

LIMITACIONES DEL MÉTODO

Para obtener un rendimiento óptimo del ensayo es necesario un cumplimiento estricto del procedimiento descrito; cualquier modificación puede provocar resultados anómalos.

Un resultado NEGATIVO no excluye la posibilidad de exposición a los virus ni de infección por HTLV-I o HTLV-II. Las tiras con resultado DUDOSO no deben utilizarse como base para el diagnóstico de infección por HTLV-III.

Se han notificado casos de serorreactividad para p19 o p24 en individuos no infectados de poblaciones de bajo riesgo, si bien los resultados dudosos de p24 son relativamente poco frecuentes.

Se ha informado de una sensibilidad del 95 % para la rpg46-I en Francia, siendo del 100 % para las muestras confirmadas por PCR en Jamaica y Estados Unidos y del 98 % de los donantes de sangre seropositivos para HTLV-I. Se ha demostrado que la sensibilidad a rpg46-II es superior al 98 % en las muestras confirmadas por PCR procedentes de Estados Unidos.

Se calcula que la sensibilidad global de los dos tipos, rpg46-I y rpg46-II, es mayor del 97 %. El pequeño porcentaje de muestras con HTLV-I y HTLV-II que resultan no reactivas con rpg46-I o rpg46-II son reactivas como mínimo a GD21 y a una o más bandas de GAG, p19 o p24, con lo cual cumplen los criterios de seropositiva para HTLV (patrón 4) o de dudosa (patrón 5). No se notificó ninguna interpretación de falso negativo.

Las pruebas complementarias como la PCR (para HTLV-I y HTLV-II) pueden ser útiles para distinguir las muestras seropositivas para HTLV que no se pueden identificar como HTLV-I ni como HTLV-II con el ensayo HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics (es decir, el patrón 4).

CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DEL FUNCIONAMIENTO

El funcionamiento del kit HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics para la detección de anticuerpos frente a HTLV-I y HTLV-II se evaluó utilizando muestras seropositivas y seronegativas para HTLV-I/II y se comparó con dos inmunoensayos en línea que incorporan antígenos de HTLV I y HTLV II (péptidos o proteínas recombinantes).

Sensibilidad

Para determinar la sensibilidad del HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics, se utilizaron muestras positivas para anticuerpos frente a HTLV I o/ y HTLV II mediante tests de ELISA comerciales.

A. Comparación con el inmunoensayo en línea 1
Los resultados del Blot para muestras positivas compradas de Boston Biomedica, Inc., USA (BBI), y ProMedDx comparando el HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics y el inmunoensayo en línea 1 (LI 1) fueron los siguientes:

Método	Inmunoensayo en línea 1			Total
	NEG / IND	POS	POS	
HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics	NEG / IND	3*	0	3
	POS	0	102	102
	Total	3	102	105

* El HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics presentó 2 resultados dudosos y 1 resultado negativo que también se detectó como negativo con el inmunoensayo en línea 1. El inmunoensayo en línea 1 presentó 3 resultados negativos.

Los dos Blots presentaron las siguientes discriminaciones para las 102 muestras positivas de HTLV:

Método	Interpretación				Total
	HTLV I	HTLV II	HTLV I & HTLV II**	No-tipable***	
HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics	45	53	4	0	102
LI 1	48	51	0	3	102

** Marcadores específicos tanto de HTLV I como de HTLV II han aparecido, lo que indica co-infección.

*** No es posible clasificar el tipo de HTLV debido a la ausencia de marcadores específicos.

Los resultados obtenidos con el HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics y con el LI 1 fueron similares. Los pocos resultados discordantes se deben a diferentes antígenos inmovilizados en los blots y a los diferentes métodos utilizados.

El kit HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics demostró una sensibilidad del 97,1 %, equivalente a la obtenida con el inmunoensayo en línea 1.

B. Comparación con el inmunoensayo en línea 2
Se evaluó el panel de anti-HTLV-I y anti-HTLV-II de la Sociedad Francesa de Transfusión Sanguínea, SFTS-94, que consiste en 26 muestras de HTLV-I y 6 muestras de HTLV-II. Los resultados del HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics con este panel fueron comparados con los del inmunoensayo en línea 2 (LI 2) como sigue:

Método	Interpretación				Total
	HTLV I	HTLV II	No-tipable	Falso NEG	
HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics	26	6	0	0	32
LI 1	21	6	4	1	32

El HTLV BLOT 2.4 de MP Diagnostics identifica correctamente las muestras positivas de HTLV, dando una sensibilidad >99,9 % con este panel. Con el kit de comparación (LI 2) la sensibilidad obtenida fue del 96,9 %.

Especificidad

Un total de 200 muestras de donantes de sangre fueron probadas resultando en una especificidad del 92,5 %. 15 muestras fueron dudosas y no hubo resultados positivos falsos.

Si se incluyen 150 muestras clínicas, 50 muestras de embarazadas, 50 potencialmente interferentes (10 de cada: ictericas, hemolizadas, triglicéridos, lipémicas, proteínas totales) y 73 muestras con riesgo potencial de reacción cruzada (TB, *Helicobacter pylori*, HEV, Dengue, HBV, HCV, HIV-1, HIV-2), la especificidad global fue del 89,2 % (461/517). 56

muestras fueron dudosas y no hubo resultados positivos falsos. 6 muestras fueron positivas confirmadas como verdaderas con otro test confirmatorio.

CLÁUSULA DE EXENCIÓN DE RESPONSABILIDAD

El fabricante garantiza exclusivamente que el kit de análisis funcionará como ensayo diagnóstico *in-vitro*, de acuerdo con las especificaciones y limitaciones descritas en el Manual de instrucciones del producto, cuando se use de conformidad con las instrucciones citadas en el mismo. El fabricante rehúsa cualquier garantía, expresa o implícita, incluida la garantía expresa o implícita relativa a la comercialización, adecuación para el uso o supuesta utilidad para cualquier otro fin. El fabricante sólo se obliga a la sustitución del producto o al reembolso del precio de compra del mismo. El fabricante no será responsable ante el comprador ni ante terceros de cualesquiera daños, perjuicios o pérdidas económicas provocados por la utilización o la aplicación del producto.

PROBLEMAS TÉCNICOS Y RECLAMACIONES

En caso de problemas técnicos o si desea presentar una reclamación, proceda de la siguiente manera:

1. Anote el número de lote del kit y su fecha de caducidad.
2. Conserve los kits y los resultados obtenidos.
3. Póngase en contacto con la oficina de MP Biomedicals más cercana o con su distribuidor local.

BIBLIOGRAFÍA

1. Towbin H., Staehlin T. and Gordon J. Electrophoretic transfer of proteins from polyacrylamide gels to nitrocellulose sheets: procedure and some applications. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 1976; 76: 4350-4354.
2. Poesz BJ., Ruscetti FW., Gazdar AF., Bonn PA., Minna JD. And Gallo RC. 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. U.S.A. 1980; 77(12): 7415-7419.
3. Kalyanaram VS., Samgadhara MG., Robert-Guroff M., Miyoshi I., Blayney D., Golde and Gallo RC. A new subtype of human T-cell leukemia virus (HTLV-II) associated with a T-cell variant of hairy cell leukemia. Science 1982; 218: 571-573,
4. William AE., Fang CT., Slamon DJ. et al. Seroprevalence and epidemiological correlates of HTLV-I infection in U.S. blood donors. Science 1988; 240: 643-646,
5. Lee H., Swanson P., Shorthy VS., Zack JA., Roseblatt JD. and Chen ISY. High rate of HTLV-II infection in seropositive IV drug abusers in New Orleans. Science 1989; 244: 471-475,
6. Lipka JJ., Bui K., Reyes GR, Moeckli R., Wiktor SZ., Blattner WA., Murphy EL., Hanson CV., Shaw GM., Shinsky JJ. and Fong SKH. Determination of a unique immunodominant epitope of HTLV-I. Infect Dis 1990; 162: 353-357
7. Wiktor SZ., Alexandra SS., Shaw GM. et al. Distinguishing between HTLV-I and HTLV-II by Western Blot. Lancet 1990; 335: 1533.
8. Samuel KP., Lautenberger JA., Jorcyk CL., Josephs S., Wong Staal F. and Papas TS. Diagnostic potential for human malignancies of bacterially produced HTLV-I envelope protein. Science 1984; 226: 1094-1097.
9. Hadlock KG., Goh CJ., Bradshaw PA., Perkins S., Lo J., Habbaz RK., Kaplan J. and Fong SKH. Delineation of an immunodominant and highly HTLV specific epitope within the HTLV-I transmembrane glycoprotein. Blood 1995; 68(4): 1392-1399.
10. Varma M., Rudolph D., Knuchel M., Switzer W., Hadlock KG., Velligan M., Chan L., Fong SKH., Lal RB. Enhanced specificity of truncated transmembrane protein for serologic confirmation of HTLV-I and HTLV-II infection by Western Blot assay containing recombinant envelope glycoproteins. J. Clin. Micro. 1995; 33(12): 3239-3244.
11. Lillehoj EP., Alexander SS., Dubrue CJ., Wiktor S., Adams R., Thi, A. Manns CC., and Blattner WA. Development and evaluation of a human T-Cell leukemia virus type I serologic confirmatory assay incorporating a recombinant envelope polypeptide. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 2653-2658.
12. Lal RB., Brodine SK., Coligan JE., and Roberts CR. Differential antibody responsiveness to p19 gag results in serological discrimination between human T-lymphotropic virus type I and type II. J. Med. Virol. 1991; 1: 232-236,
13. Hjelle B., Cyrus S., Swenson S., and Mills R. Serologic distinction between human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and HTLV type II. Transfusion 1991; 31: 731-736,
14. Madeleine, MM., Wiktor SZ., Goedert JL., Manns A., Levine PH., Biggar RJ., Blattner WA. HTLV-I and HTLV-II worldwide distribution: reanalysis of 4.832 immunoblot results. Inte. J. Cancer 1993; 54(2): 255-260,
15. World Health Organization's Global Programme on AIDS. WHO Global Programme on AIDS Information Update. Virus Information Exchange Newsletter 1990; 7(2): 54-55.
16. Lal, RB., Rudolph DL., Coligan JE., Brodine SK., and Roberts CR. Failure to detect evidence of human T-lymphotropic virus (HTLV) type I and type II in blood donors with isolated gag antibodies to HTLV-I/II. Blood 1992; 80: 544-550,
17. Khabbaz, RF., Heneine W., Grindon A., Hartley TM., Shulman G., and Kaplan J. Indeterminate HTLV serologic results in U.S. blood donors: Are they due o HTLV-I or HTLV-II? J. Acquir. Immune Defic. Syndr. 1992; 5: 400-404,
18. Lipka, JJ., Young KK., Kwok SY., Reyes GR., Shinsky JJ, and Fong SK. Significance of human T-lymphotropic virus type I indeterminate serological findings among healthy individuals. Vox Sang. 1991; 61: 171-176,
19. Zrein M., Louwagie J., Boeykens H., Govers L., Hendicx G., Bosman F., Sablon E., Demarquilly C., Boniface M., and Saman E. Assessment of a new immunoassay for serological confirmation and discrimination of human T-cell lymphotropic virus infections. Clin. Diag. Lab. Immunol. 1998; 5: 45-49.
20. Witt DJ., Kuramoto K., Kemper M., and Holland P. Utility of prospective study of donors deferred as HTLV indeterminate. Vox Sang. 2000; 78:130-131.

21. Hayes C.G., Burans JP., and Oberst RB. Antibodies to Human T Lymphotropic virus Type I in a population from the Philippines: Evidence for cross-reactivity with *Plasmodium falciparum*. The J. Infect. Dis. 1990; 163: 257-262,

22. Gallo D., Diggs JL., and Hanson CV. Evaluation of two commercial Human T-Cell Lymphotropic Virus Western blot (Immunoblot) kits with problem specimens. J. Clin. Microbiol. 1994; 32: 2046-2049.

23. Garin B., Gosselin S., de The G., and Gessain A. HTLV-I/II infection in a high viral endemic area of Zaire, Central Africa: Comparative evaluation of serology, PCR, and significance of indeterminate Western blot pattern. J. Med. Virol. 1994; 44: 104-109,

24. Fujiyama C., Fujiyoshi T., Matsumoto D., Yashiki S., Tamashiro H., and Sonoda S. Re-evaluation of anti-HTLV-I Western blot assay using HTLV-I and HTLV-II serum panels. Clin. & Diag. Virol. 1995; 4: 149-161,

25. Rouet F., Meertens L., Courouble G., Herrmann-Storck C., Pabingui R., Chancere B., Abid A., Strobel M., Maulere P., and Gessain A. Serological, epidemiological, and molecular differences between human T-cell lymphotropic virus type I - seropositive healthy carriers and persons with HTLV-I gag indeterminate Western blot patterns from the Caribbean. J. Clin. Microbiol. 2001; 39: 1247-1253

26. Cesaire R., Bera O., Maier H., Lezin A., Martial J., Ouka M., Kerob-Bauchet B., Ould Amar AK., and Vernant JC. Seroindeterminate patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood donors from Martinique, French West Indies. Transfusion 1999; 39: 1145-1149.

27. Soldan SS., Graf MD., Waziri A., Flerlage AN., Robinson SM., Kawaninshi T, Leist TP., Lehky TJ., Levin MC., and Jacobson S. HTLV-I/II seroindeterminate western blot reactivity in a cohort of patients with neurological disease. J. Infect. Dis. 1999; 180: 685-694,



MP Biomedicals Asia Pacific Pte Ltd.
2 Pioneer Place
Singapore 627885
Tel.: + 65 6775 0008
Fax: + 65 6774 6146
Correo electrónico: enquiry_ap@mpbio.com



MP Biomedicals GmbH Alemania
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Alemania
Tel. : +49 5651 921 204
Fax : +49 5651 921 181
Correo electrónico: diagnostics@mpbio.com

Oficinas regionales:

MP Biomedicals GmbH Alemania
Thüringer Straße 15
37269 Eschwege
Alemania
Tel. : +49 5651 921 204
Fax : +49 5651 921 181
Correo electrónico: diagnostics@mpbio.com

* Patente en EE. UU. 5.066.579; 5.614.366; 5.763.572; 5.814.441; 5.871.933; 5.643.714

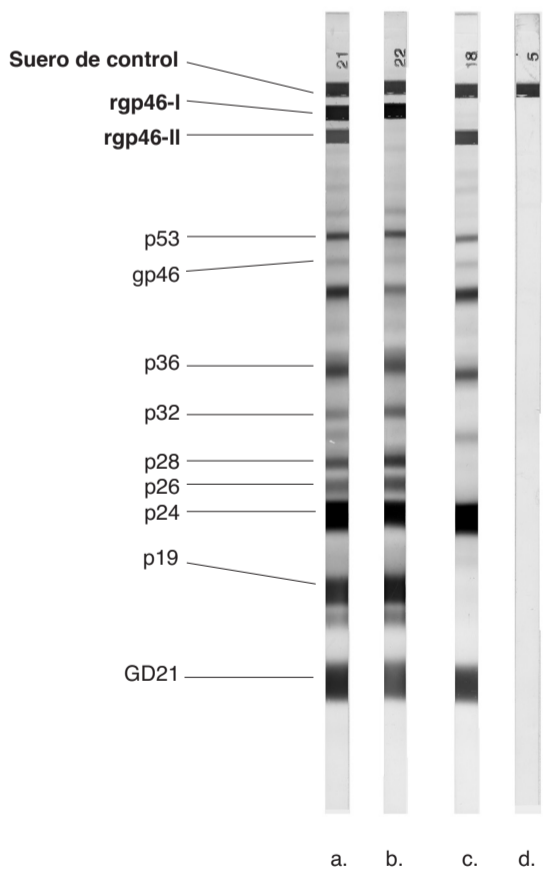
* Patente en Australia: 613350; 667189; 690540

* Patente en Canadá: 1337799

* Patente en Europa: 0395634

* Patente en Japón: 2559482

FIGURA 2



Bandas víricas específicas tal y como se ven con:

- a. Un suero con infección doble HTLV-I/II
- b. Control reactivo fuerte I (reactivo sólo para el HTLV-I)
- c. Control reactivo fuerte II (reactivo sólo para el HTLV-II)
- d. Control no reactivo