

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**

APRESENTAÇÃO

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

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior

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*.**
- 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, íons 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 por até 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 Nº 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser 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	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,150
Controle Negativo	< 0,150
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 0,01) + 0,100

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Positivo (Reagente Nº8)	2,156
	2,194
(Absorbância média do Controle Positivo x 0,01) + 0,100	((2,156 + 2,194)/2 x 0,01) + 0,100= 0,122

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	1,564
Valor de Cut Off	0,122
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	1,564 / 0,122 = 12,82

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 diagnostico, 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, Toxoplasmosse, Citomegalovírus, Rubéola, HIV, HBV e HCV. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico 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 absorbância:

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 absorbancia:

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 enzimaímunoensaio 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

- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR
- 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.
- 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.
- 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
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, 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 Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA HTLV I/II na ANVISA: 10269360361

Revisão: Junho/2023

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

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

BIOLISA HTLV I/II

REF K237

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba para la determinación cualitativa de Anticuerpos Totales (IgG, IgA e IgM) para los virus HTLV I y HTLV II en muestras biológicas de suero o plasma mediante enzima-inmunoensayo. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoensayo enzimático.
El kit BIOLISA HTLV I/II es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida basado en el principio de sándwich para la detección cualitativa de Anticuerpos Totales (IgG, IgA e IgM) contra HTLV I/II en suero y plasma humanos. Los Anticuerpos Totales (IgG, IgA e IgM) presentes en la muestra se unen a los Antígenos HTLV I/II Recombinantes recubiertos en la microplaca formando inmunocomplejos. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. Los Antígenos Recombinantes conjugados con Peroxidasa se agregan a la microplaca que luego se incuba. Los Antígenos Recombinantes conjugados con enzimas se unen a los Anticuerpos Anti-HTLV I/II Totales (IgG, IgA e IgM) presentes, unidos a la placa recubierta de Antígeno. Se realiza un nuevo lavado para eliminar el sobrante. Luego de este paso, se agrega el Sustrato y se incuba, produciendo un color azul que indica la cantidad de Anticuerpos Anti-HTLV I/II Totales (IgG, IgA e IgM) presentes en la muestra. Se agrega Solución de Parada para detener la reacción y hay un cambio de color de azul a amarillo según se mide en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1 - Placa Sensibilizada** - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Placa sensibilizada con Antígenos HTLV I/II Recombinantes y conservante.
- 2 - Conjugado** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Antígenos HTLV I/II Recombinantes ligados a Peroxidasa, tensioactivo, estabilizantes, colorante y conservante.
- 3- Lavado concentrado** - Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón (Fosfato < 0,5 mol/L, Cloruro de Potasio < 100 mmol/L, Cloruro de Sodio < 5 mol/L), tensioactivo y conservante.
- 4- Diluyente de Muestra** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizantes, tensioactivo y conservante.
- 5- Sustrato** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Ácido Clorhídrico 1 M.
- 7- Control Negativo** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, estabilizador, tensioactivo y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 8- Control Positivo** - Conservar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución Tampón, Anticuerpos Totales (IgG, IgM e IgA) Anti-HTLV I/II, colorante, estabilizantes, surfactante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Selladores de placas**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1 – Placa Sensibilizada	1 Unidad (96 cavidades)	2 Unidades (192 cavidades)	5 Unidades (480 cavidades)
2 - Conjugado	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
3 – Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	2 Viales x 50 mL	5 Viales x 50 mL
4 – Diluyente de Muestra	1 Vial x 42 mL	2 Viales x 42 mL	5 Viales x 42 mL
5 - Sustrato	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
6 – Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	2 Viales x 12 mL	5 Viales x 12 mL
7 – Control Negativo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
8 – Control Positivo	1 Vial x 300 µL	2 Viales x 300 µL	5 Viales x 300 µL
9 – Selladores de Placa	3 Unidades	6 Unidades	15 Unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el ítem anterior

Materiales necesarios, mas no contenidos en el kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con menor coeficiente de variación que 1,5%.
- 2- Repeteador para pipetajes repetitivos de volúmenes de 500 µL con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca (opcional).
- 4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbencia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
- 8- Agua destilada o deionizada.
- 9- Herramientas de Control de Calidad.
- 10- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento debe ser de 2 a 8°C. El transporte a temperaturas de hasta 30°C no debe exceder los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro*.**
- 2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
- 3- El sobre de aluminio conteniendo las microplacas debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8°C.
- 4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
- 5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- 6- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
- 7- Toda materia prima del producto es probada y debe ser no reactiva para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.
- 8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
- 9- Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
- 10- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco, y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.

- 11- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o etapas de incubación.
- 12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
- 13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
- 14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
- 15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina).

No se deben utilizar muestras hemolizadas o altamente lipémicas. Las muestras pueden mantenerse refrigeradas, entre 2 y 8°C, durante um período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20°C.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit Biolisa HTLV I/II es estable después de abrirlo hasta 30 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

PREPARACIÓN DE REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido de la ampolla Nº 3 (Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante un máximo de 30 días. Se puede almacenar a temperatura ambiente. Si ocurre cristalización, calentar a 37°C hasta disolución.

Sustrato

El Sustrato está listo para usar.

TÉCNICA

Para uso en equipos automáticos contactar con el SAC (Servicio de Atención al Cliente).

- Antes de comenzar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras y controles para que se establezcan a temperatura ambiente (15 – 30 °C) durante al menos 40 minutos.
- 1- Separar los pocillos a utilizar considerando: Controles y Muestras (se recomienda ensayar por duplicado). Devuelva las tiras de microplacas no utilizadas al paquete sellado original.
- 2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- 3- Pipetear 100 µL de Diluyente de Muestra. **Incluyendo la cavidad para el Blanco.**
- 4- Pipetear 5 µL de Muestras y Controles en pocillos previamente determinados. Observe el cambio de color del diluyente al agregar la muestra. El cambio de color indica que la muestra se agregó correctamente al pocillo.
- 5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir los pocillos con sellador de placas.
- 6- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 7- Retire el sellador de las cavidades.
- 8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (Manual). Use aproximadamente 500 µL de Solución de Lavado, **previamente preparada**, y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado y remojo de 30 segundos para cada ciclo. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, golpee la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.
- Nota:** Un lavado/secado deficiente puede causar malos resultados.
- 9- Pipetee 100 µL de Conjugado en todos los pocillos.
- 10- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
- 11- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 12- Retire el sellador de placas de los pocillos.
- 13- Repetir el punto 8.
- 14- Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pocillos.
- 15- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.

- 16- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 17- Retire el sellador de placas de los pocillos.
- 18- Pipetee 100 µL de Solución de Parada en todos los pocillos.
- 19- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
- 20- Lectura con doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura do Blanco y dos Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,150
Control Negativo	< 0,150
Control Positivo	> 1,000

Caso los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcule el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = (Promedio Abs. del Control Positivo x 0,01) + 0,100

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Positivo (Reactivo Nº8)	2,156
	2,194
(Absorbância Promedio de Control Positivo x 0,01) + 0,100	((2,156 + 2,194)/2 x 0,01) + 0,100= 0,122

Calcule el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,564
Valor de Cut Off	0,122
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	1,564 / 0,122 = 12,82

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Después de calcular el índice de las muestras, considere los índices a continuación para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVOS PARA MUESTRA DE SUERO Y PLASMA
	INDICE
Negativo	< 0,90
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 – 1,1

Observación: En el caso de un resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizado. Las muestras que obtienen resultados indeterminados repetidamente se deben volver a analizar utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecen indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. El resultado de la última muestra recolectada debe prevalecer. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, y no es el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

LIMITACIONES DEL PROCEDIMIENTO

La interpretación de una prueba de diagnóstico no debe establecerse con base en un solo ensayo. Deben incluirse otras pruebas confirmatorias, antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible. antes del diagnóstico definitivo de la enfermedad.

INTERFERENTE

No se observó interferencia para las concentraciones de Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Antiestreptolisina O 1023 UI/mL. Las muestras de plasma almacenadas durante períodos más largos de lo recomendado (30 días) pueden mostrar precipitación de fibrina y fibronectina que puede interferir con la prueba. Estas muestras no deben utilizarse, así como las muestras recogidas con otros anticoagulantes distintos a los mencionados (EDTA y heparina).

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio con 90 muestras negativas para HTLV I/II pero positivas para otras infecciones. Entre ellas 10 muestras positivas para Zika, 10 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Chikungunya, 10 muestras positivas para Toxoplasmosis, 10 muestras positivas para Citomegalovirus, 10 muestras positivas para Rubéola, 10 muestras positivas para VIH, 10 muestras positivas para VHB y 10 muestras positivas para VHC. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Citomegalovirus, Rubéola, VIH, VHB y VHC. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN
Repetibilidad

La repetibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

Repetibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	0,700	2,539	0,103
Desvio Patrón	0,051	0,068	0,004
Coefficiente de Variación (%)	7,372	2,669	4,297

Reproductibilidad

La reproductibilidad fue calculada a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniéndose los siguientes resultados de absorbancia:

Reproductibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	0,764	2,672	0,118
Desvio Patrón	0,049	0,056	0,008
Coefficiente de Variación (%)	6,425	2,102	6,892

SENSIBILIDAD E ESPECIFICIDAD CLÍNICA

El kit BIOLISA HTLV I/II se utilizó para el análisis de muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas por otro método de inmunoensayo enzimático de referencia. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HTLV I/II es >99% y la especificidad clínica >99%.

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICA	Resultado Esperado	BIOLISA HTLV I/II
Muestra Positiva	50	50
Muestra Negativa	183	183
Total de Muestras Testadas	233	233

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

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El Virus Linfotrópico de Células T Humanas (HTLV) es miembro de la familia Retroviridae y se clasifica en dos tipos: HTLV-1 y HTLV-2. Estos retrovirus infectan las células T humanas que son importantes para el sistema de defensa del cuerpo. Siendo eso, HTLV-1 con preferencia por las células CD4 + y HTLV-2 por las células CD8, ambas con la capacidad de integrarse en el genoma de la célula huésped, que se conoce como provirus. Su transmisión puede ser vertical u horizontal a través de las relaciones sexuales, la leche materna, la transfusión de sangre y / o el uso de drogas intravenosas. Las principales patologías causadas por estos virus son la leucemia de células T adultas (LLcTA), la uvelitis, además de otras manifestaciones como la dermatitis infecciosa.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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 serum 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. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentacion, desde que sean almacenados y transportados en las condiciones adecuadas.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: +55 (31) 3439-5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO AL CONSUMIDOR

Servicio de Asesoría al Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA HTLV I/II en la ANVISA: 10269360361

Revisión: Junio/2023

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACIÓN		CONTROL POSITIVO
	FECHA DE VALIDEZ (último día del mes)		CONTROL NEGATIVO
	LÍMITE DE TEMPERATURA (tienda)		RIESGO BIOLÓGICO
	EL CONTENIDO ES SUFICIENTE PARA <N> PRUEBA		INFLAMABLE
	VER INSTRUCCIONES DE USO		CORROSIVO
	PRODUCTO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA HTLV I/II

REF **K237**

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Test for the qualitative determination of Total Antibodies (IgG, IgA and IgM) for the HTLV I and HTLV II viruses in biological samples of serum or plasma through enzyme-immunoassay. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or enzyme immunoassay
The BIOLISA HTLV I/II kit is a solid phase immunoenzymatic assay based on the sandwich principle for the qualitative detection of Total Antibodies (IgG, IgA and IgM) to HTLV I/II in human serum and plasma. Total Antibodies (IgG, IgA and IgM) present in the sample bind to the Recombinant HTLV I/II Antigens coated on the microplate, forming immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Peroxidase-conjugated Recombinant Antigens are added to the microplate which is then incubated. The enzyme-conjugated Recombinant Antigens bind to the Anti-HTLV I/II Total Antibodies (IgG, IgA and IgM) present, bound to the Antigen-coated plate. A new wash is carried out to remove the surplus. After this step, the Substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of Total Anti-HTLV I/II Antibodies (IgG, IgA and IgM) present in the sample. Stop Solution is added to stop the reaction and there is a color change from blue to yellow as measured on a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Plate sensitized with Recombinant HTLV I/II Antigens and preservative.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Recombinant HTLV I/II Antigens linked to Peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Washing** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution (Phosphate < 0.5 mol/L, Potassium Chloride < 100 mmol/L, Sodium Chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.
- 4- Sample Diluent** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizers, surfactant and preservative.
- 5- Substrate** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution containing Urea Peroxide, Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Contains: Hydrochloric Acid 1 M.
- 7- Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, stabilizer, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer Solution, Total Antibodies (IgG, IgM and IgA) Anti-HTLV I/II, dye, stabilizers, surfactant and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- Plate Sealers**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1 – Sensitized Plate	1 Unit (96 cavities)	2 Units (192 cavities)	5 Units (480 cavities)
2 – Conjugate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
3 – Concentrated Washing	1 Vial x 50 mL	2 Vials x 50 mL	5 Vials x 50 mL
4 – Sample Diluent	1 Vial x 42 mL	2 Vials x 42 mL	5 Vials x 42 mL
5 - Substrate	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
9 – Stop Solution	1 Vial x 12 mL	2 Vials x 12 mL	5 Vials x 12 mL
7 –Negative Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
8 –Positive Control	1 Vial x 300 µL	2 Vials x 300 µL	5 Vials x 300 µL
9 – Plate Sealers	3 Units	6 Units	15 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipette capable of dispensing volumes of 5 to 500 µL with lower coefficient of variation than 1.5%.
- 2- Re-pipettor for repetitive pipetting volumes of 500 µL, with lower coefficient of variation than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Paper towel to dry cavities
- 6- Stopwatch or watch.
- 7- Flask to store the washing solution after dilution.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Tools of Quality Control.
- 10- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. Transport at temperatures up to 30°C should not exceed 5 days. Keep away from light and avoid humidity. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3- The sachet containing the microplate should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the sachet, seal and store be 2 to 8°C.
- 4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5- Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- 6- Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Handle it with care.
- 7- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti-HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the bio safety of these products.
- 8- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- 9- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 10- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry, and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.

- 11- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 14- Do not use the product in case of damaged packaging.
- 15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin).

Hemolysed or highly lipemic samples should not be used. The samples can be kept refrigerated, between 2 and 8°C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C.

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

The stability test results prove that the Biolisa HTLV I/II kit is stable after opening for up to 30 days. This stability may vary according to test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of vial N°3 (Concentrated Washing) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation, the solution can be stored at 2 to 30°C for up to 30 days. It can be stored at room temperature. If crystallization occurs, heat to 37°C until dissolution.

Substrate

The Substrate is ready to use.

TECHNIQUE

For use in automatic equipment, contact SAC (Customer Advice Service).

- Before starting the assay, place all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 – 30 °C) for at least 40 minutes.
- 1- Separate the wells to be used considering: Controls and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return unused microplate strips to the original sealed package.
- 2- Separate the first cavity for the Blank (OPTIONAL).
- 3- Pipette 100 µL of Sample Diluent. **Including the cavity for Blank.**
- 4- Pipette 5 µL of Samples and Controls into previously determined wells. Observe the color change of the diluent when adding the sample. The color change indicates that the sample was added to the well correctly.
- 5- Gently homogenize for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.
- 6- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 7- Remove the sealer from the cavities.
- 8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decantation (Manual). Use approximately 500 µL of Washing Solution, **previously prepared**, and perform a total of five (5) 30 second wash and soak cycles for each cycle. To guarantee the drying of the plate, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.
- Note:** Poor washing/drying may cause poor results.
- 9- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells.
- 10- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.
- 11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 12- Remove the plate sealer from the wells.
- 13- Repeat item 8.
- 14- Pipette 100 µL of Substrate into all wells.
- 15- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

- 16- Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.
- 17- Remove the plate sealer from the wells.
- 18- Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.
- 19- Gently homogenize for ± 30 seconds.
- 20- Read using a double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Check if the results obtained for reading the Blank and the Controls are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.150
Negative Control	< 0.150
Positive Control	> 1.000

If the values are out the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance of the Positive Control x 0.01) + 0.100

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Positive Control (Reagent N° 8)	2.156
	2.194
(Average Absorbance of the Positive Control x 0.01) + 0.100	((2.156 + 2.194)/2 x 0.01) + 0.100= 0.122

Calculate the Index by dividing the absorbance of the sample by the Cut Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1.564
Cut Off Value	0.122
Index = Sample / Cut Off Value	1.564 / 0.122 = 12.82

INTERPRETATION OF RESULTS

After calculating the index of the samples, consider the indices below to determine the results.

RESULTS	QUALITATIVE FOR SERUM SAMPLE AND PLASMA
	INDEX
Negative	< 0.90
Positive	> 1.1
Undetermined	0.9 – 1.1

Note: In the case of an undetermined result, the sample must be reanalyzed. Samples that obtain results repeatedly indeterminate conditions must be retested using an alternative method. If results remain indeterminate, a new sample in two weeks. The result of the last sample must prevail collected. The results provided by this kit must be interpreted responsible medical professional, and it is not the only criterion for the determining the diagnosis and /or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be established with basis of a single trial. Other confirmatory tests should be included, before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before the definitive diagnosis of the disease.

INTERFERENTS

No interference was observed for the concentrations of Triglycerides 1500 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, Rheumatoid Factor 980 IU/mL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti-Streptolysin O 1023 IU/mL. Plasma samples stored for periods longer than recommended (30 days) may show fibrin and fibronectin precipitation that may interfere with the test. These samples should not be used, as well as samples collected with other anticoagulants other than those mentioned (EDTA and heparin).

CROSS REACTIVITY

A study was performed with 90 samples negative for HTLV I/II but positive for other infections. Among them 10 positive samples for Zika, 10 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Chikungunya, 10 positive samples for Toxoplasmosis, 10 positive samples for Cytomegalovirus, 10 positive samples for Rubella, 10 positive samples for HIV, 10 positive samples for HBV and 10 samples positive for HCV. No cross-reactivity was observed with positive samples for Zika, Dengue, Chikungunya, Toxoplasmosis, Cytomegalovirus, Rubella, HIV, HBV and HCV. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis must consider the patient's clinical data along with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

PRUDUCT PERFORMANCE

ACCURACY

Repetibility

The repeatability was calculated from 10 successive determinations, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Repetibility	Sample		
	1	2	3
Average	0.700	2.539	0.103
Standard Deviation	0.051	0.068	0.004
Coefficient of Variation (%)	7.372	2.669	4.297

Reproducibility

The reproducibility was calculated from 10 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different values, obtaining the following absorbance results:

Reproducibility	Sample		
	1	2	3
Average	0.764	2.672	0.118
Standard Deviation	0.049	0.056	0.008
Coefficient of Variation (%)	6.425	2.102	6.892

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

The BIOLISA HTLV I/II kit was used for the analysis of clinical samples previously characterized and confirmed by another reference enzyme-immunoassay method. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA HTLV I/II kit is >99% and the clinical specificity >99%.

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY	Expected Result	BIOLISA HTLV I/II
Positive Sample	50	50
Negative Sample	183	183
Total Samples Tested	233	233

Clinic Sensitivity: >99% (50/50) (IC 95% = 92.9 – 100%)

Clinic Specificity: >99% (183/183) (IC 95% = 98.0 – 100%)

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

Human T-cell lymphotropic virus (HTLV) is a member of the Retroviridae family and is classified into two types: HTLV-1 and HTLV-2. These retroviruses infect human T cells that are important for the body's defense system. Since, HTLV-1 with preference for CD4 + cells and HTLV-2 with CD8 cells, both with the ability to integrate into the host cell's genome, becoming known as a provirus. Its transmission can be either vertical or horizontal through sexual intercourse, breast milk, blood transfusion and / or the use of intravenous drugs. The main pathologies caused by these viruses are adult T cell leukemia (LLcTA), Uveitis, in addition to other manifestations such as infectious dermatitis.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

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. QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service
Phone.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for BIOLISA HTLV I/II kit: 10269360361

Review: June/2023

UNIVERSAL SYMBOLOGY



CATALOG NUMBER



LOT NUMBER



MANUFACTURING DATE



VALIDITY DATE
(last day of the month)



TEMPERATURE LIMIT
(store)



CONTENT IS SUFFICIENT
FOR <N> TEST



SEE INSTRUCTIONS
FOR USE



IN VITRO DIAGNOSTIC
PRODUCT



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



DO NOT REUSE



CAUTION



MADE BY



CONTROL



POSITIVE CONTROL



NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



FLAMMABLE



CORROSIVE



TOXIC



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED



PRODUCT
STERILIZED



DANGER