

Western Blot e PCR em tempo real em
pacientes com leucemia/linfoma de
células T do adulto associado ao HTLV-1

Nº 220
Junho/2016



produto/procedimento

RELATÓRIO DE RECOMENDAÇÃO





2016 Ministério da Saúde.

É permitida a reprodução parcial ou total desta obra, desde que citada a fonte e que não seja para venda ou qualquer fim comercial.

A responsabilidade pelos direitos autorais de textos e imagens desta obra é da CONITEC.

Informações:

MINISTÉRIO DA SAÚDE

Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos

Esplanada dos Ministérios, Bloco G, Edifício Sede, 8º andar

CEP: 70.058-900, Brasília – DF

E-mail: conitec@saude.gov.br

<http://conitec.gov.br>



CONTEXTO

Em 28 de abril de 2011, foi publicada a Lei nº 12.401 que dispõe sobre a assistência terapêutica e a incorporação de tecnologias em saúde no âmbito do SUS. Esta lei é um marco para o SUS, pois define os critérios e prazos para a incorporação de tecnologias no sistema público de saúde. Define, ainda, que o Ministério da Saúde, assessorado pela Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias – CONITEC, tem como atribuições a incorporação, exclusão ou alteração de novos medicamentos, produtos e procedimentos, bem como a constituição ou alteração de protocolo clínico ou de diretriz terapêutica.

Tendo em vista maior agilidade, transparência e eficiência na análise dos processos de incorporação de tecnologias, a nova legislação fixa o prazo de 180 dias (prorrogáveis por mais 90 dias) para a tomada de decisão, bem como inclui a análise baseada em evidências, levando em consideração aspectos como eficácia, acurácia, efetividade e segurança da tecnologia, além da avaliação econômica comparativa dos benefícios e dos custos em relação às tecnologias já existentes.

A nova lei estabelece a exigência do registro prévio do produto na Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) para que este possa ser avaliado para a incorporação no SUS.

Para regulamentar a composição, as competências e o funcionamento da CONITEC foi publicado o Decreto nº 7.646 de 21 de dezembro de 2011. A estrutura de funcionamento da CONITEC é composta por dois fóruns: Plenário e Secretaria-Executiva.

O Plenário é o fórum responsável pela emissão de recomendações para assessorar o Ministério da Saúde na incorporação, exclusão ou alteração das tecnologias, no âmbito do SUS, na constituição ou alteração de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas e na atualização da Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (RENAME), instituída pelo Decreto nº 7.508, de 28 de junho de 2011. É composto por treze membros, um representante de cada Secretaria do Ministério da Saúde – sendo o indicado pela Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos (SCTIE) o presidente do Plenário – e um representante de cada uma das seguintes instituições: ANVISA, Agência Nacional de Saúde Suplementar - ANS, Conselho Nacional de Saúde - CNS, Conselho Nacional de Secretários de Saúde - CONASS, Conselho Nacional de Secretarias Municipais de Saúde - CONASEMS e Conselho Federal de Medicina - CFM.



Cabem à Secretaria-Executiva – exercida pelo Departamento de Gestão e Incorporação de Tecnologias em Saúde (DGITS/SCTIE) – a gestão e a coordenação das atividades da CONITEC, bem como a emissão deste relatório final sobre a tecnologia, que leva em consideração as evidências científicas, a avaliação econômica e o impacto da incorporação da tecnologia no SUS.

Todas as recomendações emitidas pelo Plenário são submetidas à consulta pública (CP) pelo prazo de 20 dias, exceto em casos de urgência da matéria, quando a CP terá prazo de 10 dias. As contribuições e sugestões da consulta pública são organizadas e inseridas ao relatório final da CONITEC, que, posteriormente, é encaminhado para o Secretário de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos para a tomada de decisão. O Secretário da SCTIE pode, ainda, solicitar a realização de audiência pública antes da sua decisão.

Para a garantia da disponibilização das tecnologias incorporadas no SUS, o decreto estipula um prazo de 180 dias para a efetivação de sua oferta à população brasileira.



SUMÁRIO

1.	RESUMO EXECUTIVO	4
2.	A DOENÇA.....	6
2.1	Aspectos clínicos da leucemia/linfoma associado ao HTLV-1	6
2.2	Tratamento da leucemia/linfoma associada ao HTLV-1	6
3.	DESCRIÇÃO DA TECNOLOGIA AVALIADA	7
4.	EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS.....	8
5.	INFORMAÇÕES ECONÔMICAS	9
6.	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	10
7.	DELIBERAÇÃO FINAL.....	11
8.	DECISÃO	11
9.	REFERÊNCIAS.....	12



1. RESUMO EXECUTIVO

Tecnologia: *Western Blot e PCR em tempo real (RT-PCR).*

Indicação: Teste confirmatório em pacientes com leucemia/linfoma associada ao HTLV.

Demandante: Secretaria de Vigilância em Saúde.

Contexto: Um dos requisitos para garantir a instituição de um tratamento adequado aos pacientes acometidos por leucemia/linfoma associada ao HTLV-1 é a confirmação diagnóstica da infecção por HTLV-1. Essa confirmação, dá-se hoje por meio de exames laboratoriais, a saber: ELISA, WESTERN BLOT e PCR em tempo real (RT-PCR). O Elisa já se encontra incorporado ao SUS para investigação diagnóstica nesta doença, contudo, por conta de sua baixa acurácia, são necessárias outras provas confirmatórias que permitam um diagnóstico preciso da doença que possibilite que pacientes com possibilidade de tratamento, como é o caso dos pacientes com leucemia/linfoma acometidos pelo HTLV-1, recebam o melhor tratamento. O processo diagnóstico da infecção pelo HTLV se baseia na detecção de anticorpos anti-HTLV circulantes no sangue. Geralmente o processo se inicia através da realização do ELISA. Para confirmação do diagnóstico, é recomendada a realização de um teste complementar em casos com ELISA positivo. Além de confirmar o diagnóstico, os exames complementares também irão diferenciar entre HTLV-I e HTLV-II e descartar casos falso-positivos. As combinações tornam a sensibilidade e especificidade mais confiáveis. Dentre estes testes os mais utilizados são o *Western Blot* (WB), e o teste de biologia molecular (PCR).

Evidências científicas: O *Western blot* é um teste imunoenzimático para detecção de anticorpos anti-HTLV-1 e HTLV-2, utilizado como teste confirmatório da infecção pelo HTLV após reatividade em teste de triagem e também para diferenciação entre a presença de HTLV-1 e HTLV-2. É o teste mundialmente mais aceito como exame confirmatório para HTLV. Os antígenos utilizados pelos testes mais modernos incluem as proteínas env recombinante GD21, presente nos dois vírus, e rgp46-I e rpg46-II, respectivamente específicas do HTLV-I e HTLV-II. Além das proteínas gag p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53. Da mesma forma, a PCR em tempo real surge para melhorar a acurácia dos resultados, abrindo novas perspectivas sobre seu uso na prática clínica. Alguns estudos mostram que a sensibilidade da PCR-RT é de 100% e especificidade de 96,7 a 100%. Estudos que analisaram a sensibilidade comparativamente pelo tipo de vírus demonstram que a PCR-RT apresentou sensibilidade de 84,6% a 94,2% para o HTLV-1 e 76,9% a 90,7% para o HTLV-2.



Informações econômicas: Por meio de estimativa realizada pela própria CONITEC para impacto orçamentário na incorporação do AZT para uso no tratamento de leucemia/linfoma associado ao HTLV estima-se 332 pacientes/ano. Utilizando esse dado para avaliação do impacto orçamentário na incorporação do Western-Blot, sendo R\$ 85,00 o valor unitário deste teste, e R\$ 65,00 o valor unitário do RT-PCR, a utilização destes como teste laboratorial confirmatório (um ou outro) tem-se um custo incremental de R\$21.580,00 a R\$ 28.220,00/ano.

Considerações finais: Considerando que para esta condição existe um tratamento medicamentoso que traz mudança no prognóstico da doença, e considerando a importância de se estabelecer um diagnóstico preciso dos doentes antes da instituição do tratamento, solicita-se ao Plenário da Conitec a avaliação da ampliação de uso destes exames.

Deliberação final: os membros da CONITEC deliberaram por recomendar a inclusão na Tabela do SUS de procedimentos laboratoriais por técnicas de Western Blot e PCR em tempo real no diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1. A recomendação será encaminhada para decisão do Secretário.

Decisão: Incorporar os procedimentos laboratoriais por técnicas de Western Blot e PCR em tempo real no diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1, no âmbito do Sistema Único de Saúde – SUS, dada pela Portaria SCTIE-MS nº 23 publicada no Diário Oficial da União (DOU) nº 106, de 06 de junho de 2016, pág. 45.



2. A DOENÇA

2.1 Aspectos clínicos da leucemia/linfoma associado ao HTLV-1

O Vírus Linfotrófico Humano (HTLV) é um retrovírus descoberto em 1981 que possui as mesmas vias de transmissão do HIV e apresenta prevalência variada mundialmente. No Brasil estudos com gestantes e doadores em bancos de sangue refletem uma baixa prevalência do HTLV, na população (entre 0,1-1%).

Dos pacientes infectados pelo vírus, 90% permanecerão assintomáticos por toda vida. Das doenças associadas ao HTLV-1 no grupo dos 10% sintomáticos encontra-se a leucemia/linfoma associada aos portadores de HTLV, cujas taxas de prevalência variam entre 1 a 5% dos sintomáticos.

2.2 Tratamento da leucemia/linfoma associada ao HTLV-1

A medicação zidovudina (AZT) é um antirretroviral já incorporado no SUS para uso terapêutico em pessoas vivendo com HIV/Aids (PVHA). A indicação do uso desse medicamento para pacientes acometidos pela leucemia/linfoma associado ao HTLV foi analisada pela CONITEC e contemplada a partir da incorporação no SUS do AZT para esse fim por meio da Portaria SCTIE nº 50, de 29 de setembro de 2015. É constatada a demanda de todas as partes do Brasil no que se refere à liberação do AZT para essa finalidade. Anteriormente devido à ausência de trabalhos científicos que dessem embasamento para o uso do AZT no tratamento da leucemia/linfoma associado ao HTLV, realizava-se a solicitação da liberação do AZT diretamente para o Ministério da Saúde e a liberação era realizada em formato de parecer individualizado para uso compassionado visto ser a leucemia/linfoma associada ao HTLV-1 é um evento raro e de prognóstico reservado. No momento atual trabalhos relacionados ao tema foram publicados e demonstram que terapia antiviral com zidovudina e alfainterferona é eficaz na forma leucêmica da doença, com aumento significativo na sobrevida livre de progressão quando comparada ao uso da quimioterapia. A forma linfomatosa se beneficia do uso associado da quimioterapia com os antivirais. A demanda para utilização do AZT como



tratamento para leucemia/linfoma associada ao HTLV- 1 é baixa, já que o acometimento da doença citada é um evento raro.

Um dos requisitos para garantir a instituição de um tratamento adequado aos pacientes acometidos por leucemia/linfoma associada ao HTLV-1 é a confirmação diagnóstica da infecção por HTLV-1. Essa confirmação, dá-se hoje por meio de exames laboratoriais, a saber: ELISA, WESTERN BLOT e PCR em tempo real. O Elisa já se encontra incorporado ao SUS para investigação diagnóstica nesta doença, contudo, por conta de sua baixa acurácia, são necessárias outras provas confirmatórias que permitam um diagnóstico preciso da doença que possibilite que pacientes com possibilidade de tratamento, como é o caso dos pacientes com leucemia/linfoma acometidos pelo HTLV-1, recebam o melhor tratamento. Assim, observa-se que os exames de Western Blot ou PCR em tempo real (já disponíveis no SUS para diagnóstico do HIV) devem também ser recomendados nesta situação, e portanto, a ampliação de uso desses exames na tabela de procedimentos no SUS é consoante com a instituição de um adequado protocolo de manejo dessa doença.

3. DESCRIÇÃO DA TECNOLOGIA AVALIADA

O Western blot é um teste imunoenzimático para detecção de anticorpos anti-HTLV-1 e HTLV-2, utilizado como teste confirmatório da infecção pelo HTLV após reatividade em teste de triagem e também para diferenciação entre a presença de HTLV-1 e HTLV-2. É o teste mundialmente mais aceito como exame confirmatório para HTLV. Os antígenos utilizados pelos testes mais modernos incluem as proteínas env recombinante GD21, presente nos dois vírus, e rgp46-I e rpg46-II, respectivamente específicas do HTLV-I e HTLV-II. Além das proteínas gag p19, p24, p26, p28, p32, p36, p53. A interpretação se dá pela combinação de reatividade dessas bandas (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1991).

A PCR em tempo real é a técnica de biologia molecular que permite a identificação, diferenciação e quantificação do HTLV pela amplificação de seu material genético. É uma técnica que apresenta elevada sensibilidade e especificidade, geralmente considerada como padrão ouro em estudos de eficácia de outros métodos. No entanto apresenta certa limitação devido à necessidade de elevada competência profissional e custo elevado dos equipamentos o que limita sua disponibilidade a centros mais avançados de diagnóstico e pesquisa.



4. EVIDÊNCIAS CIENTÍFICAS

O processo diagnóstico da infecção pelo HTLV se baseia na detecção de anticorpos anti-HTLV circulantes no sangue. Geralmente o processo se inicia através da realização do ELISA. Apesar da sensibilidade elevada, o valor preditivo positivo do teste pode ser baixo se a população testada apresenta baixa prevalência da infecção (THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002). Para confirmação do diagnóstico, é recomendada, portanto, a realização de um teste complementar em casos com ELISA positivo (ANDERSON et al., 1989; COSTA et al., 2009; GIBELLINI et al., 2003; POIESZ et al., 2000; THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002). Além de confirmar o diagnóstico, os exames complementares também irão diferenciar entre HTLV-I e HTLV-II e descartar casos falso-positivos. As combinações tornam a sensibilidade e especificidade mais confiáveis. Dentre estes testes os mais utilizados são o Western Blot (WB), e o teste de biologia molecular (PCR) (BERINI et al., 2008; FURUTA et al., 2015; POIESZ et al., 2000).

A sensibilidade do *Western blot* para identificação do HTLV-1 se mostrou elevada em estudos variando de 92,3% a 100% (COSTA; MAGRI; CATERINO-DE-ARAUJO, 2011; GALLO; DIGGS; HANSON, 1994; THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002), enquanto a especificidade variou de 86% a 97,5% (GALLO; DIGGS; HANSON, 1994; VARMA et al., 1995). Com relação ao HTLV-2 a sensibilidade do WB variou entre 73% e 85%, enquanto que a especificidade foi de 100% (COSTA; MAGRI; CATERINO-DE-ARAUJO, 2011; POIESZ et al., 2000; THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002). Apesar de alta sensibilidade e especificidade deste teste, existe a possibilidade de ocorrência de resultados indeterminados, necessitando por vezes de um segundo teste complementar para confirmar o diagnóstico (ANDERSON et al., 1989; BLUMER et al., 1992; CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION, 1989, 1993). São considerados indeterminados os testes que apresentam bandas soro-reativas, porém não apresentam os padrões e critérios de bandas para serem considerados positivos. As razões para a ocorrência de resultados indeterminados ainda são incertas. No entanto algumas hipóteses foram levantadas e incluem reações cruzadas com outros retrovírus ou outros tipos de vírus, reação cruzada com malária, mutações de HTLV, baixa carga pro-viral do HTLV e infecção pelo HTLV-II (ABRAMS; AKAHATA; JACOBSON, 2011; RAFATPANAHA et al., 2013).



A PCR em tempo real também permite melhorar a acurácia dos resultados, abrindo novas perspectivas sobre seu uso na prática clínica. Alguns estudos mostram que a sensibilidade da PCR-RT é de 100% e especificidade de 96,7 a 100% (ANDRADE et al., [s.d.]; GALLO et al., 1994; POIESZ et al., 2000; ROSADAS et al., 2013; THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002). Estudos que analisaram a sensibilidade comparativamente pelo tipo de vírus demonstram que a PCR-RT apresentou sensibilidade de 84,6% a 94,2% para o HTLV-1 e 76,9% a 90,7% para o HTLV-2 (COSTA; MAGRI; CATERINO-DE-ARAUJO, 2011; ESTES; SEVALL, [s.d.]; LEE; AHN, 2011; THORSTENSSON; ALBERT; ANDERSSON, 2002). Os motivos para a ocorrência de falso-negativos incluem a baixa carga viral, uso de antirretrovirais e imunossupressão importante.

A PCR é utilizada como teste confirmatório, mas devido sua complexidade de execução geralmente é realizado em conjunto com o WB, caso este apresente resultado indeterminado. No entanto existem dados que indicam que a PCR poderia ter um papel mais central no diagnóstico. Como as metodologias para a execução em sua maioria são *in house*, para os laboratórios que já possuem a estrutura necessária, a utilização do da PCR como primeiro teste confirmatório poderia trazer uma redução importante dos custos.

Finalmente, a capacidade de quantificação da carga pró-viral faz com que a PCR possa ter papel importante na avaliação da correlação da infecção com o desenvolvimento de manifestações clínicas (ALTAMIRANO et al., 2010; LEE et al., 2004; LI; GREEN, 2007).

5. INFORMAÇÕES ECONÔMICAS

A leucemia/linfoma associada ao HTLV-1 não é uma doença de notificação compulsória, portanto não é possível relatar os números anuais de novos casos. Sabe-se que é um evento raro e que o seu aparecimento está relacionado à longa data de infecção. Para calcular a quantidade de pacientes elegíveis foram utilizados estudos que estimam a prevalência de pacientes infectados pelo HTLV. O quadro abaixo apresenta os estudos contemplados, a prevalência utilizada no cálculo de impacto orçamentário foi de 0,16%, que representa a média ponderada dos valores encontrados nos estudos.

Para estimar a quantidade de infectados pelo HTLV-1 que desenvolvem leucemia/linfoma assumiu-se que apenas 10% dos infectados apresentam sintomas e que destes, 1% ao ano desenvolvem leucemia/linfoma.



Após resultado reagente no teste de triagem (ELISA), a proposição é que se utilize a PCR em tempo real como confirmatório. Um resultado reagente ou não-reagente na PCR em tempo real, encerra a investigação de acordo com tal resultado. Em locais com acesso limitado a PCR em tempo real, pode-se confirmar o resultado com o Western Blot. Um resultado reagente ou não-reagente no Western Blot, encerra a investigação de acordo com tal resultado. Um resultado indeterminado necessitaria da realização de um segundo teste confirmatório, nesta situação a PCR em tempo real.

Por meio de estimativa realizada pela própria CONITEC para impacto orçamentário na incorporação da zidovudina para uso no tratamento de leucemia/linfoma associado ao HTLV estimou-se 332 pacientes/ano. Utilizando-se este dado para avaliação do impacto orçamentário na incorporação do Western-Blot como teste laboratorial confirmatório estima-se valor entre R\$21.580,00 e R\$ 32.470,00/ano, visto que estes procedimentos já possuem valor definido na Tabela de Procedimentos do SUS, no diagnóstico do HIV, ao valor de R\$ 85,00 por teste, para o Western-blot, e de R\$ 65,00 para o PCR em tempo real, devendo este valor permanecer equivalente na criação dos procedimentos relacionados ao diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1.

Deve-se ressaltar, contudo, que alguns estados brasileiros já financiam no âmbito estadual a realização destes exames, e acredita-se que, nos demais casos, a realização destes exames confirmatórios já tem sido realizada, seja pela disponibilidade de recursos próprios de instituições seja pela disponibilização destes procedimentos relacionados a outros CIDs na tabela do SUS.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando que para a leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1 existe um tratamento medicamentoso que traz mudança no prognóstico da doença, e considerando a importância de se estabelecer um diagnóstico preciso dos doentes antes da instituição do tratamento, solicitou-se ao Plenário da Conitec a avaliação da inclusão dos procedimentos de PCR em tempo real e *Western blot* na população com leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1.



7. DELIBERAÇÃO FINAL

A CONITEC, em sua 45ª reunião, no dia 05 de maio de 2016 e na presença dos membros presentes, deliberou por recomendar a inclusão na Tabela do SUS de procedimentos laboratoriais por técnicas de *Western Blot* e PCR em tempo real no diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1.

Foi assinado o Registro de Deliberação nº 192/2016.

8. DECISÃO

PORTARIA Nº 23, DE 31 DE MAIO DE 2016

Torna pública a decisão de incorporar os procedimentos laboratoriais por técnicas de *Western Blot* e PCR em tempo real no diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

O SECRETÁRIO SUBSTITUTO DE CIÊNCIA, TECNOLOGIA E INSUMOS ESTRATÉGICOS DO MINISTÉRIO DA SAÚDE, no uso de suas atribuições legais e com base nos termos dos art. 20 e art. 23 do Decreto 7.646, de 21 de dezembro de 2011, resolve:

Art. 1º Ficam incorporados os procedimentos laboratoriais por técnicas de *Western Blot* e PCR em tempo real no diagnóstico de leucemia/linfoma de células T do adulto associado ao HTLV-1, no âmbito do Sistema Único de Saúde - SUS.

Art. 2º O relatório de recomendação da Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias no SUS (CONITEC) sobre essa tecnologia estará disponível no endereço eletrônico:
<http://conitec.gov.br/>.

Art. 3º Esta Portaria entra em vigor na data de sua publicação.

PEDRO REGINALDO DOS SANTOS PRATA



9. REFERÊNCIAS

BRASIL. Ministério da Saúde. Comissão Nacional de Incorporação de Tecnologias do SUS. Relatório de recomendação nº 173. Disponível em : http://conitec.gov.br/images/Relatorios/2015/Zidovudina_LinfomaeLeucemia_final.pdf. Acesso em 03/05/2016.

ABRAMS, A.; AKAHATA, Y.; JACOBSON, S. The prevalence and significance of HTLV-I/II seroindeterminate Western blot patterns. **Viruses**, v. 3, n. 8, p. 1320–31, ago. 2011.

ALTAMIRANO, N. A. et al. Quantitation of HTLV-I proviral load by a real-time PCR assay using SYBR Green: comparison of two methods for DNA isolation. **Journal of virological methods**, v. 170, n. 1-2, p. 160–4, dez. 2010.

ANDERSON, D. W. et al. Serological confirmation of human T-lymphotropic virus type I infection in healthy blood and plasma donors. **Blood**, v. 74, n. 7, p. 2585–91, 15 nov. 1989.

ANDRADE, R. G. et al. Evaluation of the use of real-time PCR for human T cell lymphotropic virus 1 and 2 as a confirmatory test in screening for blood donors. **Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical**, v. 43, n. 2, p. 111–5, [s.d.].

BECK, A. et al. Performance of HTLV-1 screening assays in Brazil. **Zentralblatt für Bakteriologie : international journal of medical microbiology**, v. 283, n. 3, p. 340–6, mar. 1996.

BERINI, C. A. et al. Comparison of four commercial screening assays for the diagnosis of human T-cell lymphotropic virus types 1 and 2. **Journal of virological methods**, v. 147, n. 2, p. 322–7, fev. 2008.

BLUMER, S. O. et al. Human T-lymphotropic virus type I/II. Status of enzyme immunoassay and western blot testing in the United States in 1989 and 1990. **Archives of pathology & laboratory medicine**, v. 116, n. 5, p. 471–6, maio 1992.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Leads from the MMWR. Licensure of screening tests for antibody to human T-lymphotropic virus type I. **JAMA**, v. 261, n. 4, p. 513, 518–20, 525, 27 jan. 1989.

CENTERS FOR DISEASE CONTROL AND PREVENTION. Recommendations for counseling persons infected with human T-lymphotrophic virus, types I and II. Centers for Disease Control and Prevention and U.S. Public Health Service Working Group. **MMWR. Recommendations and reports : Morbidity and mortality weekly report. Recommendations and reports / Centers for Disease Control**, v. 42, n. RR-9, p. 1–13, 25 jun. 1993.

COSTA, E. A. S. et al. 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 / Lack in introducing a new algorithm of laboratorial tests for detecting HTLV-1 and HTLV-2 infections in at-risk po. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 68, n. 2, p. 314–317, 2009.



COSTA, E. A. S.; MAGRI, M. C.; 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. **Journal of virological methods**, v. 173, n. 2, p. 280–6, maio 2011.

ESTES, M. C.; SEVALL, J. S. Multiplex PCR using real time DNA amplification for the rapid detection and quantitation of HTLV I or II. **Molecular and cellular probes**, v. 17, n. 2-3, p. 59–68, [s.d.].

FUJIYAMA, C. et al. Evaluation of commercial HTLV-1 test kits by a standard HTLV-1 serum panel. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 73, n. 4, p. 515–21, jan. 1995.

FURUTA, R. A. et al. Reevaluation of confirmatory tests for human T-cell leukemia virus Type 1 using a luciferase immunoprecipitation system in blood donors. **Transfusion**, v. 55, n. 4, p. 880–9, abr. 2015.

GALLO, D. et al. Sensitivities of radioimmunoprecipitation assay and PCR for detection of human T-lymphotropic type II infection. **Journal of clinical microbiology**, v. 32, n. 10, p. 2464–7, out. 1994.

GALLO, D.; DIGGS, J. L.; HANSON, C. V. Evaluation of two commercial human T-cell lymphotropic virus western blot (immunoblot) kits with problem specimens. **Journal of clinical microbiology**, v. 32, n. 9, p. 2046–9, set. 1994.

GIBELLINI, D. et al. A rapid hemi-nested PCR for HTLV-I detection. **Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 28, n. 3, p. 341–3, dez. 2003.

JACOB, F. et al. Performances of HTLV serological tests in diagnosing HTLV infection in high-risk population of São Paulo, Brazil. **Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo**, v. 49, n. 6, p. 361–4, [s.d.].

KAROPOULOS, A.; SILVESTER, C.; DAX, E. M. A comparison of the performance of nine commercially available anti-HTLV-I screening assays. **Journal of virological methods**, v. 45, n. 1, p. 83–91, nov. 1993.

KLINE, R. L. et al. Evaluation of enzyme immunoassays for antibody to human T-lymphotropic viruses type I/II. **Lancet (London, England)**, v. 337, n. 8732, p. 30–3, 5 jan. 1991.

LEE, J. M.; AHN, S. H. Quantification of HBsAg: basic virology for clinical practice. **World journal of gastroenterology : WJG**, v. 17, n. 3, p. 283–9, jan. 2011.

LEE, T.-H. et al. Quantitation of HTLV-I and II proviral load using real-time quantitative PCR with SYBR Green chemistry. **Journal of clinical virology : the official publication of the Pan American Society for Clinical Virology**, v. 31, n. 4, p. 275–82, dez. 2004.

LI, M.; GREEN, P. L. Detection and quantitation of HTLV-1 and HTLV-2 mRNA species by real-time RT-PCR. **Journal of virological methods**, v. 142, n. 1-2, p. 159–68, jun. 2007.



POIESZ, B. J. 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**, v. 40, n. 8, p. 924–30, ago. 2000.

RAFATPANAHI, H. et al. No Evidence of HTLV-II Infection Among Immunoblot Indeterminate Samples Using Nested PCR in Mashhad, Northeast of Iran. **Iranian journal of basic medical sciences**, v. 16, n. 3, p. 229–34, mar. 2013.

ROSADAS, C. et al. Validation of a quantitative real-time PCR assay for HTLV-1 proviral load in peripheral blood mononuclear cells. **Journal of virological methods**, v. 193, n. 2, p. 536–41, nov. 2013.

THORSTENSSON, R.; ALBERT, J.; ANDERSSON, S. Strategies for diagnosis of HTLV-I and -II. **Transfusion**, v. 42, n. 6, p. 780–91, jun. 2002.

VARMA, M. et al. Enhanced specificity of truncated transmembrane protein for serologic confirmation of human T-cell lymphotropic virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 infections by western blot (immunoblot) assay containing recombinant envelope glycoproteins. **Journal of clinical microbiology**, v. 33, n. 12, p. 3239–44, dez. 1995.

VRIELINK, H. et al. Comparison of four HTLV-I and HTLV-I + II ELISAs. **Vox sanguinis**, v. 76, n. 3, p. 187–91, jan. 1999.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. AIDS: proposed WHO criteria for interpreting western blot assays for HIV-1, HIV-2, and HTLV-I/HTLV-II. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 69, n. 1, p. 127–9, 131–3, jan. 1991.