

IMUNOTESTE[®] TOXOPLASMA (RIFI)



USO VETERINÁRIO

Kit para Diagnóstico *in vitro* de *Toxoplasma gondii* por Imunofluorescência Indireta

COMPOSIÇÃO:

- 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.

INDICAÇÃO:

Diagnóstico *in vitro* da Toxoplasmose Canina pelo método de Imunofluorescência Indireta.

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 1:40 (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 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 laminula 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.

MODO DE CONSERVAÇÃO:

Conservar em temperatura entre 2 – 8°C

REFERÊNCIA:

Garcia, J. L., Gennari, S. M., Navarro, I. T., Machado, R. Z., Sinhorini, I. L., *Experimental Parasitology*, v. 108, p. 40-46, 2004.

Garcia, J. L., Gennari, S. M., Navarro, I. T., Machado, R. Z., Headley, S. A., Vidotto, O., Guimarães, Jr. J. S., Bugni, E. M., Igarashi, M., *Research in Veterinary Parasitology*, v. 84, p. 237-242, 2008.

Licenciado no Ministério da Agricultura sob nº 9.713 em 09/11/2012.



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