



# HIV Ag/Ac

## ELISA 4ª Generación

Ensaio imunoenzimático (ELISA) para a detecção simultânea do antígeno p24 de HIV-1 e de anticorpos anti HIV-1 e anti HIV-2

### SIGNIFICADO CLÍNICO

Os vírus da imunodeficiência humana (HIV-1 e HIV-2) são os agentes causadores do Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS). Estes retrovírus são transmitidos principalmente pela exposição a certos fluidos corporais infectados, principalmente secreções genitais e sangue ou produtos contaminados derivados do sangue e por passagem através da placenta.

A evidência sorológica da infecção por HIV-1 e HIV-2 pode ser obtida determinando a presença de antígenos e anticorpos no soro de indivíduos em que se suspeita que tenham a infecção. Os antígenos podem ser detectados na fase aguda e durante a fase sintomática da enfermidade. Os anticorpos podem ser detectados ao longo de toda a infecção, começando na fase aguda ou imediatamente depois dela. Por isso, é de fundamental importância a utilização de uma determinação de alta sensibilidade que possa detectar antígenos e anticorpos.

O ensaio de HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación foi desenvolvido para detectar antígeno p24 assim como anticorpos contra HIV-1, HIV-2 grupo O e HIV-2.

### FUNDAMENTOS DO MÉTODO

As cavidades da policubeta estão recobertas com proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos de HIV-1 (gp41) e HIV-2 (gp36) e anticorpos monoclonais anti-p24<sup>(\*)</sup>. A amostra é incubada nas cavidades. Se ela contém antígeno p24 e/ou anticorpos anti-HIV-1 ou anti-HIV-2, ocorrerá a união com antígenos e/ou anticorpos presentes nas cavidades. O material não unido será removido por lavagem. No passo seguinte, adiciona-se o Conjugado 1, que contém anticorpos e antígenos marcados com biotina, que se unirá aos antígenos/anticorpos caso estejam presentes na amostra. Em seguida adiciona-se o Conjugado 2 (peroxidase conjugada à estreptavidina) que se unirá ao Conjugado 1. O conjugado não unido será removido por lavagem. Na sequência adiciona-se uma solução contendo tetrametilbenzidina (TMB) e peróxido de hidrogênio. As amostras reativas desenvolverão cor azul que se torna amarela quando a reação é parada com ácido sulfúrico (Stopper).

### REAGENTES FORNECIDOS

**Policubeta sensibilizada:** policubeta de 96 cubetas recobertas com proteínas recombinantes e peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2 e anticorpos monoclonais humanos anti-p24.

**Diluyente de Amostra:** tampão Tris 0,02 M contendo proteínas bovinas, cloreto de sódio e agente tensoativo, pH 7,2, cor azul.

**Conjugado 1:** solução contendo antígenos recombinantes e peptídeos sintéticos de HIV-1 e HIV-2 e anticorpos mono-

clonais humanos anti-p24 biotinizados em tampão fosfato 10 mM com proteínas bovinas, cloreto de sódio e agente tensoativo, pH 7,2.

**Conjugado 2 concentrado:** estreptavidina conjugada com peroxidase, cor alaranjado.

**Diluyente de Conjugado 2:** tampão fosfato 10 mM com proteínas bovinas, cloreto de sódio e agente tensoativo, pH 7,2.

**TMB:** solução de tetrametilbenzidina 36 mM em dimetilsulfóxido (DMSO) 100%, (100x).

**Diluyente de TMB:** tampão citrato 40 mM e peróxido de hidrogênio 1,27 mM, pH 4,3.

**Stopper:** ácido sulfúrico 1 M.

**Tampão de Lavagem concentrado:** tampão fosfato 250 mM, cloreto de sódio 3,45 M e agente tensoativo, (25x), pH 6,4.

**Controle Positivo:** soro humano inativado, contendo anticorpos anti-HIV, cor vermelho.

**Controle Positivo p24:** solução de antígeno p24 de HIV-1 em tampão fosfato 10 mM, com proteínas bovinas, cloreto de sódio e agente tensoativo, cor amarelo.

**Controle Negativo:** soro humano normal não reativo, inativado. Cor amarelo.

### REAGENTES NÃO FORNECIDOS

Água destilada ou desionizada.

### MATERIAL NECESSÁRIO (não fornecido)

- Micropipetas automáticas ou semi-automáticas, reguláveis ou fixas
- Ponteiras descartáveis
- Material volumétrico para preparar diluições
- Cronômetro
- Estufa a 37°C
- Luvas descartáveis
- Papel absorvente
- Hipoclorito de sódio
- Sistema de lavagem de policubetas (manual ou automático)
- Espectrofotômetro para leitura de policubetas

### PRECAUÇÕES

- Os reagentes são para uso diagnóstico "in vitro".
- Utilizar os reagentes observando as precauções habituais de trabalho no laboratório de análise clínica.
- Todos os reagentes e as amostras devem-se descartar conforme à regulação local vigente.
- Todas as amostras de pacientes devem ser manipuladas como se fossem capazes de transmitir a infecção. Os controles encontram-se inativos, porém devem ser empregados como se tratando de material infectado.

- Os soros controles foram examinados para antígeno de superfície de Hepatite B (HbsAg) e anticorpos contra o vírus da Hepatite C (HCV), encontrando-se não reativos. Porém, recomenda-se manipulá-los com as precauções requeridas para amostras potencialmente infecciosas.
- Todos os materiais utilizados no ensaio devem ser tratados a fim de assegurar a inativação de agentes patogênicos. O método recomendado para este procedimento é autoclar durante 1 hora a 121°C. Os líquidos descartados podem ser desinfetados com hipoclorito de sódio, (concentração final de 5%) durante pelo menos 60 minutos.
- Não intercambiar reagentes de kits e lotes diferentes.
- Não utilizar reagentes de outra origem.
- As policubetas devem ser incubadas em estufa. Não usar banho-maria. Evitar abrir a estufa durante a incubação.
- Evitar que vapores de hipoclorito provenientes dos recipientes de descarte biológicos ou outras formas entrem em contato com a policubeta, pois o hipoclorito afeta a reação.
- Evitar o contato do ácido sulfúrico (Stopper) e do DMSO (TMB) com a pele e mucosas. R36/38: irrita os olhos e a pele. R34: provoca queimaduras. S24/25: evitar o contato com os olhos e a pele. S26: caso de contato com os olhos, lavar imediatamente com abundante água e acudir ao médico. S28: caso de contato com a pele, lavar imediatamente com abundante água. S37/39: utilizar luvas adequadas e proteção apropriadas para os olhos/cara.
- Caso algum reagente tome contato com a pele ou os olhos, deve-se lavar com abundante água.
- Evitar o derrame de líquidos e a formação de aerossóis.
- Não pipetar com a boca. Usar luvas descartáveis e proteção nos olhos durante a manipulação das amostras e reagentes do ensaio.

## PREPARAÇÃO DOS REAGENTES

**Tampão de Lavagem:** a baixa temperatura os componentes do reagente podem precipitar. Neste caso, esquentar a solução a 37°C até a sua dissolução completa. Para a obtenção do tampão de lavagem pronto para uso, diluir o Tampão de Lavagem concentrado (25x) com água destilada ou desionizada. Ex.: 40 ml em 960 ml para uma policubeta.

**Conjugado 2:** num tubo marcado, diluir o Conjugado 2 concentrado (100x) no Diluente de Conjugado 2. Ex.: 200 ul em 20 ml para uma policubeta.

**Revelador:** num tubo marcado, diluir a TMB concentrada (100x) no Diluente de TMB. Ex.: 200 ul no 20 ml para uma policubeta. A TMB concentrada está dissolvida em DMSO. Uma vez que a temperatura de fusão do DMSO é 18°C, a TMB deve atingir temperatura ambiente (20-25°C) e deve ser homogeneizada muito bem antes de usar.

**Policubeta sensibilizada, Diluente de Amostra, Conjugado 1, Stopper, Controle Positivo, Control Positivo p24 e Controle Negativo:** prontos para uso.

## ESTABILIDADE E INSTRUÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Os Reagentes Fornecidos são estáveis sob refrigeração (2-10°C) até a data de vencimento indicada na embalagem. Não congelar.

É importante que todo o material utilizado para a preparação esteja limpo.

**Tampão de Lavagem concentrado e Stopper:** podem-se conservar a 2-25°C.

**Tampão de Lavagem:** uma vez diluído, é estável 3 meses a temperatura ambiente (2-25°C).

**Conjugado 2 diluído:** uma vez preparado, é estável 24 horas a temperatura ambiente (2-25°C).

**Policubeta sensibilizada:** fornece-se fechada e com dessecante. Não abrir a embalagem até o momento de uso, e esperar atingir a temperatura ambiente, pois ao contrário se favorecerá a condensação de umidade na superfície das cubetas. As cubetas não utilizadas devem ser conservadas dentro do envelope com o dessecante, perfeitamente fechado e mantida entre 2-10°C.

**Revelador:** uma vez preparado, deve-se usar dentro das 3 horas conservado a temperatura ambiente (2-25°C) e ao abrigo da luz. Caso corar-se, descartá-lo.

## AMOSTRA

Soro ou plasma não diluído

**a) Coleta:** obter a amostra da maneira habitual.

**b) Aditivos:** não são necessários para soro. As amostras de plasma poderão ser coletadas com qualquer anticoagulante de uso corrente na prática transfusional.

**c) Substâncias interferentes conhecidas:** não utilizar soros ou plasmas contaminados, hiperlipêmicos ou hemolisados. Não observam-se interferências por bilirrubina até 30 mg/dl, ácido ascórbico até 50 mg/dl, amostras lipêmicas até 1453 mg/dl de triglicérides ou amostras hemolisadas até 15 mg/dl de hemoglobina. As amostras que contêm partículas, deverão-se clarificar por centrifugação.

**d) Estabilidade e instruções de armazenamento e transporte:** a amostra deve-se conservar sob refrigeração (2-10°C). Caso não se realizar o ensaio dentro das 72 horas, deve-se conservar a -20°C. Não é recomendável realizar vários ciclos de congelamento e descongelamento, desde que pode produzir resultados errôneos.

Os plasmas deverão-se descongelar rapidamente esquentando-os durante uns minutos a 40°C (para reduzir a precipitação da fibrina).

Caso as amostras devam-se transportar, embalar conforme as especificações legais referentes ao transporte de material infeccioso.

## PROCEDIMENTO DO ENSAIO

**1-** Levantar os reagentes e as amostras a temperatura ambiente 30 minutos antes de iniciar a prova.

**2-** Preparar o volume necessário de Tampão de Lavagem.

**3-** Tirar o número de cubetas requeridas para o ensaio e voltar a colocar imediatamente a policubeta com as cubetas sem utilizar na sua embalagem, bem fechada e com dessecante, a 2-10°C.

**4-** Nas cubetas a utilizar da policubeta, colocar o Diluente de Amostra, após a amostra (A), o Controle Negativo (CN) por triplicado, o Controle Positivo (CP) por duplicata e o Controle Positivo p24 (p24) segundo o seguinte esquema:

	A	CP	p24	CN
<b>Diluyente de Amostra</b>	100 ul	100 ul	100 ul	100 ul
<b>Controle Positivo</b>	-	100 ul	-	-
<b>Controle Positivo p24</b>	-	-	100 ul	-
<b>Controle Negativo</b>	-	-	-	100 ul
<b>Amostra</b>	100 ul	-	-	-

Para evitar a evaporação cobrir a policubeta com fita auto-adesiva.

**5-** Incubar durante 60 minutos a 37°C.

**6-** Após da incubação, eliminar completamente o líquido de cada cubeta. Lavar 5 vezes conforma à instrução de lavagem (vide Procedimento de Lavagem).

**7-** Acrescentar Conjugado 1 pronto para uso:

<b>Conjugado 1</b>	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
--------------------	--------	--------	--------	--------

Para evitar a evaporação cobrir a policubeta com fita auto-adesiva.

**8-** Incubar o Conjugado 1 durante 30 minutos a 37°C. Ao mesmo tempo, preparar o Conjugado 2 diluído.

**9-** Após da incubação eliminar o Conjugado 1 de cada cubeta por aspiração ou invertendo a policubeta e aplicando batidas suaves acima do papel absorvente. **NÃO LAVAR A POLICUBETA ENTRE A INCUBAÇÃO COM CONJUGADO 1 E CONJUGADO 2.**

**10-** Acrescentar o Conjugado 2 diluído:

<b>Conjugado 2 diluído</b>	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
----------------------------	--------	--------	--------	--------

Para evitar a evaporação cobrir a policubeta com fita auto-adesiva.

**11-** Incubar durante 30 minutos a 37°C.

**12-** Preparar o Revelador.

**13-** Após da incubação, eliminar o Conjugado 2 lavando 5 vezes conforme a instrução de lavagem (vide Procedimento de Lavagem).

**14-** Acrescentar o Revelador.

<b>Revelador</b>	200 ul	200 ul	200 ul	200 ul
------------------	--------	--------	--------	--------

**15-** Incubar 30 minutos a temperatura ambiente (18-25°C). Manter a policubeta ao abrigo da luz e depois adicionar:

<b>Stopper</b>	50 ul	50 ul	50 ul	50 ul
----------------	-------	-------	-------	-------

**16-** Ler a absorbância da solução das cubetas, em espectrofotômetro a 450 nm ou bicromática a 450/600-650 nm.

Nota: recomenda-se realizar sempre a leitura em forma bicromática. Caso a leitura for monocromática, realizar um branco de reagentes (omitindo o Conjugado 2 diluído) que deverá ser subtraído das leituras das amostras.

#### ESTABILIDADE DA MISTURA DE REAÇÃO FINAL

A cor da reação é estável entre 5 e 30 minutos, portanto os resultados devem-se observar dentro desse lapso.

#### PROCEDIMENTO DE LAVAGEM

As cubetas lavam-se com 350 ul de Tampão de Lavagem diluído. Assegurar-se que a altura alcançada ao encher as cubetas não cause desbordos.

O tempo mínimo que deve estar a solução de lavagem em contato com a cubeta é 30 - 60 segundos.

Garanta-se que após da última lavagem não fique líquido residual. Realize-se um dobre aspirado para eliminar o excesso de tampão. Caso de persistir após este procedimento, inverter a policubeta acima do papel absorvente e batê-la várias vezes.

**Nota:** o procedimento de lavagem é crítico para o resultado do ensaio. Se ficar tampão de lavagem nas cubetas ou se as mesmas não estão cheias, obterão-se resultados errôneos. Não deve-se deixar que as cubetas se sequem durante o procedimento. As lavadoras automáticas devem-se enxaguar com água destilada ou desionizada ao final do dia para evitar obstruções pelas sais presentes no tampão de lavagem.

#### RESUMO DO PROCEDIMENTO

ESTÁGIO	PROCEDIMENTO	PRECAUÇÕES/OBSERVAÇÕES
Tampão de Lavagem	Preparação da solução de lavagem	Dissolução dos cristais de sais
Diluyente de Amostra	Acrescentar 100 ul de Diluyente de Amostra em cada cubeta	
Amostras	Acrescentar 100 ul de A, CN, CP e p24	Observa-se mudança de cor quando acrescenta-se a amostra e os controles
Incubação	Cobrir as cubetas e incubar a 37°C durante 60 minutos	Em estufa
Lavagem	Lavar cada cubeta com 350 ul de tampão de lavagem (5 vezes)	Tempo de contato da solução de lavagem entre 30-60 segundos. Eliminar completamente o líquido residual das cubetas
Conjugado 1	Acrescentar 200 ul de Conjugado 1	

Incubação	Cobrir as cubetas e incubar a 37°C durante 30 minutos	Em estufa
Preparação	Conjugado 2	Durante a incubação com o Conjugado 1, preparar Conjugado 2
Conjugado 2	Eliminar o Conjugado 1 e colocar 200 ul de Conjugado 2	Não lavar entre o Conjugado 1 e o Conjugado 2 diluído
Incubação	Cobrir as cubetas e incubar a 37°C durante 30 minutos	
Preparação	Revelador	Durante a incubação com o Conjugado 2, preparar o Revelador
Lavagem	Idem à lavagem anterior	
Revelado	Acrescentar 200 ul de Revelador	
Incubação	Entre 18-25°C durante 30 minutos	Manter a policubeta ao abrigo da luz
Detenção	Acrescentar 50 ul de Stopper	
Leitura	Ler em espectrofotômetro	Ler entre os 5 e 30 minutos

### CRITÉRIOS DE VALIDAÇÃO DA CORRIDA

A prova é considerada válida se cumpridas simultaneamente as seguintes condições:

1- As leituras de pelo menos 2 dos 3 Controles Negativos devem ser menores ou iguais a 0,100 D.O. Se um Controle Negativo não cumprir com o critério, deve-se excluir.

Exemplo: cálculo da média dos Controles Negativos

Controle	Absorbância
1	0,019
2	0,016
3	0,016
Total	0,051

$$CN = \text{Total Abs} / 3 = 0,051 / 3 = 0,017$$

2- A leitura média dos Controles Positivos deve ser maior ou igual a 0,800 D.O.

Exemplo: leitura dos Controles Positivos

Controle	Absorbância
1	1,968
2	2,012

3- A leitura do Controle Positivo para p24 deve ser maior ou igual a 0,400 D.O.

Nota: se um ou mais critérios não se cumprirem, repetir a corrida.

### Cut-off

Calcular o valor do Cut-off adicionando 0,180 à média dos Controles Negativos.

Exemplo: média dos Controles Negativos = 0,017

$$\text{Valor Cut-off } 0,180 + 0,017 = 0,197$$

### INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

**Amostras não reativas:** consideram-se aquelas cujo valor de absorbância é menor ao valor Cut-off.

**Amostras inicialmente reativas:** consideram-se aquelas

cujo valor de absorbância é maior ou igual ao valor Cut-off. Estas amostras devem-se analisar novamente por duplicata, usando a amostra original.

Se ambas duplicatas foram negativas, a amostra considera-se não reativa para HIV.

Se pelo menos uma das duplicatas fora positiva, a amostra considera-se repetidamente reativa e contém antígeno p24 e/ou anticorpos contra HIV-1 ou HIV-2.

Os resultados repetidamente reativos devem-se corroborar por um método confirmatório, conforme à normativa legal vigente.

Uma amostra inicialmente reativa pode ser não reativa nas duas repetições. Isto pode-se dever a:

- Contaminação cruzada de uma cubeta não reativa com uma amostra com título elevado de anticorpos anti-HIV e/ou antígeno.
- Contaminação da amostra durante a dispensação, imprecisão no dispensado da amostra e/ou dos conjugados ou TMB nas cubetas, reutilização de ponteiras.
- Contaminação da cubeta com hipoclorito ou outros agentes oxidantes.
- Amostras não coaguladas completamente, com resíduos de fibrina ou fibronectina.

Em certos casos uma amostra não reativa pode apresentar uma reação falsamente reativa no ensaio inicial, assim como na suas repetições. Algumas das causas deste fenômeno podem ser:

- Contaminação de uma amostra não reativa com outra fortemente reativa.
- Contaminação da amostra durante a sua extração, processamento ou conservação.
- Presença de substâncias interferentes, como auto-anticorpos, anticorpos dirigidos contra alguns dos componentes do reagente, fármacos, etc.
- Contaminação do Revelador com o Conjugado 2.

- Utilização de amostras hemolisadas, soro coagulado em forma incompleta, plasma com fibrina, ou amostras com contaminação microbiana. Estas amostras podem dar resultados falso-reativos.
- Dispensado e/ou aspirado ineficiente da solução de lavagem (sistema obstruído).
- Aspirado insuficiente com um resíduo de solução de lavagem nas cubetas na última lavagem.
- Presença de borbulhas nas cubetas durante o processo de leitura.

## LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

Vide Substâncias interferentes conhecidas em AMOSTRA. Não utilizar pool de amostras.

Não utilizar outros fluidos corporais como a saliva, líquido cefalorraquidiano ou urina.

O método colorimétrico de verificação do dispensado da amostra, não permite verificar a exatidão dos volumes distribuídos. Só permite validar a presença da amostra.

Ocasionalmente, ao realizar leituras bicromáticas, podem obter-se absorbâncias negativas que não interferem a determinação, devido que algumas amostras resultam com leituras por baixo do Branco de Reagente.

## CARACTERÍSTICAS ESPECÍFICAS DE PERFORMANCE

### Sensibilidade Clínica

a) Sensibilidade clínica com painéis de soroconversão comerciais (BBI, Boston Biomedica Inc.)

Painéis BBI		Resultados HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación	Resultados Western Blot (segundo BBI)
Nome do painel	Dias da coleta de amostras	Tempo (dias) em que a amostra torna-se reativa	
Painel BBI 916 P	0 4 9 15 30 35	15	30
Painel BBI 924 X	0 2 8 10 26 33 35 40	26	35 (indet)
Painel BBI 925 Y	0 10 18 22 44 49	44	44 (indet)
Painel BBI 926 Z	0 2 7 9 27 32	7	27
Painel BBI 927 AB	0 28 33 35 40	28	35
Painel BBI 929 AD	0 4 14 18 21 25 28	18	25-28
Painel BBI 931 AF	0 2 7 9 15 28 33 35 42	28	33
Painel BBI 935 AJ	0 10 16 21 24 28 43	28	43
Painel BBI 944 AT	0 2 7 9 14 16	7	14 (indet)
Painel BBI 945 AU	0 3 7 13 15 20	13	20
Painel BBI 946 AV	0 4 7 11	7	ND
Painel BBI 948 AX	0 18 20 23	23	Não reativo

Painel BBI 954 BD	0 2 7 10 14 17 21	21	Não reativo
Painel BBI 955 BE	0 3 7 12 14	7	todas indet
Painel BBI 956 BF	0 40 42 47 50	47	Não reativo
Painel BBI 957 BG	0 7 9 14 16 23 28	23	todas indet
Painel BBI 958 BH	0 2 7 9 15 17	9	Não reativo
Painel BBI 959 BI	0 7 9 14 19 21 26	7	14

ND: não determinada; indet: indeterminadas

b) Sensibilidade clínica em Painéis de Performance da BBI: Em um estudo realizado com diferentes painéis comerciais internacionais, obtiveram-se os seguintes resultados: PRZ204 (HIV 1/2 Combo Performance Panel): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas. PRZ205 (HIV 1/2 Combo Performance Panel): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas. PRB204 (Anti-HIV 1 Mixed Titer Performance Panel): detectaram-se 23 das 23 amostras reativas. PRB108 (Anti-HIV 1 Low Titer Performance Panel): detectaram-se 14 das 14 amostras reativas.

c) Sensibilidade clínica em painéis de amostras reativas anti-HIV: Em um estudo realizado com 540 amostras de pacientes com infecção por HIV-1 e HIV-2 confirmadas por diferentes métodos, encontraram-se reativas a totalidade das amostras com o kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación.

Nº de amostras	Sensibilidade
361 [hospitais]	100%
203 [população de risco]	100%
153 amostras reativas e 50 não reativas	100%
26 amostras HIV-2	100%

### Sensibilidade antígeno p24

O painel BBI PRA801 (HIV Antigen Sensitivity Panel) consiste em diluições seriadas de cultivo de células infectadas por HIV-1. A concentração de antígeno p24 determina-se com os padrões: WHO: HIV-1 p24 Antigen 90/636, DuPont HIV p24 e Sanofi HIV Antigen, detectando-se até a diluição número 9 (concentração de p24 < 2 pg/ml, segundo BBI) com o kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación.

### Especificidade Clínica

Em um estudo realizado com 3250 amostras de soros e plasmas provenientes de dois centros diferentes, ensaiadas com o kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación, encontraram-se 99,94% (3229/3231) de amostras não reativas. Das 21 amostras inicialmente reativas, 19 foram reativas, confirmadas por outros métodos.

### Especificidade

Em um estudo realizado com 561 amostras provenientes de uma população idosa, ensaiadas com o kit HIV Ag/Ac ELISA

4ª Generación, encontrou-se uma especificidade de 99,82%. Estudou-se a possibilidade de encontrar reações cruzadas ensaiando amostras provenientes de 266 indivíduos com diferentes condições clínicas que podem ser causa de reações inespecíficas para o kit HIV Ag/Ac ELISA 4ª Generación. Estas condições incluem: mulheres grávidas e pacientes hemodializados, como doenças auto-imunes ou doenças infecciosas diferentes a HIV (Sífilis, HTLV, Hepatite B, Hepatite C, CMV, Adenovírus, outras). Só uma amostra pertencente ao grupo de doenças auto-imunes apresentou uma reatividade não específica. Para esta população a especificidade é de 99,62%.

### Precisão

Avaliou-se a reprodutibilidade intra e inter-ensaio, como assim também a inter-lote. Os ensaios foram realizados com amostras de diferentes níveis de reatividade.

	Média DO/CO	Intra-ensaio C.V.	Inter-ensaio C.V.	Inter-lote C.V.
<b>Amostra 1</b>	2,44	9,19 %	10,88 %	13,44 %
<b>Amostra 2</b>	1,5	10,24 %	13,2 %	12,67 %
<b>Controle (+)</b>	15,09	2,12 %	2,13 %	2,52 %
<b>Controle (-)</b>	0,074	14,68 %	13,58 %	23,42 %

n = 144

### LIMITAÇÕES DO PROCEDIMENTO

- A variabilidade dos vírus HIV-1 e HIV-2 não permitem excluir a possibilidade de uma infecção por HIV-1 ou HIV-2. Nenhum método conhecido pode oferecer completa segurança.
- Toda técnica ELISA pode apresentar resultados falsamente reativos.
- Um resultado não reativo não exclui a possibilidade de infecção por HIV.
- Um resultado reativo deve-se confirmar por outro test.

### APRESENTAÇÃO

Kit para 96 determinações (Cód. 1723451).

Kit para 192 determinações (Cód. 1723551).


### REFERÊNCIAS


- Center for Disease Control and prevention (2001). Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1) Antibody testing.
- Weber, B, Fall EH, Berger AM, and Doerr W. - Reduction of Diagnostic Window by New Fourth Generation Human Immunodeficiency Virus Screening Assays - J. Clin. Microbiol. 36/8:2235 (1998).
- Saville RD, Constantine NT, Cleghorn FR, Jack N, Bartholomew C, Edwards J, Gomez P and Blattner WA. - Fourth-Generation Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Simultaneous detection of Human Immunodeficiency Virus Antigen and Antibody. - J. Clin. Microbiol. 39/7:2518 (2001).
- Roques P, Robertson DL, Souquiere S, Damond F, Ayoub A, Farfara I, Depienne C, Nerrienet E, Dormont D, Brun-Vezinet F, Simon F and Mauclele P. - Phylogenetic analysis of 49 newly derived HIV-1 group O strains: High viral diversity but no group M-like subtype structure - Virology 302/2:259 (2002).
- Yilmaz G. - Diagnosis of HIV infection and laboratory Monitoring of its Therapy - J. Clin. Virol. 21/3:187 (2001).

### EXPLICACION DE LOS SIMBOLOS


<b>Policubeta</b>	<b>Sensib.</b>	<b>Diluyente</b>	<b>Muestra</b>
Policubeta sensibilizada		Diluyente de Amuestra	
<b>Conjugado 1</b>	<b>Conjugado 2 Conc.</b>	<b>Conjugado 2 Conc.</b>	<b>Conjugado 2 Conc.</b>
Conjugado 1		Conjugado 2 concentrado	
<b>Conjugado 2 Diluy.</b>	<b>TMB</b>	<b>TMB</b>	<b>TMB</b>
Diluyente de Conjugado 2		TMB	
<b>TMB Diluy.</b>	<b>Stopper</b>	<b>Stopper</b>	<b>Stopper</b>
Diluyente de TMB		Stopper	
<b>Buf. Lavado Conc.</b>	<b>Control +</b>	<b>Control +</b>	<b>Control +</b>
Tampón de Lavagem Concentrado		Controle Positivo	
<b>Control p24</b>	<b>Control -</b>	<b>Control -</b>	<b>Control -</b>
Controle Positivo p24		Controle Negativo	

Os seguintes símbolos são utilizados nos kits de reagentes para diagnóstico da Wiener lab.


 Este produto preenche os requisitos da Diretiva Europeia 98/79 CE para dispositivos médicos de diagnóstico "in vitro"


 Representante autorizado na Comunidade Europeia

 Uso médico-diagnóstico "in vitro"

 Conteúdo suficiente para <n> testes

 Data de validade


 Limite de temperatura (conservar a)

 Não congelar

 Risco biológico


 Volume após da reconstituição

 Conteúdo


 Número de lote

 Elaborado por:

 Nocivo

 Corrosivo / Caústico

 Irritante

 Consultar as instruções de uso

 Calibrador

 Controle

 Controle Positivo

 Controle Negativo

 Número de catálogo



**Wiener lab.**

2000 Rosario - Argentina