

Teste para determinação qualitativa da capacidade de neutralização dos anticorpos totais anti-SARS-CoV-2 em amostras biológicas de soro e plasma, através da inibição da formação do imunocomplexo antígeno S e proteína ACE2 (S-ACE2), por ensaio de competição. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTE

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo do frasco nº 3 (Lavagem Concentrada) em 1000 mL de água destilada ou deionizada.

CÁLCULO DA PORCENTAGEM DE INIBIÇÃO DA REAÇÃO

% de inibição da reação = $[1 - (\text{Amostra/Controle Negativo})] \times 100$

AMOSTRAS

Soro ou Plasma (EDTA ou Heparina)

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco > 1,0
Controle Negativo > 1,2
Controle Positivo < 1,0

INTERPRETAÇÃO (Índice)

RESULTADO	ÍNDICE
Negativo	< 30%
Indeterminado	Entre 30% e 35%
Positivo	> 35%

TÉCNICA

1



Pipetar 50µL de Conjugado 1 nas microcavidades previamente determinadas.

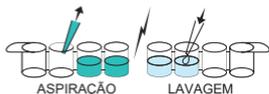
Obs: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).

2



Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos a 37°C ± 2°C.

3

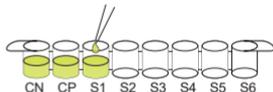


Lavar as microcavidades com a Solução de Lavagem previamente preparada usando: 500 µL em 5 ciclos de Lavagem com molho de 30 segundos entre as lavagens (exclusivo para equipamentos automáticos) ou 350 µL em 8 ciclos de Lavagem com molho de 30 segundos (manual).

Para secar, bater a placa em papel absorvente.

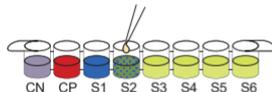
Nota: Avaliar a capacidade de aspiração e dispensação do equipamento.

4



Pipetar 50 µL de Diluente de Amostra em todas as microcavidades.

5



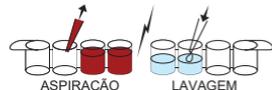
Pipetar 10 µL de Amostras ou Controles nas microcavidades previamente determinadas.

6



Em seguida, pipetar 100µL de Conjugado 2 em todas as microcavidades. Homogeneizar por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos em incubadora à 37°C ± 2°C.

7



Repetir o procedimento N° 3.

8



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 15 minutos em incubadora à 37°C ± 2°C.

9



Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Efetuar a leitura das absorbâncias em 450/630 nm em até no máximo 15 minutos.

ERROS EM ELISA E SUAS CAUSAS

ABSORBÂNCIAS BAIXAS DE CONTROLES

- Temperatura ambiente baixa
- Temperatura do kit abaixo da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura de incubação do teste abaixo da temperatura ideal de trabalho 37°C
- Solução de Parada não pipetada
- Secagem inadequada (após lavagem)
- Tempo de incubação menor
- Homogeneização deficiente
- Equipamento com problema
- Erro na programação do teste
- Lido em comprimento de onda incorreto
- Componente do Kit deteriorado

ABSORBÂNCIAS BAIXAS DE AMOSTRAS

- Temperatura ambiente baixa
- Temperatura do kit abaixo da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura da amostra abaixo da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura de incubação do teste abaixo da temperatura ideal de trabalho 37°C
- Solução de Parada não pipetada
- Secagem inadequada (após lavagem)
- Tempo de incubação menor
- Homogeneização deficiente
- Equipamento com problema
- Erro na Programação do teste
- Lido em comprimento de onda incorreto
- Amostra deteriorada ou inadequada
- Componente do Kit deteriorado

ABSORBÂNCIAS ALTAS DE CONTROLES

- Temperatura ambiente alta
- Temperatura do kit acima da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura de incubação do teste acima da temperatura ideal de trabalho 37°C
- Substrato: coloração azulada indica contaminação
- Solução de Parada não pipetada
- Lavagem inadequada
- Tempo de incubação maior
- Agitação na bancada de trabalho
- Fundo da cavidade sujo
- Equipamento com problema
- Erro na programação do teste
- Lido em comprimento de onda incorreto
- Componente do kit deteriorado

ABSORBÂNCIAS ALTAS DE AMOSTRAS

- Temperatura ambiente alta
- Temperatura do kit acima da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura da amostra acima da temperatura ideal de trabalho 15 – 30°C
- Temperatura de incubação do teste acima da temperatura ideal de trabalho 37°C
- Substrato: coloração azulada indica contaminação
- Solução de Parada não pipetada
- Lavagem inadequada
- Tempo de incubação maior
- Agitação na bancada de trabalho
- Fundo da cavidade sujo
- Equipamento com problemas
- Erro na Programação do teste
- Lido em comprimento de onda incorreto
- Amostra deteriorada ou inadequada
- Componente do Kit deteriorado

Revisão: Julho/2021

Número de registro do kit BIOLISA COVID-19 Anticorpo Neutralizante na ANVISA: 10269360337