IMUNOTESTE® – TOXOPLASMA (RIFI) - FELINO

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 com fosfato (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 40 X.

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° a 8° C.

Materiais necessários para a realização do teste e não fornecidos no kit:

1. Microscópio de Imunofluorescência para FITC (Isotiocianato de Fluoresceína)
2. Estufa de incubação para temperatura de 37° C;
3. Micropipetas para os seguintes volumes: 1 µL; 10 µL; 14 µL; 39 µL e 140 µL;
4. Cronômetro ou relógio;
5. Lamínulas 24 x 60 mm;
6. Frasco para estocar a solução de PBS diluída;
7. Água destilada ou purificada;
8. Ponteiras descartáveis de: 10 µL e 200 µL;
9. Proveta para volumes de 100 mL e 1000 mL;
10. Microtubos (tipo eppendorf) de 0,2 ou 0,6 mL para diluição do conjugado
11. Microtubos (tipo eppendorf) para diluição dos soros ou similares (placa de 96 poços reutilizável).

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 validos.
- Não usar reagentes após a data de validade.
- Realizar manutenção periódica do microscópio, pois a extrapolação da vida útil da lâmina 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 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