

# Bioclin

## BIOLISA HTLV I/II

**REF** **K237**

## INSTRUÇÕES DE USO

### FINALIDADE

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais (IgG, IgA e IgM) para os vírus de HTLV I e HTLV II em amostras biológicas de soro ou plasma através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático**

O kit BIOLISA HTLV I/II é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio sanduíche de detecção qualitativa de Anticorpos totais (IgG, IgA e IgM) para HTLV I/II em soro e plasma humano. Anticorpos totais (IgG, IgA e IgM) presentes na amostra se ligam aos antígenos recombinantes de HTLV I/II revestidos na microplaca formando imunocomplexos. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Antígenos recombinantes conjugados à Peroxidase são adicionados à microplaca que é então incubada. Os antígenos recombinantes conjugados a enzima ligam-se aos Anticorpos totais (IgG, IgA e IgM) Anti- HTLV I/II presentes, ligados à placa revestida com antígeno. Nova lavagem é realizada para remover os excedentes. Após esta etapa, o Substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de Anticorpos totais (IgG, IgA e IgM) Anti- HTLV I/II presentes na amostra. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo, medida em um leitor de microplaca.

### REAGENTES

**1- Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Placa sensibilizada com antígenos recombinantes de HTLV I/II e conservante.

**2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão contendo antígenos recombinantes de HTLV I/II ligados à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.

**3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução Tampão (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloreto de Potássio < 100 mmol/L, Cloreto de Sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.

**4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, estabilizantes, surfactante e conservante.

**5- Substrato** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução Tampão contendo Peróxido de Uréia, Tetrametilbenzidina (TMB) econservante.

**6- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Ácido Clorídrico 1 M.

**7- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, estabilizante, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**

**8- Controle Positivo** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão, Anticorpos Totais (IgG, IgM e IgA) Anti - HTLV I/II, corante, estabilizantes, surfactante e conservante. **Potencialmente infectante.**

**9- Seladores de Placa**

### APRESENTAÇÕES

| Reagentes                      | 1<br>96 Cavidades        | 2<br>192 Cavidades         | 3<br>480 Cavidades         |
|--------------------------------|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| <b>1 - Placa Sensibilizada</b> | 1 Unidade (96 cavidades) | 2 Unidades (192 cavidades) | 5 Unidades (480 cavidades) |
| <b>2- Conjugado</b>            | 1 Frasco x 12 mL         | 2 Frascos x 12 mL          | 5 Frascos x 12 mL          |
| <b>3- Lavagem Concentrada</b>  | 1 Frasco x 50 mL         | 2 Frascos x 50 mL          | 5 Frascos x 50 mL          |
| <b>4- Diluente de Amostra</b>  | 1 Frasco x 42 mL         | 2 Frascos x 42 mL          | 5 Frascos x 42 mL          |
| <b>5- Substrato</b>            | 1 Frasco x 12 mL         | 2 Frascos x 12 mL          | 5 Frascos x 12 mL          |
| <b>6- Solução de Parada</b>    | 1 Frasco x 12 mL         | 2 Frascos x 12 mL          | 5 Frascos x 12 mL          |
| <b>7- Controle Negativo</b>    | 1 Frasco x 300 µL        | 2 Frascos x 300 µL         | 5 Frascos x 300 µL         |
| <b>8- Controle Positivo</b>    | 1 Frasco x 300 µL        | 2 Frascos x 300 µL         | 5 Frascos x 300 µL         |
| <b>9- Seladores de Placa</b>   | 3 Unidades               | 6 Unidades                 | 15 Unidades                |

### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior

- Instruções de uso (manual)

### Materiais necessários não contidos no kit:

**1-** Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.

**2-** Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).

**3-** Lavadora de microplaca (opcional).

**4-** Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.

**5-** Papel absorvente para secar as microcavidades.

**6-** Cronômetro ou relógio.

**7-** Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.

**8-** Água destilada ou deionizada.

**9-** Ferramentas de Controle de Qualidade.

**10-** Incubadora de 37 °C ± 2°C.

### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte em temperaturas até 30°C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

### CUIDADOS ESPECIAIS

**1-** Somente para uso diagnóstico in vitro profissional.

**2-** Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.

**3-** O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8°C.

**4-** A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.

**5-** Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, ions diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.

**6-** A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.

**7-** Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBsAg, Anti-HIV 1&2 e Anti HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém soro é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.

**8-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.

**9-** Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.

**10-** Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.

**11-** Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.

**12-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

**13-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

**14-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

**15-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

### AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina).

Amostras hemolisadas ou altamente lipêmicas não devem ser usadas.

As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8°C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20°C.

### DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit Biolisa HTLV I/II é estável após aberto durante, pelo menos, 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

### PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N°3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo a solução será estocada entre 2 a 30 °C por até 30 dias. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

### Substrato

O Substrato é pronto para o uso.

### TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria de Cliente).

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

**1-** Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.

**2-** Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).

**3-** Pipetar 100 µL de Diluente de Amostra. Inclusive na cavidade para o Branco.

**4-** Pipetar 5 µL de Amostras e Controles nas cavidades previamente determinadas. Observar a mudança de cor do diluente no momento da adição da amostra. A mudança de cor indica que a amostra foi adicionada ao poço corretamente.

**5-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.

**6-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

**7-** Retirar o selador das cavidades.

**8-** Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Usar 500 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem e molho de 30 segundos para cada ciclo. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente. **Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.

**9-** Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades.

**10-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

**11-** Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

**12-** Retirar o selador de placa das cavidades.

**13-** Repetir o item 8.

**14-** Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades.

**15-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

**16-** Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

**17-** Retirar o selador de placa das cavidades.

**18-** Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.

**19-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.

**20-** Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

### VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

| ITEM              | ABSORBÂNCIA |
|-------------------|-------------|
| Branco            | < 0,300     |
| Controle Negativo | < 0,300     |
| Controle Positivo | > 1,000     |

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

### CÁLCULOS

### QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:

Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,04) + 0,250

Exemplo:

| ITEM   | ABSORBÂNCIAS                              |
|--|---|
| Controle Positivo (Reagente N°8)                       | 2,156                                     |
|  | 2,194                                     |
| Absorbância média do Controle Positivo x 0,04) + 0,250 | ((2,156 + 2,194)/2 x 0,04) + 0,250= 0,337 |

Calcular o Índice dividindo a absorbância da amostra pelo valor de Cut Off. Exemplo:

| ITEM                                | ABSORBÂNCIAS         |
|-------------------------------------|----------------------|
| Amostra                             | 1,564                |
| Valor de Cut Off                    | 0,337                |
| Índice = Amostra / Valor de Cut Off | 1,564 / 0,337 = 4,64 |

**Nota:** Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados.

### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

| RESULTADOS    | QUALITATIVO PARA AMOSTRAS DE SORO E PLASMA |
|---------------|--|
|               | ÍNDICE                                     |
| Negativo      | < 0,9                                      |
| Positivo      | > 1,1                                      |
| Indeterminado | 0,9 – 1,1                                  |

**Observação:** No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

### LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnóstico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação, antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo da doença.

### INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada para as concentrações de Triglicérides 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Fator Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) podem apresentar fibrina e precipitação de fibronectina que podem interferir no teste. Essas amostras não devem ser utilizadas, assim como, amostras coletadas com outros anticoagulantes diferentes dos citados (EDTA e heparina).

### REATIVIDADE CRUZADA

Foi realizado um estudo com 90 amostras negativas para HTLV I/II, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Chikungunya, 10 amostras positivas para Toxoplasmose, 10 amostras positivas para Citomegalovírus, 10 amostras positivas para Rubéola, 10 amostras positivas para HIV, 10 amostras positivas para HBV e 10 amostras positivas para HCV. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmose, Citomegalovírus, Rubéola, HIV, HBV e HCV. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

### CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

### DESEMPENHO DO PRODUTO

#### Precisão REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorvância:

| REPETIBILIDADE               | AMOSTRAS |       |       |
|------------------------------|----------|-------|-------|
|                              | 1        | 2     | 3     |
| Média                        | 0,700    | 2,539 | 0,103 |
| Desvio padrão                | 0,051    | 0,068 | 0,004 |
| Coefficiente de variação (%) | 7,372    | 2,669 | 4,297 |

### REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorvância:

| REPRODUTIBILIDADE            | AMOSTRAS |       |       |
|------------------------------|----------|-------|-------|
|                              | 1        | 2     | 3     |
| Média                        | 0,764    | 2,672 | 0,118 |
| Desvio padrão                | 0,049    | 0,056 | 0,008 |
| Coefficiente de variação (%) | 6,425    | 2,102 | 6,892 |

### SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

O kit BIOLISA HTLV I/II foi utilizado para a análise de amostras clínicas previamente caracterizadas e confirmadas através de outro método de enzimaímoensaio de referência. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HTLV I/II é >99% e a especificidade clínica >99%.

| SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA | Resultado Esperado | BIOLISA HTLV I/II |
|--|--------------------|-------------------|
| Amostra Positiva                       | 50                 | 50                |
| Amostra Negativa                       | 183                | 183               |
| Total de Amostras Testadas             | 233                | 233               |

Sensibilidade Clínica: >99% (50/50) (IC 95% = 92,9 – 100%)  
Especificidade Clínica: >99% (183/183) (IC 95% = 98,0 – 100%)

### SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O Vírus Linfotrópico de Células T humanas (HTLV) é um membro da família Retroviridae e se classifica em dois tipos: HTLV-1 e HTLV-2. Estes retrovírus infectam células T humana que são importantes para o sistema de defesa do organismo. Sendo que, o HTLV-1 com preferência por células CD4+ e o HTLV-2 por células CD8, ambos com a capacidade de se integrar no genoma da célula hospedeira passando a se chamar de provírus. Sua transmissão pode ser tanto vertical quanto horizontal através do ato sexual, pelo leite materno, transfusão de sangue e/ou uso de drogas intravenosas. As principais patologias causadas por esses vírus são leucemia de células T do adulto (LcTA), Uveíte, além de outras manifestações como dermatite infecciosa.

### REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

- 1- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 2- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 3- Lopes B, Rezende P, Pereira L e Lemos J. Carga proviral do HTLV-1 e HTLV-2: um método simples através da PCR quantitativa em tempo real. Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical39(6):548-552, nov- dez, 2006.
- 4- Comparação de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) e tipo 2 (HTLV-2) em pacientes infectados por HIV-1.
- 5- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- 6- Bioclin - Dados de Arquivo.

### GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes Bioclin são testados pelo Departamento de Controle da Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.



**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**  
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: (31) 3439.5454  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

### ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Atendimento ao Cliente  
Tel.: 0800 0315454  
E-mail: sac@bioclin.com.br

Numero de registro do kit Biolisa HTLV I/II na ANVISA: 10269360361

Revisão: Junho/2022

## SIMBOLOGIA UNIVERSAL

|  |   |  |  |
|--|---|--|--|
|  | NÚMERO DE CATÁLOGO                        |  | FABRICADO POR  |
|  | NÚMERO DO LOTE                            |  | CONTROLE   |
|  | DATA DE FABRICAÇÃO                        |  | CONTROLE POSITIVO                                    |
|  | DATA DE VALIDADE<br>(último dia do mês)   |  | CONTROLE NEGATIVO                                    |
|  | LIMITE DE TEMPERATURA<br>(conservar a)    |  | RISCO BIOLÓGICO                                      |
|  | O CONTEÚDO É SUFICIENTE<br>PARA <N>-TESTE |  | INFLÂMÁVEL   |
|  | CONSULTAR INSTRUÇÕES<br>DE USO            |  | CORROSIVO  |
|  | PRODUTO PARA<br>DIAGNÓSTICO IN VITRO      |  | TÓXICO   |
|  | PROTEGER DA<br>LUZ E CALOR                |  | NÃO UTILIZAR SE A<br>EMBALAGEM ESTIVER<br>DANIFICADA |
|  | NÃO REUTILIZE                             |  | PRODUTO<br>ESTERELIZADO                              |
|  | CUIDADO                                   |  | PERIGO   |