

Teste de terceira geração para a detecção qualitativa da presença de Anticorpos Totais (IgG, IgM e IgA) ao HIV-1, HIV-2, e/ou subtipo O em amostras biológicas (soro e plasma humano) através de teste enzimaimunoensaio. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES, AMOSTRAS E CONTROLES

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo do frasco nº3 (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 + 0,180

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco	<0,100
Controle Negativo	<0,100
Controle Positivo	>0,500

(HIV-1 - HIV-2)

INTERPRETAÇÃO (Índice)

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

TÉCNICA

1

Pipetar 100 µL de Controles e Amostras 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 à 37 °C.

3

Lavar as microcavidades cinco vezes com 300 µL de Solução de Lavagem, previamente preparada, com agitação (shake) de 5 segundos. Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4

Pipetar 100µL de Conjugado em todas as microcavidades.

5

Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 20 minutos a 37 °C.

6

Repetir o procedimento N° 3.

7

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

8

Pipetar 50µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por (símbolo de mais ou menos) 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 a 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 a 37°C
- Pipetado volume maior de Controles
- Substrato: coloração azulada indica contaminação
- 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 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 a 37°C
- Pipetado volume maior de amostra
- Pipetado volume menor de reagente
- 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/2023