

Teste de quarta geração para a detecção qualitativa da presença de antígeno p24, anticorpos anti-HIV-1, anti-HIV-2, e/ou subtipo O em amostras soro e plasma humano. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

## PREPARO DE REAGENTES

**Solução de Lavagem:** Diluir o conteúdo do frasco n°3 (Lavagem Concentrada) na proporção de 1:20 de água destilada ou deionizada; por exemplo: 50mL de solução de Lavagem Concentrada em 1000mL de água destilada ou deionizada.

## CUT OFF

Cut Off = Abs. média do Controle Negativo + 0,130

## AMOSTRAS

Soro ou Plasma

## VALIDAÇÃO (Absorbância)

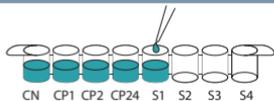
Branco < 0,250  
 Controle Negativo < 0,250  
 Controle Positivo > 0,500  
 (HIV-1 / HIV-2 / HIV-1 P24)

## INTERPRETAÇÃO (Índice)

Negativo < 0,9  
 Positivo > 1,1  
 Indeterminado 0,9 - 1,1

## TÉCNICA

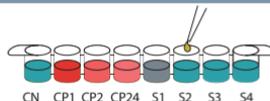
1



Pipetar 50 µL de Conjugado 1 em todas as microcavidades, **exceto na cavidade para o Branco.**

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

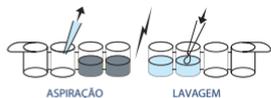
2



Pipetar 50 µL de Controles e Amostras nas microcavidades previamente determinadas.

Homogeneizar suavemente por  $\pm 30$  segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 60 minutos em incubadora à 37°C.

3



Lavar as microcavidades cinco vezes com 300 µL de Solução de Lavagem, previamente preparada.

Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4



Pipetar 100 µL de Conjugado 2 em todas as microcavidades, **inclusive na cavidade do Branco.**

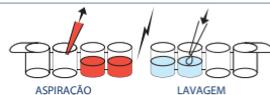
5



Homogeneizar suavemente por  $\pm 30$  segundos.

Cobrir com selador de placa. Incubar por 60 minutos em incubadora à 37°C.

6



Repetir o procedimento n° 3.

7



Pipetar 100 µL de Substrato. Homogeneizar suavemente por  $\pm 30$  segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos em incubadora à 37°C.

8



Pipetar 50 µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por  $\pm 30$  segundos.

Efetuar a leitura das absorbâncias em 450/620 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
- Substrato: utilizado após 1 hora ou preparado incorretamente
- Pipetado volume menor de Controles
- Pipetado volume maior de reagente
- 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
- Substrato: utilizado após 1 hora ou preparado incorretamente
- Pipetado volume menor de amostra
- Pipetado volume maior de reagente
- 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
- Pipetado volume maior de Controles
- Pipetado volume menor de reagente
- Substrato: utilizado após 1 hora, preparado incorretamente ou com coloração azulada que 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: utilizado após 1 hora, preparado incorretamente ou com coloração azulada que indica contaminação
- Pipetado volume maior de amostra
- Pipetado volume menor de reagente
- 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: Outubro/2023