

PASSO 1

- Estabilize a temperatura da sala teste a (20 - 25 ° C) com termômetro.
- Retire o kit da geladeira e os componentes da embalagem.
- Deixe a placa de reação, o pente e a amostra em temperatura de (20 – 25 °C) por 90 minutos.
- E a placa de reação mais 10 minutos na placa de aquecimento (caso tenha).

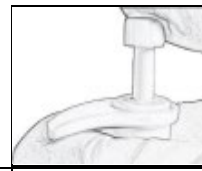
PASSO 2

- Inverta a placa de reação e a amostra por 10 vezes.



PASSO 3

- **Perfure o(s) lacre(s) do(s) poço(s) da linha A**, com a pinça. Um poço para cada amostra.
- Armazenagem da amostra: Leite 2-8°C até 2 dia pós coleta, soro/plasma 2-8°C até 3 dias pós coleta. Se o teste for realizado após 3 dias da coleta, congelar as amostras a -20°C ou mais.
- Abrir 2 poços consecutivos para o soro controle negativo e positivo
- Pipete para o poço linha A: **Soro ou plasma e controles = 5 uL ou leite = 100 uL** (no máximo com 2 dias).
- Movimente o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.

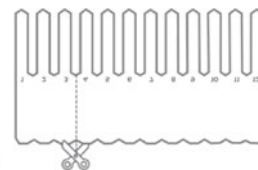


PASSO 4

OBS.- Retire o pente da embalagem, sem tocar na ponta

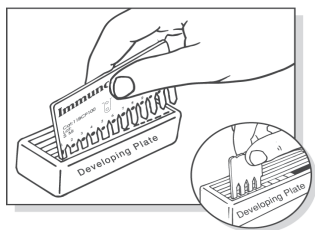


- ⇒ pontos adsorvidos anticorpo anti IgG bovino
- ⇒ pontos adsorvidos antígeno purificado de *Neospora caninum*



- Com tesoura, destaque do pente a quantidade exata de dentes conforme quantidade de amostras a serem testadas. (1 amostra/1 dente). (ver figura)
- Guarde cuidadosamente o restante do pente na embalagem com o sachê de sílica-gel.

Introduza o(s) dente(s) no (s) poço(s) da linha A.



Linha	Tempo de incubação (minutos)
A	10'

- Minutos 0, 2, 4, 6, 8, 10 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

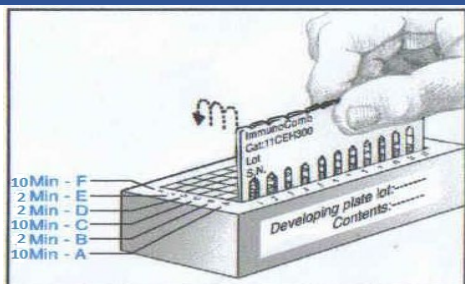
PASSO 5

- Perfure o(s) poço(s) da linha B.
- Retire o pente do poço A.
- Encoste a ponta do dente em papel absorvente, para retirar o excesso de fluidos dos dentes.
- Introduza o(s) dente(s) no poço B.

Linha	Tempo de incubação (minutos)
B	2'

- Minutos 0, 1, 2 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

PASSO 6

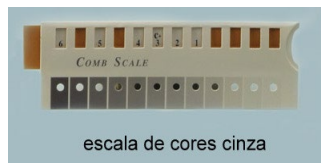


- Repita os passos anteriores para os poços das linhas C, D, E, F e E. Observe o tempo em cada poço e o movimento do dente (tabela abaixo)

	Linha	Tempo de incubação (minutos)	Movimentar o pente nos tempos (minutos)
Amostra	A	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
Lavagem	B	2'	0, 1, 2
Conjugado	C	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
Lavagem	D	2'	0, 1, 2
Lavagem	E	2'	0, 1, 2
Cromógeno	F	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
lavagem	Volta ao E	2'	0, 1, 2
Tempo Total		38'	

PASSO 7

- Após a última incubação no poço E, retire o pente, encoste a ponta em papel absorvente, deixe o pente secando com a frente para cima.
- Leia os resultados quando o pente estiver completamente seco (use a escala de cores – CombScale- disponível no kit).



PASSO 8 – MODELO DE LAUDO

Amostra de leite:

ESCORE	RESULTADO	RECOMENDAÇÕES
S0 (zero)	Negativo	--
S1	Suspeito	Repita o teste em 30-60 dias; em caso de aborto repita em 30 dias
≥S2	Positivo	--

Amostra de soro:

ESCORE	RESULTADO	RECOMENDAÇÕES
S0 (zero)	Negativo	--
S1	Negativo	--
S2	Suspeito	Repita o teste em 30-60 dias; em caso de aborto repita em 30 dias
≥S3	Positivo	--

- Além de outras doenças infecciosas (como Brucelose, Leptospirose, IBR, BVD, por exemplo), a Neosporose também é uma importante causa de aborto recorrente na fêmea bovina.
- Os cães são hospedeiros definitivos e podem manter a infecção em um rebanho por muitas gerações. As fezes de cães portadores de *Neospora* são fontes de oocistos para infecção pós-natal de bovinos. Ingestão de alimentos contaminados ou contato direto com tecidos fetais abortados de animais positivos também contribuem para manutenção da infecção no rebanho.