

Bioclin

BIOLISA HIV 1/2/O

REF **K118**

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste de terceira geração para a detecção qualitativa da presença de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) do HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O em amostras biológicas (soro e plasma humano) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimático.

O kit BIOLISA HIV 1/2/O é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio “sanduíche” para a detecção de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) para HIV-1, HIV-2 e/ou subtipo O em amostras de soro e plasma. A microplaca é revestida com antígenos recombinantes de HIV, específicos para HIV-1 (p24, gp41), HIV-2 (gp36) e subtipo O. Anticorpos contra o HIV-1, HIV-2 e/ou subtipo O, presentes nas amostras, se ligam aos antígenos recombinantes de HIV revestidos na microplaca, formando complexos antígenos-anticorpos anti-HIV. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover materiais não ligados. Os antígenos recombinantes de HIV conjugados à enzima peroxidase são adicionados à microplaca e então incubados. Os antígenos recombinantes de HIV conjugados à peroxidase se ligam aos complexos imobilizados antígeno-anticorpo anti-HIV presentes. Uma nova lavagem é realizada para remover materiais não ligados. Após esta etapa, o substrato é adicionado e incubado, produzindo uma cor azul que indica a detecção de anticorpos anti-HIV presentes nas amostras. A Solução de Parada é adicionada para interromper a reação, havendo uma mudança de cor para amarelo, medida em um leitor de microplacas.

REAGENTES

1- Placa Sensibilizada – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Microplaca revestida com antígenos recombinantes de HIV.

2- Conjugado – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Antígenos recombinantes de HIV ligados à peroxidase, 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- Substrato – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução tampão contendo peróxido de ureia, tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.

5- Solução de Parada – Conservar entre 2 e 8 °C. Contém: Solução de ácido clorídrico 1 M.

6- Controle Negativo – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução não reativa para HIV-1 e HIV-2 e conservante. **Potencialmente infectante.**

7- Controle Positivo HIV-1 – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução reativa para HIV-1, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**

8- Controle Positivo HIV-2 – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução reativa para HIV-2, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**

9- Seladores de placa.

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3	4	5
	96 cavidades	192 cavidades	192 cavidades	480 cavidades	480 cavidades
1-Placa Sensibilizada	1 Unidade	2 Unidades	2 Unidades	5 Unidades	5 Unidades
2-Conjugado	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	2 Frascos x 12 mL	1 Frasco x 60 mL	5 Frascos x 12 mL
3-Lavagem Concentrada	1 Frasco x 50 mL	1 Frasco x 100 mL	2 Frascos x 50 mL	1 Frasco x 250 mL	5 Frascos x 50 mL
4-Substrato	1 Frasco x 12 mL	1 Frasco x 24 mL	2 Frascos x 12 mL	1 Frasco x 60 mL	5 Frascos x 12 mL
5-Solução de Parada	1 Frasco x 8 mL	1 Frasco x 16 mL	2 Frascos x 8 mL	1 Frasco x 40 mL	5 Frascos x 8 mL
6-Controle Negativo	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	1 Frasco x 2 mL	5 Frascos x 1 mL
7-Controle Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	1 Frasco x 2 mL	5 Frascos x 1 mL
8-Controle Positivo HIV-2	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	1 Frasco x 2 mL	5 Frascos x 1 mL
9-Seladores de placa	3 unidades	1 unidade	6 unidades	1 unidade	15 unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.

Materiais necessários não contidos no kit:

1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 5 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.

4- Leitora de ELISA com capacidade de absorvância 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.

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*.

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 e deve ser 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 soro 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

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

Amostras hemolisadas e altamente lipêmicas não devem ser usadas. As amostras podem ser conservadas sob refrigeração, entre 2 e 8 °C, pelo período máximo de 5 dias. Se as amostras não puderem ser analisadas dentro de 5 dias, podem ser estocadas por até 30 dias a temperatura de -20 °C. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado não devem ser utilizadas.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

Estabilidade Após Aberto

Os resultados do teste de estabilidade comprovam que o kit BIOLISA HIV 1/2/O é estável após aberto por até 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 de água destilada ou deionizada; por exemplo: 50 mL de solução de Lavagem Concentrada em 1000 mL de água destilada ou deionizada. 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 ao 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 HIV-1, Controle Positivo HIV-2, Controle Negativo, e Amostras (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).

3- Pipetar 100 µL de Controle Positivo HIV-1, Controle Positivo HIV-2, Controle Negativo e amostras nas cavidades previamente determinadas.

4- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.

5- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

6- Retirar o selador das cavidades.

7- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração em uma Lavadora de Microplacas. Usar aproximadamente 300 µL de Solução de Lavagem, **previamente preparada**, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 5 segundos. 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.

8- Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as cavidades, **inclusive** na cavidade do Branco.

9- Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

10- Incubar por 20 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

11- Retirar o selador das cavidades.

12- Repetir o item 7.

13- Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, **inclusive** na cavidade do Branco.

14- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

15- Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.

16- Retirar o selador de placa das cavidades.

17- Pipetar 50 µL de Solução de Parada em todas as cavidades.

18- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.

19- 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 Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,100
Controle Negativo (R6)	< 0,100
Controle Positivo HIV-1 (R7)	> 0,500
Controle Positivo HIV-2 (R8)	> 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 (R6)) + 0,180.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Negativo (R6)	0,048
	0,050
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Negativo (R6)) + 0,180.	((0,048 + 0,050) / 2) + 0,180 = 0,229

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	3,102
Valor de Cut Off	0,229
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	3,102 / 0,229 = 13,54

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

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

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

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reagente)	< 0,9
Indeterminado	Entre 0,9 e 1,1
Positivo (Reagente)	> 1,1

Não Reagente: Amostra com o índice < 0,9 é considerada não reagente para anticorpos do HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O e pode ser considerada negativa.

Reagente: Amostra com o índice > 1,1 é considerada inicialmente reativa para anticorpos do HIV-1, HIV-2, 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 diagnóstico, 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 Tríglicérides 1200 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, Fator Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e Anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) podem apresentar fibrina e precipitação de fibronectina que podem interferir no teste. Amostras colhidas em tubo de soro, EDTA, heparina e citrato não interferem no ensaio.

REATIVIDADE CRUZADA

Um estudo de reatividade cruzada foi realizado, avaliando 71 amostras de soro e plasma negativas para HIV, mas positivas para outras infecções. Dentre elas 5 amostras positivas para HBsAg, 6 amostras positivas para HTLV, 5 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para COVID-19, 5 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Rubéola, 5

amostras positivas para CMV, 8 amostras positivas para Doença de Chagas, 8 amostras positivas para Sífilis e 9 amostras positivas para Toxoplasmose. Não foi observado reatividade cruzada com amostras positivas para HBsAg, HTLV, HCV, COVID-19, Dengue, Rubéola, CMV, Doença de Chagas, Sífilis e Toxoplasmose. Apesar dos resultados encontrados, não se pode descartar completamente a possibilidade de reatividade cruzada. O diagnostico 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	2,430	0,697	0,007
Desvio Padrão	0,033	0,024	0,001
Coefficiente de Variação (%)	1,35	3,44	14,29

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 absorbancia:

Reprodutibilidade	Amostra		
	1	2	3
Média	1,715	0,368	0,033
Desvio Padrão	0,144	0,039	0,005
Coefficiente de Variação (%)	8,41	10,58	15,13

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

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

BIOLISA HIV 1/2/O	Resultado Referência		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	87	0	87
Negativo	0	398	398
Total	87	398	485

Sensibilidade Clínica: >99,9% (87/87) - IC 95% (95,8 – 100%)

Especificidade Clínica: >99,9% (398/398) - IC 95% (99,1 – 100%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

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 e transmissão de mãe para filho. O vírion é cercado por um envelope lipídico, derivado da membrana da célula hospedeira. Várias glicoproteínas virais estão no envelope. Cada vírus contém duas cópias de RNA genômico. O HIV-1 foi isolado de pacientes com AIDS, e de pessoas saudáveis com alto potencial de risco para o

desenvolvimento da AIDS. 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 de 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 seqüências de genoma, o HIV-1, HIV-2 e subtipo O mostram forte reatividade cruzada antigênica. A maioria dos soros positivos HIV-2 podem ser identificados por meio de testes sorológicos com HIV-1. O teste utiliza antígenos recombinantes do HIV para detectar seletivamente anticorpos do HIV-1, HIV-2 e/ou subtipo O.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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, P,J,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- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR.

8- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.

9- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

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

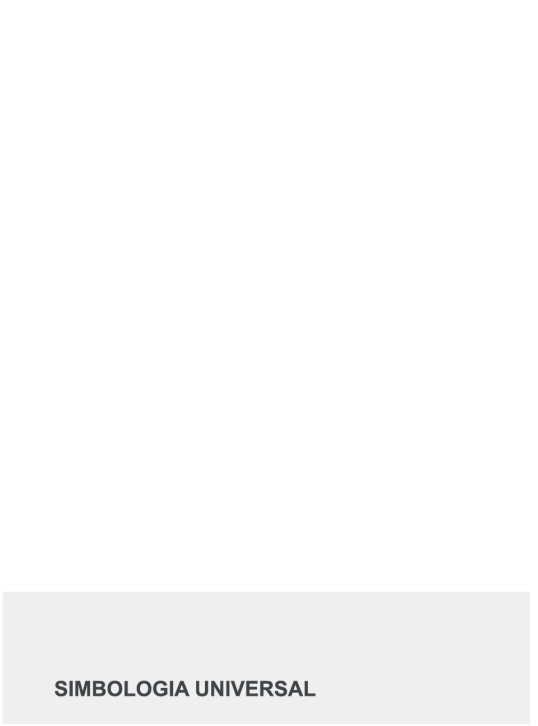
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 | E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

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 na ANVISA: 10269360200

Revisão: Outubro/2025



	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 <-> TESTE		INFLÂMAVEL
	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 ESTERELIZADO
	CUIDADO		PERIGO

BIOLISA HIV 1/2/O

REF K118

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

Prueba de tercera generación para la detección cualitativa de la presencia de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) del HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O en muestras biológicas (suero y plasma humano) mediante enzima-inmunoensayo. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoenzimático. El kit BIOLISA HIV 1/2/O es un inmunoensayo enzimático en fase sólida basado en el principio de "sándwich" para la detección de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) frente al HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O en muestras de suero y plasma. La microplaca está recubierta con antígenos recombinantes de HIV, específicos para HIV-1 (p24, gp41), HIV-2 (gp36) y subtipo O. Anticuerpos contra HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O, presentes en las muestras, se unen a los antígenos recombinantes del HIV recubiertos en la microplaca, formando complejos antígeno-anticuerpo anti-HIV. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar el material no unido. Los antígenos recombinantes del HIV conjugados con la enzima peroxidasa se agregan a la microplaca y luego se incuban. Los antígenos del HIV recombinantes conjugados con peroxidasa se unen a los complejos antígeno-anticuerpo anti-HIV inmovilizados presentes. Se realiza un lavado adicional para eliminar los materiales no unidos. Luego de este paso, se agrega el sustrato y se incuban, produciendo un color azul que indica la detección de anticuerpos anti-HIV presentes en las muestras. Se agrega Solución de Parada para detener la reacción y se mide un cambio de color a amarillo en un lector de microplacas.

REACTIVOS

- 1- Placa Sensibilizada** – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Microplaca recubierta con antígenos recombinantes del HIV.
- 2- Conjugado** – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Antígenos recombinantes del HIV ligados a la peroxidasa, tensioactivo, estabilizantes, colorante y conservante.
- 3- Lavado Concentrado** – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón (fosfato < 0,5 mol/L, cloruro de potasio < 100 mmol/L, cloruro de sodio < 5 mol/L), tensioactivo y conservante.
- 4- Sustrato** – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución tampón que contiene peróxido de urea, tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
- 5- Solución de Parada** – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: solución de ácido clorhídrico 1 M.
- 6- Control Negativo** – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución no reactiva para HIV-1 y HIV-2 y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 7- Control Positivo HIV-1** – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución reactiva para HIV-1, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 8- Control Positivo HIV-2** – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución reactiva de HIV-2, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
- 9- Selladores de placas.**

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3	4	5
	96 cavidades	192 cavidades	192 cavidades	480 cavidades	480 cavidades
1-Placa Sensibilizada	1 Unidad	2 Unidades	2 Unidades	5 Unidades	5 Unidades
2-Conjugado	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	2 Vials x 12 mL	1 Vial x 60 mL	5 Vials x 12 mL
3-Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	2 Vials x 50 mL	1 Vial x 250 mL	5 Vials x 50 mL
4- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	2 Vials x 12 mL	1 Vial x 60 mL	5 Vials x 12 mL
5- Solución de Parada	1 Vial x 8 mL	1 Vial x 16 mL	2 Vials x 8 mL	1 Vial x 40 mL	5 Vials x 8 mL
6- Control Negativo	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
7- Control Positivo HIV-1	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
8- Control Positivo HIV-2	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
9-Selladores de placa	3 unidades	1 unidad	6 unidades	1 unidad	15 unidades

EQUIPOS Y INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el ítem anterior.

Materiales necesarios no contenidos en el kit:

- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 5 a 500 µL con un coeficiente de variación inferior al 1,5%.
- Repetidor para pipeteo repetitivo de volúmenes de 300 µL con coeficiente de variación inferior al 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
- Lavador de microplacas.
- Lector de ELISA con capacidad de absorbancia a 450 y 630 nm de longitud de onda.
- Papel absorbente para secar las microcavidades.
- Cronómetro o reloj.
- Frasco para almacenar la Solución de Lavado después de la dilución.
- Agua destilada o desionizada.
- Herramientas de Control de Calidad.
- Incubadora 37 ± 2 °C.

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 los 5 días. Mantener alejado de la luz y evitar la humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

- Solo para uso diagnóstico *in vitro*.**
- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
- El sobre que contiene la microplaca solo debe abrirse después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de micropocillos no utilizadas en el sobre, selle y almacene a una temperatura de 2 a 8 °C.
- El agua utilizada para la limpieza del material debe ser reciente y libre de contaminantes.
- Las columnas desionizantes saturadas liberan agua alcalina, varios iones y agentes oxidantes y reductores que pueden alterar

significativamente los resultados.

- La Solución de Parada contiene ácido clorhídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manéjelo con el debido cuidado.
- Toda la materia prima del producto es testeada y debe ser no reactiva para HbsAg y Anti-HCV. Sin embargo, estas pruebas no ofrecen una seguridad completa de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga suero es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, es necesario tomar las debidas precauciones de bioseguridad al manipular estos productos.
- Pipetee siempre los reactivos en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre los pocillos.
- Como medida de protección, la placa debe estar cubierta durante la reacción.
- Se debe asegurar que el fondo de la cavidad esté limpio y seco y que no haya burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante el ensayo.
- No exponer los reactivos, especialmente el Sustrato, a luz fuerte o vapores de hipoclorito durante las etapas de almacenamiento o incubación.
- Recomendamos aplicar las normas locales, estatales y federales de protección ambiental para que la disposición de reactivos y material biológico se realice de acuerdo a la legislación vigente.
- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consultar la FDS (Ficha de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del SAC (Servicio de Asistencia al Cliente) de Quibasa.
- No utilice el producto si el embalaje está dañado.
- Es imperativo que los instrumentos y equipos utilizados estén debidamente calibrados y sometidos a mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No se deben utilizar muestras hemolizadas y altamente lipémicas. Las muestras se pueden almacenar en refrigeración, entre 2 y 8 °C, por un período máximo de 5 días. Si las muestras no se pueden analizar en 5 días, se pueden almacenar hasta 30 días a -20 °C. No se deben utilizar muestras de plasma almacenadas durante periodos más largos de lo recomendado.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit BIOLISA HIV 1/2/O es estable después de abierto hasta 30 días. Esta estabilidad puede variar según la prueba y las condiciones ambientales. Por lo tanto, se sugiere monitorear el desempeño del producto utilizando 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 de la ampolla N° 3 (Lavado Concentrado) en proporción 1:20 de agua destilada o desionizada; por ejemplo: 50 mL de Solución de Lavado Concentrado en 1000 mL de agua destilada o desionizada. Después de la preparación, la solución puede almacenarse entre 2 y 30 °C durante un máximo de 30 días. Si ocurre cristalización, calentar a 37 °C hasta disolución.

Todos los demás reactivos están listos para usar.

TÉCNICA

Para uso en equipos automáticos contactar con el SAC (Servicio de Atención al Cliente).

Antes de comenzar el ensayo, coloque todos los reactivos, muestras y controles para que se establezcan a temperatura ambiente (15 – 30 °C) durante al menos 40 minutos.

- Separar las cavidades a utilizar considerando: Control Positivo HIV-1, Control Positivo HIV-2, Control Negativo y Muestras (se recomienda realizar la prueba por duplicado). Devuelva las tiras

de microplacas no utilizadas al sobre sellado original.

- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
- Pipetear 100 µL de Controle Positivo HIV-1, Controle Positivo HIV-2, Controle Negativo y muestras en cavidades previamente determinadas.
- Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos, cubrir las cavidades con sellador de placas.
- Incubar durante 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- Retire el sellador de las cavidades.
- Desechar el contenido de los pocillos por aspiración en un Lavador de Microplacas. Utilice aproximadamente 300 µL de Solución de Lavado **previamente preparada** y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación de 5 segundos. Para garantizar el secado de la placa, al final del lavado, golpee la placa durante unos segundos sobre papel absorbente.

- Nota:** Un lavado/secado deficiente puede causar malos resultados.
- Pipetee 100 µL de conjugado en todos los pocillos, **incluido** el pocillo en Blanco.
 - Homogeneizar suavemente durante ± 10 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
 - Incubar durante 20 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
 - Retirar el sellador de las cavidades.
 - Repetir el punto 7.
 - Pipetear 100 µL de Sustrato en todos los pozos, **incluido** el pocillo en Blanco.
 - Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
 - Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
 - Retire el sellador de placas de los pocillos.
 - Pipetee 50 µL de Solución de Parada en todos los pocillos.
 - Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
 - Lectura con doble filtro: 450 nm / 630 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y los Controles son compatibles con los valores presentados a continuación:

ITEM	ABSORBÁNCIAS
Blanco	< 0,100
Control Negativo (R6)	< 0,100
Control Positivo HIV-1 (R7)	> 0,500
Control Positivo HIV-2 (R8)	> 0,500

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

CÁLCULOS CUALITATIVOS

Calcule Cut Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut Off = (Absorbancia Média del Control Negativo (R6)) + 0,180.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÁNCIAS
Control Negativo (R6)	0,048
	0,050
Cut Off = (Absorbancia Média del Control Negativo (R6)) + 0,180.	((0,048 + 0,050) / 2) + 0,180 = 0,229

Calcule el Índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de corte.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Muestra	3,102
Valor de Cut Off	0,229
Índice = Muestra / Valor de Cut Off	3,102 / 0,229 = 13,54

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son solo ilustrativos y no se pueden utilizar para el cálculo de resultados.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Después de calcular el índice de las muestras, considere los siguientes índices para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (No Reactivo)	< 0,9
Indeterminado	Entre 0,9 y 1,1
Positivo (Reactivo)	> 1,1

No Reactivo: La muestra con un índice < 0,9 se considera no reactiva para anticuerpos contra VIH-1, VIH-2 y/o subtipo O y puede considerarse negativa.

Reactivo: La muestra con un índice > 1,1 se considera inicialmente reactiva para anticuerpos contra VIH-1, VIH-2 y/o subtipo O. La muestra debe volver a analizarse por duplicado antes de finalizar la interpretación. La muestra que es reactiva en al menos uno de los reanálisis se presume reactiva y debe ser confirmada a través de otro método de diagnóstico.

Notas: En caso de resultados indeterminados, la muestra debe volver a analizarse por duplicado. Las muestras que arrojan resultados indeterminados repetidamente deben volver a analizarse con un método alternativo. Si los resultados siguen siendo indeterminados, se debe recolectar una nueva muestra en dos semanas. Prevalecerá el resultado de la última muestra recogida. La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en una sola prueba. Se deben incluir pruebas de confirmación adicionales antes de que una muestra se considere positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. Todos los resultados deben interpretarse junto con otra información clínica disponible, antes de realizar un diagnóstico descriptivo de la enfermedad.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de una prueba diagnóstica no debe basarse en una sola 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, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

INTERFERENTES

No se observó interferencia para las concentraciones de Triglicéridos 1200 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 dL., Ácido Oxálico 60 mg/dL, Factor Reumatoide 980 UI/mL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y Antiestreptolisina O 1023 UI/mL. Las muestras de plasma almacenadas durante períodos más largos de lo recomendado (30 días) pueden mostrar precipitación de fibrina y fibronectina que puede interferir con la prueba. Las muestras recogidas en un tubo de suero, EDTA, heparina y citrato no interfieren con el ensayo.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio de reactividad cruzada, evaluando 71 muestras de suero y plasma negativas para HIV pero positivas para otras infecciones. Entre ellos 5 muestras positivas para HBsAg, 6 muestras positivas para HTLV, 5 muestras positivas

para HCV, 10 muestras positivas para COVID-19, 5 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Rubéola, 5 muestras positivas para CMV, 8 muestras positivas para Enfermedad de Chagas, 8 muestras positivas a Sífilis y 9 muestras positivas a Toxoplasmosis. No se observó reactividad cruzada con muestras positivas para HBsAg, HTLV, HCV, COVID-19, Dengue, Rubéola, CMV, Enfermedad de Chagas, Sífilis y Toxoplasmosis. A pesar de los resultados encontrados, no se puede descartar por completo la posibilidad de reactividad cruzada. El diagnóstico final debe considerar los datos clínicos del paciente junto con otros datos de laboratorio.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO

El Laboratorio Clínico debe contar con un programa interno de Control de Calidad, donde se establezcan claramente los procedimientos, estándares, límites y tolerancia a las variaciones. Es importante señalar que todos los sistemas de medición tienen una variabilidad analítica característica, la cual debe ser monitoreada por los propios laboratorios. Para eso, se recomienda el uso de controles, que permitan evaluar la precisión y exactitud de las dosificaciones.

RENDIMIENTO DEL PRODUCTO

PRECISIÓN

Repetibilidad

La repetibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Repetibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	2,430	0,697	0,007
Desvío Patrón	0,033	0,024	0,001
Coefficiente de Variación (%)	1,35	3,44	14,29

Reproducibilidad

La reproducibilidad se calculó a partir de 10 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con valores diferentes, obteniendo los siguientes resultados de absorbancia:

Reproducibilidad	Muestra		
	1	2	3
Promedio	1,715	0,368	0,033
Desvío Patrón	0,144	0,039	0,005
Coefficiente de Variación (%)	8,41	10,58	15,13

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS

El kit BIOLISA HIV 1/2/O se utilizó para el análisis de muestras clínicas previamente caracterizadas y confirmadas por otro método de inmunoensayo enzimático de referencia. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HIV 1/2/O es >99,9 % y la especificidad clínica es >99,9 %.

BIOLISA HIV 1/2/O	Resultado Referencia		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	87	0	87
Negativo	0	398	398
Total	87	398	485

Sensibilidad Clínica: >99,9% (87/87) - IC 95% (95,8 – 100%)
Especificidad Clínica: >99,9% (398/398) - IC 95% (99,1 – 100%)

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El HIV es el agente etiológico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (AIDS). Las principales vías de transmisión incluyen la exposición a la sangre y los productos sanguíneos, incluido el intercambio de agujas y jeringas, 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.

Varias glicoproteínas virales están en el sobre. Cada virus contiene dos copias de RNA genómico. El HIV-1 se ha aislado de pacientes con AIDS y de personas sanas con alto riesgo potencial de desarrollar AIDS. El HIV-1 consiste en 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 glicoproteína del HIV-1, pero con una ligera variación para el marcador de proteína . Aunque rara vez se compara con 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 personas seropositivas asintomáticas en África Occidental. El HIV-1, el HIV-2 y el subtipo O inducen una respuesta inmunitaria. La detección de anticuerpos contra el HIV en suero, plasma o sangre total es la forma más eficiente y común de determinar si una persona ha estado expuesta al HIV. Apesar 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. La mayoría de los sueros positivos para el HIV-2 pueden identificarse mediante pruebas serológicas para el HIV-1. La prueba utiliza antígenos recombinantes del HIV para detectar selectivamente anticuerpos contra el HIV-1, el HIV-2 y/o el subtipo O.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1- 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.
- 2- 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 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, T.J, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960.
- 7- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR.
- 8- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and sérum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 9- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos de **Bioclin** son probados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos está garantizada hasta la fecha de caducidad indicada en el envase de presentación, siempre que se almacenen y transporten en 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 - Industria Brasileira

ATENCIÓN 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 en la ANVISA: 10269360200

Revisión: Octubre/2025

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO DE LOTE		CONTROLAR
	FECHA DE FABRICACION		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 ESTA DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA HIV 1/2/O

REF K118

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Third-generation test for the qualitative detection of the presence of total antibodies (IgG, IgM and IgA) of HIV-1, HIV-2, and/or subtype O in biological samples (human serum and plasma) through enzyme-immunoassay. Only for *in vitro* diagnostic use.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or enzyme immunoassay. The BIOLISA HIV 1/2/O kit is a solid-phase enzyme immunoassay based on the "sandwich" principle for the detection of total antibodies (IgG, IgM and IgA) to HIV-1, HIV-2 and/or subtype O in samples of serum and plasma. The microplate is coated with recombinant HIV antigens, specific for HIV-1 (p24, gp41), HIV-2 (gp36) and subtype O. Antibodies against HIV-1, HIV-2 and/or subtype O, present in the samples, bind to recombinant HIV antigens coated on the microplate, forming anti-HIV antigen-antibody complexes. After the initial incubation, the microplate is washed to remove unbound material. Recombinant HIV antigens conjugated to the enzyme peroxidase are added to the microplate and then incubated. Peroxidase-conjugated recombinant HIV antigens bind to immobilized anti-HIV antigen-antibody complexes present. A further wash is performed to remove unbound materials. After this step, the substrate is added and incubated, producing a blue color that indicates the detection of anti-HIV antibodies present in the samples. Stop Solution is added to stop the reaction and a color change to yellow, measured on a microplate reader.

REAGENTS

1- Sensitized Plate – Store between 2 and 8 °C. Contains: Microplate coated with recombinant HIV antigens.

2- Conjugate – Store between 2 and 8 °C. Contains: Recombinant HIV antigens linked to peroxidase, surfactant, stabilizers, dye and preservative.

3- Concentrated Washing – 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- Substrate – Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer solution containing urea peroxide, tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.

5- Stop Solution – Store between 2 and 8 °C. Contains: 1 M hydrochloric acid solution.

6- Negative Control – Store between 2 and 8 °C. Non-reactive solution for HIV-1 and HIV-2 and preservative. **Potentially infectious.**

7- HIV-1 Positive Control – Store between 2 and 8 °C. Reactive solution for HIV-1, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**

8- HIV-2 Positive Control – Store between 2 and 8 °C. HIV-2 reactive solution, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**

9- Plate sealers.

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3	4	5
	96 cavities	192 cavities	192 cavities	480 cavities	480 cavities
1- Sensitized Plate	1 Unit	2 Units	2 Units	5 Units	5 Units
2- Conjugate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	2 Vials x 12 mL	1 Vial x 60 mL	5 Vials x 12 mL
3- Concentrated Washing	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	2 Vials x 50 mL	1 Vial x 250 mL	5 Vials x 50 mL
4- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	2 Vials x 12 mL	1 Vial x 60 mL	5 Vials x 12 mL
5- Stop Solution	1 Vial x 8 mL	1 Vial x 16 mL	2 Vials x 8 mL	1 Vial x 40 mL	5 Vials x 8 mL
6- Negative Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
7- HIV-1 Positive Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
8- HIV-2 Positive Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	2 Vials x 1 mL	1 Vial x 2 mL	5 Vials x 1 mL
9-Plate sealers	3 Units	1 Unit	6 Units	1 Unit	15 Units

EQUIPMENT AND OPERATIONAL INPUTS

Materials contained in the kit:

- Reagents described in the table above.

Required materials not contained in the kit:

- Pipettes capable of dispensing volumes from 5 to 500 µL with a coefficient of variation less than 1.5%.
- Repeater for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- Microplate washer.
- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 630 nm of wavelength.
- Absorbent paper to dry the microcavities.
- Stopwatch or clock.
- Bottle to store the Washing Solution after dilution.
- Distilled or deionized water.
- Quality Control Tools.
- Incubator 37 ± 2 °C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

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

SPECIAL CARES

- For *in vitro* diagnostic use only.
- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
- The sachet containing the microplate should only be opened after reaching room temperature. Replace the unused microwell strips in the sachet, seal and store at 2 to 8 °C.
- The water used to clean the material must be recent and free of contaminants.
- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- The Stop Solution contains Hydrochloric Acid which is a strong acid. Therefore, handle it with due care.
- All raw material of the product is tested and must be non-

reactive for HbsAg and Anti-HCV. However, these tests do not offer complete assurance of the absence of infectious agents. Handling any product containing serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, it is necessary to take the proper biosafety precautions when handling these products.

8- Always pipette the reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the microwells.

9- As a protection measure, the plate must be covered during the reaction.

10- It must be ensured that the bottom of the well 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 assay.

11- Do not expose the reagents, especially the Substrate, to strong light or hypochlorite vapors during storage or incubation steps.

12- We recommend applying the local, state and federal norms for environmental protection so that the disposal of reagents and biological material is carried out in accordance with current legislation.

13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the SDS (Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advice Service) by Quibasa.

14- Do not use the product if the packaging is damaged.

15- It is imperative that the instruments and equipment used are properly calibrated and submitted to periodic maintenance.

SAMPLES

Serum or Plasma (EDTA or Heparin)

Hemolyzed and highly lipemic samples should not be used. The samples can be stored under refrigeration, between 2 and 8 °C, for a maximum period of 5 days. If samples cannot be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C. Plasma samples stored for periods longer than recommended should not be used.

PROCESS DESCRIPTION

Stability After Opening

The stability test results prove that the BIOLISA HIV 1/2/O kit is stable after opening up to 30 days. This stability may vary according to test and environmental conditions. Therefore, it is suggested to monitor the performance of the product using the kit's internal controls and the technique validation criteria.

PREPARATION OF WORKING REAGENTS

Washing Solution

Dilute the contents of vial N° 3 (Concentrated Washing) in a 1:20 ratio of distilled or deionized water; for example: 50 mL of Concentrated Washing solution in 1000 mL of distilled or deionized water. 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 dissolution.

All other reagents are ready to use.

TECHNIQUE

For use in automatic equipment, contact SAC (Customer Advice Service).

Before starting the assay, place 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: HIV-1 Positive Control, HIV-2 Positive Control, Negative Control, and Samples (it is recommended to test in duplicate). Return unused microplate strips to the original sealed package.

2- Separate the first cavity for the blank (OPTIONAL).

3- Pipette 100 µL of HIV-1 Positive Control, HIV-2 Positive Control, Negative Control and samples into previously determined wells.

4- Gently homogenize for ± 10 seconds, cover the wells with plate

sealer.

5- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

6- Remove the sealer from the cavities.

7- Discard the contents of the wells by aspiration in a Microplate Washer. Use approximately 300 µL of **previously prepared** Washing Solution and perform a total of five (5) 5 second shake wash cycles. To guarantee the drying of the plate, at the end of the wash, tap the plate for a few seconds on absorbent paper.

Note: Poor washing/drying may cause poor results.

8- Pipette 100 µL of Conjugate into all wells, **including** the Blank well.

9- Gently homogenize for ± 10 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

10- Incubate for 20 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37 °C ± 2 °C.

11- Remove the sealer from the cavities.

12- Repeat item 7.

13- Pipette 100 µL of Substrate in all wells, **including** the Blank well.

14- Gently homogenize for ± 30 seconds. Cover the wells with the plate sealer.

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

16- Remove the plate sealer from the wells.

17- Pipette 50 µL of Stop Solution into all wells.

18- Gently homogenize for ± 30 seconds.

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

TECHNIQUE VERIFICATION

Check if the results obtained for reading the Blank and the Controls are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0.100
Negative Control (R6)	< 0.100
HIV-1 Positive Control (R7)	> 0.500
HIV-2 Positive Control (R8)	> 0.500

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

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate Cut Off according to the following formula:

Cut Off = (Average Absorbance of the Negative Control (R6)) + 0.180.

Example:

ITEM	ABSORBANCES
Negative Control (R6)	0.048
	0.050
Cut Off = (Average Absorbance of the Negative Control (R6)) + 0.180.	$((0.048 + 0.050) / 2) + 0.180 = 0.229$

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

Example:

ITEM	ABSORBANCES
Sample	3.102
Cut Off Value	0.229
Index = Sample / Cut Off Value	3.102 / 0.229 = 13.54

Note: Data shown in examples is for illustration only and cannot be used for calculation of results.

INTERPRETATION OF RESULTS

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

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative (Non-Reactive)	< 0.9
Undetermined	Between 0.9 and 1.1
Positive (Reactive)	> 1.1

Non-Reactive: Sample with an index < 0.9 is considered non-reactive for antibodies to HIV-1, HIV-2, and/or subtype O and can be considered negative.

Reagent: Sample with an index > 1.1 is considered initially reactive for antibodies to HIV-1, HIV-2, and/or subtype O. The sample must be reanalyzed in duplicate before the end of the interpretation. The sample that is reactive in at least one of the reanalyses is presumed to be reactive and must be confirmed through another diagnostic method.

Notes: In case of indeterminate results, the sample must be reanalyzed in duplicate. Samples that give repeatedly indeterminate results should be retested using an alternate method. If results remain indeterminate, a new sample should be collected in two weeks. The result of the last sample collected shall prevail. The interpretation of a diagnostic test should not be based on a single test. Additional confirmatory tests must 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, prior to making a descriptive diagnosis of the disease.

PROCESS LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test should not be based on a single test. All results must be interpreted in conjunction with other available clinical information prior to definitive diagnosis. The results provided by this kit must be interpreted by the responsible medical professional, not being the only criterion for determining the diagnosis and/or treatment of the patient.

INTERFERENTS

No interference was observed for the concentrations of Triglycerides 1200 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, Rheumatoid Factor 980 IU/mL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL and Anti-Streptolysin O 1023 IU/mL. Plasma samples stored for periods longer than recommended (30 days) may show fibrin and fibronectin precipitation that may interfere with the test. Samples collected in a serum tube, EDTA, heparin and citrate do not interfere with the assay.

CROSS REACTIVITY

A cross-reactivity study was performed, evaluating 71 serum and plasma samples negative for HIV but positive for other infections. Among them 5 positive samples for HBsAg, 6 positive samples for HTLV, 5 positive samples for HCV, 10 positive samples for COVID-19, 5 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Rubella, 5 positive samples for CMV, 8 positive samples for Chagas disease, 8 positive samples for Syphilis and 9 positive samples for Toxoplasmosis. No cross-reactivity was observed with positive samples for HBsAg, HTLV, HCV, COVID-19, Dengue,

Rubella, CMV, Chagas Disease, Syphilis 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 along 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 point out that all measurement systems have a characteristic analytical variability, which must be monitored by the laboratories themselves. For that, it is recommended the use of controls, which allow evaluating the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE

PRECISION

Repeatability

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

Repeatability	Amostra		
	1	2	3
Average	2.430	0.697	0.007
Standard Deviation	0.033	0.024	0.001
Coefficient of Variation (%)	1.35	3.44	14.29

Reproducibility

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

Reproducibility	Amostra		
	1	2	3
Average	1.715	0.368	0.033
Standard Deviation	0.144	0.039	0.005
Coefficient of Variation (%)	8.41	10.58	15.13

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

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

BIOLISA HIV 1/2/O	Result Reference		
	Positive	Negative	Total
Positive	87	0	87
Negative	0	398	398
Total	87	398	485

Clinical Sensitivity: >99.9% (87/87) - IC 95% (95.8 – 100%)
Clinical Specificity: >99.9% (398/398) - IC 95% (99.1 – 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 and mother-to-child transmission. The virion is surrounded by a lipid envelope, derived from the host cell membrane. Several viral glycoproteins are on the envelope. Each virus contains two copies of genomic RNA. HIV-1 has been isolated from AIDS patients, and from healthy people at high potential risk for developing AIDS. 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 to 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. Detection of HIV 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 and subtype O show strong antigenic cross-reactivity. Most HIV-2 positive sera can be identified using HIV-1 serological tests. The test uses recombinant HIV antigens to selectively detect HIV-1, HIV-2 and/or subtype O antibodies.

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, P, 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- Cancer Epidemiol Biomarkers Prev; 26(8); 1337–44.2017 AACR.
- 8- WHO. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO/DIL/LAB/99.1 rev. 2, 2002:31.
- 9- QUIBASA: Dados do Departamento de Pesquisa e Desenvolvimento.

QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Quality Control Department. The quality of the reagents is guaranteed until the expiry date mentioned on the presentation packaging, provided they are stored and transported under appropriate conditions.

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 - Made in Brazil

CUSTOMER SERVICE

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

Registration number of the BIOLISA HIV 1/2/O kit at ANVISA:
10269360200

Review: October/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