

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG para o vírus da Anemia Infecciosa Equina em soro ou plasma de equinos por enzimmunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTE E AMOSTRAS

Diluição de Amostras: Diluir as Amostras adicionando 10 μ L em 490 μ L de Diluente (Reagente N° 4). Homogeneizar.

Diluição do Conjugado: Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente N° 2) na proporção 1:50 em Diluente (Reagente N° 4).
Exemplo: Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misture 20 μ L do Conjugado Concentrado em 980 μ L 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 + 0,300

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,150

Controle Negativo > 0,100 e < 0,350

Controle Positivo > 1,000

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

INTERPRETAÇÃO (Índice)

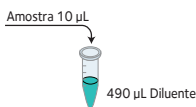
Negativo < 0,9

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

Positivo > 1,1

TÉCNICA

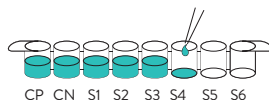
1



Diluir as Amostras adicionando 10 μ L em 490 μ L de Diluente. Homogeneizar.

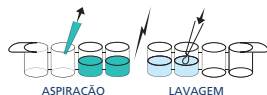
Atenção: Os Controles Positivo e Negativo são prontos para uso.

2



Pipetar 100 μ L de Controles Positivo e 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).

3



Lavar as microcavidades três 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



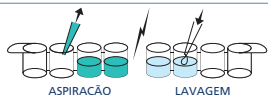
Pipetar 100 μ L de Conjugado previamente diluído em todas as microcavidades.

5



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

6



Repetir o procedimento N° 3.

7



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

8



Pipetar 100 μ L 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
- 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
- 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
- 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