

BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS

REF K250

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunoenzimático sanduíche (ELISA) de quarta geração para a detecção qualitativa da presença de antígeno p24, anti-HIV-1, anti-HIV-2, e/ou subtipo O em amostras de **sangue seco coletadas em papel filtro (DBS)**, para a triagem em adultos e neonatos, através de teste de enzimmunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimmunoensaio ou imunoenzimático
O kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS é um ensaio imunoenzimático, de quarta geração, em fase sólida baseado no princípio “sanduíche” para a detecção de antígeno p24, anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2, e/ou subtipo O em amostras de sangue seco coletadas em papel filtro. A microplaca é revestida com antígenos específicos para HIV-1 e HIV-2 (antígeno gp41 e gp120 do HIV-1 e antígeno gp36 do HIV-2) e anticorpo anti-p24 do HIV-1. Anticorpos presentes na amostra de sangue seco são eluídos e se ligam na microplaca revestida com antígenos recombinantes específicos formando imunocomplexos antígeno-anticorpo. Juntamente à primeira incubação é adicionado o conjugado 1 composto por anti-HIV p24 conjugado a biotina, que se liga a antígenos p24 presentes na amostra formando imunocomplexos anticorpo-antígeno-anticorpo. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. O conjugado 2 contendo antígenos de HIV-1, HIV-2 e estreptavidina, todos ligados à peroxidase, são adicionados à microplaca e então incubados. Os antígenos do conjugado 2 se ligam aos anticorpos da amostra que foram capturados pelos antígenos da microplaca, formando os imunocomplexos antígeno-anticorpo-antígeno. A estreptavidina ligada à peroxidase, também presente no conjugado 2, se liga à biotina ligada ao anti-HIV p24 do imunocomplexo anticorpo-antígeno-anticorpo. Após estas etapas, uma nova lavagem é realizada para remover materiais não ligados. O substrato é, então, adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a detecção de anticorpos anti-HIV e/ou antígeno p24 presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação havendo uma mudança de cor de azul para amarelo. A intensidade da cor é medida em 450/620 nm.

REAGENTES

- 1- Placa Sensibilizada** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Microplaca revestida com antígenos específicos para HIV-1 e HIV-2 (antígeno gp41 e gp120 do HIV-1 e antígeno gp36 do HIV-2) e anticorpo anti-p24 do HIV-1.
- 2- Conjugado 1** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo anticorpos anti-HIV p24 ligados à biotina, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** – Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Solução tampão (fosfato < 0,5 mol/L, cloreto de potássio < 100 mmol/L, cloreto de sódio < 5 mol/L), surfactante e conservante.
- 4- Conjugado 2** - Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Antígenos específicos para HIV-1, HIV-2 e estreptavidina, todos ligados à peroxidase, surfactante, estabilizantes, corante e conservante.
- 5- Substrato** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo peróxido de ureia, tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 6- Solução de Parada** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução de ácido clorídrico 1 M.
- 7- Tampão de Eluição** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão, surfactante, estabilizante e conservante.
- 8- Controle Negativo DBS** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução não reativa para HIV impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**
- 9- Controle Positivo DBS** – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução com anticorpos anti-HIV impregnada em papel de filtro. **Potencialmente infectante.**
- 10- Controle Positivo p24 HIV-1** – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução com antígenos p24, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidade	2 Unidades	5 Unidades
2- Conjugado 1	1 Frasco x 6 mL	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 30 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	1 Frasco x 250 mL
4- Conjugado 2	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
5- Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
7- Tampão de Eluição	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	1 Frasco x 60 mL
8- Controle Negativo DBS	1 Unidade	2 Unidades	3 Unidades
9- Controle Positivo DBS	1 Unidade	2 Unidades	3 Unidades
10- Controle Positivo p24 HIV-1	1 Frasco x 0,5 mL	1 Frasco x 1,0 mL	1 Frasco x 1,0 mL

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior

Materiais necessários, não contidos nos kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 50 a 500 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetador para pipetagens repetitivas de volumes de 300 µL com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavadora de microplaca para técnica em papel filtro.
- 4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
- 5- Papel absorvente para secar as microcavidades.
- 6- Cronômetro ou relógio.
- 7- Frasco para estocar a Solução de Lavagem após diluição.
- 8- Água destilada ou deionizada.
- 9- Ferramentas de Controle de Qualidade.
- 10- Incubadora 37 °C ± 2 °C.
- 11- Picotador de papel (diâmetro de 3 ± 0,2 mm).

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8 °C. O transporte em temperaturas até 30 °C não deverá exceder 5 dias. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.

- 2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
- 3- O sachê contendo a microplaca deve ser aberto somente após atingir a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no sachê, vedar e conservar entre 2 e 8 °C.
- 4- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de contaminantes.
- 5- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons

diversos, e agentes oxidantes e redutores que podem alterar de forma significativa os resultados.

- 6-** A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com devido cuidado.
- 7-** Toda matéria-prima do produto é testada sendo não reagente para HBsAg e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação de todo produto que contém amostra biológica é potencialmente capaz de transmitir doenças. Portanto, é preciso tomar os devidos cuidados de biossegurança na manipulação desses produtos.
- 8-** Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
- 9-** Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
- 10-** Deve-se assegurar que o fundo da cavidade esteja limpo e seco e que não haja bolhas na superfície do líquido antes de ler a placa. Não permitir que as cavidades sequem durante o ensaio.
- 11-** Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante o armazenamento ou etapas de incubação.
- 12-** Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.
- 13-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FDS (Ficha com Dados de Segurança) disponibilizadas no site www.bioclin.com.br ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.
- 14-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.
- 15-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

AMOSTRAS

Sangue Seco coletado em papel filtro (DBS) – EDTA, Punção ou Calcanhar (para neonatos)

O papel filtro utilizado deve ser específico para coleta de amostras de sangue seco, a exemplo dos modelos S&S 903 e Ahlstrom 226. O laboratório deve certificar da qualidade das amostras antes da sua utilização.

As amostras de sangue seco em papel filtro podem ser armazenadas por até 35 dias à temperatura ambiente, desde que fiquem protegidas de fonte de luz solar direta e em baixa umidade. Para armazenamento de até 2 anos, as amostras devem permanecer sob refrigeração, entre 2 e 8 °C. O armazenamento por tempo superior a 2 anos deve ser realizado à temperatura de -20 °C.⁷

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS é estável após aberto durante, pelo menos, 30 dias. Esta estabilidade pode variar de acordo com as condições do teste e do ambiente. Portanto, sugere-se acompanhar o desempenho do produto utilizando controles internos do kit e os critérios de validação da técnica.

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco Nº 3 (Lavagem Concentrada) na proporção 1:20 em água destilada ou deionizada. Dessa forma, diluir 50 mL da solução de Lavagem Concentrada em água destilada ou deionizada, para um volume final de 1000 mL. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 e 30 °C por até 30 dias. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37 °C até dissolução.

Todos os demais reagentes são prontos para uso.

TÉCNICA

Para uso em equipamentos automáticos, consulte ao SAC (Serviço de Assessoria de Cliente).

Antes de iniciar o ensaio, colocar todos os reagentes, amostras e controles para estabilizarem em temperatura ambiente (15 – 30 °C) por no mínimo 40 minutos.

- 1-** Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controle Positivo p24 HIV-1, Controle Positivo DBS, Controle Negativo DBS e amostras de sangue seco coletadas em papel de filtro (recomenda-se testar em duplicata). Retornar as tiras não utilizadas da microplaca para a embalagem original selada.
- 2-** Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
- IMPORTANTE!** Os passos seguintes devem ser executados rigorosamente na sequência descrita abaixo.
- 3-** Adicionar um disco de 3 mm de Controle Positivo DBS, Controle Negativo DBS e amostras de sangue seco coletadas em papel filtro, previamente picotadas, nas cavidades determinadas.
- 4-** Pipetar 50 µL do Controle Positivo p24 HIV-1 na cavidade previamente determinada.
- 5-** Pipetar 50 µL do Tampão de Eluição, em todas as cavidades, **exceto** na cavidade destinada ao Controle Positivo p24 HIV-1, **inclusive** na cavidade destinada ao Branco.
- 6-** Pipetar 50 µL do conjugado 1 em todas as cavidades, **inclusive** na do Controle Positivo p24 HIV-1 e na cavidade para o Branco.
- 7-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 8-** Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a (aproximadamente 25 °C) e sob agitação constante de 650 rpm, podendo variar entre 550 e 750 rpm.
- Nota:** A agitação dentro da velocidade indicada é uma etapa crucial para a eluição eficiente das amostras de sangue seco e necessária para o correto desempenho do ensaio.
- 9-** Após incubação descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora para técnica de papel filtro). Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de três (3) segundos ao final de cada ciclo. Para a garantia da secagem da placa, ao final da lavagem, bater a placa por alguns segundos em papel absorvente.
- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 10-** Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, **inclusive** na cavidade do Branco.
- 11-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 12-** Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 13-** Retirar o selador de placa das cavidades.
- 14-** Repetir o item 9.
- 15-** Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades. **Inclusive** na cavidade do Branco.
- 16-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 17-** Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 18-** Retirar o selador de placa das cavidades.
- 19-** Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.
- 20-** Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 21-** Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm em até 15 minutos (no máximo).

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura do Branco e dos Padrões de Referência estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Branco	< 0,200
Controle Negativo DBS (R8)	< 0,200
Controle Positivo DBS (R9)	> 0,500
Controle Positivo p24 HIV-1 DBS (R10)	> 0,500

Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS QUALITATIVO

Calcular Cut Off de acordo com a seguinte fórmula:
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo DBS + 0,180.

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIAS
Controle Negativo DBS	0,086
	0,088
Cut Off = Absorbância Média do Controle Negativo DBS + 0,180	(0,086 + 0,088) / 2 + 0,180 = 0,267

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Amostra	1,145
Valor de Cut-Off	0,267
Índice = Amostra / Valor de Cut-Off	1,145 / 0,267 = 4,288

Nota: Os dados apresentados nos exemplos são apenas para ilustração e não podem ser usadas para cálculo dos resultados.

Cada laboratório deverá validar o cut-off conforme instrumentação utilizada e população pesquisada.

INTERPRETAÇÃO DE RESULTADOS

Após o cálculo do índice das amostras, considerar os índices abaixo para determinação dos resultados.

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reagente)	< 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 e 1,2
Positivo (Reagente)	> 1,2

Não Reagente: Amostra com absorbância menor que o cut-off é considerada não reagente para antígeno p24, anticorpos anti-HIV1, anti-HIV2, e/ou subtipo O, e pode ser considerada negativa.

Reagente: Amostra com absorbância superior ao cut-off é considerada inicialmente reativa para antígeno p24, anticorpos anti-HIV1, anti-HIV2, e/ou subtipo O. A amostra deve ser reanalisada em duplicata antes do final da interpretação. A amostra que for reagente em pelo menos uma das reanálises, presume-se ser reagente e deve ser confirmada através de outro método diagnóstico.

Observações: No caso de resultado indeterminado, a amostra deve ser reanalisada em duplicata. As amostras que obtiverem resultados repetidamente indeterminados devem ser retestadas utilizando um método alternativo. Se os resultados permanecerem indeterminados, deve-se coletar uma nova amostra em duas semanas. Deve prevalecer o resultado da última amostra coletada. A interpretação de um teste diagnóstico não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Devem-se incluir outros testes de confirmação antes que uma amostra seja considerada positiva. Um resultado negativo não exclui a possibilidade de exposição. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis, antes do diagnóstico descritivo da doença.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

A interpretação de um teste diagnostico, não deve ser estabelecida com base em um único ensaio. Todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis antes do diagnóstico definitivo. Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico

responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

INTERFERENTES

Nenhuma interferência foi observada para as concentrações de Triglicérides 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albumina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL, anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL e Fator Reumatoide 1080 UI/mL.

REATIVIDADE CRUZADA

Foi realizado um estudo com 90 amostras de sangue seco coletada em papel de filtro negativas para HIV, mas positivas para outras infecções, a fim de se avaliar a possibilidade de reatividade cruzada destes interferentes no resultado do BIOLISA HIV 1/2/O AG/AB DBS. Dentre elas 10 amostras positivas para HTLV, 10 amostras positivas para Sífilis, 10 amostras positivas para HBsAg, 10 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para Doença de Chagas, 10 amostras positivas para Zika, 10 amostras positivas para CMV, 10 amostras positivas para Rubéola e 10 amostras positivas para Toxoplasmose. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HTLV, Sífilis, HBsAg, HCV, Doença de Chagas, Zika, CMV, Rubéola e Toxoplasmose. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnóstico final deve considerar os dados clínicos do paciente juntamente com outros dados laboratoriais.

CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

DESEMPENHO DO PRODUTO

PRECISÃO

Repetibilidade

A repetibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Repetibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	1,598	0,756	0,098
Desvio Padrão	0,121	0,104	0,013
Coefficiente de Variação (%)	7,55	13,72	13,46

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 10 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com valores diferentes, obtendo-se os seguintes resultados de absorbância:

Reprodutibilidade	AMOSTRA		
	1	2	3
Média	0,098	1,590	0,719
Desvio Padrão	0,018	0,211	0,103
Coefficiente de Variação (%)	18,32	13,25	14,33

Considerando a variação de todas as amostras testadas no estudo de precisão, foi observado que o kit apresentou um coeficiente de variação inferior a 20%.

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS foi utilizado para a análise de amostras clínicas previamente caracterizadas e confirmadas através de outro método de enzimaímunoenensaio de referência. Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS é >99,9% e a especificidade clínica é >99,9%.

RESULTADO		REFERÊNCIA		
		Positivo	Negativo	Total
BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS	Positivo	165	0	165
	Negativo	0	247	247
	Total	165	247	412

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (165/165) - IC 95% (97,8 a 100%)
Especificidade Clínica: > 99,9% (247/247) - IC 95% (98,5 a 100%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

O HIV é o agente etiológico da Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). As principais vias de transmissão incluem a exposição a sangue e hemoderivados, incluindo a partilha de agulhas e seringas, contato sexual, transmissão de mãe para filho. O vírion é cercado por um envelope lipídico que é derivado da membrana da célula hospedeira. Várias glicoproteínas virais estão no envelope. Cada vírus contém duas cópias de RNA senso positivo genômico. O HIV-1 foi isolado de pacientes com AIDS e de pessoas saudáveis com alto potencial de risco para o desenvolvimento da AIDS. A infecção por HIV-1 é identificada por uma fase inicial de antigenemia em que o antígeno (Ag) HIV-1 é detectável no sangue. Na maioria dos casos, os níveis de antígeno são muitas vezes difíceis de detectar, no entanto, o aumento da falha do sistema imunológico e os níveis crescentes do vírus podem voltar a estimular níveis detectáveis de antígeno. As importantes proteínas internas estruturais do HIV-1, a proteína P24 do núcleo, é um dos componentes virais encontrados no sangue durante a antigenemia. Além disso, o HIV-1 consiste em subtipo M e subtipo O. Cepas altamente divergentes do HIV-1 foram reconhecidas em 1990 e agrupadas provisoriamente como subtipo O, pois esta variação era semelhante aos marcadores de glicoproteína do HIV-1, mas com uma ligeira variação para o marcador de proteína. Embora raramente comparado para HIV-1 e HIV-2, infecções causadas por Subtipo O até agora têm sido identificadas na África (Camarões), França e Alemanha. O HIV-2 foi isolado de pacientes com AIDS e indivíduos soropositivos assintomáticos no Oeste Africano. O HIV-1, HIV-2, e o Subtipo O, induzem resposta imune. A detecção imunológica de antígenos e anticorpos anti-HIV no soro, plasma ou sangue total é mais eficiente e uma forma comum de determinar se um indivíduo foi exposto ao HIV. Apesar das diferenças em suas características biológicas, atividades sorológicas e sequências de genoma, o HIV-1, HIV-2, subtipo O mostra forte reatividade cruzada antígenica. Anticorpos contra o antígeno HIV-1 P24 também são incluídos para a detecção da fase de pré-soro conversão da infecção. A maior parte de soros positivos HIV-2 podem ser identificados por meio de testes sorológicos com HIV-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, T.J. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIb. Nature (1993) 3;363:466-9.
- Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, P.J,Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G,Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIVrelated retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
- Caetan0 JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
- Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998) 280(1):42-48.
- Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science (1995) 268:1612-161.
- Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, T.J, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960.
- TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e Monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
- Bioclin - Dados de arquivos.

GARANTIA DE QUALIDADE

Antes de serem liberados para consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 – Santa Branca
CEP 31565-130 – Belo Horizonte – MG – Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 – Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 0315454 | E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS na ANVISA: 10269360458

Revisão: Fevereiro/2025

SIMBOLOGIA UNIVERSAL

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

BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS

REF K250

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Ensayo inmunoenzimático (ELISA) tipo sándwich de cuarta generación para la detección cualitativa de la presencia de antígeno p24, anti-HIV-1, anti-HIV-2 y/o subtipo O en muestras de **sangre seca recogidas en papel de filtro (DBS)**, para cribado en adultos y neonatos, mediante un ensayo inmunoenzimático. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzaimunmoensayo o inmunoenzimatico
El kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida de cuarta generación basado en el principio “sándwich” para la detección de antígeno p24, anticuerpos anti-HIV-1, anti-HIV-2 y/o subtipo O en muestras de sangre seca recogidas en papel de filtro. La microplaca se recubre con antígenos específicos del HIV-1 y HIV-2 (antígeno gp41 y gp120 del HIV-1 y antígeno gp36 del HIV-2) y anticuerpo anit-p24 del HIV-1. Los anticuerpos presentes en la muestra de sangre seca se eluyen y se unen a la microplaca recubierta con antígenos recombinantes específicos, formando inmunocomplejos antígeno-anticuerpo. Junto con la primera incubación, se añade el conjugado 1, consistente en un anti-HIV p24 conjugado con biotina, que se une a los antígenos p24 presentes en la muestra, formando inmunocomplejos antígeno-anticuerpo. Tras la incubación inicial, se lava la microplaca para eliminar los materiales no unidos. El conjugado 2 que contiene antígenos del HIV-1, HIV-2 y estreptavidina, todos unidos a peroxidasa, se añade a la microplaca y luego se incuba. Los antígenos del conjugado 2 se unen a los anticuerpos de la muestra que han sido capturados por los antígenos de la microplaca, formando inmunocomplejos antígeno-anticuerpo-antígeno. La estreptavidina unida a la peroxidasa, también presente en el conjugado 2, se une a la biotina unida al anti-HIV p24 de los inmunocomplejos anticuerpo-antígeno-anticuerpo. Tras estos pasos, se realiza un nuevo lavado para eliminar los materiales no unidos. A continuación, se añade el sustrato y se incuba, produciendo un color azul que indica la detección de anticuerpos anti-HIV y/o antígeno p24 presentes en las muestras. Se añade solución de parada para detener la reacción con un cambio de color de azul a amarillo. La intensidad del color se mide a 450/620 nm.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Microplaca recubierta con antígenos específicos del HIV-1 y HIV-2 (antígeno gp41 y gp120 del HIV-1 y antígeno gp36 del HIV-2) y anticuerpo anti-p24 del HIV-1.
- 2- Conjugado 1** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene anticuerpo anti-HIV p24 ligado a biotina, tensioactivo, estabilizadores, colorante y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Solución tampón (fosfato < 0,5 mol/L, cloruro potásico < 100 mmol/L, cloruro sódico < 5 mol/L), tensioactivo y conservante.
- 4- Conjugado 2** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Antígenos específicos para HIV-1, HIV-2 y estreptavidina, todos unidos a peroxidasa, surfactante, estabilizadores, colorante y conservante.
- 5- Sustrato** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 6- Solución de Parada** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución de ácido clorhídrico 1 M.
- 7- Tampón de Elución** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón, tensioactivo, estabilizante y conservante.
- 8- Control Negativo DBS** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución no reactiva del HIV impregnada en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Control Positivo DBS** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución de anticuerpos del HIV impregnada en papel de filtro. **Potencialmente infeccioso.**
- 10- Control Positivo HIV-1 p24** - Almacenar entre 2 y 8 °C. Solución con antígenos p24, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 Cavidades	192 Cavidades	480 Cavidades
1- Placa Sensibilizada	1 Unidad	2 Unidades	5 Unidades
2- Conjugado 1	1 Vial x 6 mL	1 Viales x 12 mL	1 Viales x 30 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Viales x 100 mL	1 Viales x 250 mL
4- Conjugado 2	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
6- Solución de Parada	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
7- Tampón de Elución	1 Vial x 12 mL	1 Viales x 24 mL	1 Viales x 60 mL
8- Control Negativo DBS	1 Unidad	2 Unidades	3 Unidades
9- Control Positivo DBS	1 Unidad	2 Unidades	3 Unidades
10- Control Positivo HIV-1 p24	1 Vial x 0,5 mL	1 Viales x 1,0 mL	1 Viales x 1,0 mL

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior

Materiales necesarios, no contenidos en los kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 50 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- 2- Repipetador para pipeteo repetitivo de volúmenes de 300 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- 3- Lavador de microplacas para técnica de papel de filtro.
- 4- Lector ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- 5- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- 6- Cronómetro o reloj.
- 7- Botella para almacenar la solución de lavado después de la dilución.
- 8- Agua destilada o desionizada.
- 9- Instrumentos de control de calidad.
- 10- Incubadora 37 °C ± 2 °C.
- 11- Picotadora de papel (diámetro 3 ± 0,2 mm).

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIALES

1- Sólo para uso profesional en diagnóstico *in vitro*.

- 2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
- 3- El sobre que contiene la microplaca sólo debe abrirse cuando haya alcanzado la temperatura ambiente. Colocar las tiras de microcavidades no utilizadas de nuevo en el sobre, cerrar y almacenar entre 2 y 8 °C.
- 4- El agua utilizada para limpiar el material debe ser fresca y libre de contaminantes.

- 5- Las columnas desionizadoras saturadas liberan agua alcalina, varios iones, agentes oxidantes y reductores que pueden alterar significativamente los resultados.
- 6- La solución de parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manipúlela con el debido cuidado.
- 7- Todas las materias primas del producto están testadas como no reactivas para HBsAg y Anti-HCV. Sin embargo, estas pruebas no garantizan completamente la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga una muestra biológica es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, deben tomarse precauciones de bioseguridad al manipular estos productos.
- 8- Pipetear siempre los reactivos en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
- 9- Como medida de protección, cubra la placa durante la reacción.
- 10- Asegúrese de que el fondo de la cavidad está limpio y seco y de que no hay burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante la prueba.
- 11- No exponer los reactivos, especialmente el Sustrato, a luz fuerte o vapores de hipoclorito durante las etapas de almacenamiento o incubación.
- 12- Recomendamos aplicar las normas locales, estatales y federales de protección del medio ambiente para que los reactivos y el material biológico sean eliminados de acuerdo con la legislación vigente.
- 13- Para información sobre bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consulte la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponible en www.bioclin.com.br o contactando con el Centro de Atención al Cliente de Quibasa.
- 14- No utilice el producto si el embalaje está dañado.
- 15- Es imprescindible que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y se sometan a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Sangre seca recogida en papel de filtro (DBS) - EDTA, Punción o Heel Stick (para neonatos)

El papel de filtro utilizado debe ser específico para la recogida de muestras de sangre seca, como los modelos S&S 903 y Ahlstrom 226. El laboratorio debe comprobar la calidad de las muestras antes de utilizarlas. Las muestras de sangre seca en papel de filtro pueden conservarse hasta 35 días a temperatura ambiente, siempre que estén protegidas de la luz solar directa y en condiciones de baja humedad. Para un almacenamiento de hasta 2 años, las muestras deben mantenerse refrigeradas entre 2 y 8 °C. El almacenamiento durante más de 2 años debe realizarse a una temperatura de -20 °C.⁷

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO Estabilidad Después de la Apertura

Los resultados de la prueba de estabilidad muestran que el kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS es estable tras su apertura durante al menos 30 días. Esta estabilidad puede variar dependiendo de las condiciones del ensayo y del entorno. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto usando los controles internos del kit y los criterios de validación de la técnica.

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO Solución de Lavado

Diluir el contenido del Vial N° 3 (Lavado Concentrado) en una Diluir el contenido del frasco No. 3 (Concentrated Wash) 1:20 con agua destilada o desionizada. De esta forma, diluir 50 mL de la solución Concentrated Wash en agua destilada o desionizada hasta un volumen final de 1000 mL. Después de la preparación, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante un máximo de 30 días. Si se produce cristalización, calentar a 37 °C hasta que se disuelva.

Todos los demás reactivos están listos para usar

TÉCNICA

Para su uso en equipos automáticos, póngase en contacto con nuestro Servicio de Atención al Cliente.

- Antes de iniciar el ensayo, dejar estabilizar todos los reactivos, muestras y controles a temperatura ambiente (15 - 30 °C) durante al menos 40 minutos.
- 1- Separar los pocillos a utilizar considerando: Control Positivo p24 VIH-1, Control Positivo DBS, Control Negativo DBS y muestras de sangre seca recogidas en papel de filtro (se recomienda realizar la prueba por duplicado). Devolver las tiras de microplaca no utilizadas a su envase original sellado.
- 2- Separar el primer pocillo para el blanco (OPCIONAL).
- ¡**IMPORTANTE!** Los pasos siguientes deben realizarse estrictamente en la secuencia descrita a continuación.
- 3- Añadir un disco de 3 mm de DBS Control Positivo, DBS Control Negativo y muestras de sangre seca recogidas en papel de filtro, previamente picadas, en los pocillos determinados.
- 4- Pipetear 50 µL del Control Positivo de p24 VIH-1 en el pocillo previamente determinado.
- 5- Pipetear 50 µL de Tampón de Elución en todos los pocillos **excepto** en el pocillo del Control Positivo de p24 VIH-1, incluyendo el pocillo del Blanco.
- 6- Pipetear 50 µL de conjugado 1 en todos los pocillos, **incluido** el pocillo del Control Positivo de p24 VIH-1 y el pocillo del Blanco.
- 7- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir los pocillos con un sellador de placas.
- 8- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a (aproximadamente 25 °C) y bajo agitación constante de 650 rpm, que puede variar entre 550 y 750 rpm.
- Nota:** La agitación a la velocidad indicada es un paso crucial para la elución eficiente de las muestras de sangre seca y es necesaria para la correcta realización del ensayo.
- 9- Después de la incubación, desechar el contenido de los pocillos por aspiración (arandela para la técnica de papel de filtro). Utilizar aproximadamente 300 µL de solución de lavado previamente preparada y realizar un total de cinco (5) ciclos de lavado con una agitación de tres (3) segundos al final de cada ciclo. Para asegurarse de que la placa está seca, al final del lavado, golpee la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.
- Nota:** Un lavado/secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
- 10- Pipetear 100 µL de Conjugado en todos los pocillos, **incluido** el pocillo blanco.
- 11- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.
- 12- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 13- Retirar el sellador de placas de los pocillos.
- 14- Repita el punto 9.
- 15- Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pocillos. **Incluyendo** el pocillo blanco.
- 16- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubrir los pocillos con el sellador de placas.
- 17- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 18- Retirar el sellador de placas de los pocillos.
- 19- Pipetear 100 µL de solución de parada en todos los pocillos.
- 20- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
- 21- Leer utilizando un filtro doble: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Compruebe que los resultados obtenidos en la lectura del Blanco y de los Estándares de Referencia son compatibles con los valores indicados a continuación:

ITEM	ABSORBANCE
Blanco	< 0,200
Control Negativo DBS (R8)	< 0,200
Control Positivo DBS (R9)	> 0,500
Control Positivo p24 HIV-1 (R10)	> 0,500

Si los valores están fuera de los esperados, debe repetirse la técnica.

CÁLCULOS
QUALITATIVO

Calcular el Cut Off según la siguiente fórmula:
Cut Off = Absorbancia Media del Control Negativo DBS + 0,180.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo DBS	0,086
	0,088
Cut Off = Absorbancia Media del Control Negativo DBS + 0,180	(0,086 + 0,088) / 2 + 0,180= 0,267

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,145
Valor de Cut-Off	0,267
Índice = Muestra / Valor de Cut-Off	1,145 / 0,267 = 4,288

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son meramente ilustrativos y no pueden utilizarse para calcular resultados.

Cada laboratorio debe validar el punto de corte en función de la instrumentación utilizada y de la población encuestada.

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS
Después del cálculo del índice de las muestras, considerar los índices abajo para la determinación de los resultados.

RESULTADOS	INDICE
Negativo (No Reactivo)	< 0,8
Indeterminado	Entre 0,8 y 1,2
Positivo (Reactivo)	> 1,2

No Reactivo: La muestra con absorbancia inferior al punto de corte se considera no reactiva para antígeno p24, anticuerpos anti-HIV1, anti-HIV2 y/o subtipo O, y puede considerarse negativa.

Reactivo: Una muestra con una absorbancia superior al cut-off se considera inicialmente reactiva para el antígeno p24, los anticuerpos anti-HIV1, anti-HIV2, y/o el subtipo O. La muestra debe volver a analizarse por duplicado antes de finalizar la interpretación. Una muestra reactiva en al menos uno de los reanálisis se presume reactiva y debe confirmarse mediante otro método diagnóstico.

Observaciones: En caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada por duplicado. Las muestras que obtengan repetidamente resultados indeterminados deberán volver a analizarse utilizando un método alternativo. Si los resultados siguen siendo indeterminados, deberá tomarse una nueva muestra en un plazo de dos semanas. Deberá prevalecer el resultado de la última muestra tomada. La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en un único ensayo. Deben incluirse otras pruebas de confirmación antes de considerar positiva una muestra. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse en conjunción con otra información clínica disponible antes de poder realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

LIMITACIONES DEL PROCESO
La interpretación de una prueba diagnóstica no debe establecerse en base a una única prueba. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible antes del diagnóstico definitivo. Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable y no son el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

INTEFERENTES
No se observaron interferencias en las concentraciones de Triglicéridos 1500 mg/dL, Ácido Acetilsalicílico 20 mg/dL, Ácido Ascórbico 2 g/dL, Creatina 200 mg/dL, Bilirrubina 1 g/dL, Albúmina 2 g/dL, Hemoglobina 1000 mg/dL, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C-Reactiva 41.2 mg/dL, antiestrepolisina O 1023 UI/mL y Factor Reumatoide 1080 UI/mL.

REACTIVIDAD CRUZADA
Se realizó un estudio con 90 muestras de sangre seca recogidas en papel de filtro que eran negativas para el HIV pero positivas para otras infecciones, con el fin de evaluar la posibilidad de reactividad cruzada de estos interferentes en el resultado de BIOLISA HIV 1/2/O AG/AB DBS. Estas incluían 10 muestras positivas para HTLV, 10 muestras positivas para Sífilis, 10 muestras positivas para HBsAg, 10 muestras positivas para HCV, 10 muestras positivas para Enfermedad de Chagas, 10 muestras positivas para Zika, 10 muestras positivas para CMV, 10 muestras positivas para Rubéola y 10 muestras positivas para Toxoplasmosis. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HTLV, Sífilis, HBsAg, HCV, Enfermedad de Chagas, Zika, CMV, Rubéola y Toxoplasmosis. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar completamente la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe tener en cuenta los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD
El Laboratorio Clínico debe contar con un programa de control de calidad interno, donde estén claramente establecidos los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a variaciones. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para ello, se recomienda utilizar controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

PRECISIÓN
Repetibilidad
La repetibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Repetibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	1,598	0,756	0,098
Desvío Patrón	0,121	0,104	0,013
Coefficiente de Variación (%)	7,55	13,72	13,46

Reproductibilidad
La reproductibilidad fue calculada a partir de 20 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

Reproductibilidad	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,098	1,590	0,719
Desvío Patrón	0,018	0,211	0,103
Coefficiente de Variación (%)	18,32	13,25	14,33

Considerando la variación de todas las muestras analizadas en el estudio de precisión, se observó que el kit tenía un coeficiente de variación inferior al 20%.

Sensibilidad y Especificidad Clínicas
El kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS se utilizó para analizar muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas mediante otro método de inmunoensayo enzimático de referencia. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS es >99,9% y la especificidad clínica es >99,9%.

RESULTADO		REFERENCIA		
		Positivo	Negativo	Total
BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS	Positivo	165	0	165
	Negativo	0	247	247
	Total	165	247	412

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (165/165) - IC 95% (97,8 a 100%)
Especificidad Clínica: > 99,9% (247/247) - IC 95% (98,5 a 100%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO
El HIV es el agente etiológico del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Las principales vías de transmisión incluyen la exposición a sangre y hemoderivados, incluido el uso compartido de agujas y jeringuillas, el contacto sexual y la transmisión de madre a hijo. El virión está rodeado por una envoltura lipídica derivada de la membrana de la célula huésped. La envoltura contiene varias glicoproteínas víricas. Cada virión contiene dos copias de ARN genómico de sentido positivo. El HIV-1 se ha aislado de pacientes con SIDA y de personas sanas con un alto riesgo potencial de desarrollar SIDA. La infección por HIV-1 se identifica por una fase inicial de antigenemia en la que el antígeno (Ag) del HIV-1 es detectable en la sangre. En la mayoría de los casos, los niveles de antígeno suelen ser difíciles de detectar; sin embargo, el creciente fallo del sistema inmunitario y el aumento de los niveles del virus pueden estimular de nuevo los niveles de antígeno detectables. La importante proteína estructural interna del HIV-1, la proteína del núcleo P24, es uno de los componentes víricos que se encuentran en la sangre durante la antigenemia. Además, el HIV-1 está formado por el subtipo M y el subtipo O. En 1990 se reconocieron cepas muy divergentes del HIV-1 y se agruparon provisionalmente como subtipo O, ya que esta variación era similar a los marcadores de glicoproteínas del HIV-1, pero con una ligera variación para el marcador de proteínas. Aunque raramente se han comparado el HIV-1 y el HIV-2, hasta ahora se han identificado infecciones causadas por el subtipo O en África (Camerún), Francia y Alemania. El HIV-2 se ha aislado de pacientes con SIDA y de individuos seropositivos asintomáticos en África Occidental. El HIV-1, el HIV-2 y el subtipo O inducen una respuesta inmunitaria. La detección inmunológica de antígenos y anticuerpos del HIV en suero, plasma o sangre total es más eficaz y una forma habitual de determinar si un individuo ha estado expuesto al HIV. A pesar de las diferencias en sus características biológicas, actividades serológicas y secuencias genómicas, el HIV-1, el HIV-2 y el subtipo O muestran una fuerte reactividad cruzada antigénica. También se incluyen anticuerpos contra el antígeno P24 del HIV-1 para la detección de la fase de conversión preséptica de la infección. La mayoría de los sueros HIV-2 positivos pueden identificarse mediante pruebas serológicas con el HIV-1.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS
1. ALLEN JUNIOR, L. V.; ANSEL, H. C. Ansel's Pharmaceutical 1. Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB. Nature (1993) 3;363:466-9.
2. Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G, Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
3. Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
4. Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998) 280(1):42-48.
5. Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science (1995) 268:1612-161.
6. Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960.
7. TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e Monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
8. Bioclin - Dados de arquivos.

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

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

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

Número de Registro del kit BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS en la ANVISA: 10269360458

Revisión: Febrero/2025

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

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

BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS

REF K250

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Fourth generation sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) for the qualitative detection of the presence of p24 antigen, anti-HIV-1, anti-HIV-2, and/or subtype O in **dried blood samples collected on filter paper (DBS)**, for screening in adults and neonates, using an enzyme-linked immunosorbent assay. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymatic
The BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS kit is a fourth-generation solid-phase enzyme-linked immunosorbent assay based on the "sandwich" principle for the detection of p24 antigen, anti-HIV-1, anti-HIV-2 and/or subtype O antibodies in dried blood samples collected on filter paper. The microplate is coated with HIV-1 and HIV-2 specific antigens (HIV-1 gp41 and gp120 antigen and HIV-2 gp36 antigen) and HIV-1 anti-p24 antibody. Antibodies present in the dried blood sample are eluted and bind to the microplate coated with specific recombinant antigens, forming antigen-antibody immunocomplexes. Together with the first incubation, conjugate 1 is added, consisting of biotin-conjugated anti-HIV p24, which binds to the p24 antigens present in the sample, forming antibody-antigen-antibody immunocomplexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. Conjugate 2 containing HIV-1, HIV-2 and streptavidin antigens, all bound to peroxidase, is added to the microplate and then incubated. The antigens in conjugate 2 bind to the antibodies in the sample that have been captured by the antigens in the microplate, forming antigen-antibody-antigen immunocomplexes. Streptavidin linked to peroxidase, also present in conjugate 2, binds to biotin linked to the anti-HIV p24 of the antibody-antigen-antibody immunocomplexes. After these steps, another wash is carried out to remove unbound materials. The substrate is then added and incubated, producing a blue color that indicates the detection of anti-HIV antibodies and/ or p24 antigen present in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction with a color change from blue to yellow. The intensity of the color is measured at 450/620 nm.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Microplate coated with HIV-1 and HIV-2 specific antigens (HIV-1 gp41 and gp120 antigen and HIV-2 gp36 antigen) and HIV-1 anti-p24 antibody.
- 2- Conjugate 1** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing biotin-linked anti-HIV p24 antibody, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 3- Concentrated Wash** - Store between 2 and 8°C. Contains: Buffer solution (phosphate < 0.5 mol/L, potassium chloride < 100 mmol/L, sodium chloride < 5 mol/L), surfactant and preservative.
- 4- Conjugate 2** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Specific antigens for HIV-1, HIV-2 and streptavidin, all bound to peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.
- 5- Substrate** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing urea peroxide, tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8 °C. Contains: 1 M hydrochloric acid solution.
- 7- Elution Buffer** - Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution, surfactant, stabilizer and preservative.
- 8- DBS Negative Control** - Store between 2 and 8 °C. Contains: HIV non-reactive solution impregnated on filter paper. **Potentially infectious.**
- 9- DBS Positive Control** - Store between 2 and 8 °C. Contains: HIV antibody solution impregnated on filter paper. **Potentially infectious.**
- 10- HIV-1 p24 Positive Control** - Store between 2 and 8 °C. Solution with p24 antigens, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 Cavities	192 Cavities	480 Cavities
1- Sensitized Plate	1 Unit	2 Units	5 Units
2- Conjugate 1	1 Vial x 6 mL	1 Vials x 12 mL	1 Vials x 30 mL
3- Concentrated Wash	1 Vial x 50 mL	1 Vials x 100 mL	1 Vials x 250 mL
4- Conjugate 2	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
5- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
6- Stop Solution	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
7- Elution Buffer	1 Vial x 12 mL	1 Vials x 24 mL	1 Vials x 60 mL
8- DBS Negative Control	1 Unit	2 Units	3 Units
9- DBS Positive Control	1 Unit	2 Units	3 Units
10- HIV-1 p24 Positive Control	1 Vial x 0.5 mL	1 Vials x 1.0 mL	1 Vials x 1.0 mL

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table

Required materials not contained in the kit:

- 1-** Pipettes capable of dispensing volumes of 50 to 500 µL with a coefficient of variation of less than 1.5%.
- 2-** Repipettor for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with a coefficient of variation of less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3-** Microplate washer for filter paper technique.
- 4-** ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm wavelength.
- 5-** Absorbent paper to dry the microcavities.
- 6-** Stopwatch or clock.
- 7-** Bottle to store the washing solution after dilution.
- 8-** Distilled or deionized water.
- 9-** Quality control tools.
- 10-** Incubator 37 °C ± 2 °C.
- 11-** Paper mincer (diameter 3 ± 0.2 mm).

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

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

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- 2-** Strictly follow the proposed methodology in order to obtain accurate results.
- 3-** The sachet containing the microplate should only be opened after it has reached room temperature. Place the unused microcavity strips back in the sachet, seal and store between 2 and 8 °C.
- 4-** The water used to clean the material must be fresh and free of contaminants.

- 5-** Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, oxidizing and reducing agents which can significantly alter the results.
- 6-** The Stop Solution contains hydrochloric acid, which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
- 7-** All the product's raw materials are tested as non-reactive for HBsAg and Anti-HCV. However, these tests do not provide complete assurance of the absence of infectious agents. The handling of any product containing a biological sample is potentially capable of transmitting diseases. Biosafety precautions must therefore be taken when handling these products.
- 8-** Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microcavities.
- 9-** As a protective measure, cover the plate during the reaction.
- 10-** Ensure that the bottom of the cavity is clean and dry and that there are no bubbles on the surface of the liquid before reading the plate. Do not allow the wells to dry out during the test.
- 11-** Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during storage or incubation steps.
- 12-** We recommend applying local, state and federal environmental protection regulations so that reagents and biological material are disposed of in accordance with current legislation.
- 13-** For information related to biosafety or in the event of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available at www.bioclin.com.br or by contacting Quibasa's Customer Service Center.
- 14-** Do not use the product if the packaging is damaged.
- 15-** It is essential that the instruments and equipment used are properly calibrated and undergo periodic maintenance.

SAMPLES

Dried blood collected on filter paper (DBS) - EDTA, Puncture or Heel stick (for neonates)

The filter paper used must be specific for collecting dried blood samples, such as the S&S 903 and Ahlstrom 226 models. The laboratory must check the quality of the samples before use. Dried blood samples on filter paper can be stored for up to 35 days at room temperature, as long as they are protected from direct sunlight and in low humidity. For storage of up to 2 years, the samples should be kept refrigerated between 2 and 8 °C. Storage for longer than 2 years should be at -20 °C.⁷

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

The stability test results show that the BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS kit is stable after opening for at least 30 days. This stability may vary according to the test conditions and the environment. Therefore, it is suggested to monitor the product's performance using the kit's internal controls and the technique's validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of bottle No. 3 (Concentrated Wash) 1:20 with distilled or deionized water. In this way, dilute 50 mL of the Concentrated Wash solution in distilled or deionized water to a final volume of 1000 mL. After preparation, the solution can be stored between 2 and 30 °C for up to 30 days. If crystallization occurs, heat to 37 °C until dissolved.

All other reagents are ready for use.

TECHNIQUE

For use in automatic equipment, consult the Customer Service Department (SAC).

Before starting the test, leave all reagents, samples and controls to stabilize at room temperature (15 - 30 °C) for at least 40 minutes.

- 1-** Separate the wells to be used considering: p24 HIV-1 Positive Control, DBS Positive Control, DBS Negative Control and dried blood samples collected on filter paper (we recommend testing

in duplicate). Return the unused microplate strips to their original sealed packaging.

- 2-** Separate the first well for the blank (OPTIONAL).

IMPORTANT! The following steps must be carried out strictly in the sequence described below.

- 3-** Add a 3 mm disk of DBS Positive Control, DBS Negative Control and dried blood samples collected on filter paper, previously minced, to the determined wells.

- 4-** Pipette 50 µL of the p24 HIV-1 Positive Control into the previously determined well.

- 5-** Pipette 50 µL of Elution Buffer into all the wells **except** the well for the p24 HIV-1 Positive Control, including the well for the Blank.

- 6-** Pipette 50 µL of conjugate 1 into all wells, **including** the p24 HIV-1 Positive Control well and the Blank well.

- 7-** Homogenize gently for ± 30 seconds, cover the wells with a plate sealer.

- 8-** Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at (approximately 25 °C) and under constant agitation of 650 rpm, which can vary between 550 and 750 rpm.

Note: Stirring at the indicated speed is a crucial step for the efficient elution of dried blood samples and is necessary for the correct performance of the assay.

- 9-** After incubation, discard the contents of the wells by aspiration (washer for filter paper technique). Use approximately 300 µL of previously prepared washing solution and carry out a total of five (5) washing cycles with a three (3) second shake at the end of each cycle. To ensure that the plate is dry, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing/drying can cause inadequate results.

- 10-** Pipette 100 µL of Conjugate into all the wells, **including** the blank well.

- 11-** Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

- 12-** Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

- 13-** Remove the plate sealer from the wells.

- 14-** Repeat item 9.

- 15-** Pipette 100 µL of Substrate into all the wells. **Including** the blank cavity.

- 16-** Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

- 17-** Incubate for 10 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

- 18-** Remove the plate sealer from the wells.

- 19-** Pipette 100 µL of Stop Solution into all wells.

- 20-** Homogenize gently for ± 30 seconds.

- 21-** Read using a double filter: 450 nm / 630 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

Check that the results obtained for reading the Blank and the Reference Standards are compatible with the values shown below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.200
DBS Negative Control	< 0.200
DBS Positive Control	> 0.500
p24 HIV-1 Positive Control	> 0.500

If the values are outside the expected values, the technique should be repeated.

CALCULATIONS
QUALITATIVE

Calculate the Cut-Off according to the following formula:
Cut Off = Average Absorbance of Negative Control DBS + 0.180.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
DBS Negative Control	0.086
	0.088
Cut Off = Average Absorbance of Negative Control DBS + 0.180	(0.086 + 0.088) / 2 + 0.180 = 0.267

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

Example:

ITEM	ABSORBANCIA
Sample	1.145
Cut-Off Value	0.267
Index = Sample / Cut-Off Value	1.145 / 0.267 = 4.288

Note: The data presented in the examples is for illustrative purposes only and cannot be used to calculate results.

Each laboratory must validate the cut-off according to the instrumentation used and the population surveyed.

INTERPRETATION OF RESULTS

After calculating the sample index, consider the indexes below to determine the results.

RESULTS	INDEX
Negative (No Reactive)	< 0.8
Indeterminate	Between 0.8 and 1.2
Positive (Reactive)	> 1.2

Non-Reactive: Sample with absorbance lower than the cut-off is considered non-reactive for p24 antigen, anti-HIV1, anti-HIV2 antibodies, and/or subtype O, and can be considered negative.

Reactive: Sample with absorbance higher than the cut-off is considered initially reactive for p24 antigen, anti-HIV1, anti-HIV2 antibodies, and/or subtype O. The sample must be re-analyzed in duplicate before the end of interpretation. A sample that is reactive in at least one of the reanalyses is presumed to be reactive and must be confirmed by another diagnostic method.

Observations: In the event of an indeterminate result, the sample must be re-analyzed in duplicate. Samples that repeatedly obtain indeterminate results should be retested using an alternative method. If the results remain indeterminate, a new sample should be taken within two weeks. The result of the last sample collected should prevail. The interpretation of a diagnostic test should not be based on a single test. Other confirmatory tests should be included before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before a descriptive diagnosis of the disease can be made.

LIMITATIONS OF THE PROCESS

The interpretation of a diagnostic test should not be established on the basis of a single assay. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information before a definitive diagnosis can be made. The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible and are not the sole criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

INTERFERENTS

No interference was observed for the concentrations of Triglycerides 1500 mg/dL, Acetylsalicylic Acid 20 mg/dL, Ascorbic Acid 2 g/dL, Creatine 200 mg/dL, Bilirubin 1 g/dL, Albumin 2 g/dL, Hemoglobin 1000 mg/dL, Oxalic Acid 60 mg/dL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL, anti-Streptolysin O 1023 IU/mL and Rheumatoid Factor 1080 IU/mL.

CROSS-REACTIVITY

A study was carried out with 90 dried blood samples collected on filter paper that were negative for HIV but positive for other infections, in order to assess the possibility of cross-reactivity of these interferents in the BIOLISA HIV 1/2/O AG/AB DBS result. These included 10 samples positive for HTLV, 10 samples positive for Syphilis, 10 samples positive for HBsAg, 10 samples positive for HCV, 10 samples positive for Chagas Disease, 10 samples positive for Zika, 10 samples positive for CMV, 10 samples positive for Rubella and 10 samples positive for Toxoplasmosis. No cross-reactivity was observed with samples positive for HTLV, Syphilis, HBsAg, HCV, Chagas Disease, Zika, CMV, Rubella and Toxoplasmosis. Despite the results found, the possibility of cross-reactivity cannot be completely ruled out. The final diagnosis must consider the patient's clinical data together with other laboratory data.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control program, where procedures, standards, limits and tolerance for variations are clearly established. It is important to note that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. To this end, it is advisable to use controls to assess the precision and accuracy of dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

PRECISION

Repeatability

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

Repeatability	SAMPLE		
	1	2	3
Average	1.598	0.756	0.098
Standard Deviation	0.121	0.104	0.013
Coefficient of Variation (%)	7.55	13.72	13.46

Reproducibility

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

Reproducibility	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0.098	1.590	0.719
Standard Deviation	0.018	0.211	0.103
Coefficient of Variation (%)	18.32	13.25	14.33

Clinical Sensitivity and Specificity

The BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS kit was used for the analysis of clinical samples previously characterized and confirmed using another reference enzyme immunoassay method. The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS kit is >99.9% and the clinical specificity is >99.9%.

RESULT		REFERENCE		
		Positive	Negative	Total
BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS	Positive	165	0	165
	Negative	0	247	247
	Total	165	247	412

Clinical Sensitivity: > 99.9% (165/165) IC 95% = 97.8 a 100%

Clinical Specificity: > 99.9% (247/247) IC 95% = 98.5 a 100%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

HIV is the etiological agent of Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). The main routes of transmission include exposure to blood and blood products, including sharing needles and syringes, sexual contact, mother-to-child transmission. The virion is surrounded by a lipid envelope that is derived from the host cell membrane. Several viral glycoproteins are on the envelope. Each virus contains two copies of genomic positive sense RNA. HIV-1 has been isolated from AIDS patients and healthy people at high risk for developing AIDS. HIV-1 infection is identified by an initial phase of antigenemia in which HIV-1 antigen (Ag) is detectable in the blood. In most cases, antigen levels are often difficult to detect, however, increasing immune system failure and rising virus levels can again stimulate detectable antigen levels. The important internal structural protein of HIV-1, the core protein P24, is one of the viral components found in the blood during antigenemia. Furthermore, HIV-1 consists of subtype M and subtype O. Highly divergent strains of HIV-1 were recognized in 1990 and provisionally grouped as subtype O, as this variation was similar to HIV-1 glycoprotein markers, but with a slight variation for the protein marker. Although rarely compared for HIV-1 and HIV-2, infections caused by Subtype O have so far been identified in Africa (Cameroon), France and Germany. HIV-2 has been isolated from AIDS patients and asymptomatic HIV-positive individuals in West Africa. HIV-1, HIV-2, and Subtype O induce an immune response. Immunological detection of anti-HIV antigens and antibodies in serum, plasma, or whole blood is the most efficient and common way to determine whether an individual has been exposed to HIV. Despite differences in their biological characteristics, serological activities and genome sequences, HIV-1, HIV-2, subtype O shows strong antigenic cross-reactivity. Antibodies against the HIV-1 P24 antigen are also included for detection of the pre-serum conversion phase of infection. Most HIV-2 positive sera can be identified through HIV-1 serological testing.

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Chang, SY, Bowman, BH, Weiss, JB, Garcia, RE and White, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB. Nature (1993) 3;363:466-9.
2. Arya, SK, Beaver, B, Jagodzinski, L, Ensoli, B, Kanki, PJ, Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G, Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
3. Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
4. Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM, Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998) 280(1):42-48.
5. Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science (1995) 268:1612-161.
6. Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960.
7. TELELAB. Manual de Coleta de Sangue - Diagnóstico e Monitoramento das DST, Aids e Hepatites Virais.
8. Bioclin - Dados de arquivos.

QUALITY ASSURANCE

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

QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

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

CUSTOMER SERVICE

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

ANVISA registration for BIOLISA HIV 1/2/O Ag/Ab DBS kit:
10269360458

Review: February/2025

UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MADE BY
	LOT NUMBER		CONTROL
	MANUFACTURING DATE		POSITIVE CONTROL
	VALIDITY DATE (last day of the month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMIT (store)		BIOLOGICAL RISK
	CONTENT IS SUFFICIENT FOR <N> TEST		FLAMMABLE
	SEE INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC PRODUCT		TOXIC
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED
	DO NOT REUSE		PRODUCT STERILIZED
	CAUTION		DANGER