

Teste de terceira geração para a detecção qualitativa da presença de anticorpos totais (IgG, IgM e IgA) anti-HIV 1, incluindo subtipo O e anti-HIV 2 em amostras de soro ou plasma humano. 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.

CUT OFF

Cut Off = Abs. média do Controle Negativo + 0,160

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,050
 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

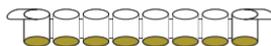
TÉCNICA

1



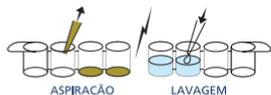
Pipetar 100 µL de Controles e Amostras nas microcavidades previamente determinadas.
 Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (Opcional).

2



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

3



Lavar as microcavidades cinco vezes com Solução de Lavagem previamente preparada. Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4



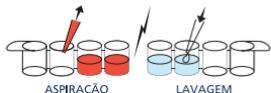
Pipetar 100 µL de Conjugado em todas as microcavidades.

5



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

6



Repetir o procedimento N° 3.

7



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

8



Pipetar 50 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
- Pipetado volume maior de Controles
- Pipetado volume menor de reagente
- 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
- 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: Março/2019