

Teste para a detecção quantitativa de anticorpos anti-antígeno de superfície de vírus da Hepatite B em soro ou plasma humano por enzimaímmunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo do frasco nº 4 (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.

PADRÕES REFERÊNCIA

As concentrações dos Padrões Referência (A - E) variam a cada lote.

Vide rótulo dos frascos.

VALORES DE REFERÊNCIA

Negativo < 10 mUI/mL

Positivo > 10 mUI/mL

VALIDAÇÃO

Absorbância Padrão Referência E

(500 mUI/mL) $\geq 1,2$

AMOSTRAS

Soro ou plasma

TÉCNICA

1



Pipetar 50 µL de Padrões Referência e Amostras nas microcavidades previamente determinadas.

Obs.: Separar a primeira cavidade para o Branco (Opcional).

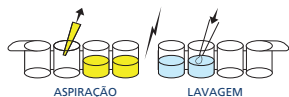
2



Pipetar 50 µL de Conjugado em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 30 segundos. Cobrir com selador de placa.

Incubar por 60 minutos em incubadora à 37°C.

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, ao abrigo da luz à temperatura ambiente (15 - 30°C).

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 PADRÕES REFERÊNCIA

- 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 Padrões Referência
- 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 PADRÕES REFERÊNCIA

- 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 Padrões Referência
- 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: Abril/2019