq fabricado en el nuevo sitio era comparable a la de la prueba aprobada originalmente, se analizaron muestras de suero (n = 1000) y plasma (n = 1000) de estado desconocido tomadas de poblaciones de bajo riesgo (donantes de sangre) con tres lotes del kit utilizando el método de prueba manual. Cada lote se utilizó para hacer pruebas a una cantidad similar de muestras. De las 2000 muestras analizadas, dos fueron repetidamente reactivas (véase la Tabla 7). Ambas muestras fueron negativas según una IFA para HTLV-I y HTLV-II de uso para investigación y Western blot. Por lo tanto, la especificidad estimada de la prueba de Avioq observada en este estudio fue  $1998/2000 = 99,90\%$  (IC 95% de 99,44 – 100%), comparada con  $11\ 409/11\ 415 = 99,95\%$  (IC 95% IC de 99,89 – 99,98%) para la prueba fabricada en el sitio previo.

**Tabla 7: Especificidad estimada del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en donantes aleatorios de sangre**

	Cantidad analizada	No reactiva	Repetidamente reactiva	Prueba complementaria	Especificidad estimada (%)	Especificidad límites de confianza 95% (%)	
<b>Suero</b>	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00
<b>Plasma</b>	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00

## Sensibilidad

Para evaluar si la sensibilidad clínica del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq fabricado en el nuevo sitio era comparable al del la prueba aprobada originalmente, se analizó un panel de 200 muestras de repositorio de suero o plasma seropositivas (100 HTLV-I y 100 HTLV-II) en tres lotes del kit utilizando el método de prueba manual (Tabla 8). Se había determinado previamente que todas las muestras eran repetidamente reactivas en una prueba de cribado de donantes para HTLV-I/II autorizada por la FDA y se confirmó la positividad para anticuerpos anti HTLV-I/II con una prueba complementaria de uso en investigación (WB, IFA, y/o RIPA). El 87% de estas muestras pertenecían a donantes de sangre de los EE. UU. y a ninguno se le había hecho previamente la prueba utilizando el análisis original aprobado de Vironostika. La sensibilidad estimada de la prueba observada en este estudio fue  $200/200 = 100\%$  (IC 95% de 98,17 – 100%), comparada con  $636/636 = 100\%$  (IC 95% IC de 99,97 – 100%) para la prueba fabricada en el sitio previo.

**Tabla 8: Reactividad del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq con muestras de repositorio seropositivas para HTLV-I/II**

Cantidad analizada	Cantidad repetidamente reactiva	Cantidad no reactiva	Sensibilidad estimada (%)	Sensibilidad Límites de confianza 95% (%)	
200	200	0	100,00	98,17	100,00

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL SISTEMA ORTHO® SUMMIT (OSS) CON EL SISTEMA DE MANIPULACIÓN DE MUESTRAS ORTHO® SUMMIT (PIPETADOR SUMMIT)

### Reproducibilidad

Se llevó a cabo la reproducibilidad del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en el instrumento OSS utilizando un panel de 10 muestras analizadas por duplicado (cuatro positivas para HTLV-I, cuatro positivas para HTLV-II y dos negativas). El estudio se realizó en dos centros en un total de tres instrumentos dos veces por día durante cuatro días utilizando un lote de validación del kit de análisis y se lo comparó haciendo una prueba a este panel mediante el método manual con el mismo lote de validación. Los resultados de este estudio se resumen en la Tabla 9.

**Tabla 9: Estudio de reproducibilidad para el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en OSS (método automático)**

ID del panel	Estado	N	S/C promedio	Total				Entre centros		Intra centro	
				DE	CV%	S/C Inferior IC 95%	S/C Superior IC 95%	DE	CV%	DE	CV%
HTLV-I S1	Pos	96	4,54	0,375	8,3	4,47	4,62	0,305	6,7	0,226	5,0
HTLV-I S2	Pos	96	4,03	0,366	9,1	3,95	4,10	0,288	7,1	0,232	5,8
HTLV-I S3	Pos	96	3,63	0,325	8,9	3,57	3,70	0,253	7,0	0,208	5,7
HTLV-I S4	Pos	96	2,84	0,283	10,0	2,78	2,89	0,218	7,7	0,184	6,5
HTLV-I S5 <sup>a</sup>	Neg	96	0,26	0,052	20,3	0,25	0,27	0,045	17,5	0,028	10,8
HTLV-II S1	Pos	96	5,86	0,421	7,2	5,77	5,94	0,323	5,5	0,276	4,7
HTLV-II S2	Pos	96	5,75	0,347	6,0	5,68	5,82	0,270	4,7	0,224	3,9
HTLV-II S3	Pos	96	4,95	0,463	9,4	4,85	5,04	0,385	7,8	0,268	5,4
HTLV-II S4	Pos	96	4,22	0,332	7,9	4,16	4,29	0,277	6,6	0,189	4,5
HTLV-II S5 <sup>a</sup>	Neg	96	0,13	0,028	20,7	0,13	0,14	0,023	17,0	0,016	12,1

<sup>a</sup> Muestra negativa para anticuerpos anti HTLV-I y anti HTLV-II

La reproducibilidad del estudio demostró que la variabilidad total de las muestras positivas se encontraba en un intervalo del 6% al 10% utilizando el método OSS comparada con un intervalo del 8,9 al 19,7% para las muestras positivas utilizando el método manual (véase la Tabla 6).

### Sensibilidad analítica

Para demostrar que la sensibilidad analítica del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en el instrumento OSS es comparable con la del método manual, se analizaron ocho paneles de dilución (diluciones seriadas dobles de cuatro muestras positivas para anticuerpos al HTLV-I y cuatro muestras positivas para anticuerpos al HTLV-II hasta el valor de corte de la prueba) utilizando tanto el método manual como el método automático. Para evaluar la correlación de los dos métodos, se realizó el análisis de regresión de Deming. Este análisis demostró que había una elevada correlación para la proporción S/CO de ambos formatos, con un coeficiente de correlación de 0,94. Para demostrar la equivalencia de la proporción S/CO entre los dos métodos, se realizó una prueba de la *t* para datos emparejados. El promedio general S/CO para el método manual fue 3,143 (n=459) en comparación con un promedio general de 4,198 (n=459) en el instrumento OSS. Aunque esta diferencia es estadísticamente significativa, la sensibilidad por diluciones del criterio de valoración fue comparable por los dos métodos (es decir, la prueba realizada en el instrumento OSS no presentó una menor sensibilidad).

## Sensibilidad

Se analizó un panel de 100 muestras de sangre de donantes repetidamente reactivas en un ensayo aprobado por la FDA con el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq utilizando ambos métodos (método manual y método automático en el instrumento OSS). Noventa y cinco (95) de las muestras fueron repetidamente reactivas (concordancia del 100%) utilizando los dos métodos de prueba (manual y automático). Cinco (5) de las 100 muestras del panel fueron no reactivas con la prueba de Avioq (tanto manual como automática). Las pruebas confirmatorias adicionales realizadas a estas cinco muestras mostraron que ninguna era positiva en una prueba complementaria. Se debe tener en cuenta que estas muestras fueron sometidas a cinco ciclos de congelación/descongelación antes de hacer la prueba; los datos obtenidos con Avioq indican que las muestras se pueden congelar y descongelar una vez sin pérdida de reactividad.

La proporción S/CO de las 95 muestras detectada por la prueba de Avioq estuvo en el intervalo de 1,058 – 8,400 para el método manual y 1,280 – 7,403 para el método automático en OSS; el coeficiente de correlación para la proporción S/CO fue de 0,94. Veintinueve (29) de estas muestras fueron positivas para anticuerpos anti HTLV-I y 46 fueron positivas para anticuerpos anti HTLV-II en una prueba complementaria de uso en investigación, y 20 fueron positivas para anticuerpos contra el HTLV-I/II (no tipificadas).

## Especificidad clínica

Se realizó un estudio en dos centros para evaluar la especificidad de la prueba cuando se la utiliza con el Sistema automático ORTHO® Summit (OSS). Se analizó un total de 16.339 muestras de suero y plasma tomadas al azar de donantes de sangre voluntarios. Los resultados de este análisis se muestran en la Tabla 10.

**Tabla 10: Resumen de resultados de especificidad clínica para el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en OSS (método automático)**

	Centro 1			Centro 2			Todos los centros/lotos combinados
	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	
<b>Cantidad analizada</b>	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16.339
<b>No reactiva</b>	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16.330
<b>Inicialmente reactiva</b>	2	0	1	3	3	2	11
<b>Repetidamente reactiva</b>	2	0	0	3	2	2	9
<b>Positivas confirmadas</b>	0	N/A	N/A	0	0	0	0
<b>Total de falsos positivos</b>	2			7			9
<b>Total analizado</b>	4.090			12.249			16.339
<b>Especificidad calculada</b>	99,95%			99,94%			99,94%
<b>IC 95%</b>	99,82%-99,99%			99,88%-99,98%			99,90%-99,97%
<b>Especificidad general calculada</b>	99,95%						
<b>IC 95%</b>	99,89% a 99,98%						

De las 16.339 muestras de sangre de donantes analizadas, nueve fueron repetidamente reactivas. Las nueve fueron clasificadas como falsos positivos a partir de los resultados de las pruebas realizadas con Western Blot (Centro 1) o IFA (Centro 2) de uso en investigación. Los intervalos de confianza para la especificidad calculada para la prueba de Avioq en los tres lotes en cada centro y para todos los centros y lotes combinados se superponen con los de la prueba Vironostika (IC 95%: 99,89 – 99,98%). La especificidad global calculada de la prueba HTLV-I/II de Avioq en OSS fue 16.330/16.339 = 99,94% (IC 95%: 99,90 – 99,97%) en comparación con 11.409/11.415 = 99,95% (IC 95%: 99,89 - 99,98%) utilizando el método manual.

Estos estudios demostraron que el rendimiento del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en el instrumento OSS es comparable con el que utiliza el método manual para la prueba.

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL SISTEMA ORTHO® SUMMIT (OSS) CON EL PIPETEADOR ORTHO VERSEIA®

### Reproducibilidad

Se determinó la reproducibilidad del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en OSS con el pipeteador ORTHO VERSEIA® utilizando un panel que consistía en tres muestras positivas para HTLV-I, dos muestras positivas para HTLV-II y una muestra negativa. Se llevó a cabo el estudio en tres centros sobre un total de cinco pipeteadores VERSEIA® y, para comparar, pipeteadores SUMMIT, cada uno de los cuales analizó seis muestras duplicadas en dos ciclos por día durante un lapso de cinco días no consecutivos. Los resultados de este estudio se resumen en la Tabla 11. El estudio de reproducibilidad demostró que la variabilidad total era comparable en los dos tipos de instrumentos.

**Tabla 11: Estudio de reproducibilidad para el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en OSS**

ID del panel	Pipeteador SUMMIT						Pipeteador VERSEIA®					
	N	Pro-medio	DE	CV%	S/C IC 95%		N	Pro-medio	DE	CV%	S/C IC 95%	
					Inferior	Superior					Inferior	Superior
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 (negativo)	150	0,061	0,016	26,0	0,059	0,064	149	0,060	0,016	26,6	0,058	0,063

### Sensibilidad analítica

Para demostrar que la sensibilidad analítica del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq en OSS con el pipeteador VERSEIA® es comparable con la que se obtiene con el pipeteador SUMMIT, se analizaron diez paneles de dilución (cuatro diluciones con S/C meta en un intervalo de 0,5 a 3,0 de cinco muestras positivas para anticuerpos anti HTLV-I y cinco muestras positivas para anticuerpos anti HTLV-II hasta el valor de corte de la prueba) utilizando ambos instrumentos. Para evaluar la correlación de los dos métodos, se usó el análisis de regresión de Deming. Este análisis demostró que había una elevada correlación para la proporción S/CO para ambos instrumentos, con una pendiente de 1,00, una intersección de 0,01 y un coeficiente de correlación de Pearson (r) de 1,00.

## Sensibilidad

En este estudio se usó un panel de sensibilidad que consistió en 104 muestras congeladas positivas para anticuerpos contra el HTLV (52 muestras positivas para anticuerpos anti HTLV-I y 52 anti HTLV-II). Estas muestras fueron generadas por dilución de muestras positivas congeladas para crear una combinación de muestras que tuviera una reactividad de baja a moderada. Por lo tanto, se espera que algunas de estas muestras con valores de señal al corte cercanas a 1,000 variarán del corte hacia arriba (positivas) y hacia abajo (negativas).

Las muestras fueron analizadas por triplicado en cada uno de los tres centros utilizando los pipeteadores SUMMIT y VERSEIA®. Se obtuvo un total de 935 resultados válidos y se los utilizó para el análisis de datos de cada instrumento. De las 935 observaciones, el 98,1% (917/935) de los resultados con Summit fueron reactivos mientras que el 98,5% (921/935) de los resultados con VERSEIA® fueron reactivos. La prueba de McNemar para resultados discordantes no muestra una diferencia significativa entre los dos pipeteadores con un valor  $p$  de 0,3438, lo que indica que el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq es compatible con el pipeteador VERSEIA®.

## Especificidad clínica

Se analizó un total de 3.146 muestras aleatorias de suero y plasma de donantes una sola vez utilizando ambos tipos de instrumentos (SUMMIT y VERSEIA®) en tres centros, cada uno de los cuales analizó una cantidad similar de muestras. De las 3.146 muestras analizadas, 3.140 fueron no reactivas con cualquiera de los tipos de instrumento. De las 6 muestras restantes, 5 fueron reactivas con ambos pipeteadores mientras que una mostró resultados discordantes entre los dos tipos de pipeteadores (reactiva con el VERSEIA® pero no reactiva con el Summit); las seis muestras arrojaron resultados indeterminados con el análisis por Western blot. Asumiendo que todas las muestras fueron negativas para anticuerpos contra el HTLV, la especificidad de la prueba fue del 99,81% (IC 95%: 99,59% - 99,93%) y del 99,84% (IC 95%: 99,63% - 99,95%) cuando se la utilizó con los instrumentos VERSEIA® y Summit, respectivamente (Tabla 12). El análisis estadístico mostró que no hubo una diferencia significativa en la especificidad para los dos tipos de instrumentos (99,81% frente a 99,84%).

**Tabla 12: Resumen de resultados de especificidad clínica**

		Pipeteador SUMMIT		Total
		Positiva	Negativa	
Pipeteador VERSEIA®	Positiva	5	1	6 (0,19%)
	Negativa	0	3140	3140 (99,81%)
	Total	5 (0,16%)	3141 (99,84%)	3146 (100,00%)

## CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DE LA PRUEBA DE MUESTRAS DE CADÁVER

### Reproducibilidad

La reproducibilidad se evaluó con 20 muestras de cadáver no reactivas (10 de suero/10 de plasma) y 20 muestras de donantes vivos no reactivas (10 de suero/10 de plasma). De cada fuente de donante (cadáver y vivo), 5 muestras de suero y 5 de plasma se enriquecieron con material fuente con anticuerpos para HTLV-I o HTLV-II hasta la reactividad meta de una proporción de señal y corte (S/CO) de 2,0. Cada muestra enriquecida se analizó una vez en seis días distintos, en los tres lotes del kit y en un centro. El porcentaje de CV era comparable entre muestras de donantes cadáver y vivos.

**Tabla 13: Reproducibilidad de la prueba en muestras de plasma de donantes cadáver y vivos**

Antes/ después	Tipo	Matriz	N	Promedio	Inferior al 95 %	Superior al 95 %	Total_DE	Total_CV	Inter_DE	Inter_CV	Intra_DE	Intra_CV
DESPUÉS	HTLV-I	Plasma	90	2,13	2,05472	2,21510	0,383	17,9	0,324	15,2	0,215	10,1
		Suero	90	2,31	2,20140	2,41140	0,501	21,7	0,430	18,7	0,273	11,8
	HTLV-II	Plasma	90	2,09	2,00987	2,17973	0,405	19,4	0,348	16,6	0,221	10,6
		Suero	90	1,94	1,86472	2,02168	0,375	19,3	0,288	14,8	0,248	12,8
ANTES	HTLV-I	Plasma	90	1,89	1,81144	1,96652	0,370	19,6	0,290	15,4	0,238	12,6
		Suero	90	1,97	1,89267	2,05320	0,383	19,4	0,322	16,3	0,219	11,1
	HTLV-II	Plasma	90	2,22	2,11903	2,32092	0,482	21,7	0,373	16,8	0,315	14,2
		Suero	90	1,96	1,88779	2,03181	0,344	17,5	0,280	14,3	0,208	10,6

### Sensibilidad

Las muestras analizadas incluyeron números de muestras de plasma y suero aproximadamente iguales de donantes cadáver (C) (n=91; 46 suero, 45 plasma) y de donantes vivos (N) (n=91; 45 suero, 46 plasma). Las muestras se analizaron previamente para HTLV-I/II y resultaron no reactivas. Las muestras se usaron para preparar paneles enriquecidos de HTLV-I y HTLV-II. Cada muestra se dividió en dos y se enriqueció con una cantidad predeterminada de sueros de anticuerpos positivos para HTLV-I o HTLV-II. La sensibilidad se evaluó analizando las muestras seropositivas a HTLV-I y HTLV-II en donantes cadáver y vivos con tres lotes de kit HTLV-I/II y en dos centros de pruebas. Los resultados negativos según la prueba ELISA se consideraron falsos negativos. La sensibilidad y los intervalos de confianza del 95% se calcularon para muestras de donantes cadáver y vivos enriquecidas con anticuerpos positivos a HTLV-I y HTLV-II, como se muestra en la Tabla 14 a continuación. El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una sensibilidad general estimada en muestras de cadáver enriquecidas del 100% con un intervalo de confianza del 95% de 92,29-100,00% para el suero, y de 92,13-100,00% para el plasma.

**Tabla 14: Reactividad frente a muestras enriquecidas de donantes cadáver y vivos**

Centro	N.º de lote	Tipo de muestra (suero)	Cantidad analizada	Inicial no reactiva	Inicial reactiva	Porcentaje reactiva	Límite de confianza 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

Centro	N.º de lote	Tipo de muestra (plasma)	Cantidad analizada	Inicial no reactiva	Inicial reactiva	Porcentaje reactiva	Límite de confianza 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

### Especificidad

Se recogieron muestras de plasma de donantes cadáver (C) (n=45) y donantes vivos normales (N) (n=45) de una población de bajo riesgo (banco de sangre) y se analizaron de acuerdo con el prospecto del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq, con tres lotes de kit HTLV-I/II en dos centros de prueba. La especificidad y los intervalos de confianza del 95% se calcularon para las muestras de donantes cadáver y vivos, como se muestra en la Tabla 15 a continuación. El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una especificidad general aproximada en muestras de plasma de cadáver del 100%, con un intervalo de confianza del 95% de 92,13-100%.

**Tabla 15: Especificidad aproximada en muestras de plasma aleatorias y de cadáver**

Centro	Lote	Tipo de muestra (plasma)	Cantidad analizada	No reactiva	Repetida reactiva	*Especificidad aproximada (%)	Especificidad Límite de confianza 95%** (%)
Centro 1	Lote 1	Cadáver	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadáver	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadáver-	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0
Centro 2	Lote 1	Cadáver	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadáver	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadáver	45	45	0	100	92,13-100,0
		Vivo	45	45	0	100	92,13-100,0

\* =  $(\text{Cantidad analizada} - \text{Cantidad repetida reactiva}) \times 100$

(Cantidad analizada – Cantidad confirmada positiva)

\*\* = Se calcularon los límites de confianza para la especificidad utilizando el método exacto.

Se analizaron muestras de suero de 218 donantes cadáver individuales de acuerdo con el prospecto del Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq con uno de los tres lotes del kit HTLV-I/II (aprox. 1/3 de las muestras por lote) en un único centro. La especificidad y los intervalos de confianza del 95% se calcularon según se muestra en la Tabla 16 a continuación. El Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una especificidad general aproximada en muestras de suero de cadáver del 100%, con un intervalo de confianza del 95% de 98,32-100%.

**Tabla 16: Especificidad aproximada en muestras de suero de cadáver**

Lote	Tipo de muestra (suero)	Cantidad analizada***	Inicialmente no reactiva	Repetida reactiva	*Especificidad aproximada (%)	Especificidad Límites de confianza 95%** (%)
Lote 1	Cadáver	73	73	0	100	95,07-100,0
Lote 2	Cadáver	73	73	0	100	95,07-100,0
Lote 3	Cadáver	72	71	0	100	95,01-100,0
Total		218	217	0	100	98,32-100,0

\* =  $\frac{\text{Cantidad analizada} - \text{Cantidad repetida reactiva}}{\text{Cantidad analizada} - \text{Cantidad confirmada positiva}} \times 100$

(Cantidad analizada – Cantidad confirmada positiva)

\*\* = Se calcularon los límites de confianza para la especificidad utilizando el método exacto.

\*\*\* = En un estudio independiente, se analizaron 46 muestras de suero de donante cadáver y 46 muestras de suero de donante vivo normal utilizando tres lotes de kit HTLV-I/II distintos en dos centros. Una muestra de cadáver fue repetidamente reactiva en los tres lotes del kit y en ambos centros. Una segunda muestra de cadáver fue repetidamente reactiva en los tres lotes del kit en un centro y en dos lotes del kit en el otro centro.

## Referencias

1. Poiesz BJ, *et al.* Detection and Isolation of type C Retrovirus Particles from Fresh and Cultured Lymphocytes of a Patient with Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 (12): 7415-7419.
2. Blattner WA, *et al.* Epidemiology of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus. *J Infect Dis* 1983; 147(3): 406-416.
3. Hinuma Y, *et al.* Antibodies of Adult T-Cell Leukemia-Virus-Associated Antigen (ATLA) in Sera from Patients with ATL and Controls in Japan: A Nationwide Sero-epidemiologic Study. *Int J Cancer* 1982; 29: 631-635.
4. Tajima K, *et al.* HTLV-I Carriers Among Migrants from an ATL-Endemic Area to ATL Non-Endemic Metropolitan Areas in Japan. *Int J Cancer* 1986; 37: 383-387.
5. Mann DL, *et al.* HTLV-I associated B-cell CLL: indirect role for retrovirus in leukemogenesis. *Science* 1987; 236: 1103-6.
6. Manns A, *et al.* The epidemiology of HTLV-I and -II: etiologic role in human disease. *Transfusion* 1991; 31(1): 67-75.

7. D'Aquila RT: Newly recognized human viruses. *Mediguide to Inf. Diseases* 1993; 12(4): 2-6.
8. Manns A, *et al.* Role of HTLV-I in development of NHL in Jamaica and Trinidad and Tobago. *The Lancet* 1993; 342: 1447-50.
9. Morgan OS, *et al.* HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet*, 1989; 2:1184-87.
10. Sato K, *et al.* Arthritis in patients infected with HTLV-I. *Arthritis and Rheumatism* 1991; 34(6): 714-21.
11. Sato K, *et al.* HTLV-I and Arthritis. *Rheumatol. Rev.* 1992; 1: 185-92.
12. Zucker-Franklin, *et al.* KS in a HIV negative patient with asymptomatic HTLV-I infection: *J. Infect. Dis.* 1993; 167: 987-89.
13. Mochizuki M, *et al.* Uveitis associated with HTLV-I: seroepidemiologic, clinical and virologic studies. *J. Inf. Diseases* 1992; 166: 943-46.
14. Zucker-Franklin D, *et al.* Human Lymphotropic Retroviruses Associated With Mycosis Fungoides: Evidence That Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II (HTLV-II) as Well as HTLV-I May Play a Role in the Disease. *Blood* 1992; 80(6): 1537-45.
15. Bazarbachi A, *et al.* HTLV-I provirus and mycosis fungoides. *Science* 1993; 259: 1470-71.
16. Clark J, *et al.* Seroepidemiologic Studies of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I in Jamaica. *Int J Cancer* 1985; 36: 37-41.
17. Manzari V, *et al.* HTLV-I is Endemic in Southern Italy: Detection of the First Infectious Cluster in a White Population. *Int J Cancer* 1985; 36: 557-559.
18. Blayne DW, *et al.* The Human T-Cell Leukemia-Lymphoma Virus in the Southeastern United States. *JAMA* 1983; 250(8): 1048-1052.
19. Botha MC, *et al.* Distribution and Possible Spread of Human T-Cell Leukemia Virus Type I in Human Communities in the Northern and Eastern Transvaal. *South African Med J* 1985; 67: 668-671.
20. Wong-Staal F and Gallo RC: Human T-lymphotropic Retroviruses. *Nature* 1985; 317: 395-403.
21. Yoshida M: Human Leukemia Virus Associated with Adult T-Cell Leukemia. *Gann* 1983; 74: 777-789.
22. Levine P, *et al.* HTLV-II infection in Florida Indians. *Aids Res. and Human Retroviruses* 1993; 9(2): 123-27.
23. Hjelle B, *et al.* Endemic HTLV-II infection in southwestern US Indians involves two prototype variants of virus. *J. Infect. Diseases* 1993; 168: 737-40.
24. Lal RB, *et al.* Sequence variation within the immunodominant epitope-coding region from external glycoprotein of HTLV-II in isolates from Seminole Indians. *J. Infect. Diseases* 1994; 169: 407-11.
25. Maloney EM, *et al.* Endemic HTLV-II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J. Infect. Diseases* 1992; 166: 100-107.
26. Lee H, *et al.* High rate of HTLV-II infection in seropositive drug abusers in New Orleans. *Science*, 1989; 244: 471-5.
27. DeRossi A, *et al.* Serological and molecular evidence of infection by HTLV-II in Italian drug addicts by use of synthetic peptides and PCR. *Eur. J. Cancer* 1991; 27: 835-8.
28. Zella D, *et al.* Molecular characterization of two isolates from HTLV-II from Italian drug abusers and comparison of genome structure with other isolates. *J. Gen. Virol.* 1993; 74: 437-44.
29. Loughran TP, *et al.* Detection of HTLV-II in a patient with LGL. *Blood* 1992; 80(5): 1116-19.

30. Sohn CC, *et al.* Leukopenic chronic T-cell leukemia: association with human retroviruses. *Blood* 1986; 67(4): 949-56.
31. Cervantes J, *et al.* T-Prolymphocytic Leukemia associated with HTLV-II. *Clin. Res.* 1986; (2): 454.
32. Hjelle B, *et al.* Chronic neurodegenerative disease associated with HTLV-II infection. *The Lancet* 1992; 339: 645-46.
33. Jacobson S, *et al.* Isolation of HTLV-II from a patient with chronic, progressive neurological disease clinically indistinguishable from HAM/TSP. *Ann. Neurol.* 1993; 33(4): 392.
34. Murphy EL, *et al.* HTLV-II associated myelopathy in 43-year-old woman. *The Lancet* 1993; 341: 757-58.
35. Harrington WJ, *et al.* Spastic Ataxia associated with HTLV-II infection. *Annals of Neurology* 1993; 33(4): 411-15.
36. Kaplan JE, *et al.* United States: Epidemiologic and Molecular Evidence Linking Donor and Recipient. *Neurology* 1991; 41 (2): 192-197.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guidelines*. NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS, 1993.
38. U.S. Environmental Protection Agency. *EPA guide for infectious waste management*. Publication No. EPA / 530-5w-86-014, Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1986.
39. The U.S. Pharmacopeia 23 / National Formulary 18: 1995; Purified Water: pg. 1637 and 1984.
40. Centers for Disease Control, U.S. Public Health Service Working Group. Guidelines for counseling persons infected with human T-lymphotropic virus type I (HTLV-I) and type II (HTLV-II). *Ann. Intern. Med.* 118(6):448-454, 1993.
41. National Committee for Clinical Laboratory Standards: *Preparation and Testing of Reagent Water in the Clinical Laboratory*. Approved Guidelines – Third Edition. Villanova, PA: October 1997, NCCLS C3-A3: Vol. 17 No. 18.

## DISPONIBILIDAD

### Avioq Inc.

#### Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq

Kit para 192 pruebas



Número de referencia 500192

Kit para 576 pruebas



Número de referencia 500576

Kit para 9600 pruebas



Número de referencia 509600

Solución amortiguadora de lavado, frasco de 100 ml



Número de referencia 559879

Solución amortiguadora de lavado, 4 frascos de 100 ml



Número de referencia 559880

Para obtener asistencia técnica en los Estados Unidos, póngase en contacto con el Servicio al Cliente de Avioq al 1-919-314-5535.

Para obtener asistencia técnica fuera de EE. UU., póngase en contacto con Emergo Europe (31)(0)70345-8570.

EnzAbody es marca registrada de bioMérieux en EE. UU. y otros países.



Avioq, Inc.  
76 TW Alexander Drive  
PO Box 12808  
Research Triangle Park, North Carolina 27709  
[www.Avioq.com](http://www.Avioq.com)



EMERGO EUROPE  
Westervoortsedijk 60  
6827 AT, Arnhem  
The Netherlands

Número de Licencia en EE. UU. 1856

Dic de 2022

CE 2797