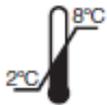




Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq

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 suficiente 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 ensayo de inmunoadsorción enzimática (ELISA) cualitativo para la detección de anticuerpos contra el 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 cadavéricas. Está concebido para el cribado de donantes humanos individuales, que incluye a donantes voluntarios de sangre total y componentes de la sangre, y a otros donantes vivos para detectar la presencia de anticuerpos anti HTLV-I/HTLV-II y ayudar en el diagnóstico clínico de la infección por HTLV-I o HTLV-II y enfermedades relacionadas. También está concebido para 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 para análisis de muestras para cribar donantes cadavéricos (sin latidos del corazón). No está concebido para uso en muestras de sangre de cordón umbilical. Además de su uso como una prueba manual, también está concebido para utilizarse 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 del tipo C, ha estado etiológicamente asociado a la leucemia de células T del adulto (ATL)¹⁻⁴ 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 mayor frecuencia 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 la leucemia linfocítica crónica (CLL) de células B y T^{5,6}, mieloma múltiple⁷, algunos casos de linfoma no Hodgkin (NHL)⁸, polimiositis⁹, artritis^{10,11}, sarcoma de Kaposi¹², uveítis¹³, estrongiloidiasis⁵ y micosis fungoide^{14,15}. El HTLV-I es endémico en algunos países del Caribe, Sur de Japón y posiblemente en algunas áreas de África¹⁶⁻²¹. En los Estados Unidos, se ha identificado el HTLV-I en pacientes con ATL, usuarios de drogas inyectables y personas sanas.

El HTLV-II, un virus relacionado, es endémico en varias tribus amerindias²²⁻²⁵, pero no se ha comprobado de manera inequívoca que sea un patógeno. Se ha observado una alta tasa de resultados serológicos positivos para HTLV-II en usuarios de drogas inyectables²⁶⁻²⁸. Los primeros pacientes en los que se informaron infecciones por HTLV-II presentaban una variante atípica de leucemia de células pilosas en células T. Las observaciones más recientes llevaron a suponer que el HTLV-II puede estar asociado a la leucemia de linfocitos grandes granulares (LGL)²⁹, leucemia linfopénica crónica de células T³⁰, leucemia prolinfocítica de células T³¹, micosis fungoide¹⁴ y enfermedades neurodegenerativas crónicas^{32,33} como mielopatía³⁴ y ataxia espástica³⁵. Los anticuerpos dirigidos contra el HTLV-II presentan una gran reactividad cruzada a los antígenos del HTLV-I.

Está bien documentada la transmisión de infecciones por HTLV-I y HTLV-II a receptores con transfusiones de componentes de la sangre infectados. Otras vías conocidas de transmisión incluyen la leche materna, el contacto sexual y compartir agujas y jeringas contaminadas entre usuarios 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 ensayo de inmunoabsorción enzimática en el que la fase sólida (micropocillos) está cubierta con un lisado viral purificado de HTLV-I, un lisado viral purificado de HTLV-II y un antígeno recombinante de p21E del HTLV-I.

Con el agregado 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 el pocillo se lava 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 el agregado 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 sujetadores de tiras	6 sujetadores de tiras	100 sujetadores de tiras	Tiras para Microelisa HTLV-I/II – Doce por sujetador, cada una contiene 8 pocillos recubiertos con lisado viral de HTLV-I inactivo, un antígeno recombinante de HTLV-I (rp21E) y lisado viral de HTLV-II inactivo; 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)	EnzAbody® para HTLV-I/II (concentrado EnzAbody) – Inmunoglobulina antihumana de cabra conjugada con peroxidasa de rábano picante, ~0,06 % p/p o 30µg; liofilizada con suero de cabra, sacarosa y leche descremada en polvo.
1 frasco (55 ml)	2 frascos (55 ml cada uno)	28 frascos (55 ml cada uno)	Diluyente EnzAbody® – Solución salina amortiguada con fosfato que contiene 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)	Diluyente para muestras – Solución salina amortiguada con fosfato que contiene 10% de suero de cabra, surfactantes no iónicos, cloruro de sodio, albúmina de suero bovino al 0,14 %, leche descremada 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)	Solución TMB – 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)	Solución de peróxido – 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) CONTROL -	Suero control negativo – Suero humano con estabilizadores de proteínas; no reactivo por pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra HTLV-I, HTLV-II, HIV-1, HIV-2 y HCV, y no reactivo para HBsAg y HIV-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) CONTROL +	Suero control positivo para HTLV-I – Suero humano inactivo con estabilizadores de proteínas y colorante rojo amaranto; reactivo para anticuerpos contra el HTLV-I; no reactivo por pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra HIV-1, HIV-2 y HCV, y no reactivo para HBsAg y HIV-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) CONTROL +	Suero control positivo para HTLV-II – suero humano inactivo con estabilizadores de proteínas y colorante azul patente; reactivo para anticuerpos contra el HTLV-II; no reactivo por pruebas aprobadas por la FDA para anticuerpos contra HIV-1, HIV-2 y HCV, y no reactivo para HBsAg y HIV-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	Abrazadera y varilla (o equivalente) – Cierre para el envase de aluminio.
10 hojas	20 hojas	30 hojas	Selladores para placas – Adhesivo.

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

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

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

Nota: La solución quelante requerida es ácido sulfúrico 2N y no es proporcionada por 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 capaces de transmitir agentes infecciosos.** Los antígenos utilizados para recubrir los pocillos de microelisa han sido inactivos para virus mediante disrupción con detergente, y los **sueros de control positivo para HTLV-I y HTLV-II** han sido inactivos mediante el agregado de detergente. Los controles positivos y negativos derivan de suero o plasma humano, se les han hecho pruebas de antígenos HIV-1, HBsAg, anti-HIV-1, anti-HIV-2 y anti-HCV, 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 que haya una ausencia de agentes infecciosos, todos los materiales de origen humano se deberán manipular como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos.
2. Todos los operadores de pruebas deberán cumplir con los reglamentos (29 CFR 1910.1030) de la Administración de Salud y Seguridad Ocupacional (OSHA).
3. Mantenga el área de prueba separada de las áreas en las que se almacenan la sangre o los componentes de la sangre 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 reactivos (por ej., de 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 sujetadores de tiras para microelisa y pipetas), como si fueran capaces de transmitir agentes infecciosos. Consulte inmediatamente a un médico en caso de ingerir los materiales o si entran en contacto con laceraciones abiertas, lesiones u otra pérdida de la solución de continuidad en la piel, membranas mucosas o los 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 un 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 federales³⁷. Los residuos sólidos se pueden incinerar o colocar en autoclave durante un lapso adecuado. Debido a las variaciones en las configuraciones entre autoclaves y residuos, cada usuario deberá verificar la efectividad de este ciclo de descontaminación utilizando indicadores biológicos³⁸.

Nota: Se deberá neutralizar los residuos líquidos que contengan ácido antes del agregado de desinfectantes y/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 Hoja de datos de seguridad del material (Material Safety Data Sheet, 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. Tenga cuidado al colocar las microplacas para las series de placas parciales (combinación de tiras recubiertas y no recubiertas). Es posible que algunos analizadores no puedan diferenciar entre los

pocillos recubiertos y no recubiertos y generen resultados para cualquier posición de pocillo con un número de identificación 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 a 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 una temperatura de 2 a 8 °C después de su 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 vencimiento en el vial. El concentrado EnzAbody es estable durante 5 semanas cuando se lo almacena a una temperatura de 2 a 8 °C.

Preparación de la solución de trabajo EnzAbody

1. Se deben usar recipientes limpios de polipropileno, de preferencia 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 preparar una **solución de trabajo EnzAbody** 1:251 (consulte la tabla a continuación). Asegúrese de que el **concentrado EnzAbody** reconstituido esté bien mezclado antes de usarlo. Vuelva a colocar el **concentrado EnzAbody** reconstituido no utilizado a una temperatura de 2 a 8 °C. No combine viales de **concentrado EnzAbody reconstituido**. Es posible que necesite más **solución de trabajo EnzAbody** dependiendo del 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 tiempos de preparación y vencimiento de la **solución de trabajo EnzAbody**. Deseche toda la **solución de trabajo EnzAbody** no utilizada después de finalizar 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, resolubilícela calentándola a 37 °C hasta disolver 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** 1:25 con agua purificada³⁹, según el esquema indicado en la tabla a continuación.

Preparación de la solución amortiguadora de lavado

Cantidad de tiras para microelisa	Volumen de concentrado 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 concentrado 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 (preparación, volumen muerto, etc.). Consulte las instrucciones del fabricante para la lavadora de placas para microelisa.

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



Preparación del sustrato TMB

Prepare el **sustrato TMB** en un recipiente limpio de polipropileno, de preferencia 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** dependiendo del 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 deberá ser incoloro cuando se lo utilice. Registre los tiempos de preparación y vencimiento. Si presenta un color visiblemente azul, deséchelo y prepare más **sustrato TMB** en la proporción que se requiera.

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.

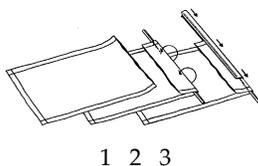
INSTRUCCIONES PARA EL ALMACENAMIENTO DEL KIT

Almacene todos los componentes a una temperatura de 2 a 8 °C cuando no estén en uso. La fecha de vencimiento 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 se indica en "PREPARACIÓN DE REACTIVOS". No almacene el kit congelado.

TIRAS PARA MICROELISA HTLV-I/II

Se deberá llevar el envase de aluminio a temperatura ambiente (15 a 30 °C) antes de abrirlo para evitar que se forme condensación sobre las **tiras para microelisa**. Después de abrir el envase hermético de aluminio, las **tiras** permanecen estables durante 4 semanas a una temperatura de 2 a 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 vencimiento en el envase de aluminio. **No se deberá quitar la bolsa de gel de sílice.**

Figura 1: Cierre del envase de aluminio.



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, deséchelo y prepare más **sustrato TMB** en la proporción que se requiera.

RECOLECCIÓN, ALMACENAMIENTO Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Muestra de donante vivo

Recolección: No es necesario que el paciente ayune ni tenga una preparación especial. Se puede usar suero o plasma tratado con heparina, citrato, CPD, CPDA-1 o EDTA (etilendiaminotetracético) como anticoagulantes. Consulte las instrucciones proporcionadas por el fabricante de los tubos de recolección 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 glóbulos rojos tan pronto como sea 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 se pueden inactivar por calor durante 30 minutos a 56 °C sin pérdida de reactividad. El rendimiento no se ha establecido para otros tipos de muestras, entre ellas líquido pleural, saliva, líquido bucal, eluatos de manchas de sangre seca y muestras no humanas.

Almacenamiento: Las muestras deberán estar libres de contaminación microbiana y se las puede almacenar a una temperatura de 2 a 8 °C por un máximo de 14 días. Para el almacenamiento de largo plazo, las muestras se deberán congelar a -20 °C. Después de descongelarlas, se las deberá mezclar. 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 vigentes que rigen el transporte de agentes etiológicos. Las muestras se pueden enviar a temperatura ambiente, refrigeradas (2 a 8 °C) o congeladas (-20 °C o más baja). Al recibirlas, se las deberá almacenar a la temperatura recomendada para almacenamiento indicada previamente.

Muestra de donante cadavérico

Recolección: Las muestras cadavéricas se pueden recolectar de suero, tubos separadores de suero o plasma de EDTA (etilendiaminotetracético). Las muestras preferidas son las muestras puras no hemodializadas. Los precipitados en las muestras se deben quitar utilizando el método de centrifugación.

Almacenamiento: Las muestras cadavéricas se pueden almacenar hasta 14 días a una temperatura de 2 a 8 °C y a -20 °C sometidas a 4 ciclos de congelamiento/descongelamiento. Mezcle luego de descongelar y antes de analizar.

Envío: Las muestras para enviar deberán estar envasadas de conformidad con los reglamentos vigentes que rigen el transporte de agentes etiológicos. Las muestras se pueden enviar a una temperatura de -20 °C a 30 °C. Al recibirlas, se las deberá almacenar a la temperatura recomendada sin exceder un total de 14 días. Este plazo incluye el tiempo de envío.

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

Materiales proporcionados

Tiras para microelisa HTLV-I/II
EnzAbody[®] para HTLV-I/II
Diluyente EnzAbody[®]
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:

- Instalación y requisitos especiales.
- Principios de operación, instrucciones, precauciones y peligros.
- Especificaciones del fabricante y capacidad de rendimiento.
- Información sobre servicio y mantenimiento.
- 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 μ l y capaz de realizar un ciclo de remojo de 30 ± 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 μ l ± 5 % y puntas

Micropipeta(s) capaces de administrar 20 μ l ± 5 %, 100 μ l ± 5 % y puntas

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

Lector de placas de microelisa

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

Temporizador

Probeta graduada, 50 ml y 1-2,5 l o equivalente

Reactivos/Desechables

Concentrado de solución amortiguadora de lavado (Producto número 559879)

Ácido sulfúrico 2N

Agua purificada³⁹, USP, NCCLS tipo I⁴¹ o equivalente

Sujetador para 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 tapa (15 o 50 ml) o equivalente

Materiales disponibles en Avioq Inc.

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

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

Notas de procedimiento

1. El cumplimiento inadecuado de las instrucciones del prospecto puede producir resultados erróneos o pruebas inválidas.
2. Las **tiras para microelisa, el 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 vencimiento que aparece en la etiqueta del envase. Los componentes y las muestras para la prueba deben estar a temperatura ambiente (15 a 30 °C) y se los debe mezclar (según corresponda) antes de iniciar la prueba. Vuelva a colocar los reactivos a una temperatura de 2 a 8 °C después del uso. No almacenar congelado.
3. Las **tiras** de la placa para microelisa son removibles. 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 sujetador para tiras microelisa y asegúrese de que todas las tiras estén fijas. Los sujetadores para tiras se deben manipular con cuidado para asegurar que ninguna tira se salga de lugar durante la prueba. Las **tiras para microelisa** se pueden numerar para garantizar su reinsertión si alguna 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 colocar en un agitador vórtex antes de pipetearlos. Los **controles positivo** y **negativo** se deben dispensar y diluir de la misma forma que las muestras. Se debe colocar uno de cada **control positivo** y tres **controles negativos** en cada placa (sujetador para tiras). Si se procesa más de un sujetador para placas, deberá garantizar que se cumpla con todos los tiempos de incubación especificados.
7. Todos los pasos del pipeteado se deberán llevar a cabo con sumo cuidado y exactitud. La contaminación cruzada entre reactivos invalidará los resultados de la prueba. Use micropipetas para la administración cuantitativa de las muestras y los reactivos. Para el pipeteo manual de los controles y las muestras, use puntas para muestras individuales y desechables a fin de prevenir el arrastre de las muestras. Evite la contaminación de los reactivos, ya sea microbiana o de otro tipo.
8. Si inadvertidamente no agrega una muestra a esta prueba, por ejemplo, se saltea 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 las placas se debe validar antes del uso. Se recomienda el uso de un limpiador automático de placas (consulte la sección **Materiales adicionales requeridos pero no provistos** para ver los requisitos de lavadoras automáticas). El lavado incompleto afectará de modo adverso el 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 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 la lectura de los mismos.
16. Asegúrese de que las **tiras para microelisa** estén niveladas en el sujetador de 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 positivos 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 de modo adverso el resultado de la prueba. La **solución amortiguadora de lavado** debe estar a temperatura ambiente (15 a 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 ± 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 sujetador para 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 lavadora de placas 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 del **control negativo**, un pocillo del **control positivo para HTLV-I** y un pocillo del **control positivo para HTLV-II** en cada placa, independientemente de la cantidad de tiras utilizada. Mezcle los **controles** completamente (por ej. en vórtex) antes de pipetearlos o dividirlos en 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 verificar e incluir en la programación.

Nota: Se puede agregar la muestra al **diluyente para muestras** 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 tapa se pueden almacenar a temperaturas de 2 a 8 °C hasta 24 horas, pero deben estar a temperatura ambiente (15 a 30 °C) en el momento de realizar la prueba. Pipetee 100 µl de la muestra diluida en cada pocillo de la **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. Dentro de los 30 minutos, incube a 37 ± 2 °C durante 60 ± 5 minutos.
4. Después de la incubación, deseche el sellador para placas después del 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 ± 2 °C durante 60 ± 5 minutos.

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

7. Después de la incubación, deseche el **sellador para placas** después del 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 a 30 °C) durante 30 ± 5 minutos.
10. Detenga la reacción agregándole 100 µl de **ácido sulfúrico 2N** a cada pocillo (mantenga la misma secuencia y los mismos intervalos de tiempo utilizados para agregar el **sustrato TMB**). **Deberá leer las placas dentro de las dos horas.**
11. Ponga el lector de microelisa en blanco al aire (sin sujetador para 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 (Negative Control, 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 se deberá repetir.

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 es inválida y se deberá repetir.

RESULTADOS

Cálculos

Los cálculos se deberán realizar separadamente para cada sujetador para 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

(Doble longitud de onda)

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

Validez de la prueba (longitud de onda única)

Aprobada

Validez de la prueba (doble longitud de onda)

Aprobada

Calcule el valor de corte (longitud de onda única)

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

Calcule el valor de corte (doble longitud de onda)

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

= 0,400

= 0,363

INTERPRETACIÓN DE LOS 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 de valores de absorbancia por debajo de 0,000 se deberán volver a analizar individualmente 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 hacer la interpretación se deberá volver a analizar la muestra por duplicado utilizando la prueba HTLV-I/II de Avioq. Si alguno de los duplicados que se vuelven a analizar 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 reaccionan en ninguno de los análisis por duplicado se consideran negativas para anticuerpos anti HTLV-I/II.
5. En la mayoría de los ámbitos, es apropiado investigar repetidamente las muestras reactivas mediante pruebas adicionales más específicas (**LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO**). Las muestras que tienen un resultado repetidamente reactivo por ELISA y positivo por pruebas adicionales más específicas se consideran positivas para anticuerpos anti HTLV-I y/o anti HTLV-II. No queda clara la interpretación de los resultados de las muestras que tienen un resultado repetidamente reactivo por ELISA y negativo o indeterminado en pruebas adicionales más específicas; se puede obtener una mayor aclaración realizando la prueba a otra muestra tomada de la misma persona 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 deben seguir minuciosamente cuando se hacen pruebas para detectar la presencia de anticuerpos contra el HTLV-I y/o contra el 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, eluatos de manchas de sangre seca, muestras no humanas, etc.), sangre mezclada o plasma procesado y productos fabricados a partir de esas mezclas.

Si la muestra no se agrega tal como se indica en el “PROCEDIMIENTO DE LA PRUEBA”, podría dar un resultado falso negativo.

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 la transmisión del HTLV-I y/o del HTLV-II a receptores de componentes celulares de la sangre, 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 componentes de la sangre infectados puede provocar la enfermedad en los receptores³⁶.

Las pautas⁴⁰ publicadas por el Servicio de Salud Pública de EE. UU. recomiendan que las muestras repetidamente reactivas se investiguen mediante pruebas adicionales más específicas, tales como Western Blot (WB) y radioinmunoprecipitación (RIPA). Estas pruebas complementarias se deberán utilizar además de pruebas con péptidos específicos o pruebas con sondas para discriminar entre el HTLV-I y el HTLV-II. La interpretación de esas pruebas deberá ser coherente con estas pautas publicadas.

Se presume que el suero o plasma de una persona que reacciona 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 implicaciones médicas de la seropositividad al HTLV-II. Se deberá ofrecer el asesoramiento adecuado y una evaluación médica que concuerde con las pautas publicadas de los Servicios de Salud Pública⁴⁰. Tal evaluación se deberá considerar una parte importante de la prueba de anticuerpos anti 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 no se puede utilizar por sí sola para diagnosticar estas enfermedades, aunque la investigación recomendada de muestras reactivas confirme la presencia de anticuerpos contra el HTLV-I. Un resultado negativo para la prueba en cualquier punto de la investigación serológica no descarta la posibilidad de exposición o infección por HTLV-I o HTLV-II. Cuando exista la sospecha clínica de infección por HTLV-I o HTLV-II, se deberá considerar repetir la prueba con el Sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq. Los resultados negativos en esta prueba para personas con exposición previa al HTLV-I y/o al 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 falsos positivos con un kit de prueba de esta naturaleza. La proporción de reactivos falsos dependerá de la prevalencia de anticuerpos anti HTLV-I y/o anti 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 dependiendo de la prevalencia de anticuerpos anti HTLV-I o anti HTLV-II en esa área geográfica. Las áreas de prevalencia elevada para el HTLV-I incluyen: partes de África, Micronesia, Japón, islas de Hawái e islas del Caribe. Las áreas de prevalencia elevada para el HTLV-II incluyen: poblaciones de usuarios de drogas inyectables (Intravenous Drug Abuser, IVDA) y varias tribus amerindias en América del Norte y del Sur. La experiencia con donantes de sangre examinados en EE. UU. se muestra en la sección de Especificidad. La experiencia con el análisis de poblaciones con enfermedad por HTLV-I o con alto riesgo de adquirir HTLV-I o HTLV-II se resume en las secciones de Sensibilidad y Poblaciones endémicas.

CARACTERÍSTICAS DE RENDIMIENTO DEL ENSAYO

Reproducibilidad

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

Tabla 1: Reproducibilidad del ensayo

ID	N	Media	Total		Entre ensayos		Intra ensayos	
			DS	CV	DS	CV	DS	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 Número de réplicas
- MEDIA Media de la relación de señal y corte (SCR)
- DS Desviación estándar de SCR
- CV Coeficiente 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. Se resume un desglose de los datos por centro y por tipo de muestra en la Tabla 2 a continuación. Basándose en una supuesta prevalencia cero de anticuerpos anti HTLV-I y anti 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 %). También se incluye para cada población 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 total y plasma de donantes aleatorios y de poblaciones de plasma fuente

	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
Centro de Suero 1	1315	1314	1	1	0,08	0,004	0,334	0	99,92	99,58	99,99
Centro de Suero 2	3754	3753	1	1	0,03	0,002	0,117	0	99,97	99,85	99,99
Centro de Plasma 1	1255	1255	0	0	0,00	0,000	0,153	0	100,00	99,71	100,00
Centro de Plasma 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

$$* = \frac{(\text{Cantidad Evaluada} - \text{Cantidad Repetida Reactiva}) \times 100}{(\text{Cantidad Evaluada} - \text{Cantidad Confirmada Positiva})}$$

** = 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 para 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 el HTLV-I y el 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*).

Reactividad con enfermedades que interfieren potencialmente

Se analizaron con esta prueba muestras de individuos con enfermedades que pueden producir reactividad no específica de 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 citomegalovirus	10	0
Anticuerpos contra el virus de Epstein-Barr	10	0
Anticuerpos contra el virus del herpes simple	10	0
Anticuerpos contra el HIV-1	10	0
Anticuerpos contra el HIV-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 HCV	10	0
Hipergammaglobulinemia IgG	10	0
Hipergammaglobulinemia IgM	10	0
Anticuerpos de toxoplasmosis	10	0
Receptores de vacuna de la gripe	36	0

Reactividad en muestras con sustancias que interfieren potencialmente

Se analizaron muestras que eran 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 en pruebas complementarias de uso en investigación (Western blot, RIPA, IFA y, en algunos casos, PCR). Estas muestras eran de poblaciones con enfermedades asociadas al HTLV, poblaciones de usuarios de drogas inyectables (IVDA) 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 la totalidad de 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 complementarias HTLV-I, HTLV-II, y muestras con resultado positivo para anticuerpos anti HTLV-I/II

Grupo	Resultado de prueba complementaria ^a	Cantidad analizada	Cantidad repetidamente reactiva con pruebas aprobadas para HTLV-I	Cantidad repetidamente reactiva con HTLV-I/II de Avioq
Leucemia de células T del adulto	HTLV-I	47	47	47
Paraparesia espástica tropical	HTLV-I	43	43	43
Linfoma nasofaríngeo	HTLV-I	1	1	1
Usuarios de drogas inyectables	HTLV-I	5	5	5
	HTLV-II	95	94 ^c	95
Pacientes hospitalarios ^b	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
TOTAL		636	635	636

^a 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 el HTLV-I y el 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, enzoinmunoanálisis (EIA) 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*).

^b Asintomáticos y algunos síntomas indicativos de enfermedad por HTLV.

^c La prueba aprobada para HTLV-I falló en un IVDA (señal/valores de corte 0,8, 0,9, 0,9) con resultado indeterminado por Western Blot (solo 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 anti HTLV-I mediante métodos complementarios de uso en investigación (Western blot, IFA o RIPA). La totalidad de las 20 muestras positivas para anticuerpos anti 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 a continuación.

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 encontró 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 informadas 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 a continuación.

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 ^a	Cantidad de resultados repetidamente reactivos	Cantidad (porcentaje) de pruebas complementarias positivas que fueron repetidamente reactivas por EIA
Islas del Pacífico (HTLV-I)	532	20 ^b	20	20 (100 %)
Nuevo México (HTLV-II)	361	7 ^c	8	7 (100 %)
Brasil (HTLV-II)	164	53 ^c	51 ^d	51 (96,2 %)

^a 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 el HTLV-I y el 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).

^b La cantidad de muestras con resultado positivo en las pruebas complementarias se basó en los resultados de las pruebas para 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.

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

^d La dos muestras fueron indeterminadas por Western Blot, positivas para anticuerpos anti HTLV por RIPA, positivas para anticuerpos anti HTLV-II por IFA, y positivas para ADN del HTLV por 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 son de reproducibilidad, especificidad y sensibilidad comparables con 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, se realizaron pruebas a un panel que consistía en muestras positivas para anticuerpos anti HTLV-I y anti HTLV-II con distintos grados de reactividad (cuatro HTLV-I y cuatro HTLV-II) y dos muestras negativas 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 rango de 8,9 – 19,7 % (n=96), comparado con el rango 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 las pruebas se realizaron 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 media	Total				Entre ensayos		Intra ensayos	
				DS	CV%	S/C Inferior IC 95 %	S/C Superior IC 95 %	DS	CV%	DS	CV%
HTLV-I S1	Pos	96	3,10	0,276	8,9	3,04	3,15	0,244	7,9	0,136	4,4
HTLV-I S2	Pos	96	2,92	0,300	10,3	2,85	2,98	0,246	8,4	0,176	6,0
HTLV-I S3	Pos	96	2,50	0,312	12,5	2,44	2,56	0,259	10,4	0,180	7,2
HTLV-I S4	Pos	96	2,18	0,226	10,4	2,13	2,22	0,190	8,7	0,126	5,8
HTLV-I S5 ^a	Neg	96	0,25	0,023	9,2	0,24	0,25	0,020	8,0	0,012	4,8
HTLV-II S1	Pos	96	3,29	0,561	17,1	3,17	3,40	0,482	14,7	0,298	9,1
HTLV-II S2	Pos	96	3,15	0,569	18,1	3,03	3,26	0,537	17,1	0,210	6,7
HTLV-II S3	Pos	96	2,46	0,486	19,7	2,36	2,56	0,462	18,8	0,170	6,9
HTLV-II S4	Pos	96	2,22	0,364	16,4	2,14	2,29	0,300	13,5	0,214	9,6
HTLV-II S5 ^a	Neg	96	0,23	0,020	8,7	0,22	0,23	0,016	7,2	0,012	5,4

a 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 con la de la prueba aprobada originalmente, se hicieron pruebas a 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 analizar una cantidad similar de muestras. De las 2000 muestras analizadas, dos fueron repetidamente reactivas (ver 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 $11409/11415 = 99,95\%$ (CI 95 % CI 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 positiva	Especificidad estimada (%)	Especificidad límites de confianza al 95 % (%)	
Suero	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00
Plasma	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 con la de 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 encontrado previamente que todas las muestras eran repetidamente reactivas en una prueba de cribado de donantes para HTLV-I/II autorizada por la FDA, y la positividad para anticuerpos anti HTLV-I/II se confirmó con una prueba complementaria de uso en investigación (WB, IFA, y/o RIPA). El 87 % de estas muestras pertenecían a donantes de sangre de 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 $636/636 = 100\%$ (CI 95 % CI 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 al 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 (PIPETEADOR 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 ensayo, 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 media	Total				Entre centros		Intra centros	
				DS	CV%	S/C Inferior IC 95%	S/C Superior IC 95%	DS	CV%	DS	CV%
HTLV-I S1	Pos	96	4,54	0,375	8,3	4,47	4,62	0,305	6,7	0,226	5,0
HTLV-I S2	Pos	96	4,03	0,366	9,1	3,95	4,10	0,288	7,1	0,232	5,8
HTLV-I S3	Pos	96	3,63	0,325	8,9	3,57	3,70	0,253	7,0	0,208	5,7
HTLV-I S4	Pos	96	2,84	0,283	10,0	2,78	2,89	0,218	7,7	0,184	6,5
HTLV-I S5 ^a	Neg	96	0,26	0,052	20,3	0,25	0,27	0,045	17,5	0,028	10,8
HTLV-II S1	Pos	96	5,86	0,421	7,2	5,77	5,94	0,323	5,5	0,276	4,7
HTLV-II S2	Pos	96	5,75	0,347	6,0	5,68	5,82	0,270	4,7	0,224	3,9
HTLV-II S3	Pos	96	4,95	0,463	9,4	4,85	5,04	0,385	7,8	0,268	5,4
HTLV-II S4	Pos	96	4,22	0,332	7,9	4,16	4,29	0,277	6,6	0,189	4,5
HTLV-II S5 ^a	Neg	96	0,13	0,028	20,7	0,13	0,14	0,023	17,0	0,016	12,1

^a Muestra negativa para anticuerpos contra el HTLV-I y el HTLV-II

La reproducibilidad del estudio demostró que la variabilidad total de las muestras positivas se encontraba en un rango del 6 % al 10 % utilizando el método OSS, comparada con un 8,9 al 19,7 % para las muestras positivas con el método manual (ver 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 anti HTLV-I y cuatro muestras positivas para anticuerpos anti 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 relación S/CO de ambos formatos, con un coeficiente de correlación de 0,94. Para demostrar la equivalencia de la relación S/CO entre los dos métodos, se realizó una prueba de t pareada. La media general de la relación S/CO para el método manual fue 3,143 (n=459) en comparación con una media 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 sensibilidad disminuida).

Sensibilidad

Se analizó un panel de 100 muestras de sangre donada que fueron 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 100 muestras fueron repetidamente reactivas (concordancia del 100 %) con 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 congelamiento/descongelamiento antes analizarlas; los datos obtenidos de Avioq indican que las muestras se pueden congelar y descongelar una vez sin pérdida de reactividad.

La relación S/CO de las 95 muestras detectada por la prueba de Avioq estuvo en el rango 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 relación S/CO fue 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 anti 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 voluntarios donantes de sangre. 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/lotes combinados
	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	
Cantidad analizada	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16.339
No reactiva	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16.330
Inicialmente reactiva	2	0	1	3	3	2	11
Repetidamente reactiva	2	0	0	3	2	2	9
Positivas confirmadas	0	N/A	N/A	0	0	0	0
Total de falsos positivos	2			7			9
Total analizado	4.090			12.249			16.339
Especificidad calculada	99,95 %			99,94 %			99,94 %
IC 95 %	99,82 %-99,99 %			99,88 %-99,98 %			99,90 %-99,97 %
Especificidad general calculada	99,95 %						
IC 95 %	99,89 % - 99,98 %						

De las 16.339 muestras de sangre donada 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 general calculada de la prueba HTLV-I/II de Avioq en OSS fue 16.330/16.339 = 99,94 % (IC 95 %: 99,90 – 99,97 %), comparada 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 implementó 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. El estudio se llevó a cabo en tres centros en un total de cinco pipeteadores VERSEIA® y pipeteadores SUMMIT, para comparación, cada uno de los cuales analizó seis muestras duplicadas en dos pasadas 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	Media	DS	CV%	S/C IC 95 %		N	Media	DS	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 del pipeteador SUMMIT, se analizaron diez paneles de dilución (cuatro diluciones con S/C objetivo en un rango 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) con ambos instrumentos. 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 relación 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 anti HTLV (52 muestras positivas para *anticuerpos anti HTLV-I* y 52 para *anticuerpos anti HTLV-II*). Estas muestras se generaron por dilución de muestras positivas congeladas para crear una combinación de muestras que tuviera una reactividad baja a moderada. Por lo tanto, se espera que algunas de estas muestras con valores de señal/corte cercanos a 1,000 variarán del valor de corte hacia arriba (positivas) y hacia abajo (negativas).

Las muestras se analizaron 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 anti 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 LAS PRUEBAS DE MUESTRAS CADAVÉRICAS

Reproducibilidad

Se evaluó la reproducibilidad utilizando 20 muestras cadavéricas 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 (cadavérica y viva), 5 muestras de suero y 5 de plasma se enriquecieron con material fuente anti HTLV-I o anti HTLV-II para una reactividad objetivo de una relación de señal y corte de 2.0 (S/CO). Cada muestra enriquecida se sometió a pruebas una vez en seis días diferentes en cada uno de los tres lotes de kits en un centro. Los coeficientes de variación porcentual (Coefficient of Variation, CV) resultaron comparables entre las muestras de donantes vivos y cadavéricos.

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

Previo / Post.	Tipo	matriz	N	Media	Inferior 95 %	Superior 95 %	Ds total	Cv total	inter_ds	inter_cv	intra_ds	intra_cv
POST	HTLV-I	Plasma	90	2,13	2,05472	2,21510	0,383	17,9	0,324	15,2	0,215	10,1
		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
PRE	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 que se analizaron incluyeron aproximadamente el mismo número de muestras de suero y plasma de muestras post mórtem (C) (n=91; 46 suero, 45 plasma) y muestras de donantes normales (N) (n=91; 45 suero, 46 plasma). Las muestras se sometieron a pruebas anteriormente para detectar HTLV-I/II y resultaron no reactivas. Las muestras se usaron para preparar paneles enriquecidos contra HTLV-I y HTLV-II. Cada muestra se separó en dos y se enriqueció con un suero de anticuerpo positivo contra HTLV-I o HTLV-II. La sensibilidad se evaluó probando las muestras de seropositivo de HTLV-I y HTLV-II de donantes normales y post mórtem con tres lotes de kits HTLV-I/II en dos centros de pruebas. Los resultados negativos de pruebas mediante la prueba ELISA se consideraron falsos negativos. La sensibilidad y los intervalos de confianza del 95 % se calcularon en muestras de donantes normales y post mórtem enriquecidos con anticuerpos positivos para HTLV-I and HTLV-II según se muestra en la Tabla 14 a continuación. El sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una sensibilidad general calculada en muestras cadavéricas enriquecidas de 100 % con un intervalo de confianza del 95 % de 92,29 % a 100,00 % para el suero y 92,13 a 100 % para el plasma.

Tabla 14: Reactividad contra muestras de donantes normales y post mórtem enriquecidas

Cen tro	Número de lote	Tipo de muestra (Suero)	Cantida d analizad a	Inicial No reactivo	Inicial Reactivo	Reactivo porcentual	Límite de confianza al 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
Cen tro	Número de lote	Tipo de muestra (Plasma)	Cantida d analizad a	Inicial No reactivo	Inicial Reactivo	Reactivo porcentual	Límite de confianza al 95 %

			a				
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

Cada muestra de plasma de donantes post mórtem (C) (n=45) y de donantes normales vivos (N) (n=45; recolectado de una población de bajo riesgo [banco de sangre]) se sometió a pruebas según lo indicado en el paquete del sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq, con tres lotes de kits HTLV-I/II en dos centros de prueba. Los intervalos de confianza de 95 % y la especificidad se calcularon para las muestras de donantes normales y post mórtem según se muestra en la Tabla 15 a continuación. El sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una especificidad calculada en general en muestras cadavéricas de plasma de 100 % con un intervalo de confianza de 95 % de 92,13 a 100 %.

Tabla 15: Especificidad calculada en muestras aleatorias y postmortem de plasma

Centro	Lote	Tipo de muestra (Plasma)	Cantidad analizada	No reactivo	Reactivo repetido	Especificidad calculada (%)*	Especificidad límites de confianza 95 % (%)**
Centro 1	Lote 1	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
Centro 2	Lote 1	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadavérica	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0

* = $\frac{\text{Cantidad evaluada: cantidad reactiva repetida}}{\text{Cantidad evaluada: cantidad de positivos confirmados}} \times 100$

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

Las muestras de suero de 218 donantes post mórtem se evaluaron según lo indicado en el paquete del sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq con uno de los tres lotes de kits HTLV-I/II (aprox. 1/3 de muestra por lote) en un único centro. La especificidad y los intervalos de confianza de 95 % se calcularon según se muestra en la Tabla 16 a continuación. El sistema Microelisa HTLV-I/II de Avioq tiene una especificidad calculada general en muestras cadavéricas de 100 % con un intervalo de confianza de 95 % de 98,32 a 100 %.

Tabla 16: Especificidad calculada en muestras post mórtem de suero

Lote	Tipo de muestra (Suero)	Cantidad analizada***	No reactivo inicial	Repetido reactivo	Especificidad calculada (%)*	Especificidad límites de confianza 95 % (%)**
Lote 1	Cadavérico	73	73	0	100	95,07-100,0
Lote 2	Cadavérico	73	73	0	100	95,07-100,0
Lote 3	Cadavérico	72	71	0	100	95,01-100,0
Total		218	217	0	100	98,32-100,0

* = $\frac{\text{Cantidad evaluada} - \text{cantidad reactiva repetida}}{\text{Cantidad evaluada} - \text{cantidad de positivos confirmados}} \times 100$

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

*** = En un estudio separado, 46 muestras de suero de donantes cadavéricos y 46 de donantes normales vivos se evaluaron utilizando tres lotes de kits de HTLV-I/II diferentes en dos centros. Una muestra cadavérica resultó reactiva de manera repetida en los tres lotes de kits en ambos centros. Una segunda muestra cadavérica resultó reactiva de manera repetida en los tres lotes de kits en un centro y en dos lotes de kits en el otro centro.

Referencias

- Poiesz BJ, *et al.* Detection and Isolation of type C Retrovirus Particles from Fresh and Cultured Lymphocytes of a Patient with Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 (12): 7415-7419.
- Blattner WA, *et al.* Epidemiology of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus. *J Infect Dis* 1983; 147(3): 406-416.
- Hinuma Y, *et al.* Antibodies of Adult T-Cell Leukemia-Virus-Associated Antigen (ATLA) in Sera from Patients with ATL and Controls in Japan: A Nationwide Sero-epidemiologic Study. *Int J Cancer* 1982; 29: 631-635.
- Tajima K, *et al.* HTLV-I Carriers Among Migrants from an ATL-Endemic Area to ATL Non-Endemic Metropolitan Areas in Japan. *Int J Cancer* 1986; 37: 383-387.
- Mann DL, *et al.* HTLV-I associated B-cell CLL: indirect role for retrovirus in leukemogenesis. *Science* 1987; 236: 1103-6.
- Manns A, *et al.* The epidemiology of HTLV-I and -II: etiologic role in human disease. *Transfusion* 1991; 31(1): 67-75.
- D'Aquila RT: Newly recognized human viruses. *Mediguide to Inf. Diseases* 1993; 12(4): 2-6.

8. Manns A, *et al.* Role of HTLV-I in development of NHL in Jamaica and Trinidad and Tobago. *The Lancet* 1993; 342: 1447-50.
9. Morgan OS, *et al.* HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet*, 1989; 2:1184-87.
10. Sato K, *et al.* Arthritis in patients infected with HTLV-I. *Arthritis and Rheumatism* 1991; 34(6): 714-21.
11. Sato K, *et al.* HTLV-I and Arthritis. *Rheumatol. Rev.* 1992; 1: 185-92.
12. Zucker-Franklin, *et al.* KS in a HIV negative patient with asymptomatic HTLV-I infection: *J. Infect. Dis.* 1993; 167: 987-89.
13. Mochizuki M, *et al.* Uveitis associated with HTLV-I: seroepidemiologic, clinical and virologic studies. *J. Inf. Diseases* 1992; 166: 943-46.
14. Zucker-Franklin D, *et al.* Human Lymphotropic Retroviruses Associated With Mycosis Fungoides: Evidence That Human T-Cell Lymphotropic Virus Type II (HTLV-II) as Well as HTLV-I May Play a Role in the Disease. *Blood* 1992; 80(6): 1537-45.
15. Bazarbachi A, *et al.* HTLV-I provirus and mycosis fungoides. *Science* 1993; 259: 1470-71.
16. Clark J, *et al.* Seroepidemiologic Studies of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus Type I in Jamaica. *Int J Cancer* 1985; 36: 37-41.
17. Manzari V, *et al.* HTLV-I is Endemic in Southern Italy: Detection of the First Infectious Cluster in a White Population. *Int J Cancer* 1985; 36: 557-559.
18. Blayney DW, *et al.* The Human T-Cell Leukemia-Lymphoma Virus in the Southeastern United States. *JAMA* 1983; 250(8): 1048-1052.
19. Botha MC, *et al.* Distribution and Possible Spread of Human T-Cell Leukemia Virus Type I in Human Communities in the Northern and Eastern Transvaal. *South African Med J* 1985; 67: 668-671.
20. Wong-Staal F and Gallo RC: Human T-lymphotropic Retroviruses. *Nature* 1985; 317: 395-403.
21. Yoshida M: Human Leukemia Virus Associated with Adult T-Cell Leukemia. *Gann* 1983; 74: 777-789.
22. Levine P, *et al.* HTLV-II infection in Florida Indians. *Aids Res. and Human Retroviruses* 1993; 9(2): 123-27.
23. Hjelle B, *et al.* Endemic HTLV-II infection in southwestern US Indians involves two prototype variants of virus. *J. Infect. Diseases* 1993; 168: 737-40.
24. Lal RB, *et al.* Sequence variation within the immunodominant epitope-coding region from external glycoprotein of HTLV-II in isolates from Seminole Indians. *J. Infect. Diseases* 1994; 169: 407-11.
25. Maloney EM, *et al.* Endemic HTLV-II infection among isolated Brazilian Amerindians. *J. Infect. Diseases* 1992; 166: 100-107.
26. Lee H, *et al.* High rate of HTLV-II infection in seropositive drug abusers in New Orleans. *Science*, 1989; 244: 471-5.
27. DeRossi A, *et al.* Serological and molecular evidence of infection by HTLV-II in Italian drug addicts by use of synthetic peptides and PCR. *Eur. J. Cancer* 1991; 27: 835-8.
28. Zella D, *et al.* Molecular characterization of two isolates from HTLV-II from Italian drug abusers and comparison of genome structure with other isolates. *J. Gen. Virol.* 1993; 74: 437-44.
29. Loughran TP, *et al.* Detection of HTLV-II in a patient with LGL. *Blood* 1992; 80(5): 1116-19.
30. Sohn CC, *et al.* Leukopenic chronic T-cell leukemia: association with human retroviruses. *Blood* 1986; 67(4): 949-56.

31. Cervantes J, *et al.* T-Prolymphocytic Leukemia associated with HTLV-II. *Clin. Res.* 1986; (2): 454.
32. Hjelle B, *et al.* Chronic neurodegenerative disease associated with HTLV-II infection. *The Lancet* 1992; 339: 645-46.
33. Jacobson S, *et al.* Isolation of HTLV-II from a patient with chronic, progressive neurological disease clinically indistinguishable from HAM/TSP. *Ann. Neurol.* 1993; 33(4): 392.
34. Murphy EL, *et al.* HTLV-II associated myelopathy in 43-year-old woman. *The Lancet* 1993; 341: 757-58.
35. Harrington WJ, *et al.* Spastic Ataxia associated with HTLV-II infection. *Annals of Neurology* 1993; 33(4): 411-15.
36. Kaplan JE, *et al.* United States: Epidemiologic and Molecular Evidence Linking Donor and Recipient. *Neurology* 1991; 41 (2): 192-197.
37. National Committee for Clinical Laboratory Standards. *Clinical Laboratory Waste Management: Approved Guidelines.* NCCLS Document GPS-A. Villanova, PA: NCCLS, 1993.
38. U.S. Environmental Protection Agency. *EPA guide for infectious waste management.* Publication No. EPA / 530-5w-86-014, Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, 1986.
39. The U.S. Pharmacopoeia 23 / National Formulary 18: 1995; Purified Water: 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



Producto número 500192

Kit para 576 pruebas



Producto número 500576

Kit para 9600 pruebas



Producto número 509600

Solución amortiguadora de lavado, frasco de 100 ml



Producto número 559879

Solución amortiguadora de lavado, 4 frascos de 100 ml



Producto número 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



EMERGO EUROPE
Westervoortsedijk 60
6827 AT, Arnhem
The Netherlands

Número de Licencia en EE. UU. 1856

Dic del 2022

CE 2797