

Teste para determinação qualitativa de anticorpos IgG para *Burkholderia mallei* em soro ou plasma de equinos por enzimaímmunoensaio em microplaca. Somente para uso diagnóstico *in vitro*.

PREPARO DE REAGENTES E AMOSTRAS

Diluição de Amostras: Preparar uma diluição 1:100 das Amostras, adicionando 5 µL mais 500 µL de Diluente. Homogeneizar.

Diluição do Conjugado Concentrado: Diluir o Conjugado Concentrado na proporção 1:50 em Diluente.

Exemplo: Para realizar um ensaio utilizando 8 cavidades (1 tira), misture 20 µL do Conjugado Concentrado em 1,0 mL de Diluente.

Solução de Lavagem: Diluir o conteúdo do frasco nº 3 (Lavagem Concentrada) 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 + 0,500

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,150

Controle Negativo 0,300 a 0,700

Controle Positivo > 1,000

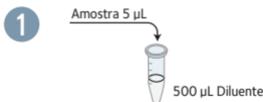
INTERPRETAÇÃO (Índice)

Negativo < 0,9

Indeterminado ≥ 0,9 e ≤ 1,1

Positivo > 1,1

TÉCNICA



Preparar uma diluição 1:100 das Amostras, adicionando 5 µL mais 500 µL de Diluente. Homogeneizar.



Pipetar 100 µL de Amostras diluídas e Controles nas cavidades previamente determinadas. Homogeneizar suavemente. Cobrir com selador de placa. Incubar por 1 hora em incubadora à 37°C. Obs: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).



Lavar as microcavidades cinco 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.



Homogeneizar suavemente e cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos em incubadora à 37°C.



Repetir o procedimento N° 3.



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente e cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos em incubadora à 37°C.



Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente. Efetuar a leitura das absorbâncias em filtro duplo 450nm/630nm em até 5 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: Agosto/2019