

IMUNOTESTE[®] NEOSPORAS (RIFI) - BOVINO



Kit para Diagnóstico *in vitro* de Neosporose Bovina
por Imunofluorescência Indireta

USO VETERINÁRIO

COMPOSIÇÃO:

- Lâmina com antígeno fixado (formol 2%) para o diagnóstico *in vitro* de *Neospora caninum*;
- Soro controle positivo;
- Soro controle negativo;
- Conjugado (anti-Imunoglobulina G bovina) marcado com isotiocianato de fluoresceína;
- Solução salina tamponada com fosfato (PBS) 10X concentrada, 0,1 M, pH 7,2;
- Solução de glicerina tamponada com carbonato-bicarbonato;
- Solução corante azul de Evans.

APRESENTAÇÃO:

- a) 10 lâminas de vidro 25,4 X 76,2 mm, 1 mm de espessura, com 12 cavidades (delimitações circulares) de 5 mm Ø, contendo substrato antigênico de *Neospora caninum*, em envelope aluminizado;
- b) 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle positivo - PRONTO PARA USO;
- c) 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle negativo - PRONTO PARA USO;
- d) 1 frasco de vidro com 1,5 mL de conjugado;
- e) 1 frasco plástico com 100 mL de solução salina tamponada (PBS) 10X concentrada;
- f) 1 frasco de vidro com 3 mL de glicerina tamponada - PRONTO PARA USO;
- g) 1 frasco de vidro com 3 mL de azul de Evans - PRONTO PARA USO.

PREPARAÇÃO DE REAGENTES:

- Conjugado

Pipetar 140 µL do conjugado em microtubos tipo eppendorf e acrescentar 14 µL de solução de azul de Evans. Envolver o frasco em papel alumínio para proteger da luz. A solução está pronta para uso e é suficiente para as 12 cavidades de uma lâmina.

- Solução salina tamponada (PBS) 1X concentrada

Diluir o PBS 10X concentrado (ex. 10 mL de PBS 10X concentrado + 90 mL de água destilada ou purificada).

- Soros teste

Centrifugar os soros teste a 5.000 rpm durante 15 minutos, em temperatura ambiente. Diluir o soro centrifugado, partindo-se da diluição inicial de 1:200 (ex. 1 µL de soro + 199 µL do PBS 1X concentrado).

PROCEDIMENTO:

1. Retire as lâminas do refrigerador e deixe-as secar em temperatura ambiente por 10 a 15 minutos;
2. Adicione 10 µL do soro controle negativo na cavidade de número 6 da lâmina e 10 µL do soro controle positivo na cavidade número 7;
3. Adicione 10 µL dos soros teste diluídos nas cavidades restantes, registrando-se a posição de cada um conforme a marcação na lâmina;
4. Incube as lâminas por 30 minutos em estufa a 37 °C, em câmara úmida;
5. Utilizando cuba de vidro, lave as lâminas três vezes em PBS 1X concentrado, 5 minutos em cada lavada;
6. Com a lâmina seca, adicione 10 µL do conjugado diluído em azul de Evans em cada cavidade;
7. Incube as lâminas por 30 minutos em estufa a 37 °C, em câmara úmida;
8. Utilizando cuba de vidro, lave as lâminas três vezes em PBS 1X concentrado, 5 minutos em cada lavada;
9. Com a lâmina seca, monte-as com lamínula e glicerina tamponada, e faça a leitura em microscópio equipado para leitura de imunofluorescência, usando objetiva de 40X.

Observação: Após a montagem, proteja as lâminas da exposição à luz e faça a leitura em seguida.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS:

1. **Reação positiva:** os parasitas apresentarão fluorescência esverdeada distribuída por toda a sua superfície.
2. **Reação negativa:** não haverá fluorescência e o campo aparecerá escuro.

DESCARTE:

1. Todo material utilizado durante os testes e os resíduos gerados devem ser descartados em lixeira apropriada para material infectante (lixo biológico).
2. As lâminas devem ser descartadas em embalagem apropriada para material perfurocortantes.
3. A caixa, suporte interno da caixa e os frascos do produto, podem ser descartados como material reciclável.

MODO DE CONSERVAÇÃO:

Conservar em temperatura entre 2 – 8 °C.

PRECAUÇÕES E ADVERTÊNCIAS:

- Em caso de presença de cristais no PBS 10X, recomenda-se aquecê-lo até a completa dissolução dos cristais, para posterior diluição do tampão.
- Seguir as recomendações de conservação.
- Manter ao abrigo da luz direta e à umidade excessiva.
- Seguir as instruções de uso para que os resultados sejam válidos.
- Não usar reagentes após a data de validade.
- Realizar manutenção periódica do microscópio, pois a extrapolação da vida útil da lâmpada prejudica a análise dos resultados.

REFERÊNCIAS:

RODRIGUES, A. A. R.; GENNARI, S. M.; PAULA, V. S. O.; AGUIAR, D. M.; FUJII, T.U.; BUZETI, W. S.; MACHADO, R. Z.; DUBEY, J. P. Serological responses to *Neospora caninum* in experimentally and naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*). *Veterinary Parasitology*, v. 129, p. 21-24, 2005.

DITTRICH, R. L.; JUNIOR, P. C. M.; PLUGGE, N. F.; RICHARTZ, R.; FERREIRA, F. M.; PATRICIO, L. F. L.; PATRICIO, M. A. C.; JOINEAU, M. G.; PIEPPE, M. Determinação e correlação de anticorpos anti-*Neospora caninum* em bovinos e cães do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 17, n. 1, p. 191-196, 2008.

SOUZA RAMOS, I. A.; DA SILVA, R. J.; MACIEL, T. A.; AFONSO DA SILVA, J. A. B.; FIDELIS JUNIOR, O. L.; SOARES, P. C.; MACHADO, R. Z.; ANDRÉ, M. R.; MENDONÇA, C. L. Assessment of transplacental transmission of *Neospora caninum* in dairy cattle in the Agreste region of Pernambuco. *Brasilian Journal Veterinary Parasitology*, v. 25, n. 4, p. 516-522, 2016.

Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob nº 10.293/2019 em 12/12/2019



PROPRIETÁRIO E FABRICANTE:

Imunodot Diagnósticos Ltda

Rua Dr. Mário de Campos, 1150 • Jardim São Marcos I

CEP: 14887-200 • Jaboticabal/SP

Contato: (16) 3203 8847

E.mail: contato@imunodot.com.br

www.imunodot.com.br

CNPJ/MF nº 05.870.841/0001-73

RESPONSÁVEL TÉCNICO:

Celio Raimundo Machado – CRMV/SP nº 2812
