

Artigo original

## Análise do custo-benefício de dois algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1 e HTLV-2

### *Analysis on the cost-effectiveness of two laboratory testing algorithms for confirmatory diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 infections*

Emanuela Avelar Silva Costa<sup>III</sup>, Adele Caterino-de-Araujo<sup>III</sup>, Karoline Rodrigues Campos<sup>II</sup>

<sup>I</sup>Programa de Pós-Graduação em Ciências, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP.

<sup>II</sup>Centro de Imunologia, Instituto Adolfo Lutz, Coordenadoria de Controle de Doenças, Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, São Paulo, SP.

#### RESUMO

Desde 1998 o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo (IAL) tem realizado a sorologia para os vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 e 2 (HTLV-1 e HTLV-2) em amostras de sangue provenientes de pacientes da rede pública de saúde. Pelas dificuldades enfrentadas e experiência adquirida, os pesquisadores da Instituição têm avaliado e adaptado diversos algoritmos de testes laboratoriais, em busca do mais apropriado. Neste estudo foi realizada a análise de custo-benefício de dois algoritmos de testes confirmatórios para essa infecção viral: Algoritmo A, proposto pelo IAL em 2009, que utiliza o ensaio de *Western blot* (WB), sendo as amostras com resultados inconclusivos e negativos analisadas pela reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (*pol*); o Algoritmo B, proposto em 2010, que emprega primeiramente a PCR em tempo real (*pol*), e o WB nas amostras negativas. Os algoritmos detectaram 53 amostras positivas para HTLV-1/2 entre 73 analisadas. O Algoritmo A apresentou 19 resultados inconclusivos no WB, 37% confirmados como positivos pela PCR em tempo real. No Algoritmo B, 11 amostras de sangue resultaram falso-negativas pela PCR em tempo real. Os ensaios foram, portanto, complementares. Em função de grande número de soros com padrão indeterminado no WB e seu alto custo, o Algoritmo B parece ser o mais adequado, por apresentar redução de custos de 44%. Concluindo, nos laboratórios nacionais de referência (LACENs) que dispõem de equipamento para realizar a PCR em tempo real recomenda-se a utilização deste ensaio para efetuar o diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1/2, a fim de evitar gastos desnecessários ao SUS.

**PALAVRAS-CHAVE:** Vírus linfotrófico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1). HTLV-2. *Western blot* (WB). Reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real. Algoritmos de testes laboratoriais.

Suporte: Bolsa de Mestrado CAPES para EASC; Bolsa de Produtividade em Pesquisa MCT/CNPq para ACA # 303328/2009-6; Bolsa PIBIC para KRC; Auxílio Financeiro CCD-SES/SP, MCT/CNPq Universal # 481040/2007-2 e IAL # 33/07.

Nota: Artigo baseado na Dissertação de Mestrado de Emanuela Avelar Silva Costa, apresentada no Programa de Pós-Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças, da Secretaria de Estado da Saúde, São Paulo (SP), em 2010. "Introdução da reação em cadeia da polimerase em tempo real no algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2" - E. A. S. Costa.

## ABSTRACT

Since 1998 the Instituto Adolfo Lutz of São Paulo (IAL) has conducted serologic assays for human T-cell lymphotropic virus type 1 and type 2 (HTLV-1 and HTLV-2) in blood samples from patients from public health centers. Based on the skillful experience and the faced difficulties, the investigators of IAL evaluated several testing algorithm, searching for the most appropriate one. The present study assessed the cost-effectiveness of two test algorithms for confirming HTLV infections: Algorithm A, proposed in 2009, employs firstly the Western Blot (WB) assay and those samples with negative or inconclusive results are analyzed by real-time polymerase chain reaction (PCR) *pol*; and Algorithm B, proposed in 2010, employs firstly the real-time PCR, and negative samples are tested by WB. Of 73 analyzed blood samples, 53 were HTLV-1/2 positive in the algorithms. However, Algorithm A showed 19 inconclusive results, and 37% of which were confirmed by real-time PCR. Using Algorithm B, 11 blood samples showed false-negative results in real-time PCR. Thus, both confirmatory assays were complementary. Due to the high number of indeterminate results and the cost for running WB, the Algorithm B seemed to be mostly suitable. A 44% cost reduction was observed in using Algorithm B. In conclusion, in laboratories equipped to handle the real-time PCR, this assay could be employed for reducing the cost for the public health system.

**KEY WORDS:** Human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1). HTLV-2. Western blot (WB). Real-time polymerase chain reaction (PCR). Algorithm tests.

## INTRODUÇÃO

A infecção pelo vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 1 (HTLV-1) está associada à leucemia/linfoma de células T do adulto (ATL) e à paraparesia espástica tropical/mielopatia associada ao HTLV-1 (TSP/HAM), e é endêmica no Japão, Caribe, em alguns países africanos e em certas localidades do Brasil.<sup>1</sup> O vírus linfotrópico de células T humanas do tipo 2 (HTLV-2) não foi ainda confirmado como agente etiológico de um tipo particular de doença, exceção feita a algumas manifestações neurológicas semelhantes à TSP/HAM.<sup>2,3</sup>

O diagnóstico laboratorial de infecção por HTLV-1/2 se baseia na pesquisa de anticorpos específicos no soro/plasma ou de segmentos de DNA proviral em células do sangue periférico. Em vista dos diferentes prognósticos associados às infecções pelos HTLV-1/2, é fundamental que os testes diagnósticos sejam capazes de distinguir a infecção pelos dois vírus, no contexto de confirmação diagnóstica, de aconselhamento ao infectado e na prática da rotina clínica.

Em 1988, o *Food and Drug Administration* (FDA) dos Estados Unidos (EUA), licenciou

o primeiro *kit* EIA (ensaio imunoenzimático) para a detecção de anticorpos dirigidos ao HTLV-1, o qual é recomendado para efetuar a triagem sorológica de doadores de sangue e para a avaliação de pacientes com diagnóstico clínico sugestivo de ATL e TSP/HAM<sup>4</sup>. Desde então, novas gerações de EIA foram desenvolvidas com o intuito de melhorar a sensibilidade e a especificidade de detecção de anticorpos anti-HTLV-2.<sup>5,6</sup> Atualmente, alguns estudos apontam que os EIA de 2ª e 3ª geração são os que apresentam, respectivamente, maior especificidade e sensibilidade; e por esta razão recomenda-se que esses ensaios sejam utilizados simultaneamente na triagem sorológica.<sup>6-8</sup>

Subsequentemente, as amostras reagentes em pelo menos um EIA devem ser confirmadas por meio de ensaios sorológicos como imunofluorescência indireta (IFI), *Western blot* (WB) ou imunoensaio de linha (INNO-LIA). Assim como os EIA, os ensaios confirmatórios, em especial o WB, têm sido modificados ao longo dos anos, embora até o momento, nenhum tenha sido ainda aprovado pelo FDA-EUA. As glicoproteínas recombinantes do envelope do HTLV-1 e HTLV-2 (respectivamente, MTA-1/rgp46-I e K-55/rgp46-II) foram incorporadas ao WB, bem como a proteína recombinante transmembrana GD21 comum para os HTLV-1/2, para conferir maior especificidade ao teste.<sup>9,10</sup>

Os estudos, porém, têm mostrado que a última versão do WB (HTLV Blot 2.4, Genelabs® Diagnostics, Singapore) apesar de ser o teste sorológico mais utilizado para confirmação diagnóstica no Brasil e no mundo, apresenta grande percentual de resultados indeterminados e de amostras sem a especificação de tipo de HTLV (HTLV não tipadas); por conseguinte, embora a

infecção seja confirmada, não há discriminação do(s) vírus infectante(s).<sup>11-13</sup>

Como alternativa para o diagnóstico confirmatório e discriminatório das infecções pelos HTLV-1/2, os ensaios moleculares de amplificação genômica altamente específicos, como a reação em cadeia da polimerase (PCR) e a PCR em tempo real, têm sido frequentemente empregados, principalmente em amostras com padrão indeterminado persistente no WB.<sup>14-16</sup>

Em vista das dificuldades enfrentadas no diagnóstico de infecção pelos HTLV-1/2, desde 1998 o Instituto Adolfo Lutz de São Paulo da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde de São Paulo, tem avaliado e adaptado diversos algoritmos de testes laboratoriais com o propósito de estabelecer o mais apropriado para o diagnóstico confirmatório da infecção em população de risco atendida pela Instituição.<sup>17-24,6,13</sup>

De acordo com os estudos prévios realizados para avaliar o desempenho dos testes confirmatórios de WB e PCR, foi mostrado que nenhum dos dois ensaios, quando utilizado isoladamente, foi capaz de detectar todas as amostras verdadeiramente positivas para HTLV-1/2.<sup>9,10,16,21</sup> Em função desses resultados, foi sugerido o emprego de mais de um teste laboratorial no diagnóstico confirmatório.

Em 2009, o IAL propôs um algoritmo de testes laboratoriais que emprega uma única amostra de sangue coletada em tubo contendo anticoagulante, para ser utilizada na triagem sorológica e nos testes confirmatórios (sorológico e molecular). Amostras de sangue que resultam positivas na triagem são submetidas ao WB, e as amostras com resultados HTLV não tipado, indeterminado e negativo no WB, são analisadas pela técnica

de PCR em tempo real (*pol*) (Algoritmo A) (Figura 1).<sup>22</sup> Mais recentemente, em 2010, o IAL sugeriu um novo algoritmo que difere do anterior pelo uso inicial da PCR em tempo real (*pol*) seguido de teste confirmatório de WB (Algoritmo B) (Figura 1).<sup>3</sup>

Embora diversos estudos tenham apresentado dados sobre o desempenho dos ensaios confirmatórios para o diagnóstico de HTLV-1/2, nenhum desses estudos realizou análise de custo-benefício dos testes empregados. Neste contexto, pela experiência adquirida, o IAL na qualidade de Laboratório de Referência em retrovírus humanas, decidiu efetuar uma análise do custo-benefício dos dois algoritmos de testes laboratoriais (A e B) propostos pela Instituição para estabelecer qual o melhor a ser adotado com casuística considerada de alto risco.

## CASUÍSTICA E MÉTODOS

### Amostras

Entre 2007 e 2010, 959 amostras de sangue foram analisadas pelos testes sorológicos de triagem anti-HTLV-1/2 no IAL. Destas, 73 resultaram reagentes em pelo menos um EIA (BioELISA HTLV-I+II, Biokit de 2ª geração e/ou Murex HTLV-I+II, Abbott de 3ª geração) e foram submetidas aos testes confirmatórios de WB (HTLV Blot 2.4, Genelabs® Diagnostics, Singapore) e PCR em tempo real (*pol*) (Sistema Taq Man®, Applied Biosystems, USA).<sup>23</sup>

Os testes sorológicos foram realizados de acordo com as instruções dos fabricantes e os critérios de interpretação de bandas do teste confirmatório de WB 2.4 foram: Negativo: nenhuma reatividade para as bandas específicas do HTLV-1/2;

HTLV-1 soropositivo: reatividade para bandas dos genes *gag* (p19 com ou sem a p24) e *env* (GD21 e *rgp46-I*); HTLV-2 soropositivo: reatividade para bandas dos genes *gag* (p24 com ou sem a p19) e *env* (GD21 e *rgp46-II*); HTLV positivo, mas não tipado: reatividade para bandas dos genes *gag* (p19 e p24) e *env* (GD21); Indeterminado: reatividade para bandas específicas do HTLV, mas que não preenchem os critérios de positividade para o HTLV-1, ou HTLV-2 ou HTLV.

Para o ensaio molecular de PCR em tempo real foi utilizado o protocolo descrito por Costa et al. (2011) que se baseia na pesquisa de segmento *pol* do genoma proviral de HTLV-1 e HTLV-2 e de parte do gene da albumina humana como controle endógeno de reação.<sup>24</sup>

### Algoritmos de testes confirmatórios

Foram comparados os resultados obtidos pelos testes confirmatórios de WB e PCR em tempo real para verificar a concordância entre eles e realizada a análise de custo-benefício pela sequência em que foram empregados (Algoritmo A e Algoritmo B).

Para a análise do custo-benefício dos ensaios confirmatórios foram considerados o preço de *kits* (HTLV Blot 2.4, Genelabs® Diagnostics e PureLink™ Genomic DNA, Invitrogen™) e dos materiais de consumo (*primers*, sondas, enzimas, marcadores de peso molecular, tampões, materiais descartáveis, EPIs), o tempo de execução dos ensaios, o número de repetições e a infraestrutura necessária. Não foram computados os valores de equipamentos, já existentes no Laboratório.

## Aspectos éticos

A pesquisa foi aprovada pelos Comitês Científico e de Ética em Pesquisa do IAL (CCD-BM # 33/07).

## RESULTADOS

Foram consideradas positivas para a infecção por HTLV-1/2, 53 amostras de sangue que resultaram WB e/ou PCR em tempo real (*pol*) positivas, as últimas confirmadas por sequenciamento (dados não apresentados). O teste confirmatório de WB foi mais sensível, capaz de detectar 48 (90,56%) amostras positivas enquanto a PCR em tempo real detectou 42 (79,25%) amostras positivas. No entanto, a PCR em tempo real foi capaz de discriminar infecção por HTLV-1 e HTLV-2 em duas das três amostras que resultaram HTLV não tipadas pelo WB. Além disso, a PCR em tempo real detectou cinco amostras positivas (uma para HTLV-1 e quatro para HTLV-2) dentre 16 amostras que apresentaram perfil indeterminado à análise por WB. A Tabela 1 apresenta estes resultados e a Figura 2 o perfil de bandas obtido no WB, com as amostras com resultados discordantes nos testes confirmatórios.

A Tabela 2 apresenta a comparação dos testes confirmatórios de WB e PCR em tempo real quanto a características operacionais, indicadores de desempenho e preço dos testes, enquanto a Tabela 3 apresenta o custo final ao se utilizar o Algoritmo A e o Algoritmo B com a casuística deste estudo. Houve diminuição de 44% no custo dos testes confirmatórios de infecção por HTLV-1/2, quando foi empregado o Algoritmo B.

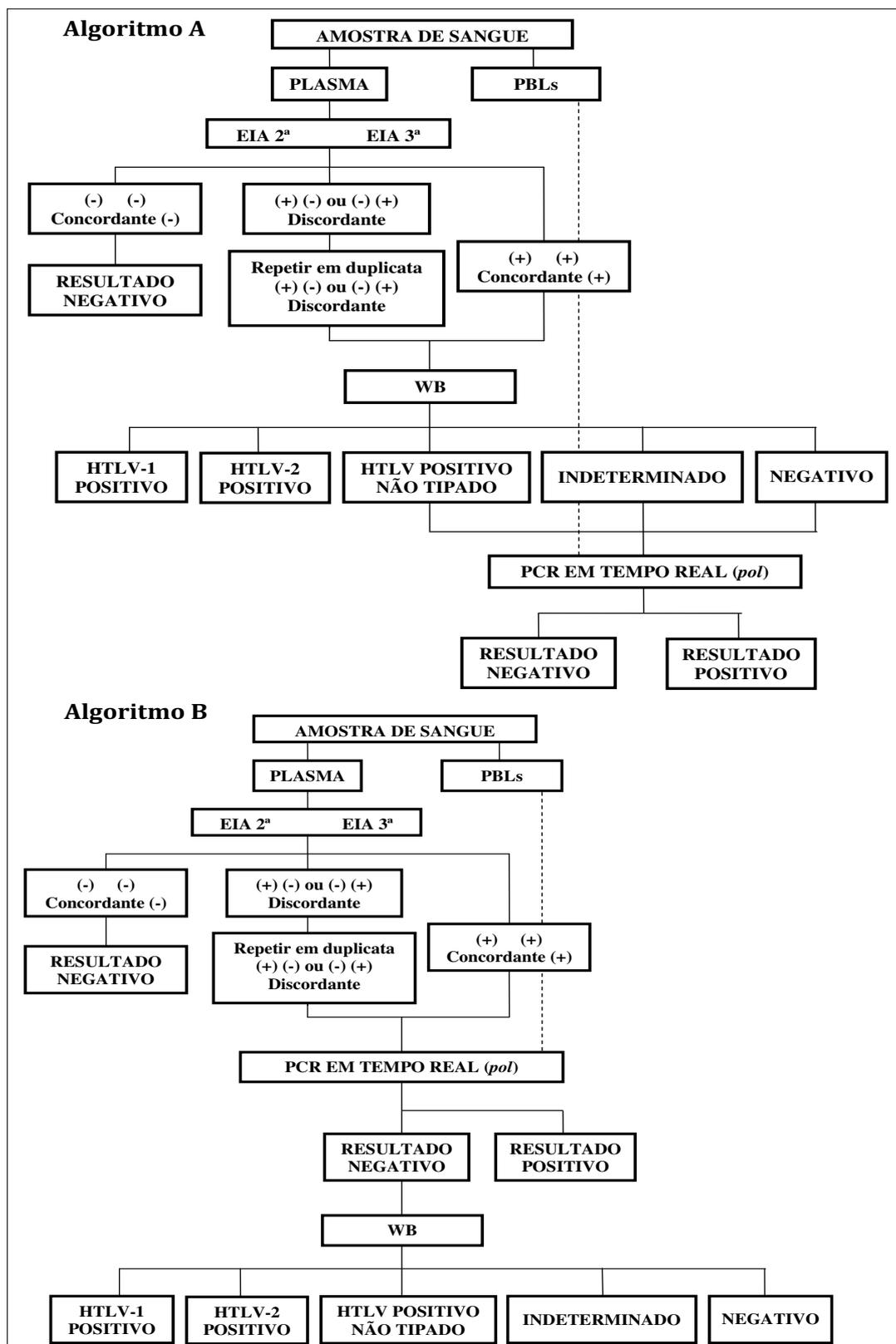
## DISCUSSÃO

Em regiões endêmicas de infecção por HTLV-1/2, diversos laboratórios de diagnóstico têm empregado mais de um EIA na triagem sorológica, em vista da baixa sensibilidade e especificidade dos ensaios de 2<sup>a</sup> e 3<sup>a</sup> gerações que estão disponíveis no mercado.<sup>6-8</sup> Da mesma forma, os testes mais utilizados para o diagnóstico confirmatório da infecção [HTLV Blot 2.4, Genelabs® Diagnostics, Singapore e PCR (convencional e em tempo real)] têm apresentado resultados inconclusivos quando utilizados como único ensaio,<sup>21,24</sup> e este procedimento tem comprometido a qualidade do diagnóstico fornecido ao clínico e ao paciente.

**Tabela 1.** Resultados dos testes confirmatórios de WB e PCR em tempo real (*pol*) empregados no diagnóstico de infecção por HTLV-1/2 em 73 amostras de sangue reagentes na triagem sorológica.

| Resultados         | Western Blot<br>N | PCR em tempo real ( <i>pol</i> ) |               |               |
|--------------------|-------------------|----------------------------------|---------------|---------------|
|                    |                   | HTLV - 1<br>N                    | HTLV - 2<br>N | Negativo<br>N |
| HTLV - 1           | 24                | 20                               |               | 4             |
| HTLV - 2           | 21                |                                  | 15            | 6             |
| HTLV não tipado    | 3                 | 1                                | 1             | 1             |
| Indeterminado      | 16                | 1                                | 4             | 11            |
| Negativo           | 9                 |                                  |               | 9             |
| <b>Total Geral</b> | <b>73</b>         | <b>22</b>                        | <b>20</b>     | <b>31</b>     |

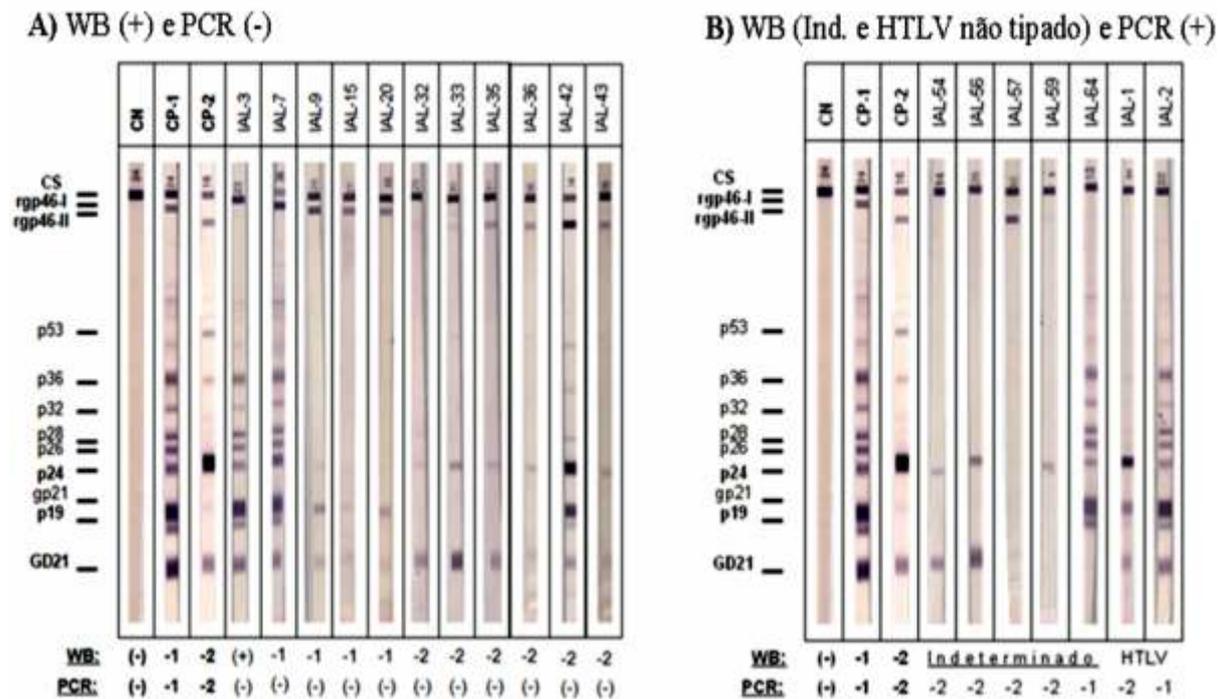
WB: HTLV Blot 2.4, Genelabs® Diagnostics; n: número de amostras testadas



Legendas: +: soro reagente; -: soro não reagente; EIA: ensaio imunoenzimático; EIA 2ª: EIA de segunda geração; EIA 3ª: EIA de terceira geração; PBLs: células do sangue periférico; WB: Western blot; PCR: reação em cadeia da polimerase.

Fonte: Adaptado de Costa et al. (2009)<sup>22</sup> e Costa (2010)<sup>23</sup>

**Figura 1.** Algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 adotados pelo Instituto Adolfo Lutz de São Paulo



Legendas: CN (controle negativo); CP-1 (controle positivo para HTLV-1); CP-2 (controle positivo para HTLV-2); WB (WB 2.4); PCR (PCR em tempo real *pol*); (+) (resultado positivo para HTLV); (-) (resultado negativo para HTLV); -1 (HTLV-1); -2 (HTLV-2). Critérios de positividade de acordo com Casuística e Métodos

**Figura 2.** Perfis de reatividade do WB das amostras discordantes nos testes utilizados no diagnóstico confirmatório de infecção por HTLV-1/2

**Tabela 2.** Comparação das características operacionais e dos indicadores de desempenho dos testes confirmatórios de WB e PCR em tempo real (*pol*).

| Parâmetros                                 | Western blot   | PCR em tempo real ( <i>pol</i> )                                      |
|--|--|---|
| Nº de agentes pesquisados                  | 2 agentes (HTLV - 1 e 2)                                 | 2 agentes (HTLV - 1 e 2)  |
| Controle de reação                         | imunoglobulina   | Albumina  |
| Limiar de detecção                         | -  | pol: 1000pg de DNA alvo   |
| Resultados                                 | Qualitativos   | Semi-quantitativos  |
| Quantificação de:                          | Anticorpos: não permite                                  | DNA: permite  |
| Interpretação dos resultados               | Baseado na observação de bandas em tira de nitrocelulose | Baseado em valores de Ct determinados pelo software                   |
| Equipamentos necessários                   | Plataforma oscilante<br>Equipamento compressor           | Automação para PCR em tempo real (amplificação e detecção simultânea) |
| Tempo de reação                            | 4 h  | 3 h   |
| Tempo para o resultado final               | 5 h  | 4 h   |
| Honorários técnicos*                       | R\$ 125,00   | R\$ 100,00  |
| Rendimento:                                | 1 tira por amostra                                       | 1 placa: 30 amostras + 3 controles + 3 NTC                            |
| Custo por teste                            | R\$ 250,00   | R\$ 42,38   |
| Limitações do método em população de risco | 16/73 (21,92%) indeterminados                            | 11/53 (20,75%) falso negativas  |

\*R\$ 25,00/hora; NTC: *no template control* (controle de contaminação do laboratório)

**Tabela 3.** Levantamento de custos de ensaios confirmatórios de WB e PCR em tempo real (*pol*) adotando-se o Algoritmo A e B em 73 amostras de sangue que resultaram reagentes na triagem sorológica de infecção por HTLV-1 e HTLV-2.

| Algoritmo A                    |                  | Algoritmo B                    |                  |
|--------------------------------|------------------|--------------------------------|------------------|
| Teste                          | Custo (R\$)      | Teste                          | Custo (R\$)      |
| 1. WB 2.4<br>(n=73)            | 18.250,00        | 1. PCR em tempo real<br>(n=73) | 3.093,81         |
| 2. PCR em tempo real<br>(n=28) | 1.186,64         | 2. WB 2.4<br>(n=31)            | 7.750,00         |
| <b>Custo final</b>             | <b>19.436,64</b> | <b>Custo final</b>             | <b>10.843,81</b> |

Algoritmo A. 1º teste confirmatório (WB) em 73 amostras. As amostras HTLV positivas, mas sem discriminação de tipos virais, indeterminadas e negativas a serem submetidas ao teste suplementar de PCR em tempo real (n=28). Algoritmo B: 1º teste confirmatório (PCR em tempo real) em 73 amostras; amostras negativas a serem submetidas ao teste suplementar de WB (n=31)

Assim, em função da necessidade de se utilizar um ou mais testes suplementares para a confirmação diagnóstica de infecção por HTLV-1/2, fica evidente a importância da realização de estudos para avaliar e adequar os algoritmos de testes laboratoriais às unidades que atendem diferentes populações no Brasil e no mundo.<sup>25,26,18</sup>

Em virtude de não haver um teste confirmatório considerado “padrão ouro” licenciado pelo FDA-EUA, há quatro anos o IAL tem proposto diversos algoritmos de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1/2, que têm sido exaustivamente avaliados e adequados à população de risco atendida pela Instituição (pacientes com HIV/Aids e pacientes de Ambulatórios de Especialidades do SUS).<sup>18,22-24</sup> O alto custo do reagente de WB comercializado no Brasil (aproximadamente R\$250,00 por teste), associado ao elevado percentual de resultados indeterminados e à carência de padronização das reações de PCR nos laboratórios de diagnóstico do país (diferentes conjuntos de *primers* e sondas utilizados, bem como protocolos de reações distintos) vêm

corroborar a necessidade de efetuar a avaliação dos algoritmos desses testes diagnósticos.

Em relação ao desempenho dos testes confirmatórios empregados no presente estudo, foi observado que o WB foi mais sensível do que a PCR em tempo real (*pol*). Contudo, a PCR foi mais específica, capaz de elucidar amostras HTLV não tipadas e indeterminadas no WB.<sup>15,16,21,23</sup> Apesar da menor sensibilidade da PCR em tempo real, há que se ressaltar que quando utilizada em população infectada por HTLV-1 e HTLV-2 com número razoável de células mononucleares no sangue periférico, sua sensibilidade beira os 100%. No entanto, em portadores de HIV/Aids, este valor caiu assustadoramente.<sup>24</sup>

Quanto aos perfis indeterminados no WB, estes podem estar associados a período de soroconversão do HTLV, a possíveis reações cruzadas com outros vírus e/ou parasitas, a infecção com cepas de HTLV defectivas ou a variantes virais diferentes das empregadas nos testes diagnósticos.<sup>27,13,15</sup> Em relação a PCR em tempo real, os resultados negativos podem ser devidos

à má qualidade ou pouca quantidade da amostra de sangue coletada do paciente ou a pequena carga proviral na ocasião da coleta dessa espécime. De fato, a imunossupressão observada nos casos de Aids, a baixa carga proviral presente em portadores assintomáticos de HTLV-2, principalmente do gênero feminino, e as flutuações de carga proviral que ocorrem durante a introdução de terapia antirretroviral podem ter sido os responsáveis pelos resultados negativos na PCR em tempo real, no presente estudo.<sup>28-30</sup>

Considerando-se todos estes resultados e os dados de literatura, cabe ressaltar que independentemente do desempenho dos testes confirmatórios apresentados, fica evidente que nenhum ensaio, seja sorológico ou molecular, quando empregado isoladamente, é capaz de detectar todos os indivíduos com infecção por HTLV-1/2 em população de risco.

O presente estudo demonstrou que ambos os algoritmos, recentemente adotados pelo IAL para o diagnóstico confirmatório, foram capazes de detectar a infecção por HTLV-1/2 nas 53 amostras verdadeiramente positivas. No entanto, o

Algoritmo B por ser mais econômico e por ter reduzido em 7% os resultados indeterminados no WB, foi considerado o mais apropriado.

O uso da PCR em tempo real precedendo o emprego do WB como teste confirmatório em unidades laboratoriais que já dispõem de equipamento necessário, viabiliza a realização do diagnóstico molecular de forma rápida, menos onerosa e segura. Todavia, é importante enfatizar que a pesquisa de anticorpos específicos feita pelo WB não pode ser descartada.

Na escolha do algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção devem ser considerados a finalidade, a população atendida, os recursos financeiros e a infra-estrutura do laboratório. Atualmente, o Algoritmo B sugerido neste trabalho encontra-se em fase de validação com um número maior de amostras de sangue da rotina diagnóstica do IAL, para que após as análises, possa ser implantado seguramente na Instituição, e na qualidade de laboratório de referência em retrovírus humanas, possa ser recomendado aos demais Laboratórios Nacionais de Referência (LACENs) de todo o Brasil.

## REFERÊNCIAS

1. Proietti FA, Carneiro-Proietti ABF, Catalan-Soares BC, Murphy EL. Global epidemiology of HTLV-I infection and associated diseases. *Oncogene*. 2005; 24(39):6058-68.
2. Posada-Vergara MP, Montanheiro P, Fukumori LMI, Bonasser F, Duarte AJS, Penalva De Oliveira AC et al. Clinical and epidemiological aspects of HTLV-II infection in São Paulo, Brazil: presence of tropical spastic paraparesis/HTLV-associated myelopathy (TSP/HAM) simile diagnosis in HIV-1-co-infected subjects. *Rev Inst Med Trop S Paulo*. 2006; 48(4):207-10.
3. Orland JR, Engstrom J, Fridey J, Sacher RA, Smith JW, Nass C et al. Prevalence and clinical features of HTLV neurologic

- disease in the HTLV outcomes study. *Neurol.* 2003; 61(11): 1588-94.
4. CDC - Centers for Disease Control and Prevention. Current trends licensure of screening tests for antibody to human T-lymphotropic virus type I. *MMWE Morb Mortal Wkly Rep.* 1988; 37(48): 736-40. [acesso em 11 set. 2001]. Disponível em: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/00001311.htm>.
  5. Hartley MT, Malone GE, Khabbaz RF, Lal RB, Kaplan JE. Evaluation of a recombinant human T-cell lymphotropic virus type I (HTLV-I) p21E antibody detection enzyme immunoassay as a supplementary test in HTLV-I/II antibody testing algorithms. *J Clin Microbiol.* 1991; 29(6): 1125-7.
  6. Caterino-de-Araujo A. Best screening assays for the diagnosis of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 in South America. *J Virol Methods.* 2009; 156(1-2): 150-1.
  7. Berini, C.A., Pascuccio, S., Bautista, C.T., Gendler, S.A., Eirin, M.E., Rodrigues, C., Pando, M.A., Biglione, M.M., 2008. Comparison of four commercial screening assays for the diagnosis of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2. *J. Virol. Methods* 147, 322-7.
  8. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of Sao Paulo, Brazil. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo.* 2007; 49(6): 361-4.
  9. Wiktor SZ, Alexander SS, Shaw GM, Weiss SH, Murphy EL, Wilks RJ et al. Distinguishing between HTLV - 1/I and HTLV - 2/II by Western blot. *Lancet.* 1990; 335(8704): 1533.
  10. Poiesz BJ, Dube S, Choi D, Esteban E, Ferrer J, Leon-Ponte M et al. Comparative performances of an HTLV-I/II EIA and other serologic and PCR assays on samples from persons at risk for HTLV-II infection. *Transfusion.* 2000; 40(8): 924-30.
  11. Césaire R, Bera O, Maier H, Lezin A, Martial J, Ouka M et al. Seroindeterminate patterns and seroconversions to human T-lymphotropic virus type I positivity in blood donors from Martinique, french west Indies *Transfusion.* 1999; 39(10): 1145-9.
  12. Mangano AM, Remesar M, del Pozo A, Sen L. Human T lymphotropic virus types I and II proviral sequences in Argentinian blood donors with indeterminate Western blot patterns. *J Med Virol.* 2004; 74(2): 323-7.
  13. Jacob F, Santos-Fortuna E, Azevedo RS, Caterino-de-Araujo A. Serological patterns and temporal trends of HTLV-1/2 infection in high-risk populations attending Public Health Units in São Paulo, Brazil. *J Clin Virol.* 2008; 42(2): 149-55.
  14. Tamegão-Lopes BP, Rezende PR, Maradei-Pereira LMC, Lemos JAR. HTLV-1 and HTLV-2 proviral load: a simple method using quantitative real-time PCR. *Rev Soc Bras Med Trop S Paulo.* 2006; 39(6): 548-52.
  15. Costa JMP, Segurado AC. Molecular evidence of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2 (HTLV-1 and HTLV-2) infections in HTLV seroindeterminate individuals from São Paulo, Brazil. *J Clin Virol.* 2009; 44(3): 185-9.
  16. Andrade RG, Ribeiro MA, Namen-Lopes MSS, Silva SMN, Basques FV, Ribas JG et al. Análise do uso da PCR em tempo real para HTLV-1 e 2 como teste confirmatório na triagem de doadores de sangue.

- Rev Soc Bras Med Trop S Paulo. 2010; 43(2): 111-5.
17. Caterino-de-Araujo A, Santos-Fortuna E, Meleiro MCZ, Suleiman J, Calabro ML, Favero A et al. Sensitivity of two enzyme-linked immunosorbent assay tests in relation to Western blot in detecting human T-cell lymphotropic virus types I and II infection among HIV-1 infected patients from São Paulo, Brazil. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1998; 30(3):173-82.
  18. Jacob F, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Algoritmo de testes sorológicos de triagem para infecção por HTLV-1/2 usado no Instituto Adolfo Lutz de São Paulo. *BEPa - Bol Epidemiol Pauli.* 2008; 5(23): 12-8.
  19. Jacob F, Magri MC, Costa EAS, Santos-Fortuna E, Caterino-de Araujo A. Comparison of signal-to-cutoff values in first, second, and third generation enzyme immunoassays for the diagnosis of HTLV-1/2 infection in "at-risk" individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods.* 2009; 159: 288-90.
  20. Caterino-de-Araujo A. Diagnóstico de infecção por vírus linfotrópicos de células T humanas dos tipos 1 (HTLV-1) e -2 (HTLV-2) em população de risco: passado, presente e futuro. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2009; 68(2): 182-6.
  21. Morimoto HK, Morimoto AA, Reiche EMV, Ueda LT, Matsuo T, Reice FV et al. Difficulties in the diagnosis of HTLV-2 infection in HIV/AIDS patients from Brazil: Comparative performances of serologic and molecular assays, and detection of HTLV-2b subtype. *Rev Inst Med Trop S Paulo.* 2007; 49(4): 225-30.
  22. Costa EAS, Jacob F, Feliciano R, Santos-Fortuna E, Caterino-de-Araujo A. Falha na implantação de um novo algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2 em população de risco. *Rev Inst Adolfo Lutz.* 2009; 68(2): 314-7.
  23. Costa EAS. Introdução da reação em cadeia da polimerase em tempo real no algoritmo de testes laboratoriais para o diagnóstico de infecção por HTLV-1 e HTLV-2. [Dissertação de Mestrado] São Paulo Programa de Pós Graduação em Ciências da Coordenadoria de Controle de Doenças da Secretaria de Estado da Saúde, 2010. 101pp.
  24. Costa EAS, Magri MC, Caterino-de Araujo A. The best algorithm to confirm the diagnosis of HTLV-1 and HTLV-2 in at-risk individuals from São Paulo, Brazil. *J Virol Methods.* 2011;173(2):280-6.
  25. Sabino EC, Carvalho SMF. Diagnóstico laboratorial do HTLV. In: PROIETTI ABFC (org) ed. HTLV - Cadernos Hemominas. 2006; 8: 61-8.
  26. Thorstensson R, Albert J, Andersson S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. *Transfusion.* 2002; 42(6): 780-91.
  27. Medrano FJ, Soriano V, Calderón EJ, Rey C, Gutiérrez M, Bravo R et al. Significance of indeterminate reactivity to human T-cell lymphotropic virus in Western blot analysis of individuals at risk. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1997; 16(3): 249-52.
  28. Olah I, Fukumori LMI, Smid J, Penalva de Oliveira AC, Duarte AJS, Casseb J. Neither molecular diversity of envelope, immunosuppression status, nor proviral load causes indeterminate HTLV Western

- blot profiles in samples from human T-cell lymphotropic virus type 2 (HTLV-2)-infected individuals. J Med Virol. 2010; 82: 837-42.
29. Montanheiro PA, Olah I, Fukumori LMI, Smid J, Penalva de Oliveira AC, Kanzaki LIB et al. Low DNA HTLV-2 proviral load among women in São Paulo City. Virus Res. 2008; 135: 22-5.
30. Machuca A, Soriano V. In vivo fluctuation of HTLV-I and HTLV-II proviral load in patients receiving antiretroviral drugs. J Acquir Immune Defic Syndr. 2000; 24(2):189-93.

Recebido em: 22/06/2011  
Aprovado em: 31/08/2011

**Correspondência/correspondence to:**  
Adele Caterino-de-Araujo  
Instituto Adolfo Lutz, Centro de Imunologia  
Av. Dr. Arnaldo, 355, 11º andar  
CEP 01246-902, São Paulo, SP, Brasil  
Tel./Fax: 55 11 3068-2898.  
E-mail: caterino@ial.sp.gov.br