

Teste de terceira geração para a detecção qualitativa da presença do antígeno de superfície do vírus da Hepatite B no soro ou plasma humano. O teste utiliza anticorpos monoclonais para detectar vários subtipos do HBsAg. 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.

Substrato - Solução de Trabalho: Preparar 50 µL de Substrato A + 50 µL de Substrato B, para cada teste. Manter protegido da luz. Usar no máximo até uma (1) hora após o preparo.

CÁLCULOS

Cut Off = Abs. Controle Negativo + 0,025

Índice = Abs. Amostra / Cut Off

AMOSTRAS

Soro ou plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,050

Controle Negativo < 0,100

Controle Positivo > 1,000

INTERPRETAÇÃO (Índice)

Negativo < 0,9

Positivo > 1,1

Indeterminado 0,9 - 1,1

TÉCNICA

1



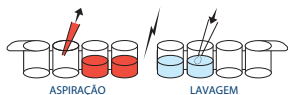
Pipetar 50 µL de Controles e Amostras nas microcavidades previamente determinadas.
Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (Opcional).

2



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

3



Lavar as microcavidades com a Solução de Lavagem previamente preparada usando:
350 µL em 8 ciclos de Lavagem ou
500 µL em 6 ciclos de Lavagem (exclusivo para equipamentos automáticos).
Para secar, bater a placa em papel absorvente.

Nota: Avaliar a capacidade de aspiração e dispensação do equipamento.

4



Pipetar 100 µL de Substrato - Solução de Trabalho em todas as microcavidades.

5



Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos ± 1 minuto, à temperatura ambiente (15 - 30°C) 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 30 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: Setembro/2020