

Teste para detecção qualitativa da presença do antígeno de superfície do vírus da Hepatite B em amostras biológicas (sangue total impregnado em papel de filtro), através de teste enzimaimunoensaio. 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 Negativo DBS + 0,100

AMOSTRA

Sangue Total em Papel de Filtro

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco <0,100

Controle Negativo DBS <0,100

Controle Positivo DBS >0,500

INTERPRETAÇÃO (Índice)

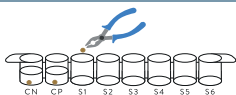
Negativo < 0,9

Indeterminado 0,9 - 1,1

Positivo > 1,1

TÉCNICA

1



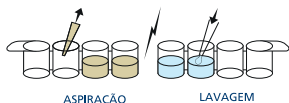
Adicionar um disco de 3mm do Controle Negativo DBS, Controle Positivo DBS, e Amostras de Sangue Total em Papel de Filtro nas cavidades previamente determinadas. Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).

2



Pipetar 100 uL de Tampão de Eluição nas cavidades previamente determinadas. Homogeneizar gentilmente durante ± 30 segundos. Cobrir as cavidades com selador de placas. Incubar por 30 minutos ± 2 minutos em uma incubadora a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

3



Descartar o conteúdo das cavidades por aspiração (Lavadora para técnica em papel filtro). Usar 300 uL aproximadamente de Solução de Lavagem, previamente preparada, e efetuar um total de cinco (5) ciclos de lavagem com agitação (shake) de 5 segundos. Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4



Pipetar 100 uL do Conjugado em todas as cavidades, inclusive na cavidade do Branco.

5



Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos em incubadora à $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

6



Repetir o procedimento N°3.

7



Pipetar 100 uL 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 uL 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 em 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 maior de reagente
- Adição de um disco de papel filtro menor que 3mm
- 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
- Adição de um disco de papel filtro menor que 3mm
- 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 menor de reagente
- Adição de um disco de papel filtro menor que 3mm
- 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
- Adição de um disco de papel filtro menor que 3mm
- 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/2022