

BIOLISA HIV 1/2/O

REF
K118

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

O kit BIOLISA HIV 1/2/O é um imunoensaio de terceira geração para a detecção qualitativa da presença de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) ao HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O em amostras de soro ou plasma humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCÍPIO DE AÇÃO

Metodologia: Enzimaimunoensaio ou imunoenzimétrica
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 soro humano ou plasma. A microplaca é revestida com antígenos HIV recombinantes 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 HIV recombinantes revestidos na microplaca formando complexos antígenos - anticorpos HIV. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover materiais não ligados. As enzimas conjugadas com antígenos recombinantes do HIV são adicionadas à microplaca e então incubadas. A enzima conjugada com antígenos recombinantes do HIV liga-se aos complexos imobilizados antígeno-anticorpo HIV presentes. Após esta etapa, os Substratos A e B são adicionados e incubados, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de anticorpos 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. Microplaca revestida com antígenos recombinantes HIV.
2- Conjugado - Conservar entre 2 e 8°C. Antígenos recombinantes HIV ligados à Peroxidase e conservante.
3- Lavagem Concentrada - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão, surfactante e conservante.
4- Substrato A - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão contendo Peróxido de Hidrogênio e conservante.
5- Substrato B - Conservar entre 2 e 8°C. Tampão contendo Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
6- Solução de Parada - Conservar entre 2 e 8°C. Ácido Clorídrico 1M
7- Controle Negativo - Conservar entre 2 e 8°C. Solução não reativa para HBSAg, HCV, HIV-1 e HIV-2 e conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Controle Positivo HIV-1 - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HIV-1 e negativo para HIV-2, HCV, HBSAg e conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Controle Positivo HIV-2 - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HIV-2 e negativo para HIV-1, HCV, HBSAg e conservante. **Potencialmente infectante.**
10- Seladores de Placa

APRESENTAÇÃO

REAGENTES	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa sensibilizada	1 Unidade (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Lavagem Concentrada	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	4 Frascos x 20 mL
4- Substrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
5- Substrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6- Solução de Parada	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	4 Frascos x 8 mL
7- Controle Negativo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
8- Controle Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
9- Controle Positivo HIV-2	1 Frasco x 1 mL	2 Frasco x 1 mL	4 Frasco x 1 mL
10- Seladores de Placa	3 unidades	5 unidades	10 unidades

EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Materiais contidos no kit:

- Reagentes descritos no quadro anterior.
- Instruções de uso (manual).

Materiais necessários, mas não contidos no kit:

- 1-** Pipetas capazes de dispensar volumes de 50 e 100 µL com precisão maior que 1,5%.
2- Repipetadores para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL e 300 µL, com precisão maior que 1,5% (opcional) ou pipeta multicanal.
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Leitora de ELISA com capacidade de absorbância em 450 e 630 nm de comprimento de onda.
5- Pipetas com volumes reguláveis (200 µL a 1000 µL) para preparação do Substrato.
6- Tubos de ensaio para a preparação dos Substratos A e B.
7- Papel absorvente para secar as microcavidades.
8- Cronômetro ou relógio.
9- Frasco para estocar a Solução de Lavagem, após diluída.
10- Água destilada ou deionizada.
11- Ferramentas de Controle de Qualidade.
12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O transporte em temperaturas entre 15 e 30°C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
2- Seguir com rigor a metodologia proposta para a obtenção de resultados exatos.
3- O envelope contendo as tiras deve ser aberto somente após atingirem a temperatura ambiente. Recolocar as tiras de microcavidades não utilizadas no invólucro de alumínio, 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- Toda matéria-prima do produto é testada e deve ser não reagente para HBSAg, Anti-HIV 1&2 e Anti-HCV. Entretanto, esses testes não oferecem total segurança da ausência de agentes infecciosos. A manipulação manual 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.
7- Pipetar os reagentes sempre na mesma ordem para minimizar a diferença de tempo de reação entre as microcavidades.
8- Por medida de proteção, deve-se cobrir a placa durante a reação.
9- 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.
10- Não exponha os reagentes, especialmente o Substrato, à luz forte ou vapores de Hipoclorito durante armazenamento ou etapas de incubação.
11- A Solução de Parada contém Ácido Clorídrico, que é um ácido forte. Portanto, manuseá-lo com o devido cuidado.
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 FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) 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

Utilizar soro ou plasma (EDTA ou Heparina).
Amostras hemolisadas ou 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 (freezer). Para amostras que serão testadas em duplicata, o volume requerido é de 0,010 mL de soro/plasma.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem
Diluir o conteúdo do frasco Nº 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Conservar entre 2 e 8°C até a data de validade impressa no frasco original. Pode ser armazenada em temperatura ambiente. Caso ocorra cristalização, aquecer a 37°C até dissolução.

Substrato - Solução de Trabalho

Determinar a quantidade de cavidades que serão utilizadas para preparo de um volume adequado.
Preparar a solução misturando partes iguais de Substrato A e Substrato B, 15 minutos antes de sua utilização.
Mantenha-o protegido da luz até ser utilizado.
Para cada microcavidade (teste), utilizar:
50 µL de Substrato A + 50 µL de Substrato B
Por exemplo: misture 1mL de Substrato A e 1mL de Substrato B para duas tiras de 8 microcavidades (16 testes). Ocorre sobra de reagente
Usar no máximo até uma (1) hora após preparo.

TÉCNICA

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.
Retornar as tiras da microplaca que não serão utilizadas para a embalagem original.
1- Separar as cavidades a serem utilizadas considerando: Controles e Amostras. (Podendo ser testados em duplicata).
2- Separar a primeira cavidade para o Branco (OPCIONAL).
3- Pipetar 100 µL de Controle Negativo, Controle Positivo HIV-1, Controle Positivo HIV-2 e Amostras nas cavidades previamente determinadas.
4- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
5- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
6- Retirar o selador de placa das cavidades.
7- Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (manual).
Usar 300 µL aproximadamente de Solução de Lavagem **previamente preparada***, para efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem. 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 cada cavidade exceto na cavidade do branco (Se tiver feito a opção).
9- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 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 de placa das cavidades.
12- Repetir o item 7.
13- ATENÇÃO Siga um dos seguintes procedimentos:
A) Pipetar 100 µL de Substrato **previamente preparado*** - Solução de Trabalho (A + B) em todas as cavidades.
***Vide PREPARO DE REAGENTES.**
Ou
B) Pipetar 50 µL de Substrato A e 50 µL de Substrato B em todas as cavidades.
14- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
15- Incubar por 10 minutos ± 1 minuto em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
16- Retirar o selador da placa das cavidades.
17- Pipetar 50 µL de Solução de Parada em cada cavidade.
18- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
19- Ler a 450 nm (filtro primário) / 630 nm (filtro secundário) até 30 minutos no máximo.

VERIFICAÇÃO DA TÉCNICA

Verifique se os resultados obtidos para leitura dos Controles estão compatíveis com os valores apresentados abaixo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Branco	< 0,050
Controle Negativo	< 0,100
Controle Positivo HIV-1 / HIV-2	> 0,500

As absorbâncias para os Controles acima foram obtidas após a diminuição da absorbância do Branco. Para leitura em filtro único (450 nm) considerar limite de Branco < 0,100. Caso os valores se encontrem fora dos valores esperados, deve-se repetir a técnica.

CÁLCULOS

QUALITATIVO

Calcular a absorbância média do Controle Negativo.
Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Controle Negativo	A1 = 0,020
	A2 = 0,018
Aborbância média do Controle Negativo	(0,020 + 0,018) / 2 = 0,019

Se os resultados dos Controles forem válidos, calcule o Cut-Off com a seguinte fórmula. Exemplo:

ITEM	ABSORBÂNCIA
Cut-Off = Absorbância média do Controle Negativo + 0,160	0,019 + 0,160= 0,179

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

ITEM	ABSORBÂNCIA
Amostra	1,320
Valor de Cut-Off	0,179
Índice = Amostra / Valor de Cut-Off	1,320 / 0,179 = 7,37

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

RESULTADOS	QUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 - 1,1

Não Reativa: Amostra com absorbância menor que o Cut-Off é considerada não-reativa para anticorpos do HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O e pode ser considerada negativa.

Reativa: Amostra com absorbância superior ao Cut-Off 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 reativa em pelo menos uma das reanálises, se presume ser reativa e deve ser confirmada através de método confirmatório IFI e/ou Western Blot.

Observação: 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.

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.

LIMITAÇÕES DO PROCESSO

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. Enfim, todos os resultados devem ser interpretados em conjunto com outras informações clínicas disponíveis.

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.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPENHO

CONTROLE DE QUALIDADE

Precisão

REPETIBILIDADE

A repetibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

REPETIBILIDADE	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
Média	0,692	1,540	2,237
Desvio Padrão	0,032	0,067	0,073
Coefficiente de Variação (%)	4,608	4,338	3,243

REPRODUTIBILIDADE

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 20 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

REPRODUTIBILIDADE	AMOSTRA 1	AMOSTRA 2	AMOSTRA 3
Média	0,683	1,558	2,255
Desvio Padrão	0,011	0,019	0,016
Coefficiente de Variação (%)	1,605	1,191	0,697

Sensibilidade e Especificidade Clínica

O kit BIOLISA HIV 1/2/O analisou amostras clínicas em comparação com outro método de EIA.

Os resultados mostram que a sensibilidade clínica do kit BIOLISA HIV 1/2/O é > 99,9%, e a especificidade clínica é de 99,8%.

BIOLISA HIV 1/2/O x EIA REFERÊNCIA				
MÉTODO		EIA REFERÊNCIA		Total
BIOLISA HIV 1/2/O	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	74	2	76
	Negativo	0	1043	1043
Total		74	1045	1119

Sensibilidade Clínica: > 99,9% (95,1 - 100,0%)*

Concordância Global: 99,8% (99,4 - 100,0%)*

Especificidade Clínica: 99,8% (99,3 - 100,0%)*

*Intervalo de Confiança 95%

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 que é 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 em soro ou plasma.

NÚMERO DE TESTES

Apresentação 1 - 96 testes

Apresentação 2 - 192 testes

Apresentação 3 - 480 testes

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 HIV-related 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.
- Bioclin - Dados de arquivos

GARANTIA DE QUALIDADE

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



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: (31) 3439.5454 - Fax: (31) 3439.5455
E-mail:bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR

Serviço de Assessoria ao Cliente
Tel.: 0800 031 5454
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de Registro do kit BIOLISA HIV 1/2/O na ANVISA: 10269360200

Revisão: Janeiro/2016

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> TESTES

CONSULTAR INSTRUÇÕES DE USO

PRODUTO PARA DIAGNOSTICO IN VITRO

REPRESENTANTE EUROPEU AUTORIZADO

PROTEGER DA LUZ E CALOR

FABRICADO POR

CONTROLE

CONTROLE POSITIVO

CONTROLE NEGATIVO

RISCO BIOLÓGICO

INFLÂMAVEL

CORROSIVO

TÓXICO

MARCA CE

NÃO UTILIZAR SE A EMBALAGEM ESTIVER DANIFICADA

BIOLISA HIV 1/2/O

REF K118

INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

El kit BIOLISA HIV 1/2/O es un inmunoensayo de tercera generación para la detección cualitativa de la presencia de anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) al HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O en muestras de suero o plasma humano. Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

PRINCIPIO DE ACCIÓN

Metodología: Enzimainmunoensayo o inmunoenzimétrica
O kit BIOLISA HIV 1/2/O es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida con base en el principio "sándwich" para la detección de anticuerpos totales (IgG, IgM y IgA) para HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O en suero humano o plasma. La microplaca es revestida con antígenos HIV recombinantes específicos para HIV-1 (p24, gp 41), HIV-2 (gp36) y subtipo O. Anticuerpos contra el HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O presentes en las muestras se ligan a los antígenos HIV recombinantes revestidos en la microplaca formando complejos antígenos - anticuerpos HIV. Luego de la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover materiales no ligados. Las enzimas conjugadas con antígenos recombinantes del HIV son adicionadas a la microplaca y luego incubadas. La enzima conjugada con antígenos recombinantes del HIV se liga a los complejos inmobilizados antígeno-anticuerpo HIV presentes. Después de esta etapa, los Sustratos A y B son adicionados e incubados, produciendo un color azul que indica la cantidad de anticuerpos HIV presentes en las muestras. La Solución de Parada es adicionada para interrumpir la reacción, habiendo un cambio de color para amarillo, medido en un lector de microplacas.

REACTIVOS

1- Placa Sensibilizada - Almacenar entre 2 y 8°C. Microplaca revestida con antígenos recombinantes HIV.
2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Antígenos recombinantes HIV ligados a la Peroxidasa y conservante.
3- Solución de Lavado Concentrado - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón, surfactante y conservante.
4- Sustrato A - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón conteniendo Peróxido de Hidrógeno y conservante.
5- Sustrato B - Almacenar entre 2 y 8°C. Tapón conteniendo Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante. **Potencialmente infectante.**
6- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Ácido Clorídrico 1M.
7- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución no reactiva para HBsAg, HCV, HIV-1 y HIV-2 y conservante. **Potencialmente infectante.**
8- Control Positivo HIV-1 - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo HIV-1 y negativo para HIV-2, HCV, HBsAg y conservante. **Potencialmente infectante.**
9- Control Positivo HIV-2 - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo HIV-2 y negativo para HIV-1, HCV, HBsAg y conservante.
10- Selladores de Placa

PRESENTACIÓN

REACTIVOS	1	2	3
	96 CAVIDADES	192 CAVIDADES	480 CAVIDADES
1- Placa sensibilizada	1 Unidades (96 cavidades)	2 Unidades (96 cavidades)	5 Unidades (96 cavidades)
2- Conjugado	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
3- Solución de Lavado Concentrado	1 Frasco x 20 mL	2 Frascos x 20 mL	4 Frascos x 20 mL
4- Sustrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
5- Sustrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6- Solución de Parada	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	4 Frascos x 8 mL
7- Control Negativo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
8- Control Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	2 Frasco x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
9- Control Positivo HIV-2	1 Frasco X 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frasco x 1 mL
10- Selladores de Placa	3 unidades	5 unidades	10 unidades

EQUIPOS E INSUMOS OPERACIONALES

Materiales contenidos en el kit:

- Reactivos descritos en el cuadro anterior.
- Instrucciones de uso (manual).

Materiales necesarios, pero no contenidos en el kit:

1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 50 y 100 µL con precisión mayor que 1,5%.
2- Repipetadores para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 µL y 300 µL, con precisión mayor que 1,5% (opcional) o pipeta multicanal.
3- Lavadora de microplaca (opcional).
4- Lectora de ELISA con capacidad de absorbancia en 450 y 630 nm de longitud de onda.
5- Pipetas con volúmenes regulables (200 µL a 1000 µL) para preparación del Sustrato.
6- Tubos de ensayo para la preparación de los Sustratos A y B.
7- Papel absorbente para secar las microcavidades.
8- Cronómetro o reloj.
9- Frasco para almacenar la Solución de Lavado, después de diluida.
10- Agua destilada o deionizada.
11- Herramientas de Control de calidad.
12- Incubadora de 37°C ± 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte a temperaturas entre 15 y 30°C no deberá exceder a 72 (setenta y dos) horas. Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

CUIDADOS ESPECIALES

1- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.

2- Seguir con rigor la metodología propuesta para la obtención de resultados exactos.
3- El sobre conteniendo las tiras debe ser abierto solamente luego que alcancen la temperatura ambiente. Recolocar las tiras de microcavidades no utilizadas en la envoltura de aluminio, sellar y almacenar entre 2 y 8°C.
4- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de contaminantes.
5- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
6- Toda materia prima del producto es analizada y debe ser no reactivo para HBsAg, Anti-HIV 1&2 y Anti-HCV. Sin embargo, esos tests no ofrecen total seguridad de la ausencia de agentes infecciosos. La manipulación manual de todo producto que contiene suero es potencialmente capaz de transmitir dolencias. Por lo tanto, es necesario tomar los debidos cuidados de bioseguridad en la manipulación de esos productos.
7- Pipetear los reactivos siempre en el mismo orden para minimizar la diferencia de tiempo de reacción entre las microcavidades.
8- Por medida de protección, debe cubrir la placa durante la reacción.
9- Asegurar que el fondo de la cavidad este limpio y seco y que no hayan burbujas en la superficie del líquido antes de leer la placa. No permitir que las cavidades sequen durante el ensayo.
10- No exponga los reactivos, especialmente el Sustrato, a la luz fuerte o vapores de Hipoclorito durante el almacenamiento o etapas de incubación.
11- La Solución de Parada contiene Ácido Clorídrico, que es un ácido fuerte. Por lo tanto, manosearlo con el debido cuidado.
12- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.
13- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site www.bioclin.com.br o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.
14- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.
15- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA o Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas.

Las muestras pueden ser conservadas bajo refrigeración, entre 2 y 8°C, por el período de máximo 5 días. Si las muestras no pudieran ser analizadas dentro de 5 días, pueden ser almacenadas por hasta 30 días a temperatura de -20°C (freezer). Para muestras que serán probadas en duplicado, el volúmen requerido es de 0,010 mL de suero/plasma.

DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO

Solución de Lavado

Diluir el contenido del frasco N° 3 (Solución de Lavado Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o deionizada. Almacenar entre 2 y 8°C hasta la fecha de validez impresa en el frasco original. Puede ser almacenada a temperatura ambiente. Caso ocurra cristalización, calentar a 37°C hasta su disolución.

Sustrato - Solución de Trabajo

Determinar la cantidad de cavidades a ser utilizadas para el preparo de un volúmen adecuado.
Preparar la solución mezclando partes iguales del Sustrato A y Sustrato B, 15 minutos antes de su utilización.
Manténgalo protegido de la luz hasta ser utilizado.
Para cada microcavidad (test), utilizar:
50 µL de Sustrato A + 50 µL de Sustrato B
Por ejemplo: mezcle 1 mL de Sustrato A y 1mL de Sustrato B para dos tiras de 8 microcavidades (16 tests).Ocurre sobra de reactivo.
Usar máximo hasta una (1) hora luego del preparo.

TÉCNICA

Antes de iniciar el ensayo, colocar todos los Reactivos, Muestras y Controles para que se establecien en temperatura ambiente (15 - 30°C) por lo mínimo 40 minutos.
Retornar las tiras de la microplaca no utilizadas para el embalaje original.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Controles y Muestras. (Pudiendo ser probados en duplicado).
2- Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Pipetear 100 µL de Control Negativo, Control Positivo HIV-1, Control Positivo HIV-2 y Muestras en las cavidades previamente determinadas.
4- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
5- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
6- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
7- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (manual).
Usar 300 µL aproximadamente de Solución de Lavado, **previamente preparada***, para efectuar un total de cinco (5) ciclos de lavado.
Para la garantía del secado de la placa, al final del lavado, batir la placa por algunos segundos en papel absorbente.
Nota: Lavado / secado deficiente puede causar resultados inadecuados.
8- Pipetear 100 µL de Conjugado en cada cavidad exepto en la cavidad del blanco (Si hubiera hecho la opción).
9- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
10- Incubar por 20 minutos ± 2 minutos en una incubadora a 37°C ± 2°C.
11- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
12- Repetir el item 7.
13- ATENCIÓN Siga uno de los siguientes procedimientos:
A) Pipetear 100 µL de Sustrato previamente preparado* - Solución de Trabajo (A+ B) en todas las cavidades.
***Ved PREPARO DE REACTIVOS.**
O

B) Pipetear 50 µL de Sustrato A y 50 µL de Sustrato B en todas las cavidades.
14- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
15- Incubar por 10 minutos ± 1 minuto en una incubadora a 37°C ± 2°C.
16- Retirar el sellador de la placa de las cavidades.
17- Pipetear 50 µL de Solución de Parada en cada cavidad.
18- Homogenizar gentilmente durante ± 30 segundos.
19- Leer a 450 nm (filtro primario) / 630 nm (filtro secundario) hasta 30 minutos máximo.

VERIFICACIÓN DE LA TÉCNICA

Verifique si los resultados obtenidos para lectura de los Controles son compatibles con los valores presentados abajo:

ITEM	ABSORBANCIA
Blanco	< 0,050
Control Negativo	< 0,100
Control Positivo HIV-1 / HIV-2	> 0,500

La absorbancia para los Controles encima fueron obtenidas después de la disminnución de la absorbancia del Blanco. Para lectura en un solo filtro (450nm) considerar límite de Blanco < 0,100. En caso de que los valores se encuentren fuera de los valores esperados, se debe repetir la técnica.

CÁLCULOS

CUALITATIVO

Calcular la absorbancia promedio del Control Negativo.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Control Negativo	A1 = 0,020
	A2 = 0,018
Absorbancia promedio del Control Negativo	(0,020 + 0,018) / 2 = 0,019

Si los resultados de los Controles fueran válidos, calcule el Cut-Off con la siguiente fórmula.

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Cut-Off = Absorbancia promedio del Control Negativo + 0,160	0,019 + 0,160 = 0,179

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

Ejemplo:

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,320
Valor de Cut-Off	0,179
Índice = Muestra / Valor de Cut-Off	1,320 / 0,179 = 7,37

INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS

RESULTADOS	CUALITATIVO
	ÍNDICE
Negativo	< 0,9
Positivo	> 1,1
Indeterminado	0,9 - 1,1

No Reactiva: Muestra con absorbancia menor que el Cut-Off es considerada no reactiva para anticuerpos del HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O y puede ser considerada negativa.

Reactiva: Muestra con absorbancia superior al Cut-Off es considerada inicialmente reactiva para anticuerpos del HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O. La muestra debe ser reanalizada en duplicado antes del final de la interpretación. La muestra que sea reactiva por lo menos en uno de los reanálisis, se presume sea reactiva, y debe ser confirmada a través del método confirmatório IFI y/o Western Blot..

Observación: En el caso de resultado indeterminado, la muestra debe ser reanalizada en duplicado. Las muestras que obtuvieran resultados repetidamente indeterminados deben ser reanilizados utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe recoger una nueva muestra. 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.

LIMITACIONES DEL PROCESO

La interpretación de un test diagnóstico, no debe ser establecida con base en un único ensayo. Se deben incluir otros tests de confirmación, antes que una muestra sea considerada positiva. Un resultado negativo no excluye la posibilidad de exposición. En última instancia, todos los resultados deben ser interpretados en conjunto con otras informaciones clínicas disponibles.

CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

CARACTERÍSTICAS DE DESEMPEÑO

CONTROL DE CALIDAD

Precisión

REPETIBILIDAD

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

REPETIBILIDAD	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Promedio	0,692	1,540	2,237
Desvío Patrón	0,032	0,067	0,073
Coefficiente de Variación (%)	4,608	4,338	3,243

REPRODUCTIBILIDAD

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

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA 1	MUESTRA 2	MUESTRA 3
Promedio	0,683	1,558	2,255
Desvío Patrón	0,011	0,019	0,016
Coefficiente de Pariación (%)	1,605	1,191	0,697

Sensibilidad y Especificidad Clínica

El kit BIOLISA HIV 1/2/O analizó muestras clínicas en comparación con otro método de EIA. Los resultados muestran que la sensibilidad clínica del kit BIOLISA HIV 1/2/O es > 99,9%, y la especificidad clínica es de 99,8%.

BIOLISA HIV 1/2/O x EIA REFERENCIA				
MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
BIOLISA HIV 1/2/O	Resultado	Positivo	Negativo	
	Positivo	74	2	76
	Negativo	0	1043	1043
Total		74	1045	1119

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (95,1 - 100,0%)*
Concordancia Global: 99,8% (99,4 - 100,0%)*
Especificidad Clínica: 99,8% (99,3 - 100,0%)*
*Intervalo de Confianza 95%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

HIV es el agente etiológico de Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA). Las principales vías de transmisión incluyen la exposición de la sangre y hemoderivados, incluyendo el compartir agujas y jeringas, contacto sexual y transmisión de la madre para el hijo. El virión es cercado por un sobre lipídico que es derivado de la membrana de la célula acogedora.

Varias glicoproteínas virales están en el sobre. Cada virus contiene dos copias de RNA genómico. El HIV-1 fue aislado de pacientes con SIDA, y de personas saludables con alto potencial de riesgo para el desenvolvimiento del SIDA. El HIV-1 consiste en subtipo M y subtipo O. Cepas altamente divergentes de HIV-1 fueron reconocidas en 1990 y agrupadas provisionalmente como subtipo O, pues esta variación era semejante a los marcadores de glicoproteína de HIV-1, pero con una ligera variación para el marcador de proteína. Aunque raramente comparado para HIV-1 y HIV-2, infecciones causadas por Subtipo O hasta ahora han sido identificados en África (Camarones), Francia y Alemania. El HIV-2 fue aislado de pacientes con SIDA y individuos soropositivos asintomáticos en el Oeste Africano. El HIV-1, HIV-2, y el Subtipo O, inducen respuesta inmune. La detección de anticuerpos anti-HIV en el suero, plasma o sangre total es más eficiente y una forma común de determinar si un individuo fue expuesto al HIV. Apesar de las diferencias en sus características biológicas, actividades sorológicas y secuencias de genoma, el HIV-1, HIV-2 y subtipo O muestran fuerte reactividad cruzada antigénica. La mayoría de los sueros positivos HIV-2 pueden ser identificados por medio de tests sorológicos con HIV-1. El test utiliza antígenos recombinantes de HIV para detectar selectivamente anticuerpos de HIV-1, HIV-2 y/o subtipo O en suero o plasma.

NÚMERO DE PRUEBAS

Presentación 1 – 96 pruebas
Presentación 2 – 192 pruebas
Presentación 3 – 480 pruebas

REFERENCIAS 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, PJ,Albert, J, Fenyo, EM, Biberfeld, G,Zagury, JF and Laure, F. New human and simian HIV-related retroviruses possess functional transactivator (tat) gene. Nature (1987) 328:548-550.
3. Caetano JA Immunologic aspects of HIV infection. Acta Med Port (1991) 4 Suppl 1:52S-58S.
4. Janssen, RS, Satten, GA, Stramer, SL, Rawal, BD, O'Brien, TR, Weiblen, BJ, Hecht, FM,Jack, N, Cleghorn, FR, Kahn, JO, Chesney, MA and Busch MP. New testing strategy to detect early HIV-1 infection for use in incidence estimates and for clinical and prevention purposes. JAMA (1998) 280(1):42-48.
5. Travers, K, Mboup, S, Marlink, R, Gueye-Nidaye, A, Siby, T, Thior, I, Traore, I, Dieng-Sarr, A, Sankale, JL and Mullins, C. Natural protection against HIV-1 infection provided by HIV-2. Science (1995) 268:1612-161.
6. Greenberg, AE, Wiktor, SZ, DeCock, KM, Smith, P, Jaffe HW and Dondero, TJ, Jr. HIV-2 and natural protection against HIV-1 infection. Science (1996) 272:1959-1960.
7. Bioclin – Datos de archivos

GARANTIA DE CALIDAD

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



QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

ATENDIMIENTO 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: Enero/2016

SIMBOLOGÍA UNIVERSAL



NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA
(último día del mês)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE
PARÁ <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL
EMBALAJE ESTA
DAÑADA

BIOLISA HIV 1/2/O

REF K118

USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION

Kit BIOLISA HIV 1/2/O is a third generation immunoassay for the qualitative detection of presence of total antibodies (IgG, IgM and IgA) of HIV-1, HIV-2, and/or subtype O in serum or human plasma. For *in vitro* diagnostic use only.

PRINCIPLE OF ACTION

Methodology: Enzyme immunoassay or immunoenzymetric
Kit BIOLISA HIV 1/2/O is a solid phase enzyme immunoassay based on the principle of "sandwich" for the detection of total antibodies (IgG, IgM and IgA) for HIV-1, HIV-2, and/or subtype O in human serum or plasma.
The microplate is coated with HIV recombinant antigen specific for HIV-1 (p24, gp41), HIV-2 (gp36) and subtype O. Antibodies against HIV-1, HIV-2, and/or subtype O in the samples bind to HIV antigens recombinant coated on the microplate into HIV antigens - antibodies complex. After incubation initial, the microplate is washed to remove unbound materials. Enzymes conjugated with antigens recombinant HIV are added to the microplate and then incubated. The enzyme conjugate with antigens recombinant HIV binds to the antigen-antibody complexes immobilized HIV present. After this step, the Substrates A and B are added and incubated, producing a blue color that indicates the amount HIV antibody present in the samples. The Stop Solution is added to stop the reaction, having a color change to yellow, as in a microplate reader.

REAGENTS

- 1- Sensitive Plate** - Store between 2 and 8°C. Microplate coated with recombinant HIV antigens.
- 2- Conjugate** - Store between 2 and 8°C. Recombinant HIV antigens linked to Peroxidase and preservative.
- 3- Concentrated Washing Solution** - Store between 2 and 8°C. Buffer solution, surfactant and preservative.
- 4- Substrate A** - Store between 2 and 8°C. Buffer solution containing Hydrogen Peroxide and preservative.
- 5- Substrate B** - Store between 2 and 8°C. Buffer containing Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
- 6- Stop Solution** - Store between 2 and 8°C. Chloridric Acid 1M.
- 7- HIV Negative Control** - Store between 2 and 8°C. Solution non-reactive for HBsAg, HCV, HIV-1 and HIV-2 and preservative. **Potentially infectious.**
- 8- HIV-1 Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Solution containing HIV-1 and negative for HIV-2, HCV, HBsAg and preservative. **Potentially infectious.**
- 9- HIV-2 Positive Control** - Store between 2 and 8°C. Solution containing HIV-2 and negative for HIV-1, HCV, HBsAg and preservative. **Potentially infectious.**
- 10- Plate Sealers**

PRESENTATION

REAGENTS	1	2	3
	96 CAVITIES	192 CAVITIES	480 CAVITIES
1- Sensitive Plate	1 Unit (96 Cavities)	2 Units (96 Cavities)	5 Units (96 Cavities)
2- Conjugate	1 Flask x12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Concentrated Washing Solution	1 Flask x 20 mL	2 Flasks x 20 mL	4 Flasks x 20 mL
4- Substrate A	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
5- Substrate B	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
6- Stop Solution	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	4 Flasks x 8 mL
7- Negative Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
8- HIV-1 Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
9- HIV-2 Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
10- Plate sealer	3 Units	5 Units	10 Units

EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Materials in the kit:

- Reagents described in the above table.
- Operating instructions (manual).

Required materials not contained in the kit:

- 1- Pipette (s) capable of dispensing 50 and 100 µL volumes with a precision of better than 1,5%.
- 2- Re-pipettor (s) for repetitive dispensing of volumes of 100 µL and 300 µL, with precision greater than 1,5% (optional) or multichannel pipette.
- 3- Microplate washer (optional).
- 4- ELISA reader capable of absorbance at 450 and 630 nm wavelength.
- 5- Adjustable volume pipettes (200 µL to 1000 µL) for dilution of the Substrate.
- 6- Test tubes for dilution of the Substrate A and B.
- 7- Paper towel to dry cavities.
- 8- Stopwatches or watch.
- 9- Container to store Washing Solution, after diluted.
- 10- Distilled or deionized water.
- 11- Tools of Quality Control.
- 12- Incubator 37°C ± 2°C.

TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be 2 to 8°C. The transport at temperatures between 15 and 30°C must not exceed 72 (seventy two) hours. Keep away from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

SPECIAL CARE

- 1- For professional *in vitro* diagnostic use only.**
- 2- Strictly follow the methodology proposed to obtain accurate results.
- 3- The envelope containing the strips should be opened only after it reaches room temperature. Place the strip with unused cavities in the aluminum bag, seal and store between 2 and 8°C.
- 4- The water used in material cleaning must to be recent and free of contaminants.
- 5- Deionized and saturated columns release alkaline water, several ions and oxidizing and reducing agents that can significantly alter the results.
- 6- All the raw material of product is tested and should be nonreactive for HBsAg, Anti-HIV 1&2 and Anti HCV. However, these tests do not provide total assurance of the absence of infectious agents. The manual manipulation of any product containing human serum is potentially capable of transmitting diseases. Therefore, we must take due care in handling the biosafety of these products.
- 7- Always add reagents in the same order to minimize the difference in reaction time between the cavities.
- 8- As a safety measure, you should cover the plate during the reaction.
- 9- You must ensure that the bottom of the cavity is clean and dry and there are no bubbles on the surface fluid before reading the plate. Do not let the cavities run dry during the test.
- 10- Do not expose reagents, especially the Substrate, to strong light or Hypochlorite fumes during storage or incubation steps.
- 11- Stop Solution contains Chloridric Acid, which is a strong acid.
- 12- We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.
- 13- To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.
- 14- Do not use the product in case of damaged packaging.
- 15- It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

SAMPLES

Use serum or plasma (EDTA or Heparin). Hemolyzed or highly lipemic samples should not be used. Samples may be refrigerated at between 2 and 8°C for a maximum of 5 days. If samples can not be analyzed within 5 days, they can be stored for up to 30 days at -20°C (freezer). For samples tested in duplicate, the required volume is of 0,010 mL of serum/plasma.

DESCRIPTION OF PROCESS

PREPARATION OF WORKING REAGENT

Washing Solution

Dilute the contents of the Flask Nº 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled or deionized water. Store between 2 and 8°C until expiration date printed on the original bottle. Can be stored at room temperature. In case of crystallization, heat it at 37°C until dissolution.

Substrate - Working Solution

Determine the amount of cavities to be used for preparation of an appropriate volume. Prepare the solution by mixing equal parts of Substrate A and Substrate B, 15 minutes before use. Keep it protected from light until used.
To each cavity (test), use:
50 µL of Substrate A + 50 µL of Substrate B
For example: mix 1 mL of Substrate A and 1 mL of Substrate B to two strips with 8 cavities (16 tests). Leftover reagent occurs.
Use no later than one (1) hour after preparation.

TECHNIQUE

Before starting the assay, bring all Reagents, Samples and Controls to stabilize at room temperature (15 - 30°C) for at least 40 minutes. Return unused strips to the original sealed packaging.
1- Select the cavities to be used considering: Controls and Samples. (They can be tested in duplicates).
2- Select the first cavity for Blank (OPTIONAL).
3- Pipette 100 µL of Negative Control, HIV-1 Positive Control, HIV-2 Positive Control and Samples into the cavities previously determined.
4- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with sealer.
5- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
6- Remove the plate sealer of the cavities.
7- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (manual); Use approximately 300 µL of Washing Solution **previously prepared*** to make a total of five (5) washing cycles.
To ensure the drying of the plate at the end of washing, beat it for a few seconds on absorbent paper.
Note: Washing / drying can cause poor results inadequate.
8- Pipette 100 µL of Conjugate into each cavity except in the Blank (If you have made this choice).
9- Mix gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the plate sealer.
10- Incubate for 20 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
11- Remove the plate sealer of the cavities.
12- Repeat item 7.
13- ATTENTION: follow one of the following procedures:
A) Pipette 100 µL of the **prepared Substrate*** - Working Solution (A + B) in all cavities.
*** See PREPARATION OF REAGENTS.**
Or
B) Pipette 50 µL of Substrate A and 50 µL Substrate B in all cavities.
14- Mix gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with sealer.
15- Incubate for 10 minutes ± 1 minute in an incubator at 37°C ± 2°C.
16- Remove the plate sealer.
17- Pipette 50 µL of Stop Solution to each cavity.
18- Mix gently for ± 30 seconds.
19- Perform reading at 450 nm (primary filter) / 630 nm (secondary filter) for 30 minutes maximum.

TECHNIQUE VERIFICATION

Verify if the results obtained for the Controls reading are compatible with the values presented below:

ITEM	ABSORBANCE
Blank	< 0,050
Negative Control	< 0,100
Positive Control HIV-1 / HIV-2	> 0,500

The absorbance for each Control were obtained after the reduction of the Blank absorbance. For a single filter reading (450 nm) to consider the Blank limit of < 0,100. If the values are out of the expected values, you must repeat the technique.

CALCULATIONS

QUALITATIVE

Calculate the average absorbance from negative control.

ITEM	ABSORBANCE
Negative Control	A1 = 0,020
	A2 = 0,018
Average Absorbance from Negative Control	(0,020 + 0,018) / 2 = 0,019

If the results obtained from the Control are valid, calculate the Cut-Off according to the formula:
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Cut-Off = Negative Control Average Absorbance + 0,160	0,019 + 0,160 = 0,179

Calculate the index by dividing the sample by the Cut-Off value.

Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,320
Cut-Off Value	0,179
Index = Sample / Cut-Off Value	1,320 / 0,179 = 7,37

INTERPRETATION OF RESULTS

RESULTS	QUALITATIVE
	INDEX
Negative	< 0,9
Positive	> 1,1
Undetermined	0,9 - 1,1

Non Reactive: Sample with absorbance less than the Cut-Off is considered non-reactive to antibodies HIV-1, HIV-2, and/or subtype O and may be considered negative.

Reactive: Sample with absorbance above the Cut-Off is considered initially reactive for antibodies to HIV-1, HIV-2, and/or subtype O. The sample must be retested in duplicate before the final interpretation. The sample that is reactive in at least one of the reanalysis is presumed to be reactive and must be confirmed by a confirmatory method IFIs and/or Western blot.

Note: In case of indeterminate results, the sample must be retested in duplicate. The sample results repeatedly indeterminate should be retested using a method alternative. If the results remain uncertain, one must collect a new sample.
The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and / or treatment of the patient.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test, there should not be based on a single run. This should include confirmation of other tests before a sample is considered positive. A negative result does not exclude the possibility of exposure. Finally, all results should be interpreted in conjunction with other clinical information available.

INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

PRODUCT PERFORMANCE
QUALITY CONTROL

Accuracy
REPEATABILITY
The repeatability was calculated from 20 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

REPEATABILITY	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3
Average	0,692	1,540	2,237
Standard Deviation	0,032	0,067	0,073
Coefficient of Variation (%)	4,608	4,338	3,243

REPRODUCIBILITY
The reproducibility was calculated from 20 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE 1	SAMPLE 2	SAMPLE 3
Average	0,683	1,558	2,255
Standard Deviation	0,011	0,019	0,016
Coefficient of Variation (%)	1,605	1,191	0,697

Clinical sensitivity and specificity
BIOLISA HIV 1/2/O kit analyzed clinical samples in comparison with other methods of EIA.
The results show that the clinical sensitivity of the BIOLISA HIV 1/2/O kit is > 99,9% and clinical specificity is 99,8%.

BIOLISA HIV 1/2/O x EIA REFERENCE				
METHOD		REFERENCE EIA		Total
BIOLISA HIV 1/2/O	Results	Positive	Negative	
	Positive	74	2	76
	Negative	0	1043	1043
Total		74	1045	1119

Clinical Sensitivity: > 99,9% (95,1 - 100,0%)*
Overall Agreement: 99,8% (99,4 - 100,0%)*
Clinical Specificity: 99,8% (99,3 - 100,0%)*
*Confidence Interval 95%

DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE
HIV is the causative agent of Acquired Immune Deficiency Syndrome (AIDS). The main routes of transmission include exposure to blood and blood products, including the sharing of needles and syringes, sexual contact and transmission from mother to child. The virion is surrounded by a lipid envelope that is derived the host cell membrane. Several viral glycoproteins are in the envelope. Each virus contains two copies of genomic RNA. The HIV-1 was isolated from AIDS patients and healthy people with high potential risk for the development of AIDS. The HIV-1 consists of subtype M and subtype O. Strains highly divergent HIV-1 were recognized in 1990 and provisionally grouped as subtype O, because this variation was similar to markers of HIV-1 glycoprotein, but with a slight variation for the marker protein. Although seldom compared to HIV-1 and HIV-2, infections caused by the subtype O have been identified so far in Africa (Cameroon), France and Germany. HIV-2 was isolated AIDS patients and asymptomatic HIV-positive individuals in West Africa. The HIV-1, HIV-2, and Subtype O, induce an immune response. The detection of HIV antibodies in serum, plasma or whole blood is more efficient and a common way of determining whether an individual was exposed to HIV. Despite differences in their biological characteristics, serological activity and genome sequences, HIV-1, HIV-2 and the subtype O showed strong antigenic cross-reactivity. Most HIV-2 positive sera can be identified by serological tests with HIV-1. The test uses recombinant antigens of HIV to selectively detect antibodies to HIV-1, HIV-2 and/or subtype O in serum or plasma.

NUMBER OF TESTS
Presentation 1 - 96 tests
Presentation 2 - 192 tests
Presentation 3 - 480 tests

BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

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

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

 **QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**
Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil
Phone: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455
E-mail: bioclin@bioclin.com.br
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

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

ANVISA registration for BIOLISA HIV 1/2/O kit: 10269360200

Review: January/2016

UNIVERSAL SYMBOLOGY

REF

CATALOG NUMBER

LOT

BATCH CODE



DATE OF MANUFACTURE



USED BY
(last day of month)



TEMPERATURE LIMITATION
(store at)



CONTAINS SUFFICIENT
FOR <N> TESTS



CONSULT INSTRUCTIONS
FOR USE

IVD

IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE



EUROPEAN AUTHORIZED
REPRESENTATIVE



KEEP AWAY
FROM SUNLIGHT



MANUFACTURED BY

CONTROL

CONTROL

CONTROL +

POSITIVE CONTROL

CONTROL -

NEGATIVE CONTROL



BIOLOGICAL RISK



INFLAMMABLE



CORROSIVE



POISON



CE MARK



DO NOT USE IF
PACKAGE IS
DAMAGED