

# IMUNOTESTE<sup>®</sup> NEOSPORA (RIFI)



## Kit para Diagnóstico *in vitro* de Neosporose Canina 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 de cão) marcado com isotiocianato de fluoresceína;
- Solução salina tamponada com fosfato (PBS) 0,1M pH 7,2;
- Solução de glicerina tamponada com carbonato-bicarbonato 0,05M;
- Solução corante azul de Evans 2%.

### APRESENTAÇÃO:

- 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;
- 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle positivo - PRONTO PARA USO;
- 1 frasco de vidro com 0,25 mL de soro controle negativo - PRONTO PARA USO;
- 1 frasco de vidro com 1,5 mL de conjugado;
- 1 frasco plástico com 100 mL de solução salina tamponada (PBS) 10X concentrada;
- 1 frasco de vidro com 3 mL de glicerina tamponada - PRONTO PARA USO;
- 1 frasco de vidro com 3 mL de azul de Evans - PRONTO PARA USO.

### PREPARAÇÃO DE REAGENTES:

#### - Conjugado

Pipetar 140 µL do conjugado em tubos 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 deionizada).

#### - 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 1:25 (ex. 1 µL de soro + 24 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 7;
  3. Adicione 10 µL dos soros teste diluídos nas cavidades restantes, registrando-se a posição de cada uma 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. Adicione 10 µL do conjugado diluído em azul de Evans;
  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. Monte as lâminas 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.

### MODO DE CONSERVAÇÃO:

Conservar em temperatura entre 2 – 8°C

### REFERÊNCIA:

Domingues, L. M.; Machado, R. Z.; Costa, M. T. Brazil J. Vet. Parasitol., 7, 2, 79-85, 1998.  
Higa, A. C.; Machado, R. Z.; Costa, M. T.; Domingues, L. M.; Malheiros, E. B. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 9, (2), 91-95, 2000.  
Melo, D. P. G.; Silva, A. C.; Ortega-Mora, L. M.; Bastos, S. A.; Boaventura, C. M. Rev. Bras. Parasitol. Vet., 15, (3), 105-109, 2006.

Licenciado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento sob nº 9.656/2012.



### RESPONSÁVEL TÉCNICO:

Celio Raimundo Machado – CRMV/SP nº 2812  
PROPRIETÁRIO E FABRICANTE:  
Imunodot Diagnósticos Ltda.  
Rua Dr. Mário de Campos, 1150 • Jardim São Marcos I  
CEP 14887-200 • Jaboticabal/SP  
CNPJ/MF nº 05.870.841/0001-73