

CLORANFENICOL

AMOSTRA DE URINA

EXTRAÇÃO

Método Direto:

Faça uma diluição da urina 5x em tampão de diluição. Para utilizar este método o pH após a diluição deve estar 7 ± 0.5



Método com extração:

Adicione algumas gotas de ácido acético 1M à 1mL de urina até que o pH esteja 4,8

Misture e adicione 25uL Helix pomatia juice (Merck art. no. 4114)

Incube durante a noite ou alternativamente por 2 horas a 55°C

Esfrie a temperatura ambiente e ajuste o pH para 7 ± 0.5

Adicione 2mL de etil acetato e misture por 1 minuto

Aguarde por 5 à 10 minutos para permitir a separação das fases

Transfira 1 ml da camada superior para um tubo de vidro

Evapore no concentrador até secar sob um fluxo suave de nitrogênio, ou ar comprimido à 50°C

Dissolva o resíduo em 200uL do tampão de diluição de amostra (0,5mL de urina para 200uL de tampão)

50uL é utilizado na placa ELISA



CLORANFENICOL

AMOSTRA DE URINA

PREPARO DE REAGENTES



Deixar os Reagentes atingir a temperatura ambiente

Faça o mapa do Ensaio

Separe o número de cavidades a serem utilizadas



Tampão de diluição (dilution buffer, 4x concentrado) o tampão de diluição está 4x concentrado. Antes da diluição (20 mL de tampão + 60 mL de água destilada) o tampão concentrado deve estar em temperatura ambiente e ser agitado completamente. O tampão concentrado pode apresentar precipitação do conteúdo. Agite bem antes da diluição com água destilada. O tampão diluído 4 vezes pode ser armazenado em refrigerador (+2°C a +8°C) até a data de expiração indicada no rótulo do kit



Prepare a Solução de lavagem, concentrado 20 vezes. Para cada tira são utilizados 40 mL de tampão de lavagem diluído (2 mL de tampão de lavagem + 38 mL de água destilada) e deixe a lavadora pronta para o uso.



Reconstitua o frasco do conjugado liofilizado (CAP – HRPO) com 4 mL do padrão zero (reconstitution/zero standard buffer), agite completamente e mantenha protegido da luz até o momento do uso

Reconstitua o frasco de anticorpos liofilizados com 4 mL do padrão zero (reconstitution/zero standard buffer), agite completamente e mantenha protegido da luz até o momento do uso

CLORANFENICOL

AMOSTRA DE URINA

ENSAIO



Pipete 100 μL do padrão zero em duplicata para o branco. Pipete 50 μL do padrão zero em duplicata, 50 μL de cada uma das soluções padrão em duplicata 50 μL de cada solução de amostra em duplicata nos poços restantes da microplaca, 25 μL de conjugado em todos os poços, exceto o branco e 25 μL da solução de anticorpos em todos os poços, exceto o branco



Sele a microplaca e agite por 1 minuto

Incube a placa por 1 hora, em temperatura 4°C no escuro



Remova a solução da microplaca e lave 3 vezes com o tampão de lavagem (rinsing buffer).

Pipete 100 μL de solução de substrato em cada poço.



Incube a placa por 30 minutos em temperatura ambiente (20°C – 25°C)

Adicione 100 μL de solução stop em cada poço



Leia os valores de absorbância imediatamente em 450 nm

Calcule a concentração de Cloranfenicol em cada amostra. O valor deve ser multiplicado pelo fator adequado, conforme método de extração

CLORANFENICOL

AMOSTRA DE URINA

OBSERVAÇÕES



Não inicie o ensaio antes de confirmar os volumes e procedimento na protocolo de ensaio enviado junto com o kit. Eventualmente o ensaio é atualizado e mudanças são comuns.

Tenha certeza que a pipeta esteja calibrada



Sugerimos a utilização de uma repipetadora e ou pipeta multicanal para adicionar os reagentes ao "mesmo tempo" e para lavagem mais adequada.



Não encoste a pipeta na cavidade durante o ensaio

Cuidado com o arrasto e contaminação durante pipetagem, lavagem, e homogeneização.



Tenha em mente que o ensaio se limita a faixa de detecção da curva e ao Limite Mínimo de Detecção (LOD)

Verifique o certificado de controle de qualidade

CLORANFENICOL

AMOSTRA DE URINA

CONTATO

Estamos a disposição, segue o nosso contato:



11 2386-3963



info@hhub.com.br



hhub.com.br