

Teste para determinação qualitativa de anticorpos totais contra o Vírus da Hepatite C (HCV), em amostras biológicas (soro ou plasma) através de teste de enzimaímunoenensaio de quarta geração. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES

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

CUT OFF

Cut Off = (Abs. Média do Controle Positivo x 0,02) + 0,080

AMOSTRAS

Soro ou plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco <0,120

Controle Negativo <0,120

Controle Positivo >1,200

INTERPRETAÇÃO (Índice)

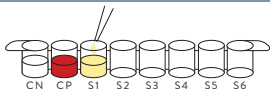
Negativo < 0,9

Indeterminado 0,9 - 1,1

Positivo > 1,1

TÉCNICA

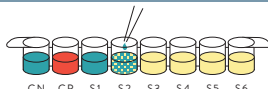
1



Pipetar 50 µL das Amostras, Controle Positivo e Controle Negativo nas cavidades previamente determinadas.

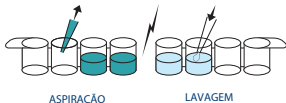
Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).

2



Pipetar 50 µL do Conjugado 1, inclusive na cavidade do Branco. Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placas. Incubar por 60 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3



ASPIRAÇÃO

LAVAGEM

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 do Conjugado 2 em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

5

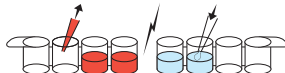


ASPIRAÇÃO

LAVAGEM

Homogeneizar gentilmente durante ± 10 segundos. Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

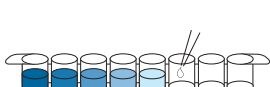
6



ASPIRAÇÃO

Repetir o procedimento N°3.

7



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco. Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com o selador de placa. Incubar por 10 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

8



Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco. Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Ler utilizando filtro duplo: 450 nm / 630 nm até 15 minutos (no máximo).

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: Dezembro/2021