

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

PREPARO DE REAGENTE E AMOSTRAS

Diluição de Amostras: Diluir as Amostras adicionando 5 µL em 500 µL de Diluente (Reagente Nº 4). Homogeneizar.

Diluição do Conjugado: Diluir o Conjugado Concentrado (Reagente Nº 2) na proporção 1:101 em Diluente (Reagente Nº 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 Nº 3) em 1000 mL de água recém destilada ou deionizada.

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

CUT OFF

Cut Off - Absorbância Média do Controle Negativo + 0,500

AMOSTRAS

Soro ou Plasma

VALIDAÇÃO (Absorbância)

Branco < 0,100

Controle Negativo 0,050 a 0,250

Controle Positivo > 0,800

INTERPRETAÇÃO (Índice)

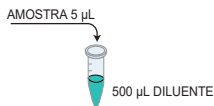
Negativo < 0,9

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

Positivo > 1,1

TÉCNICA

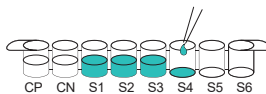
1



Diluir as Amostras adicionando 5 µL em 500 µL de Diluente. Homogeneizar.

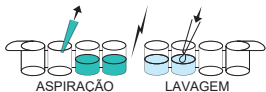
Atenção: Os Controles Positivo e Negativo são prontos para uso.

2



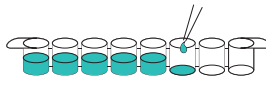
Pipetar 100 µL de Controle Positivo, Controle Negativo e Amostras diluídas nas microcavidades previamente determinadas. Homogeneizar suavemente por ± 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$. Obs: Separar a primeira cavidade para o Branco (opcional).

3



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.

4



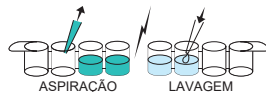
Pipetar 100 µL de Conjugado previamente diluído em todas as microcavidades, inclusive na cavidade do Branco.

5



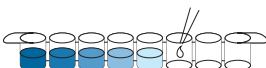
Homogeneizar suavemente por ± 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 30 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$.

6



Repetir o procedimento Nº 3.

7



Pipetar 100 µL de Substrato em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 10 segundos. Cobrir com selador de placa. Incubar por 10 minutos a $37^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ protegido na luz.

8



Pipetar 100 µL de Solução de Parada em todas as microcavidades. Homogeneizar suavemente por ± 10 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
- Temperatura de incubação do teste abaixo da temperatura ideal de trabalho a 37 °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
- 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 a 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 ALTA

- 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
- 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 ALTA 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
- 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