

BIOLISA HIV 1/2/0 ANTÍGENO/ANTICORPO K 119

INSTRUÇÕES DE USO

FINALIDADE

O Kit BIOLISA HIV 1/2/O Antígeno/Anticorpo é um imunoensaio de quarta geração para a detecção qualitativa da presença de antígeno HIV-1 P24 e anticorpos totais (IgG, IgM e IgA), 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 imunoenzimático
O Kit BIOLISA HIV 1/2/O Antígeno/Anticorpo é um ensaio imunoenzimático em fase sólida baseado no princípio "sanduíche" para a detecção de antígeno HIV-1 P24 e 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 anticorpos monoclonais e antígenos recombinantes específicos para HIV-1 (p24, gp 41), HIV-2 (gp36) e subtipo O. Antígenos HIV-1 P24 e/ou anticorpos do HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O, presentes nas amostras se ligam aos anticorpos/antígenos revestidos na microplaca formando complexos antígenos-anticorpo. Após a incubação inicial, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. A enzima-conjugado de anticorpos policlonais HIV e de antígenos recombinantes é adicionada à microplaca e então incubada. A enzima-conjugado de anticorpos policlonais HIV e de antígenos recombinantes se liga ao complexo imobilizado antígeno-anticorpo presente. Após a segunda incubação, a microplaca é lavada para remover os materiais não ligados. Após esta etapa, os Substratos A e B são adicionados e incubados, produzindo uma cor azul que indica a quantidade de antígenos/anticorpos do 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 anticorpo monoclonal e antígeno recombinante HIV.
- 2- Conjugado** - Conservar entre 2 e 8°C. Anticorpo policlonal e Antígenos recombinantes HIV ligados à Peroxidase e conservante.
- 3- Lavagem Concentrada** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão, surfactante e conservante.
- 4- Diluente de Amostra** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão e conservante.
- 5- Substrato A** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão contendo Peróxido de Hidrogênio e conservante.
- 6- Substrato B** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução tampão contendo Tetrametilbenzidina (TMB) e conservante.
- 7- Solução de Parada** - Conservar entre 2 e 8°C. Ácido Clorídrico 1M.
- 8- Controle Negativo** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução não reativa para HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 e conservante.
- 9- Controle Positivo HIV-1** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HIV-1 e negativo para HIV-2, HCV, HBsAg e conservante.
- 10- Controle Positivo HIV-2** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HIV-2 e negativo para HIV-1, HCV, HBsAg e conservante.
- 11- Controle Positivo HIV-1 P24** - Conservar entre 2 e 8°C. Solução contendo HIV-P24 e negativo para HCV, HBsAg e conservante.
- 12- 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- Diluente de Amostra	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
5- Substrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6- Substrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
7- Solução de Parada	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	4 Frascos x 8 mL
8- Controle Negativo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
9- Controle Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
10- Controle Positivo HIV-2	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
11- Controle Positivo HIV-1 P24	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
12- 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 nos Kit:

- 1- Pipetas capazes de dispensar volumes de 25, 50 e 100 µL com coeficiente de variação menor que 1,5%.
- 2- Repipetadores para pipetagens repetitivas de volumes de 100 µL e 300 µL, com coeficiente de variação menor que 1,5% ou pipeta multicanal (opcional).
- 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 do Substrato 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 pode ser feito sob temperatura ambiente (até 30°C) por até 72 (setenta e duas) horas. Não congelar. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade.

CUIDADOS ESPECIAIS

- 1- Somente para uso diagnóstico *in vitro*.
- 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 estocar a 2-8°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- 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 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 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.

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 0,10mL de soro/plasma.

DESCRIÇÃO DO PROCESSO

PREPARO DOS REAGENTES DE TRABALHO

Solução de Lavagem

Diluir o conteúdo do frasco N° 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada. Após o preparo, a solução pode ser estocada entre 2 a 30°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 1 mL de Substrato A e 1 mL 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 selada.
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 50 µL de Diluente de Amostra em todas as cavidades.
4- Pipetar 50 µL de Controle Negativo, Controle Positivo HIV-1, Controle Positivo HIV-2, Controle Positivo HIV-1 P24 e Amostras nas cavidades previamente determinadas.
5- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.

- 6- Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 7- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 8- 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.
- 9- Pipetar 100 µL de Conjugado em cada cavidade exceto na cavidade do branco (Se tiver feito a opção).
- 10- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa.
- 11- Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora 37°C ± 2°C.
- 12- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 13- Repetir o item 8.
- 14- 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 DE TRABALHO.**
Ou
B) Pipetar 50 µL de Substrato A e 50 µL de Substrato B em todas as cavidades.
- 15- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador.
- 16- Incubar por 30 minutos ± 1 minuto em uma incubadora a 37°C ± 2°C.
- 17- Retirar o selador de placa das cavidades.
- 18- Pipetar 50 µL de Solução de Parada em cada cavidade.
- 19- Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos.
- 20- 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	< 0,200
Controle Positivo HIV-1 / HIV-2 / HIV-1 P24	> 0,500

As absorbâncias para os controles foram obtidos 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 = 0,040
	A2 = 0,038
Absorbância média do Controle Negativo	(0,040 + 0,038) / 2 = 0,039

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	0,039 + 0,160 = 0,199

BIOLISA HIV 1/2/0 ANTÍGENO/ANTICUERPO K 119
INSTRUCCIONES DE USO

FINALIDAD

El Kit BIOLISA HIV 1/2/0 Antígeno/Anticuerpo es un inmunoensayo de cuarta generación para la detección cualitativa de la presencia de antígeno HIV-1 P24 y anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA), 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: Enzimaimmunoensayo o inmunoenzimatico
O Kit BIOLISA HIV 1/2/0 Antígeno/Anticuerpo es un ensayo inmunoenzimático en fase sólida con base en el principio “sándwich” para la detección de antígeno HIV-1 P24 y anticuerpos totales (IgG, IgM e IgA) para HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O en suero humano o plasma. La microplaca es revestida con anticuerpos monoclonales y antígenos recombinantes específicos para HIV-1(p24, gp 41), HIV-2 (gp36) y subtipo O.Antígenos HIV-1 P24 y/o anticuerpos de HIV-1, HIV-2, y/o subtipo O presentes en las muestras se ligan los anticuerpos/antígenos revestidos en la microplaca formando complejos antígenos-anticuerpo. Luego de la incubación inicial, la microplaca es lavada para remover materiales no ligados. El enzima-conjugado de anticuerpos policlonales HIV y de antígenos recombinantes es adicionada a la microplaca y entonces incubada. La enzima-conjugada de anticuerpos policlonales HIV y de antígenos recombinantes se liga al complejo inmovilizado antígeno-anticuerpo presente. Luego de la segunda incubación la microplaca es lavada para remover los materiales no ligados. Después de esta etapa, los sustratos A y B son adicionados e incubados, produciendo un color azul que indica la cantidad de antígenos/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 anticuerpo monoclonal y antígeno recombinante HIV.
2- Conjugado - Almacenar entre 2 y 8°C. Anticuerpo policlonal y 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- Diluyente de Muestra - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón y conservante.
5- Sustrato A - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón conteniendo Peróxido de Hidrógeno y conservante.
6- Sustrato B - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución tapón conteniendo Tetrametilbenzidina (TMB) y conservante.
7- Solución de Parada - Almacenar entre 2 y 8°C. Ácido Clorídrico 1M.
8- Control Negativo - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución no reactiva para HBsAg, HCV, HIV-1, HIV-2 y conservante.
9- Control Positivo HIV-1 - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo HIV-1 y negativo para HIV-2, HCV, HBsAg y conservante.
10- Control Positivo HIV-2 - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo HIV-2 y negativo para HIV-1, HCV, HBsAg y conservante.
11- Control Positivo HIV-1 P24 - Almacenar entre 2 y 8°C. Solución conteniendo HIV-P24 y negativo para HCV, HBsAg y conservante.
12- 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- Diluyente de Muestra	1 Frasco x 12 mL	2 Frascos x 12 mL	5 Frascos x 12 mL
5- Sustrato A	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
6- Sustrato B	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	5 Frascos x 8 mL
7- Solución de Parada	1 Frasco x 8 mL	2 Frascos x 8 mL	4 Frascos x 8 mL
8- Control Negativo	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
9- Control Positivo HIV-1	1 Frasco x 1 mL	2 Frasco x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
10- Control Positivo HIV-2	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frasco x 1 mL
11- Control Positivo HIV-1 P24	1 Frasco x 1 mL	2 Frascos x 1 mL	4 Frascos x 1 mL
12- 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 los Kit:

- 1- Pipetas capaces de dispensar volúmenes de 25, 50 y 100 μ L con menor coeficiente de variación que 1,5%.
2- Repipetadores para pipetajes repetitivos de volúmenes de 100 μ L y 300 μ L, con menor coeficiente de variación que 1,5% o pipeta multicanal (opcional).
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 μ L a 1000 μ L) 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 $\pm$ 2°C.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte puede realizarse a temperatura ambiente (até 30°C) durante un máximo de 72 (setenta y dos) horas. **No congelar.** Mantener al abrigo de la luz y evitar humedad.

CUIDADOS ESPECIALES

- 1- Solamente para uso diagnóstico *in vitro*.**
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, 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.

MUESTRAS

Utilizar suero o plasma (EDTA o Heparina).
Muestras hemolizadas o altamente lipémicas no deben ser usadas. Las muestras pueden ser almacenadas 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 volumen 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 Etapas Concentrado) en 1000 mL de agua destilada o deionizada. Despues de la preparación de la solución se puede almacenar a 2 a 30°C hasta la fecha de validad 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 volumen 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 μ L de Sustrato A + 50 μ L 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 establecen en temperatura ambiente (15 - 30°C) por lo mínimo 40 minutos.
Retornar las tiras de la microplaca que no serán utilizadas para el embalaje original sellado.
1- Separar las cavidades a ser utilizadas considerando: Control y Muestra (pudiendo ser probados en duplicado).

- 2-** Separar la primera cavidad para el Blanco (OPCIONAL).
3- Pipetear 50 μ L de Diluyente de Muestra en todas las cavidades.
4- Pipetear 50 μ L de Control Negativo, Control Positivo HIV-1, Control Positivo HIV-2, Control Positivo HIV-1 P24 y Muestras en las cavidades previamente determinadas.
5- Homogenizar gentilmente durante $\pm$ 30 segundos. Cubrir las cavidades con el sellador de placa.
6- Incubar por 60 minutos $\pm$ 2 minutos en una incubadora a 37°C $\pm$ 2°C.
7- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
8- Desechar el contenido de las cavidades por aspiración (Lavadora) o por decantación (manual);
Usar 300 μ L 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.
9- Pipetear 100 μ L de Conjugado en cada cavidad exepcto en la cavidad del blanco (Si hubiera hecho la opción).
10- Homogenizar gentilmente durante $\pm$ 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador de placa.
11- Incubar por 30 minutos $\pm$ 2 minutos en una incubadora a 37°C $\pm$ 2°C.
12- Retirar el sellador de placa de las cavidades.
13- Repetir el ítem 8.

14- ATENCIÓN Siga uno de los siguientes procedimientos:

- A)** Pipetear 100 μ L de Sustrato **previamente preparado*** - Solución de trabajo (A+ B) en todas las cavidades.
***Ved PREPARO DE LOS REACTIVOS DE TRABAJO.**
O
B) Pipetear 50 μ L de Sustrato A y 50 μ L de Sustrato B en todas las cavidades.
15- Homogenizar gentilmente durante $\pm$ 30 segundos. Cobrir las cavidades con el sellador.
16- Incubar por 30 minutos $\pm$ 1 minuto en una incubadora a 37°C $\pm$ 2°C.
17- Retirar el sellador de la placa de las cavidades.
18- Pipetear 50 μ L de Solución de Parada en cada cavidad.
19- Homogenizar gentilmente durante $\pm$ 30 segundos.
20- 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	< 0,200
Control Positivo HIV-1 / HIV-2 / HIV-1 P24	> 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 = 0,040
	A2 = 0,038
Absorbancia promedio del Control Negativo	(0,040 + 0,038) / 2 = 0,039

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	0,039 + 0,160 = 0,199

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

ITEM	ABSORBANCIA
Muestra	1,900
Valor de Cut-off	0,199
Índice: Muestra / Valor de Cut-Off	1,900 / 0,199 = 9,55

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 antígenos HIV-1 P24 y anticuerpos de 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 antígenos HIV1 P24 y 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 reanalizadas utilizando un método alternativo. Si los resultados permanecieran indeterminados, se debe recoger una nueva muestra.

Nota: Los datos presentados en los ejemplos son sólo para ilustración y no se pueden utilizar para calcular 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.

DESEMPEÑO DEL PRODUCTO
CONTROL DE CALIDAD

Precisión

REPETIBILIDAD
Fueron realizadas 20 dosificaciones sucesivas con tres muestras, utilizando el mismo lote, obteniéndose los siguientes resultados:

REPETIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,697	1,561	2,291
Desvío patrón	0,032	0,062	0,055
Coefficiente de variación (%)	4,523	4,002	2,393

REPRODUCTIBILIDAD

Fueron realizadas 20 dosificaciones durante 3 días consecutivos con tres muestras, utilizando el mismo lote, obteniéndose los siguientes resultados:

REPRODUCTIBILIDAD	MUESTRA		
	1	2	3
Promedio	0,697	1,580	2,298
Desvío patrón	0,001	0,022	0,018
Coefficiente de variación (%)	0,143	1,388	0,790

Sensibilidad y Especificidad Clínica

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

BIOLISA HIV 1/2/O ANTÍGENO/ANTICUERPO x EIA REFERENCIA				
MÉTODO		EIA REFERENCIA		Total
BIOLISA HIV 1/2/O Antígeno/ Anticuerpo		Positivo	Negativo	
	Positivo	146	2	148
	Negativo	0	1240	1240
Total		146	1242	1388

Sensibilidad Clínica: > 99,9% (97,5 - 100,0%) *
Concordancia Global: 99,9% (99,5 - 100,0%) *
Especificidad Clínica: 99,8% (99,4 - 100,0%) *
*Intervalo de Confianza 95%

SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO

El HIV es el agente etiológico de Síndrome de Imunodeficiencia 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 senso positivo genómico. El HIV-1 fue aislado de pacientes con SIDA, y de personas saludables con alto potencial de riesgo para el desenvolvimiento del SIDA.
La infección por HIV-1 es identificada por una fase inicial de antigenemia en que el antígeno (Ag) HIV-1 es detectable en la sangre. En la mayoría de los casos, los niveles de antígeno son muchas veces difíciles de detectar, sin embargo, el aumento de la falla del sistema inmunológico y los niveles crecientes del virus pueden volver a estimular niveles detectables de antígeno.
Las importantes proteínas internas estructurales del HIV-1, la proteína P24 del núcleo, es uno de los componentes virales encontrados en la sangre durante la antigenemia. Además de eso, 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 e individuos soropositivos asintomáticos en el Oeste Africano. El HIV-1, HIV-2, y el Subtipo O, inducen respuesta inmune. La detección inmunológica de antígenos y 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 , subtipo O muestran fuerte reactividad cruzada antigénica. Anticuerpos contra el antígeno HIV-1 P24 también son incluidos para la detección de la fase de pré-suero conversión de la infección. La mayor parte de sueros positivos HIV-2 pueden ser identificados por medio de tests sorológicos con HIV-1.

NÚMERO DE PRUEBAS

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

REFERENCIAS 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 – Datos de archivos

GARANTÍA DE CALIDAD

Antes de ser liberado para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en el embalaje de presentation, 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 Antígeno/Anticuerpo en la ANVISA: 10269360199

Revisión: Febrero/2017

REF

NÚMERO DEL CATÁLOGO

LOT

NÚMERO DE LOTE

FECHA DE FABRICACIÓN

ESTABLE HASTA
(último día del mês)

TEMPERATURA LIMITE
(conservar a)

CONTENIDO SUFICIENTE
PARA <N> TESTES

CONSULTAR INSTRUCCIONES
DE USO

IVD

DISPOSITIVO DE
DIAGNÓSTICO IN VITRO

ELABORADO POR

CONTROL

CONTROL POSITIVO

CONTROL NEGATIVO

RIESGO BIOLÓGICO

INFLAMABLE

CORROSIVO

TÓXICO

BIOLISA HIV 1/2/0 ANTIGEN/ANTIBODY K119
USAGE INSTRUCTIONS

FUNCTION
BIOLISA HIV 1/2/O Antigen/Antibody kit is a fourth generation immunoassay for the qualitative detection of presence of HIV-1 P24 antigen and total antibodies (IgG, IgM and IgA), 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 immunoenzymatic
BIOLISA HIV 1/2/O Antigen/Antibody kit is a solid phase enzyme immunoassay based the principle of “sandwich” for the detection of HIV-1 P24 antigen and 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 monoclonal antibodies and recombinant HIV antigens specific to HIV-1 (p24, gp41) HIV-2 (gp 36) and subtype O. HIV Antigens HIV-1 P24 and/or antibodies of HIV-1, HIV-2, and/or subtype O, present in the sample bind to Antibodies/Antigens coated on the microplate antigen-antibody complexes formed. After initial incubation, the microplate is washed to remove unbound materials. The enzyme-conjugated polyclonal HIV recombinant antigens and is added to the microplate and then incubated. The enzyme-conjugate HIV polyclonal antibody and recombinant antigen complex binds to the immobilized antigen-antibody present. After the second incubation, the microplate is washed to remove materials not connected. After this step, the substrates A and B are added and incubated, producing a blue color that indicates the amount of antigen/HIV antibody present in the samples. The stop solution is added to stop the reaction, with a color change to yellow, so far as a reader microplates.

REAGENTS
1- Sensitive Plate - Store between 2 and 8°C. Microplates coated with monoclonal antibody and recombinant HIV antigens.
2- Conjugate - Store between 2 and 8°C. Policlonal antibody and recombinant HIV antigens linked to Peroxidase and preservative.
3- Concentrated Washing - Store between 2 and 8°C. Buffer solution, surfactant and preservative.
4- Sample Diluent - Store between 2 and 8°C. Buffer Solution and preservative.
5- Substrate A - Store between 2 and 8°C. Buffer solution containing Hydrogen Peroxide and preservative.
6- Substrate B - Store between 2 and 8°C. Buffer solution containing Tetramethylbenzidine (TMB) and preservative.
7- Stop Solution - Store between 2 and 8°C. Chloridric acid 1M.
8- HIV Negative Control - Store between 2 and 8°C. Non-reactive solution for HBsAg, HCV, HIV-1 and HIV-2 and preservative.
9- HIV-1 Positive Control - Store between 2 and 8°C. Solution containing HIV-1 and HIV-2 negative, 2HCV, HBsAg and preservative.
10- HIV-2 Positive Control - Store between 2 and 8°C. Solution containing HIV-2 and negative for HIV-1, HCV, HBsAg and preservative.
11- HIV-1 P24 Positive Control - Store between 2 and 8°C. Solution containing HIV- P24 and negative for HCV, HBsAg and preservative.
12- Plate Sealers

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- Conjugated	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
3- Concentrated Washing	1 Flask x 20 mL	2 Flasks x 20 mL	4 Flasks x 20 mL
4- Sample Diluent	1 Flask x 12 mL	2 Flasks x 12 mL	5 Flasks x 12 mL
5- Substrate A	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
6- Substrate B	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	5 Flasks x 8 mL
7- Stop Solution	1 Flask x 8 mL	2 Flasks x 8 mL	4 Flasks x 8 mL
8- Negative Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
9- HIV-1 Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
10- HIV-2 Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
11- HIV-1 P24 Positive Control	1 Flask x 1 mL	2 Flasks x 1 mL	4 Flasks x 1 mL
12- 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 25, 50 and 100 µL volumes with a lower coefficient of variation than 1,5%.
2- Re-pipettor (s) for repetitive dispensing of volumes of 100 µL and 300 µL, with lower coefficient of variation than 1,5% or multichannel pipette (optional).
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 can be in under ambient temperature (up to 30°C) for up to 72 (seventy two) hours. **Do not freeze.** Keep away from light and avoid moisture.

SPECIAL CARE
1- For *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 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 bio safety 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 Hydrochloric Acid, which is a strong acid. Handle it with care.
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 (Safety Data Sheet Safety of Chemicals) available on the website www.bioclin.com.br or upon request by the SAC (Advisory Service Customer) of Quibasa.

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 that will be tested as duplicates, 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 N° 3 (Concentrated Washing Solution) in 1000 mL of distilled or deionized water. After preparation the solution may be stored at 2 to 30°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 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 50 µL of Sample Diluent into all the cavities.
4- Pipette 50 µL of Negative Control, HIV-1 Positive Control, HIV-2 Positive Control, HIV-1 P24 Positive Control and Samples into the cavities previously determined.
5- Homogenize gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with sealer.
6- Incubate for 60 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
7- Remove the sealing from all the cavities.
8- Discard the contents of the cavities by aspiration (Washer) or by decanting (manual).
Use approximately 300 µL of washing solution **previously prepared*** to perform 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: Poor Washing and drying can cause inadequate results.
9- Pipette 100 µL of Conjugate into each cavity except in the Blank (If you have made this choice).
10- Mix gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with the sealer.
11- Incubate for 30 minutes ± 2 minutes in an incubator at 37°C ± 2°C.
12- Remove the plate sealer.

13- Repeat Item 8.
14- ATTENTION: follow one of the following procedures:
A) Pipette 100 µL of the **previously prepared*** substrate - Working solution (A + B) in all cavity.
*** See PREPARATION OF WORKING REAGENTS.**
Or
B) Pipette 50 µL of Substrate A and 50 µL Substrate B in all cavity.
15- Mix gently for ± 30 seconds. Cover the cavities with sealer.
16- Incubate for 30 minutes ± 1 minute in an incubator at 37°C ± 2°C.
17- Remove the plate sealer.
18- Pipette 50 µL of Stop Solution to each cavity.
19- Homogenize gently for ± 30 seconds.
20- Perform reading at 450 nm (primary filter)/630 nm (secondary filter) up to 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	< 0,200
Positive Control HIV-1 / HIV-2 / HIV-1 P24	> 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.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Negative Control	A1 = 0,040
	A2 = 0,038
Average Absorbance from Negative Control	(0,040 + 0,038) / 2 = 0,039

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	0,039 + 0,160 = 0,199

Calculate the index dividing the sample absorbance by the Cut-Off value.
Example:

ITEM	ABSORBANCE
Sample	1,900
Cut-Off Value	0,199
Index = Sample / Cut-Off value	1,900 / 0,199 = 9,55

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 for HIV-1 P24 Antigens and HIV-1, HIV-2 antibodies, and/or subtype O can be considered negative.

Reaction: Sample with absorbance equal to or above the Cut-Off is considered initially reactive for HIV-1 P24 antigens and antibodies to HIV-1, HIV-2, and/or subtype O. The sample must be retested in duplicate before the end of interpretation. The sample that is reactive in at least one of the reanalysis, if 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.

Note: The date presented in the examples are for ilustration only and can be used for calculation of the results.

PROCEDURE LIMITATIONS

The interpretation of a diagnostic test, 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. Therefore, 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

Precision

REPEATABILITY

20 successive measurements were performed with three samples, using the same lot, obtaining the following results:

REPEATABILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,697	1,561	2,291
Standard Deviation	0,032	0,062	0,055
Coefficient of Variation (%)	4,523	4,002	2,393

REPRODUCIBILITY

20 measurements were performed for 3 consecutive days with three samples, using the same lot, obtaining the following results:

REPRODUCIBILITY	SAMPLE		
	1	2	3
Average	0,697	1,580	2,298
Standard Deviation	0,001	0,022	0,018
Coefficient of Variation (%)	0,143	1,388	0,790

Clinical sensitivity and specificity

BIOLISA HIV 1/2/O Antigen/Antibody 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 Antigen/Antibody kit is > 99,9% and clinical specificity is 99,8%.

method		REFERENCE EIA		Total
BIOLISA HIV 1/2/O Antigen/ Antibody		Positive	Negative	
	Positive	146	2	148
	Negative	0	1240	1240
Total		146	1242	1388

Clinical Sensitivity: > 99,9% (97,5 - 100,0%)*

Overall Agreement: 99,9% (99,5 - 100,0%)*

Clinical Specificity: 99,8% (99,4 - 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, transmission from mother to child. The virus 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 positive sense. The HIV-1 was isolated from AIDS patients and people healthy with high potential risk for the development of AIDS. Infection with HIV-1 is identified by the initial antigenemy to the antigen (Ag) HIV-1 is detectable in the blood. In most cases, the antigen levels are often difficult to detect, however, the increase in failure immune system and increased levels of the virus may re-stimulate detectable levels of antigen. The major internal structural proteins of HIV-1 core protein P24, is a component found in the blood during viral antigenemy. Furthermore, HIV-1 subtype consists of M and subtype O. Highly divergent strains of HIV-1 were recognized in 1990 and provisionally grouped as the 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 infection caused by the subtype so far have been identified in Africa (Cameroon), France and Germany. HIV-2 was isolated from patients with AIDS and asymptomatic HIV-positive individuals in WestAfrica. HIV-1, HIV-2 and subtype O, induce an immune response. The immunological detection of antigens and antibodies HIV 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, serological and genome sequence activities, HIV-1, HIV-2 subtype O shows strong antigenic cross-reactivity. Antibodies against HIV-1 P24 antigen are also included for the detection of pre-serum conversion infection. The majority of HIV-2 positive sera can be identified by serological tests HIV-1.

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-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 - 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 Antigen/Antibody Kit: 10269360199

Review: February/2017

English 2/2

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

IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE

MANUFACTURED BY

CONTROL

POSITIVE CONTROL

NEGATIVE CONTROL

BIOLOGICAL RISK

INFLAMMABLE

CORROSIVE

POISON