

Teste para a detecção qualitativa da presença do antígeno de superfície do vírus da Hepatite B em amostras biológicas (soro e plasma colhido em EDTA ou Heparina), através de teste de enzima-imunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo do frasco nº 3 (Lavagem Concentrada) na proporção 1:20 de água destilada ou deionizada; por exemplo: 50 mL de Lavagem Concentrada em 1000 mL de água destilada ou deionizada.

CÁLCULOS

Cut Off = Abs. Controle Negativo + 0,050
Índice = Abs. Amostra / Cut Off

AMOSTRAS

Soro ou plasma (EDTA ou Heparina).

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,100
Controle Negativo < 0,100
Controle Positivo > 1,000

INTERPRETAÇÃO (Índice)

Negativo ≤ 0,9
Positivo ≥ 1,1
Indeterminado 0,9 - 1,1

TÉCNICA

1



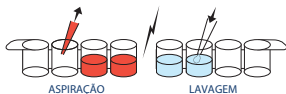
Pipetar 50 µL de Controle Negativo, Controle Positivo e Amostras nas microcavidades previamente determinadas.
Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (Opcional).

2



Pipetar 50 µL de Conjugado em todas as microcavidades, **exceto** na cavidade do Branco. Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar em incubadora à 37°C ± 2°C por 80 minutos.

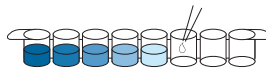
3



Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora) ou por decantação (Manual). Lavar as microcavidades com 350 µL de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de oito (8) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 5 segundos.

Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as microcavidades.

5



Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos, à 37°C ± 2°C e ao abrigo de luz.

6



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
- 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
- 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 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 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: Novembro/2024