

---

# CORRELAÇÃO ENTRE OS RESULTADOS DA PESQUISA DE ANTICORPOS ANTI-VÍRUS LINFOTRÓPICO DE CÉLULAS T HUMANAS TIPO I (HTLV-I) OBTIDOS PELOS MÉTODOS DE ENZIMAIMUNOENSAIO (ELISA) E WESTERN BLOT\*

MARTA MUTSUMI ZAHA INOUE<sup>1</sup>  
EDNA MARIA VISSOCI REICHE<sup>1</sup>  
HELENA KAMINAMI MORIMOTO<sup>1</sup>  
ARILSON AKIRA MORIMOTO<sup>2</sup>  
ANDRÉ LUIS BORTOLIERO<sup>2</sup>  
ROSÉLIA APARECIDA DE CARVALHO<sup>3</sup>

---

INOUE, M. M. Z.; REICHE, E. M. V.; MORIMOTO, H. K.; MORIMOTO, A. A.; BORTOLIERO, A. L.; CARVALHO, R. A. Correlação entre os resultados da pesquisa de anticorpos anti-vírus linfotrópico de células T humanas tipo I (HTLV-I) obtidos pelos métodos de enzimaímunensaio (ELISA) e Western Blot. *Semina: Ci. Biol. Saúde, Londrina, v. 20/21, n. 2, p. 11-16, jun. 1999/2000.*

**RESUMO:** Os autores compararam os resultados obtidos em 5 kits comerciais de Enzimaímunensaio (ELISA) com os obtidos pelo Western Blot (WB) para a pesquisa de anticorpos anti-vírus linfotrópico de células T humanas tipo I (HTLV-I). Entre as amostras de soros avaliadas no Setor de Imunologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, no período de abril de 1994 a junho de 1995, 30 amostras com resultado repetidamente reagente para, no mínimo, um ELISA para determinação de anticorpos anti-HTLV-I foram avaliadas pelo WB. A análise comparativa dos resultados obtidos em 5 kits comerciais de ELISA mostrou que 4 amostras (100%) eram positivas ao WB mostrando uma concordância com os resultados obtidos no ELISA. Das 19 amostras com resultados indeterminados pelo WB, 12 (63%) não mostraram concordância com, no mínimo, um resultado do ELISA, e das 7 amostras com resultados negativos pelo WB, 6 (86,0%) mostraram, no mínimo, um resultado reagente no teste de ELISA, confirmando que o ELISA é um teste de triagem com alta sensibilidade mas baixa especificidade, apresentando grande número de resultados falso-positivos. Os dados obtidos permitiram concluir que os resultados do WB não mantêm correlação com as leituras de densidade ótica (D.O.) obtidas no teste de ELISA, cujos níveis são variáveis de acordo com a procedência do Kit utilizado e que há uma considerável diferença nas sensibilidades e especificidades dos kits comerciais disponíveis.

**PALAVRAS-CHAVE:** Enzimaímunensaio, Vírus Linfotrópico de Células T Humanas tipo I (HTLV I), Western Blot, diagnóstico laboratorial.

---

## INTRODUÇÃO

Os vírus linfotrópicos de células T humanas do tipo I (HTLV-I) e do tipo II (HTLV-II) são retrovírus humanos pertencentes à subfamília *Oncovirinae*.

A infecção pelos vírus HTLV-I e HTLV-II, na grande maioria dos casos, não determina qualquer alteração clínica, permitindo aos portadores infectados passar a vida toda sem sintomas clínicos ou serem diagnosticados eventualmente, através da triagem sorológica para doação de sangue.

O HTLV-I está estreitamente associado com duas patologias: leucemia/linfoma de células T do adulto (LTA) e a Paraparesia Espástica Tropical ou Mielopatia associada ao HTLV-I (HAM/TSP), sendo considerado agente etiológico das mesmas (Saéz-Alquezar, 1994). Estima-se que apenas 4% dos portadores do vírus venham a desenvolver LTA (Kondo *et al.*, 1989) e 0,18% a 0,26%, seja o risco de desenvolvimento de HAM/TSP (Kaplan *et al.*, 1990). Outras pesquisas identificaram a participação de HTLV-II em casos de mielopatias crônicas

---

\* Trabalho realizado no Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná.

<sup>1</sup> Docente do Departamento de Patologia Aplicada, Legislação e Deontologia.

<sup>2</sup> Docente do Departamento de Clínica Médica.

<sup>3</sup> Técnico de laboratório do Setor de Imunologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Estadual de Londrina, Londrina, Paraná.

semelhantes aos de HAM/TSP (Jacobson *et al.*, 1993).

Inquéritos soroepidemiológicos sobre o retrovírus HTLV-I têm demonstrado que o Brasil é uma área endêmica para este vírus. Veronesi *et al.* (1994), revelam uma soroprevalência de 0,42% em 2138 doadores de sangue da área metropolitana do Rio de Janeiro e uma prevalência de 0,35% de soropositivos em mais de meio milhão de testes realizados em Bancos de Sangue da área metropolitana de São Paulo.

Um estudo recente (Dal Passo *et al.*, 1998), em 6425 amostras de candidatos a doadores de sangue do Hemocentro do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, Londrina, Paraná, revelou uma soropositividade de 0,34%.

Os métodos utilizados para detecção de anti-HTLV-I podem ser agrupados em três categoriais: a) para triagem, o ensaio imunoenzimático (ELISA) ou a aglutinação em partículas, que utilizam como antígeno o lisado viral, frações recombinantes ou peptídeos sintéticos; b) métodos suplementares tipo WB, Imunoblot e Imunofluorescência e c) métodos confirmatórios como a Radioimunoprecipitação (RIPA) e a Reação em Cadeia Polimerase (PCR).

O método mais utilizado para detecção de anticorpos anti-HTLV-I tem sido o ELISA, cujas principais características são a alta sensibilidade associada à baixa especificidade e reatividade cruzada entre tipos I e II do HTLV (60 a 80%). Essas características contribuem para um grande número de falso-positivos, tornando-se difícil o diagnóstico e aconselhamento do paciente e, em casos de triagem sorológica de doadores levando à perdas desnecessárias de bolsas de sangue (Saéz-Alquezar, 1994). Poucos bancos de sangue realizam testes sorológicos específicos para HTLV I e II isoladamente, fazendo-se necessário o desenvolvimento de testes simples e rápidos utilizando fragmentos recombinantes ou peptídeos sintéticos para diferenciar as duas viroses, permitindo posteriores estudos da história natural da infecção pelos vírus HTLV I e II em indivíduos soropositivos (Lee *et al.*, 1991). É necessário portanto, ter uma visão crítica da sensibilidade e especificidade do método utilizado para uma correta interpretação dos resultados obtidos na triagem, procedendo-se, obrigatoriamente, a realização dos testes mais específicos como o WB e PCR para confirmação diagnóstica.

O objetivo do presente trabalho foi correlacionar os resultados obtidos no teste de ELISA de diferentes procedências comerciais com os resultados do WB.

## MATERIAL E MÉTODOS

Entre as amostras de soro encaminhadas ao Setor de Imunologia Clínica do Laboratório de Análises Clínicas do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, no período de abril de 1994 a junho de 1995, foram selecionadas 30 amostras repetidamente reativas ao teste de ELISA anti-HTLV-I, segundo recomendações padronizadas pelo fabricante, para serem submetidas ao teste confirmatório de WB (HBK 426 – Hemobio HTLV-I Imunoblot Western Blot, Embrabio).

O teste de ELISA foi realizado com cinco kits de diferentes procedências, denominados de A, B, C, D e E:

- A) HBK 424 – Hemobio HTLV-I/II Elisa, Embrabio
- B) Human T-Lymphotropic Virus Type I Abbott HTLV-I EIA, Abbott Laboratories
- C) Platelia HTLV-I New, Sanofi Diagnostics Pasteur
- D) Hemagem – Série Doenças Infecciosas – IVD
- E) Biochem Immuno Systems.

O critério para soropositividade ao teste de WB foi estabelecido de acordo com recomendações do fabricante, ou seja, positivo, quando apresentaram duas das seguintes bandas virais: gp68/61 ou gp46 e p24 ou p19; resultado indeterminado para amostras que apresentaram bandas virais que não preenchem o requisito mínimo de positividade e resultado negativo para a ausência de bandas.

## RESULTADOS

Das 30 amostras de soro repetidamente reativas ao teste de ELISA, quando analisadas pelo WB, 4 (13,4%) apresentaram resultado positivo, 19 (63,3%) resultado indeterminado e 7 (23,3%) resultado negativo (Tabela 1).

A correlação entre os resultados obtidos no teste de ELISA (Kits A, B, C, D e E) com os resultados de WB é apresentada no Quadro 1 e na Tabela 2.

A análise comparativa entre os resultados de ELISA (Kits A, B, C, D e E) das 30 amostras de soro, permitiu concluir que houve 100% de concordância quando as amostras eram positivas ao WB ( $n = 4$ ). Das 19 amostras indeterminadas ao WB, 12 (63%) não apresentaram concordância de resultados de ELISA em pelo menos um dos testes de ELISA e das 7 amostras negativas ao WB, 6 (86,0%) não apresentaram concordância em pelo menos um dos Kits de ELISA utilizados.

**Tabela 1** – Resultado da leitura das bandas obtidas nas 30 amostras de soro analisadas pelo teste de Western Blot (WB).

<b>Amostra</b>	<b>Resultado do WB</b>	<b>Leitura das bandas</b>
01	Positivo	p19 e p24 ; traços das bandas p34, p36, gp46
02	Positivo	p19, p24, gp46; traços das bandas p34, p36, p29
03	Positivo	p19, p24, gp46; traços das bandas p34, p36, p55/33, gp68
04	Positivo	p19, p24, p34, p36, gp46, p55/53, gp68, p29
05	Indeterminado	Traços das bandas p19, p24, gp46
06	Indeterminado	p24
07	Indeterminado	p24
08	Indeterminado	p24
09	Indeterminado	p24
10	Indeterminado	Traços gp46
11	Indeterminado	Traços p19
12	Indeterminado	Traços p24
13	Indeterminado	Traços das bandas p19 e p24
14	Indeterminado	Traços p19
15	Indeterminado	Traços das bandas p19 e p24
16	Indeterminado	Traços p19
17	Indeterminado	Traços p19
18	Indeterminado	Traços p19
19	Indeterminado	Traços p19
20	Indeterminado	Traços p19
21	Indeterminado	Traços p19
22	Indeterminado	gp 46
23	Indeterminado	Traços gp46
24	Negativo	Ausência de bandas
25	Negativo	Ausência de bandas
26	Negativo	Ausência de bandas
27	Negativo	Ausência de bandas
28	Negativo	Ausência de bandas
29	Negativo	Ausência de bandas
30	Negativo	Ausência de bandas

**Quadro 1** – Correlação entre os valores de densidade ótica (D.O.) obtidos no teste de enzimmunoensaio (ELISA) de 5 procedências comerciais (Kits A, B, C, D e E) com os resultados do Western Blot (WB).

Amostra	Elisa WB	KIT A		KIT B		KIT C		KIT D		KIT E	
		Cutoff	D.O.	Cutoff	D.O.	Cutoff	D.O.	Cutoff	D.O.	Cutoff	D.O.
01	P	0,325	<b>2,332</b>	0,689	<b>&gt;2,000</b>	0,122	<b>2,726</b>	0,336	<b>&gt;3,000</b>	0,176	<b>2,872</b>
02	P	0,383	<b>2,068</b>	0,689	<b>&gt;2,000</b>	0,122	<b>2,818</b>	0,336	<b>&gt;3,000</b>	0,176	<b>&gt;3,000</b>
03	P	0,389	<b>0,641</b>	0,689	<b>&gt;2,000</b>	0,122	<b>2,682</b>	0,336	<b>&gt;3,000</b>	0,176	<b>2,847</b>
04	P	0,309	<b>&gt;3,000</b>	0,482	<b>&gt;2,000</b>	0,122	<b>2,864</b>	0,336	<b>&gt;3,000</b>	0,176	<b>2,188</b>
05	I	0,341	<b>0,395</b>	0,689	0,511	0,122	0,107	0,336	<b>1,210</b>	0,176	0,141
06	I	0,363	<b>0,433</b>	0,689	<b>1,697</b>	0,122	<b>1,628</b>	0,336	0,204	0,176	0,085
07	I	0,308	0,094	0,351	<b>0,850</b>	0,122	<b>1,327</b>	0,336	0,267	0,176	0,078
08	I	0,358	<b>0,890</b>	0,689	<b>1,745</b>	0,122	<b>1,327</b>	0,336	<b>0,759</b>	0,176	<b>2,380</b>
09	I	0,358	<b>0,815</b>	0,689	<b>1,649</b>	0,122	<b>1,104</b>	0,336	<b>1,311</b>	0,176	<b>2,003</b>
10	I	0,309	<b>0,468</b>	0,468	<b>0,611</b>	0,122	0,063	0,336	<b>0,890</b>	0,176	0,102
11	I	0,309	<b>0,727</b>	0,725	<b>0,893</b>	0,122	0,072	0,336	<b>0,713</b>	0,176	0,059
12	I	0,309	0,028	0,419	<b>0,525</b>	0,122	<b>0,168</b>	0,336	0,144	0,176	0,068
13	I	0,384	<b>0,713</b>	0,689	<b>&gt;2,000</b>	0,122	<b>0,849</b>	0,336	<b>1,791</b>	0,176	<b>0,563</b>
14	I	0,306	<b>0,479</b>	0,479	<b>1,566</b>	0,122	<b>0,190</b>	0,336	<b>0,445</b>	0,176	0,123
15	I	0,309	<b>1,098</b>	0,810	<b>1,501</b>	0,122	<b>1,073</b>	0,336	<b>2,078</b>	0,176	<b>0,681</b>
16	I	0,308	<b>0,554</b>	0,310	<b>0,851</b>	0,122	<b>0,341</b>	0,336	<b>0,891</b>	0,176	<b>1,566</b>
17	I	0,308	<b>1,529</b>	0,549	<b>0,853</b>	0,122	<b>0,195</b>	0,336	<b>0,534</b>	0,176	0,047
18	I	0,309	<b>1,080</b>	0,599	<b>1,309</b>	0,122	<b>0,661</b>	0,336	<b>1,704</b>	0,176	0,049
19	I	0,309	<b>0,559</b>	0,567	<b>1,040</b>	0,122	<b>0,199</b>	0,336	<b>0,805</b>	0,176	<b>0,469</b>
20	I	0,309	<b>0,924</b>	0,752	<b>1,051</b>	0,122	<b>0,296</b>	0,336	<b>0,884</b>	0,176	<b>2,041</b>
21	I	0,309	<b>0,463</b>	0,567	<b>0,955</b>	0,122	<b>0,310</b>	0,336	<b>0,838</b>	0,176	0,071
22	I	0,309	<b>0,484</b>	0,786	<b>0,922</b>	0,122	0,002	0,336	<b>1,159</b>	0,176	0,154
23	I	0,309	0,038	0,786	<b>1,081</b>	0,122	0,046	0,336	<b>0,751</b>	0,176	0,116
24	N	0,384	0,362	0,689	0,201	0,122	0,067	0,336	0,014	0,176	0,053
25	N	0,308	0,003	0,401	<b>1,803</b>	0,122	0,020	0,336	0,009	0,176	0,038
26	N	0,309	0,041	0,423	<b>0,718</b>	0,122	0,068	0,336	0,016	0,176	<b>0,179</b>
27	N	0,308	0,030	0,455	<b>0,884</b>	0,122	0,063	0,336	<b>0,583</b>	0,176	0,034
28	N	0,309	0,083	0,680	<b>0,844</b>	0,122	0,079	0,336	0,047	0,176	0,047
29	N	0,309	0,051	0,506	<b>0,627</b>	0,122	0,048	0,336	0,046	0,176	0,148
30	N	0,438	<b>0,650</b>	0,659	<b>1,007</b>	0,122	0,069	0,336	<b>1,290</b>	0,176	0,105

= densidade ótica

---

## DISCUSSÃO

A presença de resultados falso-positivos obtidos nos testes de triagem para pesquisa de anticorpos anti-HTLV-I/II em doadores de sangue é devido, em grande parte, ao baixo valor preditivo positivo dos testes de ELISA quando aplicados em populações com baixa prevalência de infecção (Busch *et al.*, 1994; Segurado, 1996).

Os Kits comerciais de ELISA empregados diferiram quanto à natureza dos antígenos empregados, diluição inicial da amostra de soro, tempo de incubação e substrato utilizado, fatores que certamente contribuíram para a grande variabilidade dos resultados obtidos. Cossen *et al.* (1992) avaliaram seis kits comerciais de ELISA para detecção de anticorpos anti-HTLV I e II e detectaram que há uma apreciável diferença nas sensibilidades e especificidades dos mesmos.

Os resultados dos testes de ELISA apresentaram grande variabilidade de acordo com os diferentes kits comerciais quando comparados entre si e com resultados do WB, apontando para a necessidade de se registrar no laudo laboratorial a procedência do Kit comercial utilizado para explicar possíveis discrepâncias de resultados obtidos em amostras do mesmo paciente.

Outro fator importante é a necessidade de implantação do teste confirmatório na rotina laboratorial. Embora o teste de WB apresente grande número de resultados indeterminados, que pouco auxiliará na elucidação do diagnóstico, é importante no acompanhamento dos casos positivos. A

associação do WB com outros métodos confirmatórios como a RIPA e a PCR certamente contribuirá para a elucidação de resultados indeterminados (Saéz-Alquezar, 1994).

Das amostras positivas ao WB detectadas neste trabalho, somente uma (encaminhada pelo Ambulatório de Neurologia do Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná) era proveniente de um paciente que apresentava sintomas de Paraparesia Espástica Tropical, enquanto que as outras 3 (encaminhadas pelos Ambulatórios de Clínica Médica, Projeto Chagas e Pneumologia) eram de pacientes sem sintomas característicos, que deverão receber acompanhamento clínico e laboratorial. Também nos casos com resultados indeterminados no WB, sugere-se acompanhamento clínico-laboratorial periódico.

## CONCLUSÃO

Os dados obtidos permitiram concluir que os resultados do WB não apresentam correlação com as leituras de densidade óticas (D.O.) obtidas no teste de ELISA, cujos níveis são variáveis de acordo com a procedência do Kit utilizado e que há uma considerável diferença na sensibilidade e especificidade dos kits comerciais disponíveis. Obteve-se também a confirmação de que o ELISA é um bom teste de triagem, com elevada sensibilidade mas baixa especificidade, apresentando grande número de resultados falso-positivos.

---

INOUE, M. M. Z.; REICHE, E. M. V.; MORIMOTO, H. K.; MORIMOTO, A. A.; BORTOLIERO, A. L.; CARVALHO, R. A. Relationship among the anti-human T lymphotropic virus type I (HTLV I) antibodies results obtained in the enzyme-linked immunoassay (ELISA) and Western Blot Method. *Semina: Ci. Biol./Saúde*, Londrina, v. 20/21, n. 2, p. 11-16, jun. 1999/2000.

**ABSTRACT:** *The authors compared the results obtained using 5 different commercial enzyme-linked-immunosorbent assays (ELISA) and the Western Blot (WB) method for anti-Human T lymphotropic virus type I (HTLV I) serological diagnosis. Among the serum samples assayed at the Immunology Service of the Clinical Laboratory of Hospital Universitário Regional do Norte do Paraná, from abril 1994 to june 1995, 30 samples repeatedly reactive to at least one ELISA for anti-HTLV-I antibodies determination were assayed by WB. Comparative analysis of the results obtained with the 5 commercial ELISA showed that all 4 samples (100.0%) that were positive by WB showed agreement with the ELISA results. Of 19 samples with indeterminate results by WB, 12 (63.0%) did not agree with at least one ELISA result, and of 7 samples (100.0%) with negative results by WB, 6 samples (86,0%) showed at least one reactive result in the ELISA, confirming that the ELISA is a screening assay with high sensitivity but low specificity, showing a large number of false-positive results. The dates obtained did not show relationship among the test absorbance values of the different commercial kits compared amongst themselves and with the WB results and there is a considerable difference in the sensitivity and specificity of the commercial available kits.*

**KEY WORDS:** *Enzyme-linked immunosorbent assay, Human T Lymphotropic virus type I (HTLV I), Western Blot, laboratory diagnosis*

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BUSCH, M.P.; KLEINMAN, S.H.; WAGES JR, I.W.; KAPLAN, I.E.; KHABBAZ, R.F.; HOLLINGSWORTH, C.G. Accuracy of supplementary serologic testing for human T-Lymphotropic Virus Types I and II in U.S. Blood Donors. *Blood*. v. 83, n.4, p.143-148, 1994.
- COSSEN, C.; HAGENS, S.; FUKUCHI, R.; FORGHANI, B.; GALLO, D.; ASCHER, M. Comparison of six commercial human T-cell lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) enzyme immunoassay kits for detection of antibody to HTLV-I and II. *Journal Clinical Microbiology*, v.30, n.3, p.724-725, 1992.
- DAL PASSO, I.L.; SILVEIRA, M.; ZAHA-INOUE, M..M. Soropositividade para Sífilis, Doença de Chagas, Hepatite B, Hepatite C, HTLV-I/II e HIV1/2 em doadores de sangue do Hemocentro do HURNP-Londrina. In: JORNADA DE FARMÁCIA E ANÁLISES CLÍNICAS DE LONDRINA, 2, 1998, Londrina. *Anais ... Londrina*: [s.n.], 1998.
- JACOBSON, S.; LEHKY, T.; NISHIMURA, M.; ROBINSON, S.; MCFARLIN, D.; DHIB-JALBUT, S. Isolation of HTLV-II from a patient with chronic, progressive neurological disease clinically indistinguishable from HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis. *Ann Neurol*. v. 33, p.392-396, 1993.
- KAPLAN, J.E.; OSAME, M.; KUBOTA, H.; IGATA, A.; NISHITANI, H.; MAEDA, Y.; KHABBAZ, R.F.; JANSSEN, R.S. The risk of development of HTLV-I-associated myelopathy/tropical spastic paraparesis among persons infected with HTLV-I. *J Acq Immun Def Synd*. v. 3, p.1096-1101, 1990.
- KONDO, T.; KONO, H.; MIYAMOTO, N.; YOSHIDA, R.; TOKI, H.; MATSUMOTO, I.; INOUE, H.; INATSUKI, A.; FUNATSU, T.; YAMANO, N.; BANDO, F.; IWAO, E.; MIYOSHI, I.; HINUMA, Y.; YANAOKA, M. Age and Sex specific cumulative rate and risk of ATLL for HTLV-I carriers. *Inf J Cancer*. v. 43, p.1061-1064, 1989.
- LEE, H.H.; SWANSON, P.; ROSSENBLAT, J.D.; CHEN, I.S.Y.; SHERWOOD, W.C.; SMITH, D.E.; TEGTMEIER, G.E.; FERNANDO, L.P.; FANG, C.I.; OSAME, M.; KLEINMAN, S.H. Relative prevalence and risk factors of HTLV-I and HTLV-II infection in U.S. blood donors. *The Lancet*. v. 33, p.1435-1439, June, 1991.
- SAÉZ-ALQUEZAR, A. Avanços no diagnóstico laboratorial do HTLV I/II em bancos de sangue. *NewsLab*, v.7, p. 24,26, 1994.
- SEGURADO, A.A.C. Infecção por HTLV-I e HTLV-II. In: FERREIRA, A.W. ; ÁVILA, S.L.M. *Diagnóstico laboratorial das principais doenças infecciosas e auto-ímmunes*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. p. 56-61
- VERONESI, R.; VILLASBOAS, P.; FEITOSA, M.L.; CARVALHO, S.M.B.; ANDRADE, M.M.T.; PAIOLA, M.A. ; DE CARLO, C.C.; SANTOS, O. ; FRANCO, B.N. HTLV-I em bancos de sangue no Brasil : gravidade do problema. *NewsLab*, v.7, p.78-79, 1992.