

Kit para Diagnóstico *in vitro* de Toxoplasmose Felina por Imunofluorescência Indireta

USO VETERINÁRIO

COMPOSIÇÃO:

- Lâmina com antígeno fixado (formol 2%) para o diagnóstico *in vitro* de *Toxoplasma gondii*;
- Soro controle positivo;
- Soro controle negativo;
- Conjugado (anti-Imunoglobulina G felina) 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 *Toxoplasma gondii*, 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 1:40 (ex. 1 µL de soro + 39 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:

ROSA, L. D.; MOURA, A. B.; TREVISANI, N.; MEDEIROS, A. P.; SARTOR, A. A.; SOUZA, A. P.; BELLATO, V. *Toxoplasma gondii* antibodies on domiciled cats from Lages municipality, Santa Catarina State, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 19, n. 4, p. 268-269, 2010.

COELHO, W. M. C.; AMARANTE, A. F. T.; APOLINÁRIO, J. C.; COELHO, N. M. C.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; BRESCIANI, K. D. S. Seroepidemiology of *Toxoplasma gondii*, *Neospora caninum* and *Leishmania* spp infections and risk factors for cats from Brazil. *Parasitology Research*, v. 109, n. 4, p. 1009-1013, 2011.

CRUZ, M. A.; ULLMANN, L. S.; MONTAÑO, P. Y.; HOFFMANN, J. L.; LANGONI, H.; BIONDO, A. W. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cats from Curitiba, Paraná, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, v. 20, n. 3, p. 256-258, 2011.

SOBRINHO, L. S. V.; ROSSI, C. N.; VIDES, J. P.; BRAGA, E. T.; GOMES, A. A. D.; LIMA, V. M. F.; PERRI, S. H. V.; GENEROSO, D.; LANGONI, H.; LEUTENEGGER, C.; BIONDO, A. W.; LAURENTI, M. D.; MARCONDES, M. Coinfection of *Leishmania chagasi* with *Toxoplasma gondii*, Feline Immunodeficiency Virus (FIV) and Feline Leukemia Virus (FeLV) in cats from an endemic area of zoonotic visceral leishmaniasis. *Veterinary Parasitology*, v. 187, p. 302-306, 2012.

Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA) sob nº 10.292/2019 em 11/12/2019



PROPRIETÁRIO E FABRICANTE:

Imunodot Diagnósticos Ltda

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

CEP: 14887-200 • Jaboaticabal/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
