

BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICORPO

REF K119

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

Teste imunoenzimático sanduíche (ELISA) de quarta geração para a detecção qualitativa da presença de Antígeno P24, Anticorpos Anti-HIV-1, Anti-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 ANTÍGENO/ANTICORPO 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 soro e plasma. 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 soro e plasma 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 Antígenos 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 essas 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- Controle Negativo** – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução não reativa para HIV, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 8- Controle Positivo HIV-1** – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução reativa para HIV-1, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 9- Controle Positivo HIV-2** – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução reativa para HIV-2, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 10- Controle Positivo HIV-1 P24** – Conservar entre 2 e 8 °C. Solução com Antígenos P24, estabilizante, corante e conservante. **Potencialmente infectante.**
- 11- Seladores de Placa.**

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 8 mL	1 Frasco x 16 mL	1 Frasco x 40 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL
8- Controle Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL
9- Controle Positivo HIV-2	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL
10- Controle Positivo HIV-1 P24	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL	1 Frasco x 1 mL
11- Seladores de Placas	3 unidades	1 unidade	1 unidade

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 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 620 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, Ions 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 na 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 ANTÍGENO/ANTICORPO 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 N° 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 Positivo HIV-1 P24, 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).
- IMPORTANTE!** Os passos seguintes devem ser executados rigorosamente na sequência descrita abaixo.
- 3- Pipetar 50 µL do Conjugado 1 em todas as cavidades, **exceto na cavidade para o Branco.**
- 4- Pipetar 50 µL do Controle Positivo HIV-1, Controle Positivo HIV-2, Controle Positivo HIV-1 P24, Controle Negativo e Amostras nas cavidades previamente determinada.
- 5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos, cobrir as cavidades com selador de placas.
- 6- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 7- Após incubação descartar o conteúdo das cavidades por aspiração. Usar 300 µL aproximadamente 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.

PARA OBTER AS INSTRUÇÕES DE USO EM FORMATO IMPRESSO, SEM CUSTO ADICIONAL, CONTATAR O SERVIÇO DE ACESSORIA AO CLIENTE:

SAC: (31) 3439 5454 / 0800 031 5454 / sac@bioclin.com.br

- Nota:** Lavagem/secagem deficiente pode causar resultados inadequados.
- 8- Pipetar 100 µL de Conjugado 2 em todas as cavidades, **inclusive na cavidade do Branco.**
- 9- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 10- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37 °C ± 2 °C.
- 11- Retirar o selador de placa 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 / 620 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	ABSORBÂNCIAS
Branco	< 0,250
Controle Negativo	< 0,250
Controle Positivo HIV-1	> 0,500
Controle Positivo HIV-2	> 0,500
Controle Positivo HIV-1 P24	> 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 + 0,130.

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Controle Negativo	0,105
	0,101
Cut Off = (Absorbância Média do Controle Negativo) + 0,130.	((0,105 + 0,101) / 2) + 0,130 = 0,233

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

Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Amostra	2,102
Valor de Cut Off	0,233
Índice = Amostra / Valor de Cut Off	2,102 / 0,233 = 9,02

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
Positivo (Reagente)	> 1,1
Indeterminado	Entre 0,9 - 1,1

Não Reagente: Amostra com absorbância menor que o cut-off é considerada não reagente para Antígeno P24, Anticorpos Anti-HIV-1, Anti-HIV-2, 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 por Triglicérides 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, Proteína C Reativa 41,2 mg/dL e anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL. Altas concentrações de Fator Reumatoide não interfere no resultado obtido em amostras de HIV positiva ou negativa. Amostras de plasma armazenadas por períodos superiores ao preconizado (30 dias) podem apresentar fibrina e precipitação de fibronectina que podem interferir no teste.

REATIVIDADE CRUZADA

Foi realizado um estudo com 81 amostras de soro e plasma 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 ANTÍGENO/ANTICORPO. Dentre elas 10 amostras positivas para HBsAg, 6 amostras positivas para HTLV, 5 amostras positivas para HCV, 10 amostras positivas para COVID-19, 8 amostras positivas para Dengue, 10 amostras positivas para Rubéola, 5 amostras positivas para CMV, 8 amostras positivas para Doença de Chagas, 10 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 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	2,356	0,552	0,044
Desvio Padrão	0,039	0,030	0,004
Coefficiente de Variação (%)	1,67	5,52	8,38

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	2,281	0,546	0,043
Desvio Padrão	0,102	0,029	0,008
Coefficiente de Variação (%)	4,47	5,31	18,56

SENSIBILIDADE E ESPECIFICIDADE CLÍNICA

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

BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ ANTICORPO	Resultado Referência		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	84	0	84
Negativo	0	341	341
Total	84	341	425

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (84/84) IC 95% = 95,7 a 99,9%
Especificidade Clínica: > 99,9% (341/341) IC 95% = 98,9 a 99,9%

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 vírus 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 antígenoica. 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, TJ. The origin of HIV-1 isolate HTLV-IIIB. Nature (1993) 3;363:466-9.
- 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 HIVrelated retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
- Caetano 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, TJ, 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.
- 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 ANTÍGENO/ANTICORPO na ANVISA: 10269360199

Revisão: Setembro/2024

SIMBOLOGIA UNIVERSAL



NÚMERO DE CATÁLOGO



NÚMERO DO LOTE



DATA DE FABRICAÇÃO



DATA DE VALIDADE
(último dia do mês)



LIMITE DE TEMPERATURA
(conservar a)



O CONTEÚDO É SUFICIENTE
PARA <N> TESTE



CONSULTAR INSTRUÇÕES
DE USO



PRODUTO PARA
DIAGNÓSTICO IN VITRO



PROTEGER DA
LUZ E CALOR



NÃO REUTILIZE



CUIDADO



FABRICADO POR



CONTROLE



CONTROLE POSITIVO



CONTROLE NEGATIVO



RISCO BIOLÓGICO



INFLÂMVEL



CORROSIVO



TÓXICO



NÃO UTILIZAR SE A
EMBALAGEM ESTIVER
DANIFICADA



PRODUTO
ESTERELIZADO



PERIGO

BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO

REF K119

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD
 Inmunoensayo enzimático tipo sándwich (ELISA) de cuarta generación para la detección cualitativa de la presencia de Anticuerpos Antígeno P24, Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 y/o subtipo O en muestras biológicas (suero y plasma humanos) mediante enzaimmunoensayo. Sólo para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Inmunoensayo enzimático o inmunoensayo enzimático.
 El kit BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO es un inmunoensayo enzimático de cuarta generación en fase sólida basado en el principio de “sandwich” para la detección de Antígeno P24, Anti-HIV-1, Anti-HIV-2, y/o subtipo O en muestras de suero y plasma. La microplaca está 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. Los Anticuerpos presentes en la muestra de suero y plasma se unen a la microplaca recubierta con Antígenos recombinantes específicos formando inmunocomplejos Antígeno-Anticuerpo. Junto con la primera incubación, se añade el Conjugado 1 compuesto por Anti-HIV P24 conjugado con Biotina, que se une a los Antígenos P24 presentes en la muestra, formando inmunocomplejos Anticuerpo-Antígeno-Anticuerpo. Después de la incubación inicial, la microplaca se lava para eliminar los materiales no unidos. El Conjugado 2 que contiene Antígenos de HIV-1, HIV-2 y Estreptavidina, todos unidos a la Peroxidasa, se agrega 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 a la P24 Anti-HIV de los complejos inmunes Anticuerpo-Antígeno-Anticuerpo. Después de estos pasos, se realiza un nuevo lavado para eliminar los materiales no ligados. Luego se agrega 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 agrega 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 – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Microplaca recubierta con Antígenos específicos para HIV-1 y HIV-2 (Antígeno HIV-1 gp41 y gp120 y Antígeno HIV-2 gp36) y Anticuerpo HIV-1 Anti-P24.
2- Conjugado 1 – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón que contiene Anticuerpos Anti-HIV P24 ligados a Biotina, 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- Conjugado 2 – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Antígenos específicos para HIV-1, HIV-2 y Estreptavidina, todos ligados a Peroxidasa, surfactante, estabilizantes, colorante y conservante.
5- Sustrato – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución Tampón que contiene Peróxido de Urea, Tetrametilbencidina (TMB) y conservante.
6- Solución de Parada – Conservar entre 2 y 8 °C. Contiene: Solución de Ácido Clorhídrico 1 M.
7- Control Negativo – Conservar entre 2 y 8°C. Solución, colorante y conservante no reactivo al HIV. **Potencialmente infeccioso.**
8- Control Positivo HIV-1 – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución reactiva para HIV-1, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
9- Control Positivo HIV-2 – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución reactiva de HIV-2, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
10- Control Positivo HIV-1 P24 – Conservar entre 2 y 8 °C. Solución con Antígenos P24, estabilizador, colorante y conservante. **Potencialmente infeccioso.**
11- Selladores de Placas.

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 Vial x 12 mL	1 Vial x 30 mL
3- Lavado Concentrado	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4- Conjugado 2	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
5- Sustrato	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Solución de Parada	1 Vial x 8 mL	1 Vial x 16 mL	1 Vial x 40 mL
7- Control Negativo	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
8- Control Positivo HIV-1	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
9- Control Positivo HIV-2	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
10- Control Positivo HIV-1 P24	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
11- Selladores de Placas	3 unidades	1 unidad	1 unidad

EQUIPOS Y INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en la tabla anterior

Materiales necesarios no contenidos en el 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 620 nm de longitud de onda.
5- Papel absorbente para el secado de las microcavidades.
6- Cronómetro o reloj.
7- Frasco 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.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

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

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solo para uso en diagnóstico *in vitro*.

2- Seguir estrictamente la metodología propuesta para obtener resultados precisos.
3- El sobre que contiene la microplaca debe ser abierto solamente después de alcanzar la temperatura ambiente. Vuelva a colocar las tiras de microcavidades no utilizadas en el sobre, ciérrelo y manténgalo entre 2 y 8°C.
4- El agua utilizada para limpiar el material debe ser reciente y libre de contaminantes.
5- Las columnas desionizadoras saturadas liberan agua alcalina, varios iones y 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, manipúlelo con el debido cuidado.
7- Toda la materia prima del producto está testada no reactiva para HBsAg y Anti-HCV. Sin embargo, estas pruebas no garantizan totalmente la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación de cualquier producto que contenga muestras biológicas es potencialmente capaz de transmitir enfermedades. Por lo tanto, deben tomarse las precauciones de bioseguridad adecuadas al manipular estos productos.

8- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre microcavidades.
9- Como medida de protección, se debe cubrir la placa durante la reacción.
10- Debe asegurarse que el fondo del pocillo está limpio y seco y que no hay burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permita que los pocillos se sequen durante el ensayo.
11- No exponer los reactivos, especialmente el Substrato, a luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o los pasos de incubación.
12- Recomendamos aplicar las normas locales, estatales y federales de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico de acuerdo con la legislación vigente.
13- Para obtener información relacionada con la bioseguridad o en caso de accidentes con el producto, consultar la HDS (Hoja de Datos de Seguridad) disponible en el sitio web www.bioclin.com.br o a solicitud del SAC (Servicio 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 sometidos a un mantenimiento periódico.

MUESTRAS

Suero o Plasma (EDTA o Heparina)

No deben utilizarse muestras hemolizadas ni altamente lipémicas. Las muestras pueden conservarse en refrigeración, entre 2 y 8 °C, durante un período máximo de 5 días. Si las muestras no pueden analizarse en el plazo de 5 días, pueden almacenarse hasta 30 días a -20 °C. No deben utilizarse muestras de plasma almacenadas durante períodos más largos.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

Estabilidad Después de Abierto

Los resultados de la prueba de estabilidad demuestran que el kit BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO es estable después de la apertura hasta 30 días. Esta estabilidad puede variar según las condiciones de ensayo y el entorno. Por lo tanto, se sugiere que el desempeño del producto sea monitoreado usando controles internos del kit y criterios de validación 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 su uso.

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.

1- Separar los pocillos a utilizar considerando: Control Positivo HIV-1, Control Positivo HIV-2, Control Positivo P24 HIV-1 y Muestras (se recomienda realizar la prueba por duplicado). Devuelva las tiras de microplacas no utilizadas al sobre sellado original.
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
¡IMPORTANTE! Los siguientes pasos deben llevarse a cabo estrictamente en la secuencia descrita a continuación.
3- Pipetee 50 µL de Conjugado 1 en todos los pocillos, **excepto en el pocillo del Blanco.**
4- Pipetear 50 µL de Control Positivo HIV-1, Control Positivo HIV-2, Control Positivo P24 HIV-1, Control Negativo y Muestras en los pocillos previamente determinados.
5- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos, cubrir los pocillos con sellador de placas.
6- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
7- Después de la incubación, desechar el contenido de los pocillos por aspiración. Utilice aproximadamente 300 µL de Solución de Lavado **previamente preparada** y realice un total de cinco (5) ciclos de lavado con agitación (*shake*) 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.
8- Pipetee 100 µL de Conjugado 2 en todos los pocillos, **incluido el pocillo del Blanco.**
9- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
10- Incubar durante 60 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
11- Retire el sellador de placas de los pocillos.
12- Repetir el punto 7.
13- Pipetee 100 µL de Sustrato en todos los pocillos, **incluido el pocillo del Blanco.**
14- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos. Cubra los pocillos con el sellador de placas.
15- Incubar durante 10 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37 °C ± 2 °C.
16- Retire el sellador de placas de los pocillos.
17- Pipetee 50 µL de Solución de Parada en todos los pocillos.
18- Homogeneizar suavemente durante ± 30 segundos.
19- Lectura con doble filtro: 450 nm / 620 nm en hasta 15 minutos (máximo).

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para la lectura del Blanco y los Estándares de Referencia son compatibles con los valores que se presentan a continuación:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Blanco	< 0,250
Control Negativo	< 0,250
Control Positivo HIV-1	> 0,500
Control Positivo HIV-2	> 0,500
Control Positivo HIV-1 P24	> 0,500

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

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcule Cut Off de acuerdo con la siguiente fórmula:

Cut Off = Absorbancia media del Control Negativo + 0,130.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Control Negativo	0,105
	0,101
Cut Off = (Absorbância Média del Control Negativo) + 0,130.	((0,105 + 0,101) / 2) + 0,130 = 0,233

Calcule el índice dividiendo la absorbancia de la muestra por el valor de Cut Off.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIAS
Muestra	2,102
Valor del Cut Off	0,233
Índice = Muestra / Valor del Cut Off	2,102 / 0,233 = 9,02

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

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Después de calcular el índice de la muestra, considere los siguientes índices para determinar los resultados.

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo (Não Reactivo)	< 0,9
Positivo (Reactivo)	> 1,1
Indeterminado	Entre 0,9 - 1,1

No reactiva: la muestra con una absorbancia inferior al valor de corte se considera no reactiva para el Antígeno P24, los Anticuerpos Anti-HIV-1, Anti-HIV-2 y/o subtipo O, y puede considerarse negativa.

Reactivo: una muestra con una absorbancia superior al punto de corte se considera inicialmente reactiva para el Antígeno P24, Anticuerpos Anti-HIV-1, Anti-HIV-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 observaron interferencias con 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, Ácido Oxálico 60 mg/dL, Proteína C Reactiva 41,2 mg/dL y anti-Estreptolisina O 1023 UI/mL. Altas concentraciones de Factor Reumatoideo no interfieren con el resultado obtenido de muestras VIH positivas o negativas. 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.

REACTIVIDAD CRUZADA

Se realizó un estudio con 81 muestras de suero y plasma negativas para HIV, pero positivas para otras infecciones, con el fin de evaluar la posibilidad de reactividad cruzada de estos agentes interferentes en el resultado del BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO . Entre ellos 10 muestras positivas para HBsAg, 6 muestras positivas para HTLV, 5 muestras positivas para VHC, 10 muestras positivas para COVID-19, 8 muestras positivas para Dengue, 10 muestras positivas para Rubéola, 5 muestras positivas para CMV, 8 muestras positivas para Enfermedad de Chagas, 10 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. Apesar 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	Amostra		
	1	2	3
Promedio	2,356	0,552	0,044
Desvio Patrón	0,039	0,030	0,004
Coefficiente de Variación (%)	1,67	5,52	8,38

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	Amostra		
	1	2	3
Promedio	2,281	0,546	0,043
Desvio Patrón	0,102	0,029	0,008
Coefficiente de Variación (%)	4,47	5,31	18,56

SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD CLÍNICAS

El kit BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO 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 ANTÍGENO/ANTICUERPO es >99,9 % y la especificidad clínica es >99,9 %.

BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO	Resultado Referência		
	Positivo	Negativo	Total
Positivo	84	0	84
Negativo	0	341	341
Total	84	341	425

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (84/84) IC 95% = 95,7 a 99,9%
Especificidad Clínica: > 99,9% (341/341) IC 95% = 98,9 a 99,9%

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 productos sanguíneos, incluido compartir agujas y jeringas, contacto sexual, transmisión de madre a hijo. El virión está rodeado por una envoltura lipídica que se deriva de la membrana de la célula huésped. Varias glicoproteínas virales están en el sobre. Cada virus contiene dos copias de RNA genómico de sentido positivo. El HIV-1 se ha aislado de pacientes con AIDS y de personas sanas con alto riesgo potencial de desarrollar AIDS. La infección por HIV-1 se identifica por una etapa temprana 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 Antígenos suelen ser difíciles de detectar; sin embargo, el aumento de la falla del sistema inmunitario y el aumento de los niveles de virus pueden volver a estimular los niveles detectables de Antígenos.

La importante proteína estructural interna del HIV-1, la proteína central P24, es uno de los componentes virales que se encuentran en la sangre durante la antigenemia. Además, 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 proteínas 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 inmunológica de antígenos y anticuerpos anti-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 subtipo O del HIV-1, HIV-2 muestra fuerte reactividad cruzada antigénica. Anticuerpos contra el Antígeno del HIV-1 P24 también se incluyen para la detección de la fase de conversión previa al suero de la infección. La mayoría de los sueros positivos para el HIV-2 pueden identificarse mediante pruebas serológicas para el HIV-1.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 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.
- 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 HIVrelated retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
- Caetano 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, TJ, 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.
- 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 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO 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 ANTÍGENO/ANTICUERPO en la ANVISA: 10269360199

Revisión: Septiembre/2024

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL

	NUMERO DE CATALOGO		FABRICADO POR
	NUMERO 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		TÓXICO
	PROTEGER DE LUZ Y CALOR		NO UTILICE SI EL EMBALAJE ESTÁ DAÑADA
	NO REUTILIZA		PRODUCTO ESTERILIZADO
	PRECAUCIÓN		PELIGRO

BIOLISA HIV 1/2/O ANTIGEN/ANTIBODY

REF K119

INSTRUCTIONS FOR USE

FUNCTION

Fourth-generation sandwich enzyme immunoassay (ELISA) for the qualitative detection of the presence of P24 Antigen, Anti-HIV-1, Anti-HIV-2, and/or subtype O antibodies 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 ANTIGEN/ANTIBODY kit is a fourth-generation, solid-phase, enzyme-linked immunoassay based on the "sandwich" principle for the detection of P24 Antigen, Anti-HIV-1, Anti-HIV-2, and/or subtype O in serum and plasma samples. The microplate is coated with HIV-1 and HIV-2 specific Antigens (HIV-1 Antigen gp41 and gp120 and HIV-2 Antigen gp36) and HIV-1 Anti-P24 Antibody. Antibodies present in the serum and plasma sample bind to the microplate coated with specific recombinant Antigens forming Antigen-Antibody immunocomplexes. Along with the first incubation, Conjugate 1 composed of Anti-HIV P24 conjugated to Biotin is added, which binds to 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 Antigens and Streptavidin, all linked to Peroxidase, are added to the microplate and then incubated. Conjugate 2 Antigens bind to sample Antibodies that have been captured by microplate Antigens, forming Antigen-Antibody-Antigen immune complexes. Streptavidin linked to Peroxidase, also present in Conjugate 2, binds to Biotin linked to Anti-HIV P24 of the Antibody-Antigen-Antibody immune complexes. After these steps, a new wash is performed 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. Stop Solution is added to stop the reaction with a color change from blue to yellow. Color intensity is measured at 450/620 nm.

REAGENTS

- 1- Sensitized Plate** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Microplate coated with specific Antigens for HIV-1 and HIV-2 (HIV-1 Antigen gp41 and gp120 and HIV-2 Antigen gp36) and HIV-1 Anti-P24 Antibody.
- 2- Conjugate 1** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Buffer Solution containing P24 Anti-HIV Antibodies linked to Biotin, 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- Conjugate 2** – Store between 2 and 8 °C. Contains: Specific Antigens for HIV-1, HIV-2 and Streptavidin, all linked 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- Negative Control** – Store between 2 and 8°C. HIV non-reactive solution, dye and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- HIV-1 Positive Control** – Store between 2 and 8 °C. Reactive solution for HIV-1, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- HIV-2 Positive Control** – Store between 2 and 8 °C. HIV-2 reactive solution, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**
- 10- HIV-1 P24 Positive Control** – Store between 2 and 8 °C. Solution with P24 Antigens, stabilizer, dye and preservative. **Potentially infectious.**
- 11- Plate Sealers.**

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 Vial x 12 mL	1 Vial x 30 mL
3- Concentrated Washing	1 Vial x 50 mL	1 Vial x 100 mL	1 Vial x 250 mL
4- Conjugate 2	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
5- Substrate	1 Vial x 12 mL	1 Vial x 24 mL	1 Vial x 60 mL
6- Stop Solution	1 Vial x 8 mL	1 Vial x 16 mL	1 Vial x 40 mL
7- Negative Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
8- HIV-1 Positive Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
9- HIV-2 Positive Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
10- HIV-1 P24 Positive Control	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL	1 Vial x 1 mL
11- Plate Sealers	3 Units	1 Unit	1 Unit

EQUIPMENT AND OPERATIONAL INPUTS

Materials contained in the kit:

- Reagents described in the table above.

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipettes capable of dispensing volumes from 50 to 500 µL with a coefficient of variation less than 1.5%.
- 2- Repeater for repetitive pipetting of volumes of 300 µL with coefficient of variation less than 1.5% or multichannel pipette (optional).
- 3- Microplate washer for technique on filter paper.
- 4- ELISA reader with absorbance capacity at 450 and 620 nm of wavelength.
- 5- Absorbent paper to dry the microcavities.
- 6- Stopwatch or watch.
- 7- Bottle to store the Washing Solution after dilution.
- 8- Distilled or deionized water.
- 9- Quality Control Tools.
- 10- Incubator 37 ± 2 °C.

STORAGE AND TRANSPORT 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

1- For *in vitro* diagnostic use only.

- 2- Strictly follow the proposed methodology to obtain accurate results.
- 3- 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.
- 4- The water used to clean the material must be recent and free of contaminants.
- 5- Saturated deionizing columns release alkaline water, various ions, and oxidizing and reducing agents that 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 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 results of the stability test show that the BIOLISA HIV 1/2/O ANTIGEN/ANTIBODY kit is stable after opening for 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, HIV-1 P24 Positive 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).

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

3- Pipette 50 µL of Conjugate 1 into all wells, **except the well for the Blank.**

4- Pipette 50 µL of HIV-1 Positive Control, HIV-2 Positive Control, HIV-1 P24 Positive Control, Negative Control and Samples into the previously determined wells.

5- Gently homogenize for ± 30 seconds, cover the wells with plate sealer.

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

7- After incubation, discard the contents of the wells by aspiration. Use approximately 300 µL of **previously prepared** Washing Solution and perform a total of five (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 2 into all wells, **including the Blank well.**

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

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

11- Remove the plate sealer from the wells.

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 / 620 nm in up to 15 minutes (maximum).

TECHNIQUE VERIFICATION

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

ITEM	ABSORBANCES
Blank	< 0.250
Negative Control	< 0.250
HIV-1 Positive Control	> 0.500
HIV-2 Positive Control	> 0.500
HIV-1 P24 Positive Control	> 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 = Mean Absorbance of Negative Control + 0.130.

Example:

ITEM	ABSORBANCES
Negative Control	0.105
	0.101
Cut Off = (Average Absorbance of the Negative Control) + 0.130.	((0.105 + 0.101) / 2) + 0.130 = 0.233

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

Example:

ITEM	ABSORBANCES
Sample	2.102
Cut Off Value	0.233
Index = Sample / Cut Off Value	2.102 / 0.233 = 9.02

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-Reagent)	< 0.9
Positive (Reagent)	> 1.1
Undetermined	Between 0.9 - 1.1

Non-Reactive: Sample with absorbance lower than the cut-off is considered non-reactive for P24 Antigen, Anti-HIV-1, Anti-HIV-2, and/or subtype O Antibodies, and may be considered negative.

Reagent: A sample with an absorbance greater than the cut-off is considered initially reactive for P24 Antigen, Anti-HIV1, Anti-HIV2, and/or subtype O Antibodies. 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 specimen 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.

INTERFERING

No interference was observed by 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, Acid Oxalic 60 mg/dL, C-Reactive Protein 41.2 mg/dL and anti-Streptolysin O 1023 IU/mL. High concentrations of Rheumatoid Factor do not interfere with the result obtained from positive or negative HIV samples. Plasma samples stored for periods longer than recommended (30 days) may show fibrin and fibronectin precipitation that may interfere with the test.

CROSS REACTIVITY

A study was carried out with 81 serum and plasma samples negative for HIV, but positive for other infections, in order to evaluate the possibility of cross-reactivity of these interfering agents in the result of the BIOLISA HIV 1/2/O ANTIGEN/ ANTIBODY. Among them 10 positive samples for HBsAg, 6 positive samples for HTLV, 5 positive samples for HCV, 10 positive samples for COVID-19, 8 positive samples for Dengue, 10 positive samples for Rubella, 5 positive samples for CMV, 8 positive samples for Chagas disease, 10 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	Sample		
	1	2	3
Average	2.356	0.552	0.044
Standard Deviation	0.039	0.030	0.004
Coefficient of Variation (%)	1.67	5.52	8.38

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	Sample		
	1	2	3
Average	2.281	0.546	0.043
Standard Deviation	0.102	0.029	0.008
Coefficient of Variation (%)	4.47	5.31	18.56

CLINICAL SENSITIVITY AND SPECIFICITY

The BIOLISA HIV 1/2/O ANTIGEN/ANTIBODY 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 ANTIGEN/ANTIBODY kit is >99.9% and the clinical specificity is >99.9%.

BIOLISA HIV 1/2/O ANTIGEN/ANTIBODY	Result Reference		
	Positive	Negative	Total
Positive	84	0	84
Negative	0	341	341
Total	84	341	425

Clinical Sensitivity: > 99.9% (84/84) IC 95% = 95.7 to 99.9%

Clinical Specificity: > 99.9% (341/341) IC 95% = 98.9 to 99.9%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

HIV is the etiologic 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 from healthy people at high potential risk for developing AIDS. HIV-1 infection is identified by an early stage 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 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. 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 show 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 using HIV-1 serological tests.

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 HIVrelated 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.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 ANTIGEN/ANTIBODY kit at ANVISA: 10269360199

Review: September/2024

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