

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgM contra *Babesia canis* em soro ou plasma de cães, através de ensaio imunoenzimático, em microplaca. Somente para diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES, AMOSTRAS E CONTROLES

Diluição das Amostras: Preparar uma diluição das Amostras adicionando 15 μ L em 300 μ L de Diluente. Homogeneizar.

Diluição do Conjugado: Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente N°2) na proporção 1:101 em Diluente (Reagente N°4).

Exemplo: Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misturar 10 μ L do Conjugado Concentrado em 1 mL de Diluente.

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo da Lavagem Concentrada (Reagente N° 3) em 1000 mL de água destilada ou deionizada.

ATENÇÃO: Os Controles Positivo e Negativo estão prontos para uso.

CUT OFF

Absorbância Média do Controle Negativo + 0,450

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,100

Controle Negativo 0,100 a 0,300

Controle Positivo > 1,000

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

INTERPRETAÇÃO (Índice)

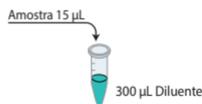
Negativo < 0,9

Indeterminado $\geq 0,9$ e $\leq 1,1$

Positivo > 1,1

TÉCNICA

1



Preparar uma diluição das Amostras adicionando 15 μ L em 300 μ L de Diluente. Homogeneizar.

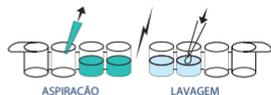
Atenção: Os Controles Positivo e Negativo estão prontos para uso.

2



Pipetar 100 μ L de Controle Positivo e Controle Negativo. **Os controles estão prontos para uso.** Pipetar 100 μ L das amostras diluídas nas microcavidades previamente determinadas. Homogeneizar suavemente por 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos a 37 $^{\circ}$ C. Obs: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).

3



Lavar as microcavidades cinco vezes com 300 μ L de Solução de Lavagem previamente preparada. Agitar por 3 segundos em cada lavagem. Para secar, bater a placa em papel absorvente.

4



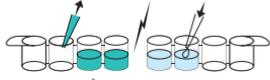
Pipetar 100 μ L de Conjugado previamente diluído em todas as microcavidades.

5



Homogeneizar suavemente por 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos a 37 $^{\circ}$ C.

6



Repetir o procedimento N° 3.

7



Pipetar 100 μ L de Substrato em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por \pm 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos em incubadora à 37 $^{\circ}$ C, protegido da luz.

8



Pipetar 100 μ L de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por \pm 10 segundos. Efetuar a leitura das absorbâncias em filtro duplo 450nm/630nm em até 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: Abril/2022