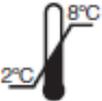




Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II

Legenda dos símbolos utilizados

	Número de catálogo		Consulte as instruções de uso
	Código do lote		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Data de validade		Controle positivo
	Limite de temperatura		Controle negativo
	Não contém látex		Contém o suficiente para <n> testes
	Atenção		Manter ao abrigo da luz solar

Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II



INDICAÇÃO DE USO

O sistema microelisa Avioq HTLV-I/II é um ensaio imunoenzimático (ELISA) qualitativo para detecção de anticorpos contra o vírus linfotrópico de células T humano tipo I (HTLV-I) e/ou vírus linfotrópico de células T humano tipo II (HTLV-II) em soro e plasma humanos e amostras de cadáveres. Destina-se à avaliação de doadores humanos, incluindo doadores voluntários de sangue total e hemocomponentes e outros doadores vivos, para a presença de anti-HTLV-I/HTLV-II e para uso como auxiliar em diagnóstico clínico de infecção por HTLV-I ou HTLV-II e doenças relacionadas. Destina-se para uso em testes de amostras de soro e plasma para avaliar doadores de órgãos quando tais amostras são obtidas enquanto o coração do doador ainda está batendo e em testes de amostras para avaliar doadores cadavéricos (sem coração batendo). Não se destina para uso em amostras de sangue do cordão umbilical. Além de ser usado como ensaio manual, o ensaio também se destina ao uso com o sistema ORTHO® Summit (OSS) para avaliação de doadores de sangue.

RESUMO E EXPLICAÇÃO DO TESTE

O HTLV-I, um retrovírus humano tipo C, encontra-se etiológicamente associado à leucemia de células T do adulto (ATL)¹⁻⁴ e ao distúrbio neurológico desmielinizante chamado paraparesia espástica tropical e/ou mielopatia associada ao HTLV-I (TSP/HAM). Anticorpos contra o HTLV-I são encontrados com alta frequência em pessoas afetadas por esses distúrbios. No entanto, conforme foi bem estabelecido em estudos de áreas endêmicas virais, ATL e TSP/HAM negativos para vírus também são observados. Mais recentemente, a infecção por HTLV-I se mostrou associada com leucemia linfática crônica de células T (CLL)^{5,6}, mieloma múltiplo⁷, alguns casos de linfoma não Hodgkin (NHL)⁸, polimiosite⁹, artrite^{10,11}, sarcoma de Kaposi¹², uveíte¹³, estromboloidíase⁵ e micose fungoide^{14,15}. O HTLV-I é endêmico de alguns países do Caribe, sul do Japão e possivelmente algumas regiões da África¹⁶⁻²¹. Nos Estados Unidos, o HTLV-I foi identificado em pacientes com ATL, usuários de drogas injetáveis e indivíduos saudáveis.

O HTLV-II, um vírus relacionado, é endêmico em várias tribos de ameríndios²²⁻²⁵, mas não se comprovou, de modo inequívoco, ser um patógeno. Foi observada uma alta taxa de soropositividade para HTLV-II entre usuários de drogas injetáveis²⁶⁻²⁸. Os primeiros pacientes relatados com infecções por HTLV-II apresentavam uma variante atípica de células T da leucemia de células pilosas. Observações mais recentes levaram à suposição de que o HTLV-II pode estar associado à leucemia de grandes linfócitos granulares (LGL)²⁹, leucemia leucopênica crônica de células T³⁰, leucemia prolinfocítica T³¹, micose fungoide¹⁴ e doenças neurodegenerativas crônicas^{32,33} como mielopatia³⁴ e ataxia espástica³⁵. Os anticorpos anti-HTLV-II apresentam reação cruzada significativa com antígenos HTLV-I.

A transmissão de infecções por HTLV-I e HTLV-II para receptores de produtos sanguíneos infectados é bem documentada. Outros modos conhecidos de transmissão incluem leite materno, contato sexual e compartilhamento de agulhas e seringas contaminadas por usuários de drogas injetáveis. Suspeita-se da transmissão perinatal, mas ainda não há comprovação.

PRINCÍPIO DO TESTE

O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II é um ensaio imunoenzimático no qual a fase sólida (poços da placa de microtitulação) é revestida com um lisado viral de HTLV-I purificado, um lisado viral de HTLV-II purificado e um antígeno recombinante HTLV-I p21E.

Com a adição de uma amostra de teste diluída contendo anticorpos anti-HTLV-I ou HTLV-II, formam-se complexos pela interação dos anticorpos na amostra com os antígenos da fase sólida. Após a incubação, a amostra é aspirada e o poço é lavado com tampão. Posteriormente, imunoglobulinas de cabra anti-humanas conjugadas com peroxidase de rábano silvestre (HRP) são adicionadas e se ligam ao complexo anticorpo-antígeno durante uma segunda incubação. Após uma lavagem e incubação com substrato de TMB (tetrametilbenzidina), produz-se uma cor azul. A reação enzimática é interrompida pela adição da solução de ácido sulfúrico, que altera a cor para amarelo. A quantidade de anticorpos específicos para HTLV-I ou HTLV-II presente na amostra é proporcional à intensidade da cor.



REAGENTES

Componentes de cada kit do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II

192 testes	576 testes	9600 testes	
2 suportes de fita	6 suportes de fita	100 suportes de fita	Fitas para microelisa HTLV-I/II – Doze por suporte, cada uma contendo 8 poços revestidos com lisado viral de HTLV-I inativo, um antígeno HTLV-I recombinante (rp21E) e lisado viral de HTLV-II inativo embaladas em uma bolsa de alumínio com dessecante de sílica gel.
1 frasco-ampola (50 mg)	2 frascos-ampolafrascos-ampola (50 mg cada)	4 frascos-ampolafrascos-ampola (50 mg cada)	EnzAbody® para HTLV-I/II (concentrado EnzAbody) – peroxidase de rábano silvestre conjugada com imunoglobulina de cabra anti-humana, ~0,06% p/p ou 30 µg liofilizada com soro de cabra, sacarose e leite em pó desnatado.
1 frasco (55 ml)	2 frascos (55 ml cada)	28 frascos (55 ml cada)	Diluyente EnzAbody® – solução salina tamponada com fosfato contendo soro de cabra 10% e surfactantes não iônicos. Conservantes: sulfato de gentamicina 0,2% e cinamaldeído 0,02%.
1 frasco (100 ml)	2 frascos (100 ml cada)	16 frascos (100 ml cada)	Diluyente simples – solução salina tamponada com fosfato contendo soro de cabra 10%, surfactantes não iônicos, cloreto de sódio, albumina de soro bovino 0,14%, leite em pó desnatado e corante amarantho. Conservante: bromonitrodioxano 0,03% (p/v).
1 frasco (22 ml)	2 frascos (22 ml cada)	34 frascos (22 ml cada)	Solução de TMB – ácido cítrico contendo tetrametilbenzidina•2HCl 0,03%.
1 frasco (22 ml)	2 frascos (22 ml cada)	34 frascos (22 ml cada)	Solução de peróxido – tampão de ácido cítrico/citrato de sódio contendo peróxido de ureia 0,04%.
1 frasco-ampola (1,5 ml)	2 frascos-ampolafrascos-	17 frascos-ampolafrascos-	Soro de controle negativo – soro humano com estabilizadores de proteína; não reativo por testes

192 testes	576 testes	9600 testes	
	ampola (1,5 ml cada)	ampola (1,5 ml cada) CONTROL -	licenciados pela FDA para HTLV-I, HTLV-II, HIV-1, HIV-2, HCV e não reativo para HBsAg e HIV-Ag. Conservante: bromonitrodioxano 0,05% (p/v).
1 frasco-ampola (1,0 ml)	1 frasco-ampola (1,0 ml)	12 frascos-ampola (1,0 ml cada) CONTROL +	Soro de controle positivo HTLV-I – soro humano inativo com estabilizadores de proteína e corante vermelho amaranço; reativo para anticorpos para HTLV-I; não reativo por testes licenciados pela FDA para HIV-1, HIV-2, HCV e não reativo para HBsAg e HIV-Ag. Pode ocorrer reação cruzada com antígeno HTLV-II. Conservante: bromonitrodioxano 0,05% (p/v).
1 frasco-ampola (1,0 ml)	1 frasco-ampola (1,0 ml)	12 frascos-ampola (1,0 ml cada) CONTROL +	Soro de controle positivo HTLV-II – soro humano inativo com estabilizadores de proteína e corante azul patente; reativo para anticorpos para HTLV-II; não reativo por testes licenciados pela FDA para HIV-1, HIV-2, HCV e não reativo para HBsAg e HIV-Ag. Pode ocorrer reação cruzada com antígeno HTLV-I. Conservante: bromonitrodioxano 0,05% (p/v).
1 de cada	1 de cada	5 de cada	Presilha e haste (ou equivalente) – fechamento para a embalagem de alumínio.
10 folhas	20 folhas	30 folhas	Vedações de placa – adesivo.

Observação: O tampão para lavagem concentrado é fornecido como acessório ao kit.

Tampão para lavagem concentrado, número de produto 559879, composto por 1 frasco (100 ml)

Tampão para lavagem concentrado, número de produto 559880, composto por 4 frascos (4 x 100 ml)

Observação: A solução de parada é ácido sulfúrico 2 N, não fornecida pela Avioq. Não use nenhuma outra solução de parada para este ensaio.



ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. **Atenção: Manuseie todos os materiais biológicos HTLV-I/II da Avioq como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.** Os antígenos usados para revestir os poços para microelisa foram inativados para vírus por ruptura por detergente; os **soros de controle positivo HTLV-I e HTLV-II** foram inativados por adição de detergente. Os controles positivo e negativo derivam de soro ou plasma humano e foram testados para antígeno HIV-1, HBsAg, anti-HIV-1, anti-HIV-2 e anti-HCV e testes licenciados pela FDA mostraram que são não reativos. Como nenhum método de teste pode oferecer garantia completa de ausência de agentes infecciosos, todos os materiais de origem humana devem ser manuseados como se fossem capazes de transmitir agentes infecciosos.
2. Todos os operadores de teste devem cumprir os regulamentos da OSHA (Administração de Segurança e Saúde Ocupacional dos Estados Unidos) (29 CFR 1910.1030).
3. Mantenha a área de teste separada da área onde são armazenados sangue ou hemoderivados para transfusão.
4. Não pipete nenhum dos materiais com a boca. Não fume, coma ou beba em áreas onde são manuseados amostras ou reagentes do kit.
5. Não realize o teste na presença de vapores reativos (hipoclorito de sódio, ácidos, álcalis ou aldeídos, por exemplo) ou pó, porque a atividade enzimática do conjugado pode ser afetada.
6. Use luvas descartáveis e manuseie todos os materiais usados no teste (incluindo amostras, controles, solução de lavagem, fitas e suportes para fita microelisa e pipetas) como capazes de transmitir agentes infecciosos. Consulte um médico imediatamente em caso de ingestão desses materiais ou de contato destes com lacerações ou lesões abertas ou outros ferimentos na pele, membranas mucosas ou olhos.
7. Limpe imediatamente qualquer derramamento de material contendo antígenos ou anticorpos usando uma diluição 1:10 de hipoclorito de sódio 5% (concentração final 0,5%) ou desinfetante equivalente para descontaminação. Descarte o material de limpeza usando um método aceitável.
8. Descarte todos os materiais que entraram em contato com espécimes e reagentes de acordo com as regulamentações locais, estaduais e federais³⁷. Resíduos sólidos podem ser incinerados ou autoclavados por um período apropriado. Devido às variações entre autoclaves e configurações de descarte, cada usuário deve confirmar a eficiência desse ciclo de descontaminação usando indicadores biológicos.³⁸

Observação: Resíduos líquidos contendo ácido devem ser neutralizados antes da adição de desinfetantes e/ou descarte.
9. Alguns componentes deste kit contêm pequenas concentrações de produtos químicos perigosos (tampão para lavagem concentrado, solução de peróxido, solução de TMB). Consulte a Ficha de Informação de Segurança de Produtos Químicos (FISPQ) para obter mais informações específicas. Entre em contato com a Avioq Inc. para obter uma FISPQ.
10. **Ácido sulfúrico 2 N** – o ácido sulfúrico é corrosivo e deve ser manuseado com cuidado para evitar a exposição de pele e olhos. Se esse reagente entrar em contato com pele ou olhos, lave com água em abundância.
11. Tenha atenção ao montar microplacas para corridas de placa parciais (fitas não revestidas e com revestimento misto). Alguns analisadores podem não ser capazes de diferenciar entre poços revestidos e não revestidos, e podem produzir resultados para qualquer posição de poço com um controle ou número de identificação atribuído.

PREPARAÇÃO DE REAGENTES

Prepare os reagentes a seguir antes ou durante o procedimento do ensaio. Reagentes e amostras devem estar em temperatura ambiente (15-30 °C) antes da diluição/preparação e antes do início do teste, e podem permanecer em temperatura ambiente durante os testes. Deve-se preparar reagentes em quantidade suficiente para realizar o número desejado de testes. Recoloque os reagentes em temperatura de 2-8 °C após o uso.

Preparação de EnzAbody concentrado

1. Pipete 4,0 ml de **diluyente EnzAbody** em 1 frasco-ampola de **EnzAbody concentrado** liofilizado. Misture bem o conteúdo. Evite a formação excessiva de espuma. Após a reconstituição, aguarde 30 minutos para a reidratação do **EnzAbody concentrado**. Não manuseie o frasco-ampola de **EnzAbody concentrado** com luvas que entraram em contato com soro ou plasma.
2. Registre a data de preparação e a data de validade no frasco-ampola. O EnzAbody concentrado reconstituído é estável por 5 semanas quando armazenado a 2-8 °C.

Preparação da solução de trabalho EnzAbody

1. Devem ser usados recipientes de polipropileno limpos, preferivelmente descartáveis. **Não use recipientes de poliestireno.** Quando usar processador de microplacas automático, consulte as recomendações do fabricante com relação ao uso de recipientes. Transfira uma quantidade apropriada de **diluyente EnzAbody** para o recipiente e adicione uma quantidade apropriada de **concentrado EnzAbody** para formar uma **solução de trabalho de EnzAbody** 1:251 (vide tabela abaixo). O **concentrado EnzAbody** reconstituído deve ser bem misturado antes de usar. Devolva o **concentrado EnzAbody** reconstituído não utilizado à temperatura de 2-8 °C. Não combine frascos-ampola de **concentrado EnzAbody reconstituído**. Pode ser necessário mais **solução de trabalho de EnzAbody**, dependendo do dispensador de reagente usado.

Preparação da solução de trabalho EnzAbody

Número de fitas microelisa	Volume de concentrado EnzAbody reconstituído	Volume 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

Número de placas	Volume de concentrado EnzAbody reconstituído	Volume 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. Depois de preparada, a **solução de trabalho de EnzAbody** é estável por quatro horas à temperatura ambiente. Registre a data de preparo e a validade da **solução de trabalho EnzAbody**. Descarte o restante da **solução de trabalho EnzAbody** não utilizada após a conclusão do ensaio.

Preparação de tampão para lavagem

Importante! O **tampão para lavagem concentrado** é formulado especificamente para o ensaio Avioq HTLV-I/II. Não use nenhum outro tampão para lavagem para este ensaio.

1. Verifique a presença de cristais ou precipitado no **tampão para lavagem concentrado**. Se houver formação de cristais ou precipitado na solução, aqueça-a a 37 °C até a dissolução dos cristais ou precipitado. Misture o **tampão para lavagem concentrado** antes de diluir.
2. Dilua o **tampão para lavagem concentrado** em água purificada³⁹ à razão de 1:25, conforme a tabela abaixo.

Preparação de tampão para lavagem

Número de fitas microelisa	Volume de tampão para lavagem concentrado	Volume de água purificada	Volume total de tampão para lavagem
1-6	7 ml	168 ml	175 ml
7-12	14 ml	336 ml	350 ml

Número de placas	Volume de tampão para lavagem concentrado	Volume de água purificada	Volume total de tampão para lavagem
1	14 ml	336 ml	350 ml
2	28 ml	672 ml	700 ml
4	56 ml	1344 ml	1400 ml
6	84 ml	2016 ml	2100 ml
10	140 ml	3360 ml	3500 ml

O volume total de **tampão para lavagem** não inclui nenhum volume adicional necessário para um lavador automático (preparação, volume morto, etc.) Consulte as instruções do fabricante para o lavador de placas microelisa.

3. O **tampão para lavagem** é estável por duas semanas quando armazenado a 2-30 °C. Registre a data de preparo e a data de validade.



Preparação de substrato de TMB

Prepare o **substrato de TMB** em um recipiente de polipropileno limpo, preferivelmente descartável. **Não use recipientes de poliestireno.** Transfira uma quantidade suficiente de **solução de peróxido** para um recipiente, adicione uma quantidade apropriada de **solução de TMB** à **solução de peróxido** e misture bem antes de usar (vide tabela abaixo).

Cada placa de microtitulação requer no mínimo 10 ml de **substrato de TMB**. Pode ser necessário mais **substrato de TMB**, dependendo do dispensador de reagente usado. Consulte os requisitos adicionais com relação aos reagentes nas instruções do fabricante do instrumento.

Preparação de substrato de TMB

Número de fitas microelisa	Volume de solução de TMB	Volume de solução 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

Número de placas	Volume de solução de TMB	Volume de solução 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

O **substrato de TMB** é estável por 6 horas quando mantido em temperatura ambiente e deve ser incolor quando usado. Registre a data de preparo e a validade. Se a cor for visivelmente azul, descarte e prepare mais **substrato de TMB** conforme necessário.

Observação: A **solução de TMB** e o **substrato de TMB** devem ser protegidos da exposição à luz. Evite o contato com metais ou íons metálicos, pois pode resultar na formação de cor azul indesejada.

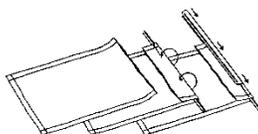
INSTRUÇÕES PARA ARMAZENAMENTO DO KIT

Armazene todos os componentes a 2-8 °C quando não estiverem em uso. A data de validade impressa no kit indica a data limite para uso do produto. A estabilidade dos reagentes do kit após a reconstituição ou diluição está indicada em "PREPARAÇÃO DE REAGENTES". Não armazene congelado.

FITAS MICROELISA PARA HTLV-I/II

A embalagem de alumínio deve estar em temperatura ambiente (15-30 °C) antes de abrir, para evitar a condensação nas **fitas microelisa**. Após a abertura da embalagem hermética de alumínio, as **fitas** são estáveis por 4 semanas a 2-8 °C, se a embalagem de alumínio for fechada com a presilha e a haste fornecidas ou equivalentes. Registre a data de abertura e a data de validade na embalagem de alumínio. **A almofada de sílica gel não deve ser removida.**

Figura 1: Fechamento da embalagem de alumínio.



1 2 3
Dobre a extremidade aberta da embalagem de alumínio sobre a haste.
Prensa com a presilha.

INDICAÇÕES QUÍMICAS OU FÍSICAS DE INSTABILIDADE

Alterações na aparência física dos materiais do kit de teste podem indicar instabilidade ou deterioração. As datas de validade impressas nos rótulos dos reagentes do kit indicam a data limite para uso do produto.

Se a cor do **substrato de TMB** for visivelmente azul, descarte e prepare mais **substrato de TMB** conforme necessário.

COLETA, ARMAZENAMENTO E PREPARAÇÃO DE AMOSTRAS

Amostras de doadores vivos

Coleta: Não é necessária preparação especial ou jejum do paciente. Podem ser usados soro ou plasma derivados de tubos contendo heparina, citrato, CPD, CPDA-1 ou EDTA (etilenodiaminotetra-acetato) como anticoagulantes. Consulte as instruções fornecidas pelo fabricante dos tubos de coleta de amostras para informações sobre a proporção correta entre volume de amostra e anticoagulante a ser usada. Remova o soro ou plasma do coágulo ou eritrócitos assim que possível, para evitar hemólise. Podem ser usadas amostras de tubos separadores de plasma ou tubos segmentados de bolsas de sangue. O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II não é afetado por níveis elevados de lipídios (3.000 mg/dl), bilirrubina total (20 mg/dl), fator reumatoide ou hemoglobina (3.051 mg/dl). As amostras podem ser inativadas por calor por 30 minutos a 56 °C, sem perda da reatividade. Não foi estabelecido o desempenho para outros tipos de amostra, incluindo fluido pleural, saliva, fluido oral, eluatos de sangue seco em papel filtro e espécimes não humanos.

Armazenamento: As amostras devem estar livres de contaminação microbiana e podem ser armazenadas a 2-8 °C por até 14 dias. Para armazenamento de longo prazo, as amostras devem ser congeladas a -20 °C e misturadas após o descongelamento. As amostras podem ser congeladas e descongeladas uma vez sem perda de reatividade. No entanto, amostras repetidamente congeladas e descongeladas ou aquelas que contenham material particulado podem apresentar resultados errôneos.

Transporte: As amostras devem ser embaladas para remessa de acordo com os regulamentos aplicáveis referentes ao transporte de agentes etiológicos. As amostras podem ser transportadas em temperatura ambiente, refrigeradas (2-8 °C) ou congeladas (-20 °C ou mais frio). Após o recebimento, as amostras devem ser armazenadas à temperatura de armazenamento descrita acima.

Amostras de doadores cadavéricos

Coleta: as amostras cadavéricas podem ser coletadas do soro, de tubos separadores de soro, ou de plasma EDTA. As amostras limpas, não hemolisadas são preferidas. Os precipitados em amostras devem ser removidos por centrifugação.

Armazenamento: As amostras cadavéricas podem ser armazenadas por até 14 dias entre 2 °C e 8 °C, e a -20°C passando por 4 ciclos de congelamento/descongelamento. Misture completamente depois do descongelamento e antes dos testes.

Transporte: As amostras a serem transportadas devem ser embaladas de acordo com as regulamentações aplicáveis que regem o transporte de agentes etiológicos. As amostras podem ser enviadas a temperaturas entre -20°C e 30°C. Depois do recebimento, as amostras devem ser armazenadas às temperaturas recomendadas, não ultrapassando um total de 14 dias, incluindo o tempo de transporte.

PROCEDIMENTO DO SISTEMA DE TESTE MICROELISA AVIOQ HTLV-I/II

Materiais fornecidos

Fitas microelisa para HTLV-I/II
EnzAbody® para HTLV-I/II
Diluyente EnzAbody®
Diluyente da amostra
Solução de TMB
Solução de peróxido
Soro de controle negativo
Soro de controle positivo para HTLV-I
Soro de controle positivo para HTLV-II
Presilha e haste
Vedações de placa

Materiais adicionais necessários, mas não fornecidos

Instrumentos/equipamentos

Observação: para qualquer instrumento, o manual fornecido pelo fabricante deve ser analisado para informações adicionais com relação a:

- a) Instalação e requisitos especiais;
- b) Princípios de operação, instruções, precauções e perigos;
- c) Especificações do fabricante e recursos de desempenho;
- d) Informações sobre reparos e manutenção;
- e) Controle de qualidade.

Sistema diluidor/dispensador automático ou equivalente

Sistema de aspiração/lavagem

O sistema de aspiração/lavagem deve ser capaz de distribuir um volume mínimo de 300 µl, e capaz de realizar um ciclo de impregnação de 30 ± 5 segundos. O resíduo aspirado deve ser contido em um sistema fechado.

Sistema de pipeta de volume variável ajustável multicanais capaz de pipetar 50 - 300 µl ± 5%, e pontas

Micropipetas capazes de pipetar 20 µl ± 5%, 100 µl ± 5%, e pontas

Incubadora – incubadora seca, termobloco ou equivalente, capaz de manter 37 ± 2 °C.

Leitora de placas microelisa

Qualquer leitora de microelisa capaz de transmitir luz a 450 nm ± 5 nm ou comprimento de onda duplo.

Pode-se usar 450 nm ± 5 nm e 620/630 nm ± 5 nm como referência, com intervalo de absorbância linear de 0 a 2,000, um desvio inferior a 0,005% AU/h e uma largura de banda à meia altura de 10 ± 2 nm.

Temporizador

Cilindro graduado, 50 ml e 1-2,5 l ou equivalente

Reagentes/descartáveis

Tampão para lavagem concentrado (número de produto 559879)

Ácido sulfúrico 2 N

Água purificada³⁹, USP, NCCLS Tipo I⁴¹ ou equivalente

Suporte para fita com poços não revestidos

Papel absorvente

Canaletas em V descartáveis ou equivalente

Luvas descartáveis

Solução de hipoclorito de sódio (5%), alvejante líquido ou desinfetante equivalente

Recipientes adequados para descarte de material com risco biológico potencialmente contaminado por agentes infecciosos

Tubos tampados descartáveis de polipropileno (15 ou 50 ml) ou equivalente

Materiais disponíveis junto à Avioq Inc.

Tampão para lavagem concentrado, frasco de 100 ml (número de produto 559879)

Tampão para lavagem concentrado, 4 x frasco de 100 ml (número de produto 559880)

Notas de procedimento

1. O cumprimento inadequado das instruções da embalagem pode levar a resultados errôneos ou ensaios inválidos.
2. **Fitas microelisa, EnzAbody para HTLV-I/II, diluente EnzAbody, diluente de amostra, solução de TMB, solução de peróxido e controles** usados em um ensaio devem ser do mesmo lote mestre. O tampão para lavagem não é específico para um lote mestre e pode ser usado com qualquer número de lote mestre. Os materiais devem ser usados antes da data de validade impressa na embalagem. Os componentes e amostras para teste devem estar à temperatura ambiente (15-30 °C) e devem ser misturados (conforme aplicável) antes do início do teste. Recoloque os reagentes em temperatura de 2-8 °C após o uso. Não armazene congelado.
3. As **fitas** da placa microelisa são removíveis. Armazene as **fitas** não utilizadas conforme descrito em "INSTRUÇÕES PARA ARMAZENAMENTO DO KIT". Antes do início do teste, inspecione o suporte para fita microelisa e confirme se todas as fitas estão presas. Os suportes para fita devem ser manuseados com cuidado, para que nenhuma fita seja deslocada durante o teste. As **fitas microelisa** podem ser numeradas para assegurar a reinserção caso as fitas sejam deslocadas.
4. As **fitas microelisa** e as **vedações de placa** podem ser usadas apenas uma vez.
5. Para evitar contaminação, não toque na parte superior das **fitas** nem na borda dos poços com os dedos ou a ponta da pipeta.
6. Todos os reagentes e espécimes devem ser bem misturados antes do uso. Os **controles positivo e negativo** podem ser submetidos a vórtex antes da pipetagem. Os **controles positivo e negativo** devem ser distribuídos e diluídos da mesma maneira que as amostras. Deve haver um **controle positivo** e três **controles negativos** em cada corrida de placa (suporte para fita). Se mais de um suporte para fita for processado, é preciso cumprir todos os tempos de incubação especificados.
7. Todas as etapas de pipetagem devem ser realizadas com o maior cuidado e precisão. A contaminação cruzada entre reagentes invalida os resultados dos testes. Use micropipetas para transferência quantitativa de amostras e reagentes. Para pipetagem manual de controles e espécimes, use pontas individuais descartáveis para evitar o transporte cruzado de amostras. Evite contaminação microbiana ou qualquer outro tipo de contaminação dos reagentes.
8. Se uma amostra acidentalmente não for adicionada a este ensaio - por exemplo, se um poço for esquecido - o resultado do ensaio para essa amostra pode ser interpretado erroneamente como não reativo.
9. Evite abrir a porta da incubadora (37 °C) durante o tempo de incubação.
10. Evite a contaminação química de reagentes e equipamentos. A manutenção de rotina do sistema de aspiração/lavagem é altamente recomendada para evitar o transporte de anticorpos de espécimes altamente reativos para espécimes não reativos.
11. As lavadoras de microplaca devem ser enxaguadas com água em abundância após a conclusão da lavagem final do ensaio. Consulte as recomendações do fabricante para a manutenção do sistema de manuseio de líquidos para processadores de microplacas automáticos.

12. A lavagem manual de placas deve ser validada antes do uso. Recomenda-se o uso de uma lavadora de placas automática (consulte os requisitos para a lavadora automática em **Materiais necessários, mas não fornecidos**). Uma lavagem incompleta terá efeito negativo sobre o resultado do teste.
13. O ensaio deve ser realizado até o final sem interrupção e dentro dos limites de tempo definidos na embalagem.
14. Não devolva restos de reagente aos frascos originais.
15. Não toque a superfície inferior externa dos micropoços. Impressões digitais ou riscos podem interferir com a leitura dos micropoços.
16. Verifique se as **fitas microelisa** estão niveladas com o suporte para fita microelisa durante o procedimento do teste. Se necessário, limpe cuidadosamente a parte inferior das **fitas microelisa** com um tecido macio e absorvente que não solte fiapos, para remover toda a umidade, pó ou resíduos antes da leitura. Se necessário, tampão seco também pode ser removido. Para isso, antes da leitura limpe a parte inferior das **fitas microelisa** com um pano macio embebido em água, depois com um tecido seco, macio e que não solte fiapos.
17. Valores de controle negativo ou positivo que não estiverem dentro do intervalo esperado (consulte a seção Controle de qualidade) podem indicar um problema na técnica ou deterioração do produto.
18. Todos os equipamentos de pipetagem devem ser usados com cuidado, calibrados regularmente e mantidos conforme as instruções do fabricante do equipamento.
19. A leitora de placas de microelisa pode conter um filtro de referência de 620 nm ou 630 nm. Se for usado um instrumento sem filtro de referência, áreas opacas, riscadas ou irregulares na parte inferior dos poços podem causar leituras imprecisas.
20. Bolhas nos poços da **fita microelisa** podem causar leituras imprecisas dos poços. Deve-se ter cuidado para assegurar a ausência de bolhas.
21. Use somente com equipamentos corretamente calibrados.

Procedimento de lavagem

1. Uma lavagem incompleta terá efeito negativo sobre o resultado do teste. O **tampão para lavagem** deve estar à temperatura ambiente (15-30 °C) antes do uso.
2. Aspire o conteúdo do poço em um frasco de descarte. Depois, preencha os poços (aproximadamente 0,3 ml) com **tampão para lavagem** e aguarde a impregnação por 30 ± 5 segundos, a menos que validado de outra forma. Aspire e repita o procedimento de lavagem e impregnação mais três vezes, totalizando quatro lavagens.
3. Confirme se as **fitas microelisa** foram completamente aspiradas antes da aspiração final. Inverta o suporte para fita e bata com firmeza em um papel toalha limpo para absorver o excesso de **tampão para lavagem**, se necessário.

Procedimento de teste

1. Coloque o número necessário de **fitas microelisa** no suporte para fita. Se forem necessárias menos de doze **fitas**, use fitas não revestidas para completar a placa ao usar lavadora de 96 poços.
2. Prepare uma diluição 1:5 de cada amostra de teste e **controle** usando um dos procedimentos indicados abaixo. Inclua três poços do **controle negativo**, um poço do **controle positivo HTLV-I** e um poço do **controle positivo HTLV-II** em cada placa, não importa o número de fitas usadas. Misture bem os **controles** (em vórtex, por exemplo) antes de pipetar ou tomar alíquota para uso automatizado.

Atenção: Os poços de **fita microelisa** não podem secar depois do início do ensaio.

Adição direta de amostra

Método manual: Usando uma pipeta calibrada, adicione 80 µl de **diluyente de amostra** em cada poço de teste microelisa. Adicione 20 µl de amostra ou **controle** com uma ponta de micropipeta descartável. Misture a amostra com **diluyente de amostra**. Para isso, aspire e distribua a amostra repetidamente (pelo menos 3 ou 4 vezes) com cada adição.

Método automático: O diluidor/dispensador calibrado deve ser programado para distribuir uma diluição 1:5, normalmente 20 µl de amostra ou **controle** com 80 µl de **diluyente de amostra** em cada poço de **fita microelisa**. A retenção da ponta da pipeta deve ser calculada, verificada e incluída na programação.

Observação: A amostra pode ser adicionada ao **diluyente de amostra** conforme descrito no método manual.

Adição indireta de amostra

Método manual: Pipete 120 µl de **diluyente de amostra** em um tubo de ensaio limpo, seguidos por 30 µl de amostra ou **controle**. Misture bem o conteúdo. Amostras diluídas em tubos tampados podem ser armazenadas por até 24 horas a 2-8 °C, mas devem estar à temperatura ambiente (15-30 °C) no momento do teste. Pipete 100 µl da amostra diluída em cada poço da **fita microelisa**.

3. Cubra as **fitas** com vedantes adesivos para placa ou equivalente. Se usar **vedantes de placa**, confirme se todos os poços estão cobertos. Dentro de 30 minutos, incube a 37 ± 2 °C por 60 ± 5 minutos.
4. Depois da incubação, descarte o vedante de placa após o uso, se aplicável. Não reutilize. Lave e impregne cada poço quatro vezes com **tampão para lavagem** (consulte "Procedimento de lavagem").
5. Pipete 100 µl de **solução de trabalho de EnzAbody** em cada poço (consulte as instruções em "PREPARAÇÃO DE REAGENTES").

Atenção: Não permita que o **EnzAbody concentrado reconstituído** ou a **solução de trabalho de EnzAbody** contamine o **substrato de TMB**. Se o mesmo equipamento for usado para adicionar ambos os reagentes, use pontas novas descartáveis.

6. Cubra as **fitas** com um novo **vedante de placa** ou equivalente. Se usar **vedantes de placa**, confirme se todos os poços estão cobertos. Incube a 37 ± 2 °C por 60 ± 5 minutos.

Quando usado com o Sistema ORTHO® Summit (OSS), incube a 37 ± 2 °C por 30 ± 5 minutos.

7. Depois da incubação, descarte o **vedante de placa** após o uso, se aplicável. Não reutilize. Lave e impregne cada poço quatro vezes com **tampão para lavagem**. Consulte "Procedimento de lavagem".
8. Pipete 100 µl de **substrato de TMB** em cada poço. Não cubra com vedante adesivo de placa (consulte as instruções em "PREPARAÇÃO DE REAGENTES").
9. Incube em temperatura ambiente (15-30 °C) por 30 ± 5 minutos.
10. Para interromper a reação, adicione 100 µl de **ácido sulfúrico 2 N** a cada poço (mantenha a mesma sequência e intervalos de tempo usados para a adição de **substrato de TMB**). **As placas devem ser lidas em até duas horas.**
11. Faça o branco da leitora de microelisa com ar (sem suporte para fita e sem **fitas**) e leia a absorbância da solução em cada poço a $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ (comprimento de onda único) ou $450 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ e $620/630 \text{ nm} \pm 5 \text{ nm}$ como referência (comprimento de onda duplo).

Controle de qualidade

Qualificação dos valores de controle negativo (CN): A absorvância do CN deve ser maior ou igual a 0,000 e menor ou igual a 0,120. Elimine todos os valores de CN fora desse intervalo. Se dois ou mais valores forem inferiores a 0,000 ou superiores a 0,120, a corrida é inválida e deve ser repetida. Calcule o CN médio (CNX) dos outros valores do controle.

Qualificação dos valores de controle positivo HTLV-I (CP-I) e HTLV-II (CP-II): A absorvância de CP-I e CP-II deve ser maior ou igual a 0,500. Se o valor de PC-I e/ou PC-II estiver abaixo da especificação, a corrida é inválida e deve ser repetida.

Validade do teste: Uma corrida de teste é válida se os valores do controle positivo e negativo forem qualificados e

$$(CP-I) - CNX \geq 0,380 \quad (CP-II) - CNX \geq 0,380$$

Se os resultados não cumprirem estes critérios, a técnica pode ser suspeita; a corrida é inválida e deve ser repetida.

RESULTADOS

Cálculos

Os cálculos devem ser realizados separadamente para cada suporte para fita.

Valor de corte: Se a corrida de teste for válida, calcule o valor de corte como segue:

$$\text{Valor de corte: } CNX + 0,330$$

Uma amostra de teste é não reativa se sua absorvância for maior ou igual a 0,000 e inferior ao valor de corte.

Uma amostra de teste é reativa se sua absorvância for maior ou igual ao valor de corte.

Cálculos para a amostra

Absorvância (comprimento de onda único)

CN	=	0,065, 0,070, 0,075
CNX	=	0,070
CP-I	=	1,110
CP-II	=	1,050

Absorvância (comprimento de onda duplo)

CN	=	0,034, 0,030, 0,035
CNX	=	0,033
CP-I	=	1,073
CP-II	=	1,013

Critérios de aceitação

Elimine todos os valores de absorvância do controle que não cumpram os seguintes critérios:

$0,000 \leq CN \leq 0,120$	Nenhum eliminado
$CP-I \geq 0,500$	Nenhum eliminado
$CP-II \geq 0,500$	Nenhum eliminado

Confirme que os seguintes dados estejam dentro dos critérios de aceitação especificados.

(Comprimento de onda único)

$$(CP-I) - CNX \geq 0,380$$
$$(CP-II) - CNX \geq 0,380$$

$$1,110 - 0,070 = 1,040 \quad \text{Aprovado}$$
$$1,050 - 0,070 = 0,980 \quad \text{Aprovado}$$

(Comprimento de onda duplo)

$$1,073 - 0,033 = 1,040 \quad \text{Aprovado}$$
$$1,013 - 0,033 = 0,980 \quad \text{Aprovado}$$

Validade do teste (comprimento de onda único)

Aprovado

Validade do teste (comprimento de onda duplo)

Aprovado

Cálculo do valor de corte (comprimento de onda único)

$$\text{Valor de corte} = CNX + 0,330$$
$$= 0,070 + 0,330$$
$$= 0,400$$

Cálculo do valor de corte (comprimento de onda duplo)

$$\text{Valor de corte} = CNX + 0,330$$
$$= 0,033 + 0,330$$
$$= 0,363$$

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

1. Amostras com valores de absorvância maiores ou iguais a 0,000 e inferiores ao valor de corte são consideradas não reativas pelos critérios do Avioq HTLV-I/II e podem ser consideradas negativas para anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II. Um resultado negativo no teste não exclui a possibilidade de exposição ou infecção por HTLV-I/II.
2. Resultados de amostras com valores de absorvância inferiores a 0,000 devem ser retestados individualmente para confirmar o resultado inicial. Se a amostra tem valor de absorvância inferior ao valor de corte após o novo teste, pode ser considerada negativa para anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II conforme os critérios do Avioq HTLV-I/II.
3. Amostras com valores de absorvância maiores ou iguais ao valor de corte são consideradas inicialmente reativas pelos critérios de Avioq HTLV-I/II, mas antes da interpretação, a amostra deve ser testada novamente em duplicata usando o ensaio Avioq HTLV-I/II. Se um dos novos testes duplicados for reativo, a amostra é considerada repetidamente reativa para anticorpos anti-HTLV-I e/ou HTLV-II conforme os critérios do sistema microelisa Avioq HTLV-I/II.
4. Amostras inicialmente reativas que não reajam em nenhum dos testes repetidos em duplicata são consideradas negativas para anticorpos anti-HTLV-I/II.
5. Na maioria dos casos, é apropriado investigar repetidamente amostras reativas por meio de testes adicionais mais específicos (**LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO**). Amostras que se mostrem repetidamente reativas por ELISA e positivos por testes adicionais mais específicos são consideradas positivas para anticorpos anti-HTLV-I e/ou HTLV-II. A interpretação dos resultados de amostras repetidamente reativas mediante ELISA e negativas ou indeterminadas mediante testes adicionais mais específicos não é clara. Para maior esclarecimento, pode-se testar outra amostra colhida do mesmo indivíduo três a seis meses depois.

LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

O "PROCEDIMENTO DE TESTE" e a "Interpretação dos resultados" do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II devem ser seguidos à risca ao testar para a presença de anticorpos anti-HTLV-I e/ou HTLV-II no plasma ou soro de indivíduos. Este ensaio foi desenvolvido e validado para uso com soro ou plasma humano de pacientes e amostras de doadores e a partir de amostras de soro ou plasma recolhido de doadores cadavéricos. Não foram estabelecidas características de desempenho para outros tipos de amostra (fluido pleural, saliva, fluido oral, eluatos de sangue seco em papel filtro, amostras não humanas, etc.), sangue agrupado ou plasma processado e produtos obtidos de *pool* de sangue ou plasma.

A não adição da amostra conforme as instruções do "PROCEDIMENTO DE TESTE" pode provocar um resultado falsamente negativo.

O sistema microelisa Avioq HTLV-I/II detecta anticorpos anti-HTLV-I e/ou HTLV-II em sangue e, assim, é útil para triagem de sangue doado para evitar a transmissão de HTLV-I e/ou HTLV-II para recipientes de hemocomponentes celulares, e como auxiliar no diagnóstico clínico de infecção por HTLV-I ou HTLV-II e doenças relacionadas. Sabe-se que a infecção por HTLV-I adquirida pela transfusão de produtos sanguíneos infectados pode resultar em doenças nos receptores³⁶.

Diretrizes⁴⁰ publicadas pelo Serviço de Saúde Pública dos Estados Unidos recomendam que amostras repetidamente reativas sejam investigadas por testes adicionais mais específicos como Western Blot (WB) e ensaio de radioimunoprecipitação (RIPA). Esses testes complementares devem ser usados juntamente com testes específicos para tipo de peptídeo ou testes de sondagem para discriminação de HTLV-I e HTLV-II. A interpretação desses testes deve ser coerente com essas diretrizes publicadas.

Presume-se que uma pessoa com soro ou plasma que reage no teste ELISA e em um teste adicional mais específico esteja infectada com o vírus HTLV-I ou HTLV-II. As implicações médicas da soropositividade para HTLV-II não são conhecidas. Devem ser oferecidos orientação e avaliação médica apropriadas, de acordo com as diretrizes publicadas pelo Serviço de Saúde Pública⁴⁰. Essa avaliação deve ser considerada uma parte importante dos testes de anticorpos para HTLV-I/II e deve incluir uma confirmação do resultado do teste em uma amostra recém-coletada.

ATL e TSP/HAM são síndromes clínicas e seu diagnóstico somente pode ser estabelecido clinicamente. Os testes com o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II não podem ser usados sozinhos para diagnosticar essas afecções, mesmo se a investigação recomendada de amostras reativas confirmar a presença de anticorpos anti-HTLV-I. Um resultado negativo no teste em qualquer momento da investigação sorológica não exclui a possibilidade de exposição ou infecção por HTLV-I ou HTLV-II. Deve-se considerar a repetição do teste usando o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II quando houver suspeita clínica de infecção por HTLV-I ou HTLV-II. Resultados negativos neste ensaio para indivíduos com exposição anterior a HTLV-I e/ou HTLV-II podem ser devidos a níveis de anticorpos abaixo do limite de detecção deste ensaio ou falta de reatividade aos antígenos HTLV usados neste ensaio.

Resultados falso-positivos podem ser esperados com um kit de teste desta natureza. A proporção de falsos reativos depende da prevalência de anticorpos para HTLV-I e/ou HTLV-II na população analisada e na sensibilidade e especificidade do kit de teste do fabricante utilizado.

RESULTADOS ESPERADOS

O percentual de amostras determinadas como repetidamente reativas em uma população normal de doadores difere dependendo da prevalência de anticorpos para HTLV-I ou HTLV-II naquela área geográfica. Áreas com alta prevalência de HTLV-I incluem partes da África, Micronésia, Japão, ilhas do Havaí e do Caribe. Áreas com alta prevalência de HTLV-II incluem populações de usuários de drogas injetáveis (UDI) e várias tribos de ameríndios na América do Norte e do Sul. A experiência com doadores de sangue avaliados nos Estados Unidos é mostrada na seção Especificidade. A experiência dos testes em populações com doença por HTLV-I ou com alto risco para HTLV-I ou HTLV-II é resumida nas seções Sensibilidade e Populações endêmicas.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO ENSAIO

Reprodutibilidade

Réplicas de amostras positivas para anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II com graus variados de reatividade, amostras negativas e controles do kit foram testados em vários locais (n=3), usando diversos lotes de kit (n=3) e diversos técnicos (n=2) em dias variados (n=4). A precisão total, interensaio e intraensaio é relatada na tabela 1 abaixo.

Tabela 1: Reprodutibilidade do ensaio

ID	N	Média	Total		Interensaio		Intraensaio	
			DP	CV	DP	CV	DP	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
CN	216	0,18	0,027	15,0	0,021	11,7	0,018	10,0
CP HTLV-I	72	2,69	0,338	12,6				

ID Identificação do membro do painel
N Número de réplicas
MÉDIA Média da relação sinal-corte (SCR)
DP Desvio padrão de SCR
CV Coeficiente de variação de SCR

Especificidade

A especificidade deste ensaio foi avaliada pelo teste de 11.415 amostras normais de soro e plasma humano coletadas em vários locais. A tabela 2 a seguir mostra um resumo do desmembramento dos dados por local e tipo de amostra. Com base em uma suposta prevalência zero de anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II em doadores humanos normais, a especificidade geral estimada deste ensaio era de 99,95 (limites de confiança de 95%: 99,89% a 99,98%). A tabela também mostra os limites de confiança de 95% para taxa de reatividade repetida e especificidade estimada para cada local e tipo de amostra em cada população.

Tabela 2: Especificidade estimada em doadores aleatórios de sangue total e plasma e populações de fonte de plasma

	Número testado	Não reatividade inicial	Reatividade inicial	Reatividade repetida	Reatividade repetida (%)	Limites de confiança de 95%** para reatividade repetida (%)		Positivo em teste complementar ***	*Especificidade estimada (%)	Limites de confiança de 95%** para especificidade (%)	
						0,004	0,334			99,58	99,99
Soro Local 1	1315	1314	1	1	0,08	0,004	0,334	0	99,92	99,58	99,99
Soro Local 2	3754	3753	1	1	0,03	0,002	0,117	0	99,97	99,85	99,99
Plasma Local 1	1255	1255	0	0	0,00	0,000	0,153	0	100,00	99,71	100,00
Plasma Local 2	3812	3809	3	3	0,08	0,020	0,204	0	99,92	99,77	99,98
Local Fonte de plasma	1279	1276	3	1	0,08	0,004	0,344	0	99,92	99,57	99,99

* = $\frac{(\text{número de avaliados} - \text{número de reativos repetidos}) \times 100}{\text{número de avaliados} - \text{número de positivos confirmados}}$

(número de avaliados – número de positivos confirmados)

** = Os limites de confiança para especificidade foram calculados usando método exato.

*** = Um resultado positivo nesses ensaios foi definido pela presença de anticorpos para dois produtos de genes (gag, p19 e/ou p24 e env, gp46 e/ou 61/68) usando Western Blot e/ou RIPA.

Testes complementares adicionais e diferenciação de tipo para HTLV-I e HTLV-II foram realizados usando ensaios de uso em pesquisa: reatividade a peptídeos recombinantes ou nativos gp46-I ou gp46-II em Western Blot, EIA para peptídeos de HTLV-I e HTLV-II, IFA para HTLV-I e HTLV-II e/ou PCR (usando primers específicos para as regiões *tax* e *pol*).

Reatividade com doenças potencialmente interferentes

Amostras de indivíduos com doenças que possam causar reatividade não específica com o ensaio foram testadas com este ensaio. As amostras testadas são apresentadas na Tabela 3 abaixo. Todas as amostras foram não reativas.

Tabela 3: Reatividade em amostras de indivíduos com doenças não relacionadas à infecção por HTLV-I ou HTLV-II

Categoria do espécime	Número de espécimes testados	Número de espécimes inicialmente reativos
Anticorpos para citomegalovírus	10	0
Anticorpos para vírus Epstein-Barr	10	0
Anticorpos para vírus da herpes simplex	10	0
Anticorpos para HIV-1	10	0
Anticorpos para HIV-2	10	0
Antígeno de superfície do vírus da hepatite B	10	0
Anticorpos para sífilis	10	0
Anticorpos antinucleares	10	0
Múltiplas transfusões	10	0
Mulheres múltiparas	10	0
Fator reumatoide	10	0
Anticorpos para HCV	10	0
Hipergamaglobulinemia IgG	10	0
Hipergamaglobulinemia IgM	10	0
Anticorpos para toxoplasmose	10	0
Receptores de vacina contra gripe	36	0

Reatividade em amostras com substâncias potencialmente interferentes

Amostras lipêmicas (n=10), hemolisadas (n=10) ou que continham bilirrubina elevada (n=10) foram testadas quanto à não reatividade neste ensaio. Todas as amostras foram não reativas. Além disso, como este ensaio incorpora uma proteína recombinante produzida em *E. coli*, uma série de 22 (vinte e duas) amostras previamente determinadas como positivas para a presença de anticorpos para *E. coli* foi testada para avaliar o potencial de reatividade cruzada no sistema de teste. Todas as amostras foram não reativas.

Sensibilidade

A sensibilidade deste ensaio foi estimada pela avaliação das amostras indicadas como soropositivas por testes complementares de uso em pesquisa (Western blot, RIPA, IFA e, em alguns casos, PCR). Essas amostras eram de populações com doenças associadas ao HTLV, populações de usuários de drogas injetáveis (UDI) e doadores de sangue infectados por HTLV. Os resultados se encontram na Tabela 4 abaixo. Este ensaio foi reativo com todas as 636 amostras positivas dos testes complementares de uso em pesquisa. Este ensaio tem uma sensibilidade estimada de 100% (intervalo de 99,97% a 100%) para 636 amostras positivas em testes complementares para uso em pesquisa pela distribuição binomial com 95% de confiança.

Tabela 4: Reatividade em testes complementares para amostras positivas para anticorpos anti-HTLV-I, HTLV-II e HTLV-I/II

Grupo	Resultados do teste complementar ^a	Nº testado	Nº de repetidamente reativos com testes licenciados para HTLV-I	Nº de repetidamente reativos com Avioq HTLV-I/II
Leucemia de células T do adulto	HTLV-I	47	47	47
Paraparesia espástica tropical	HTLV-I	43	43	43
Linfoma nasofaríngeo	HTLV-I	1	1	1
Usuários de drogas injetáveis	HTLV-I	5	5	5
	HTLV-II	95	94 ^c	95
Pacientes hospitalizados ^b	HTLV-I	107	107	107
	HTLV-II	38	38	38
Doadores de sangue	HTLV-I	146	146	146
	HTLV-II	138	138	138
	HTLV-I/II	16	16	16
TOTAL		636	635	636

a Um resultado positivo nesses estudos foi definido pela presença de anticorpos para dois produtos de genes (gag, p19 e/ou p24 e env, gp46 e/ou 61/68) usando Western Blot e/ou RIPA.

Testes complementares adicionais e diferenciação de tipo para HTLV-I e HTLV-II foram realizados usando ensaios de uso em pesquisa: reatividade a peptídeos recombinantes ou nativos gp46-I ou gp46-II em Western Blot, EIA para peptídeos de HTLV-I e HTLV-II, IFA para HTLV-I e HTLV-II e/ou PCR (usando primers específicos para as regiões *tax* e *pol*).

b Assintomáticos e alguns sintomas indicativos de doença por HTLV.

c O teste licenciado para HTLV-I não detectou reatividade em um UDI (valores de sinal/corte de 0,8, 0,9, 0,9) que ficou indeterminado por Western Blot (apenas p21) e foi tipado como HTLV-II por PCR.

Populações em áreas endêmicas para HTLV-I e HTLV-II

O desempenho deste ensaio foi avaliado com amostras de uma população em uma área endêmica para HTLV-I e duas populações em áreas endêmicas para HTLV-II. Para a população da área endêmica para HTLV-I, foram avaliadas 532 amostras de uma população de alta prevalência das ilhas do Pacífico. 20 amostras dessa população foram determinadas como positivas para anticorpos anti-HTLV-I por métodos complementares para uso em pesquisa (Western Blot, IFA ou RIPA). Todas as 20 amostras positivas para anticorpos anti-HTLV-I foram repetidamente reativas neste ensaio e em um ensaio licenciado para HTLV-I. 3 amostras adicionais repetidamente reativas no teste licenciado para HTLV-I foram não reativas neste ensaio. Nenhuma dessas 3 amostras apresentou resultado positivo para anticorpos anti-HTLV-I nos testes complementares utilizados. Os resultados desse estudo estão resumidos na tabela abaixo.

Nos estudos das áreas endêmicas para HTLV-II, 525 amostras foram obtidas de uma população de índios americanos no Novo México (361) e de uma tribo amazônica (os caiapós) no Brasil (164). Das duas populações, 60 amostras foram determinadas como positivas para HTLV-I por testes complementares para uso em pesquisa (Western Blot, IFA, RIPA ou, em alguns casos, PCR). Das amostras, 58 foram repetidamente reativas com este ensaio. As duas amostras relatadas como não reativas por este ensaio eram da população de índios caiapós. Todas as amostras positivas para HTLV-II por teste complementar da população de índios americanos foram repetidamente reativas neste ensaio. Uma amostra da população de índios americanos foi repetidamente reativa neste ensaio, mas não foi positiva para anticorpos anti-HTLV-II no teste complementar (Western Blot). Os resultados desse estudo estão resumidos na Tabela 5 abaixo.

Tabela 5: Reatividade com amostras de populações em áreas endêmicas para HTLV-I e HTLV-II

Área endêmica	Nº testadas	Nº de positivas em testes complementares ^a	Nº de repetidamente reativas	Nº (percentual) de positivas em testes complementares que foram repetidamente reativas em EIA
Ilhas do Pacífico (HTLV-I)	532	20 ^b	20	20 (100%)
Novo México (HTLV-II)	361	7 ^c	8	7 (100%)
Brasil (HTLV-II)	164	53 ^c	51 ^d	51 (96,2%)

a Um resultado positivo nesses estudos foi definido pela presença de anticorpos para dois produtos de genes (gag, p19 e/ou p24 e env, gp46 e/ou 61/68) usando Western Blot e/ou RIPA.

Testes complementares adicionais e diferenciação de tipo para HTLV-I e HTLV-II foram determinados usando ensaios de uso em pesquisa: reatividade a peptídeos recombinantes ou nativos gp46-I ou gp46-II em Western Blot, EIA para peptídeos de HTLV-I e HTLV-II, IFA para HTLV-I e HTLV-II e/ou PCR (usando primers específicos para as regiões tax e pol).

b O número de amostras positivas nos testes complementares se baseou nos resultados dos testes de pesquisa Western Blot, IFA e RIPA para HTLV-I/HTLV-II de qualquer amostra repetidamente reativa ou que fosse inicialmente reativa em uma zona cinzenta negativa de 20% por ELISA.

b O número de amostras positivas nos testes complementares se baseou nos resultados dos testes de pesquisa Western Blot, IFA e RIPA para HTLV-I/HTLV-II de todas as amostras (361 do Novo México e 164 do Brasil).

d As duas amostras se mostraram indeterminadas por Western Blot, positivas para anticorpos para HTLV por RIPA, positivas para anticorpos para HTLV-II por IFA e positivas para DNA de HTLV por PCR.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO ENSAIO FABRICADO EM NOVO LOCAL

O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II é idêntico ao Sistema Microelisa Vironostika® HTLV-I/II anteriormente fabricado pela bioMérieux, Inc., com uma alteração no local de fabricação. Estudos realizados para avaliar o desempenho do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II fabricados no novo local demonstraram que o ensaio fabricado no novo local tem reprodutibilidade, especificidade e sensibilidade comparáveis aos dos kits de teste fabricados no local original.

Reprodutibilidade

Para demonstrar a reprodutibilidade do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II fabricado no novo local, um painel formado por amostras positivas para anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II com vários graus de reatividade (quatro HTLV-I e quatro HTLV-II) e duas amostras negativas foram testadas com cada um dos três lotes de kit por um período de quatro dias, usando dois analistas e método de teste manual. Cada amostra foi testada em quadruplicata em cada um dos quatro dias. O CV total para as amostras positivas usando os três lotes de validação variou de 8,9% a 19,7% (n=96) em comparação com a variação do CV total para as amostras positivas de 11,1% a 15,9% para o ensaio fabricado no local anterior (n=288, 3 locais, 3 lotes, 2 operadores, 4 dias e testes realizados em quadruplicata).

Tabela 6: Resumo do estudo de reprodutibilidade para o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II (método manual)

ID do painel	Status	N	Média de S/C	Total				Interensaio		Intraensaio	
				DP	%CV	S/C inferior 95% IC	S/C superior 95% IC	DP	%CV	DP	%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 Amostra negativa para anticorpos anti-HTLV-I e HTLV-II

Especificidade

Para demonstrar que a reprodutibilidade do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II fabricado no novo local era comparável à do teste originalmente licenciado, amostras de soro (n=1.000) e plasma (n=1.000) de status desconhecido de populações de baixo risco (doadores de sangue) foram testadas com três lotes de kit usando o método de teste manual. Cada lote foi usado para testar número semelhante de amostras. Das 2.000 amostras testadas, duas foram repetidamente reativas (vide Tabela 7). Ambas as amostras apresentaram resultado negativo para IFA e Western Blot para HTLV-I e HTLV-II para uso em pesquisa. Portanto, a especificidade estimada do ensaio Avioq observada neste estudo foi de 1998/2000 = 99,90% (95% IC 99,44 - 100%), em comparação com 11409/11415 = 99,95% (95% IC de 99,89 - 99,98) para o ensaio fabricado no local anterior.

Tabela 7: Especificidade estimada do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II em doadores de sangue aleatórios

	Número testado	Não reativos	Repetidamente reativos	Teste positivo complementar	Especificidade estimada (%)	Limites de confiança de 95% para especificidade (%)	
Soro	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00
Plasma	1000	999	1	0	99,90	99,44	100,00

Sensibilidade

Para avaliar se a sensibilidade clínica do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II fabricado no novo local era comparável à do teste originalmente licenciado, um painel de 200 amostras soropositivas de soro ou plasma (100 HTLV-I e 100 HTLV-II) foram testadas com três lotes de kit usando o método de teste manual (tabela 8). Todas as amostras foram anteriormente determinadas como repetidamente reativas em um teste para triagem de doadores de sangue para HTLV-I/II licenciado pela FDA e confirmadas como positivos para anticorpos anti-HTLV-I/II com um teste complementar para uso em pesquisa (WB, IFA e/ou RIPA). Oitenta e sete por cento dessas amostras foram de doadores de sangue dos Estados Unidos e nenhum havia sido previamente testado utilizando o ensaio original licenciado Vironostika. A sensibilidade estimada do ensaio observada neste estudo foi de 200/200 = 100% (95% IC 98,17 - 100%), em comparação com 636/636 = 100% (95% IC de 99,97 - 100) para o ensaio fabricado no local anterior.

Tabela 8: Reatividade do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II com amostras de repositório soropositivas para HTLV-I/II

Número testado	Número de repetidamente reativos	Número de não reativos	Sensibilidade estimada (%)	Limites de confiança de 95% para sensibilidade (%)	
200	200	0	100,00	98,17	100,00

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO SISTEMA ORTHO® SUMMIT (OSS) COM SISTEMA DE MANUSEIO DE AMOSTRAS ORTHO® SUMMIT (PIPETADOR SUMMIT)

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II no instrumento OSS foi testada utilizando um painel de 10 amostras testadas em duplicata (quatro positivas para HTLV-I, quatro positivas para HTLV-II e duas negativas). O estudo foi realizado em dois locais, em um total de três instrumentos, duas vezes por dia, por quatro dias, utilizando um lote de validação do kit de ensaio, e comparado aos testes deste painel utilizando o método manual com o mesmo lote de validação. Os resultados desse estudo estão resumidos na Tabela 9.

Tabela 9: Estudo de reprodutibilidade para o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II em OSS (método automático)

ID do painel	Status	N	Média de S/C	Total				Entre centros		Intracentro	
				DP	%CV	S/C inferior 95% IC	S/C superior 95% IC	DP	%CV	DP	%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 Amostra negativa para anticorpos para HTLV-I e HTLV-II

O estudo de reprodutibilidade demonstrou que a variabilidade total para as amostras positivas variou de 6% a 10% utilizando o método com OSS, em comparação com 8,9% a 19,7% para as amostras positivas utilizando o método manual (vide Tabela 6).

Sensibilidade analítica

Para demonstrar que a sensibilidade analítica do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II no instrumento OSS é comparável à do método manual, oito painéis de diluição (diluições seriais duplas de quatro amostras positivas para anticorpos para HTLV-I e quatro amostras positivas para anticorpos para HTLV-II até o valor de corte do ensaio) foram testados utilizando os métodos manual e automático. Para avaliar a correlação dos dois métodos, foi realizada uma análise de regressão de Deming. Essa análise mostrou uma alta correlação para a relação S/CO para ambos os formatos, com um coeficiente de correlação de 0,94. Para demonstrar a equivalência da relação S/CO entre os dois métodos, foi realizado um teste t pareado. A média geral de S/CO para o método manual foi de 3,143 (n=459), comparada a uma média geral de 4,198 (n=459) no instrumento OSS. Embora essa diferença seja estatisticamente significativa, a sensibilidade por diluições de endpoint foi comparável pelos dois métodos (ou seja, o ensaio no instrumento OSS não apresentou sensibilidade reduzida).

Sensibilidade

Um painel de 100 amostras de doadores de sangue repetidamente reativas em um ensaio licenciado pela FDA foi testado usando o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II com os dois métodos (método manual e método automático no instrumento OSS). 95 (noventa e cinco) das amostras foram repetidamente reativas (100% de concordância) usando ambos os métodos de ensaio (manual e automático). 5 (cinco) das 100 amostras no painel foram não reativas utilizando o ensaio Avioq (manual e automático). Testes confirmatórios adicionais nessas cinco amostras mostraram que nenhum era positivo em um teste complementar. Deve-se notar que essas amostras foram previamente submetidas a cinco ciclos de congelamento/descongelamento antes do teste. Os dados obtidos pela Avioq indicam que as amostras podem ser congeladas e descongeladas uma vez sem perda de reatividade.

A relação S/CO das 95 amostras detectadas pelo ensaio Avioq variou de 1,058 a 8,400 para o método manual e de 1,280 a 7,403 para o método automático no OSS; o coeficiente de correlação para a relação S/CO foi de 0,94. 29 (vinte e nove) dessas amostras foram positivas para anticorpos anti-HTLV-I e 46 foram positivas para anticorpos anti-HTLV-II em um teste complementar para uso em pesquisa, e 20 foram positivas para anticorpos anti-HTLV-I/II (não tipadas).

Especificidade clínica

O estudo foi realizado em dois locais para avaliar a especificidade do ensaio quando utilizado com o Sistema ORTHO® Summit (OSS) automático. Foram testadas 16.339 amostras de soro e plasma coletadas aleatoriamente de doadores de sangue voluntários. Os resultados desses testes são apresentados na Tabela 10.

Tabela 10: Resumo dos resultados de especificidade clínica para o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II em OSS (método automático)

	Local 1			Local 2			Todos os locais/lotos combinados
	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	Lote 10003	Lote 10004	Lote 10005	
Número testado	1366	1366	1358	4160	4080	4009	16.339
Não reativas	1364	1366	1358	4157	4078	4007	16.330
Inicialmente reativas	2	0	1	3	3	2	11
Repetidamente reativas	2	0	0	3	2	2	9
Positivos confirmados	0	N/A	N/A	0	0	0	0
Total de falsos positivos	2			7			9
Total testado	4.090			12.249			16.339
Especificidade estimada	99,95%			99,94%			99,94%
IC95%	99,82%-99,99%			99,88%-99,98%			99,90%-99,97%
Especificidade geral estimada	99,95%						
IC95%	99,89% a 99,98%						

Das 16.339 amostras testadas de doadores de sangue, nove foram repetidamente reativas. Todas as nove foram classificadas como falsos positivos com base nos resultados de testes utilizando Western Blot (local 1) ou IFA (local 2) para uso em pesquisa. O intervalo de confiança para a especificidade estimada para o ensaio Avioq em todos os três lotes em cada local e para todos os locais e lotes combinados coincide com o ensaio Vironostika (95% IC: 99,89% a 99,98%). A especificidade geral estimada do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II em OSS foi de 16.330/16.339 = 99,94% (95% IC: 99,90% a 99,97%) em comparação com 11.409/11.415 = 99,95% (95% IC: 99,89% a 99,98%) usando o método manual.

Esses estudos demonstraram que o desempenho do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II no instrumento OSS é comparável ao obtido utilizando o método manual.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO SISTEMA ORTHO® SUMMIT (OSS) COM O PIPETADOR ORTHO VERSEIA®.

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II no instrumento OSS com o pipetador ORTHO VERSEIA® foi testada utilizando um painel de três amostras positivas para HTLV-I, duas positivas para HTLV-II e uma amostra negativa. O estudo foi realizado em três locais em um total de cinco pipetadores VERSEIA® e, para comparação, em pipetadores SUMMIT. Cada um testou seis réplicas em duas corridas por dia, durante cinco dias não consecutivos. Os resultados desse estudo estão resumidos na Tabela 11. O estudo de reprodutibilidade demonstrou que a variabilidade total dos dois tipos de instrumento foi comparável.

Tabela 11: Estudo de reprodutibilidade para o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II em OSS

ID do painel	Pipetador SUMMIT						Pipetador VERSEIA®					
	N	Média	DP	%CV	IC95% S/C		N	Média	DP	%CV	IC95% S/C	
					Mín	Máx					Mín	Máx
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

Sensibilidade analítica

Para demonstrar que a sensibilidade analítica do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II no OSS com pipetador VERSEIA® é comparável à obtida com pipetador SUMMIT, dez painéis de diluição (quatro diluições com S/C alvo variando de 0,5 a 3,0 de cinco amostras positivas para anticorpos para HTLV-I e cinco para HTLV-II até o valor de corte do ensaio) foram testados utilizando ambos os instrumentos. Para avaliar a correlação dos dois métodos, foi realizada uma análise de regressão de Deming. Essa análise mostrou uma alta correlação para a relação S/CO para ambos os instrumentos, com uma inclinação de 1,00, intercepto de 0,01 e coeficiente de correlação de Pearson (r) de 1,00.

Sensibilidade

Um painel de sensibilidade composto por 104 amostras congeladas positivas para anticorpos anti-HTLV (52 amostras positivas para anticorpos anti-HTLV-I e 52 para anticorpos anti-HTLV-II) foi usado nesse estudo. Essas amostras foram geradas pela diluição de amostras positivas congeladas para criar uma combinação de

amostras com reatividade baixa a moderada. Assim, espera-se que algumas dessas amostras com valores de sinal-corte próximos a 1,000 variem de acima (positivo) a abaixo (negativo) do ponto de corte.

As amostras foram testadas em triplicata em cada um dos três locais, utilizando os pipetadores SUMMIT e VERSEIA®. No total, 935 resultados válidos foram obtidos e utilizados para análise dos dados de cada instrumento. Das 935 observações, 98,1% (917/935) dos resultados do Summit foram reativos, contra 98,5% (921/935) do VERSEIA®. O teste de McNemar para resultados discordantes não demonstrou diferença significativa entre os dois pipetadores com um valor p de 0,3438, indicando que o Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II é compatível com o pipetador VERSEIA®.

Especificidade clínica

Um total de 3.146 amostras de soro e plasma de doadores aleatórios foram testadas individualmente usando ambos os tipos de instrumento (SUMMIT e VERSEIA®) em três locais; cada um testou números semelhantes de amostras. Das 3.146 amostras testadas, 3.140 eram não reativas com os dois tipos de instrumento. Das 6 amostras restantes, 5 foram reativas com ambos os pipetadores, e uma mostrou resultados discordantes nos testes com os dois tipos de pipetador (reativa com o VERSEIA®, mas não reativa com o Summit); todas as seis amostras tiveram resultado indeterminado na análise com Western Blot. Supondo que todas as amostras eram negativas para anticorpos para HTLV, a especificidade do ensaio foi de 99,81% (95% IC: 99,59% a 99,93%) e 99,84% (95% IC: 99,63% a 99,95%) quando usados os instrumentos VERSEIA® e Summit, respectivamente (Tabela 12). A análise estatística demonstrou que não houve diferença significativa na especificidade para os dois tipos de instrumento (99,81% contra 99,84%).

Tabela 12: Resumo dos resultados de especificidade clínica

		Pipetador SUMMIT		Total
		Positivo	Negativo	
Pipetador VERSEIA®	Positivo	5	1	6 (0,19%)
	Negativo	0	3140	3140 (99,81%)
	Total	5 (0,16%)	3141 (99,84%)	3146 (100,00%)

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO DO TESTE DE AMOSTRAS CADAVERÍCAS

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi avaliada usando 20 amostras cadavéricas não-reativas (10 de soro/10 de plasma) e 20 amostras de doadores vivos não-reativas (10 de soro/10 de plasma). De cada fonte de doador (cadavérica e viva), 5 amostras de soro e 5 de plasma foram utilizadas com material de origem anti-HTLV-I ou anti-HTLV-II para uma reatividade meta de 2.0 da razão de sinal para corte (S/CO). Cada amostra utilizada foi testada uma vez em seis dias diferentes em cada um dos três lotes do kit em um local. A porcentagem de CV foi comparada entre as amostras de doadores vivos e cadavéricos.

Tabela 13 – Reprodutibilidade do exame em amostras de plasma de doadores vivos e cadavéricos

Pré / Pós	Tipo	matriz	N	Médi a	Inferio r 95%	Superi or 95%	total_sd	total_cv	inter_sd	inter_cv	intra_sd	intra_cv
PÓS	HTLV-I	Plasma	90	2,13	2,05472	2,21510	0,383	17,9	0,324	15,2	0,215	10,1
		Soro	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
		Soro	90	1,94	1,86472	2,02168	0,375	19,3	0,288	14,8	0,248	12,8
	HTLV-I	Plasma	90	1,89	1,81144	1,96652	0,370	19,6	0,290	15,4	0,238	12,6

Pré / Pós	Tipo	matriz	N	Média	Inferior 95%	Superior 95%	total_sd	total_cv	inter_sd	inter_cv	intra_sd	intra_cv
PRÉ		Soro	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
		Soro	90	1,96	1,88779	2,03181	0,344	17,5	0,280	14,3	0,208	10,6

Sensibilidade

As amostras testadas incluíam aproximadamente números iguais de amostras de soro e plasma de amostras post-mortem (C) (n=91; 46 de soro, 45 de plasma) e de amostras de doadores normais (N) (n=91; 45 de soro; 46 de plasma). As amostras foram testadas anteriormente para HTLV-I/II e não são reativas. As amostras foram usadas para preparar os painéis de uso de HTLV-I e HTLV-II. Cada amostra foi dividida em duas e usada com uma quantidade pré-determinada de soro de anticorpos positivo de HTLV-I ou HTLV-II. A sensibilidade foi avaliada ao testar ambas as amostras soropositivas de HTLV-I e HTLV-II de doadores normais e post-mortem com três lotes de kit HTLV-I/II em dois locais de teste. Os resultados negativos pelo teste ELISA foram considerados falso negativos. A sensibilidade e os intervalos de confiança de 95% foram calculados para as amostras de doadores normais e post-mortem usadas com o anticorpo positivo HTLV-I e HTLV-II, conforme indicado na Tabela 14 abaixo. O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II tem uma sensibilidade geral estimada em amostras cadavéricas de 100%, com um intervalo de confiança de 95% de 92,29%-100% para soro e 92,13-100% para plasma.

Tabela 14 – Reatividade relativamente a amostras usadas de doadores normais e post-mortem

Local	No. do lote	Tipo de amostra (Soro)	Número Testado	Não-reativo inicial	Reativo inicial	Porcentagem de reativo	Limite de confiança de 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
Local	No. do lote	Tipo de amostra (Plasma)	Número Testado	Não-reativo inicial	Reativo inicial	Porcentagem de reativo	Limite de confiança de 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

Especificidade

As amostras de plasma de doadores post-mortem (C) (n=45) e vivos normais (N) (n=45, coletado a partir de população de baixo risco (banco de sangue)) foram testadas, de acordo com as instruções do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II, com três lotes de kits HTLV-I/II em dois locais de teste. A especificidade e os intervalos de confiança de 95% foram calculados para as amostras de doadores normais e post-mortem conforme indicado na Tabela 15 abaixo. O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II tem uma especificidade geral estimada nas amostras cadavéricas de plasma de 100%, com um intervalo de confiança de 95% de 92,13-100%.

Tabela 15 – Especificidade estimada em amostras de plasma randômicas e post-mortem

Local	Lote	Tipo de amostra (Plasma)	Número Testado	Não-reativo	Reativo repetido	Especificidade estimada (%)*	Limites de confiança de 95% para especificidade (%)**
Local 1	Lote 1	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
Local 2	Lote 1	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 2	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0
	Lote 3	Cadavérico	45	45	0	100	92,13-100,0
		Normal	45	45	0	100	92,13-100,0

* = $\frac{(\text{Número analisado} - \text{Número de reativos repetidos})}{(\text{Número analisado} - \text{Número de positivos confirmados})} \times 100$

** = Os limites de confiança para especificidade foram calculados usando o método exato.

As amostras de soro de 218 doadores post-mortem individuais foram testadas de acordo com as instruções do Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II com um dos três lotes de kit HTLV-I/II (aprox. 1/3 das amostras por lote) em um único local. A especificidade e os intervalos de confiança de 95% foram calculados conforme indicado na Tabela 16 abaixo. O Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II tem uma especificidade geral estimada em amostras cadavéricas de 100%, com um intervalo de confiança de 95% de 98,32%-100%.

Tabela 16 – Especificidade estimada em amostras de soro post-mortem

Lote	Tipo de amostra (Soro)	Número testado***	Não-reativo inicialmente	Reativo repetido	Especificidade estimada (%)*	Limites de confiança de 95% para especificidade (%)**
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

* = $\frac{(\text{Número analisado} - \text{Número de reativos repetidos})}{(\text{Número analisado} - \text{Número de positivos confirmados})} \times 100$

** = Os limites de confiança para especificidade foram calculados usando o método exato.

*** = Em um estudo separado, 46 amostras de soro de doadores cadavéricos e 46 de doadores vivos foram testadas usando três lotes de kit HTLV-I/II diferentes em dois locais. Uma amostra cadavérica foi reativa repetidas vezes por todos os três lotes de kit nos dois locais. Uma segunda amostra cadavérica foi reativa repetidas vezes em todos os três lotes de kit em um local e em dois lotes de kit no outro.

Referências

- Poiesz BJ, *et al.* Detection and Isolation of type C Retrovirus Particles from Fresh and Cultured Lymphocytes of a Patient with Cutaneous T-Cell Lymphoma. *Proc Natl Acad Sci USA* 1980; 77 (12): 7415-7419.
- Blattner WA, *et al.* Epidemiology of Human T-Cell Leukemia/Lymphoma Virus. *J Infect Dis* 1983; 147(3): 406-416.
- Hinuma Y, *et al.* Antibodies of Adult T-Cell Leukemia-Virus-Associated Antigen (ATLA) in Sera from Patients with ATL and Controls in Japan: A Nationwide Sero-epidemiologic Study. *Int J Cancer* 1982; 29: 631-635.
- Tajima K, *et al.* HTLV-I Carriers Among Migrants from an ATL-Endemic Area to ATL Non-Endemic Metropolitan Areas in Japan. *Int J Cancer* 1986; 37: 383-387.
- Mann DL, *et al.* HTLV-I associated B-cell CLL: indirect role for retrovirus in leukemogenesis. *Science* 1987; 236: 1103-6.
- Manns A, *et al.* The epidemiology of HTLV-I and -II: etiologic role in human disease. *Transfusion* 1991; 31(1): 67-75.
- D'Aquila RT: Newly recognized human viruses. *Mediguide to Inf. Diseases* 1993; 12(4): 2-6.
- Manns A, *et al.* Role of HTLV-I in development of NHL in Jamaica and Trinidad and Tobago. *The Lancet* 1993; 342: 1447-50.
- Morgan OS, *et al.* HTLV-I and polymyositis in Jamaica. *Lancet*, 1989; 2:1184-87.
- Sato K, *et al.* Arthritis in patients infected with HTLV-I. *Arthritis and Rheumatism* 1991; 34(6): 714-21.
- Sato K, *et al.* HTLV-I and Arthritis. *Rheumatol. Rev.* 1992; 1: 185-92.

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. 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.

DISPONIBILIDADE

Avioq Inc.

Sistema Microelisa Avioq HTLV-I/II

Kit para 192 testes



Número de produto 500192

Kit para 576 testes



Número de produto 500576

Kit para 9.600 testes



Número de produto 509600

Tampão para lavagem, frasco de 100 ml



Número de produto 559879

Tampão para lavagem, 4 x frasco de 100 ml



Número de produto 559880

Para assistência técnica nos Estados Unidos, entre em contato com o Serviço ao Cliente Avioq pelo telefone 1-919-314-5535.

Para assistência técnica fora dos EUA, entre em contato com a Emergo Europe: (31)(0)70345-8570

EnzAbody é uma marca comercial registrada da bioMérieux nos EUA e em outros 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

Nº de registro: 1856 (EUA)

Dezembro de 2022

CE 2797