

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG para *Leishmania* em soro ou plasma de cães por ensaio imunoenzimático em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

### PREPARO DE REAGENTE E AMOSTRAS

**Diluição de Amostras:** Diluir as Amostras adicionando 15 µL em 300 µL de Diluente (Reagente N° 4). 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 µL 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 recém destilada ou deionizada.

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

### CUT OFF

Absorbância Média do Controle Negativo + 0,500

### VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,050

Controle Negativo < 0,450

Controle Positivo > 1,000

### AMOSTRAS

Soro ou Plasma

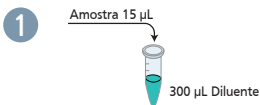
### INTERPRETAÇÃO (Índice)

Negativo < 0,9

Indeterminado ≥ 0,9 e ≤ 1,1

Positivo > 1,1

## TÉCNICA

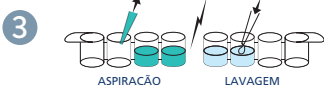


Diluir as Amostras adicionando 15 µL em 300 µL de Diluente. Homogeneizar.

**Atenção:** Os Controles Positivo e Negativo são prontos para uso.



Pipetar 100 µL de Controle Positivo, Controle Negativo, e as Amostras diluídas nas microcavidades previamente determinadas. Homogeneizar suavemente por ± 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos em temperatura ambiente. Obs: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).



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



Pipetar 100 µL de Conjugado previamente diluído em todas as microcavidades, inclusive na cavidade do Branco.



Homogeneizar suavemente por ± 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos em temperatura ambiente.



Repetir o procedimento N° 3.



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 3 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos a temperatura ambiente, protegido da luz.



Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 3 segundos. Efetuar a leitura das absorbâncias em filtro duplo 450nm/630nm em até 10 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
- Pipetado volume menor de Controles
- 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
- 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
- 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 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
- 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: Junho/2020