

### 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).

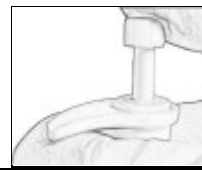
### PASSO 2

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



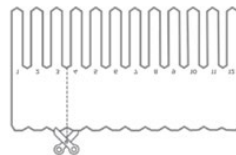
### PASSO 3

- **Perfure o(s) lacre(s) do(s) poço(s) da linha A**, com a pinça. Um poço para cada amostra.
- Armazenagem da amostra: Sangue 2-8°C até 1 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.
- Pipete para o poço linha A: **Soro ou plasma = 5 uL** ou **sangue total = 10 uL**.
- Movimente o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.



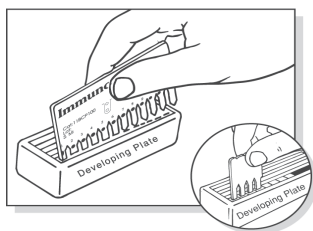
### PASSO 4

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



- 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     | 5'                           |

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

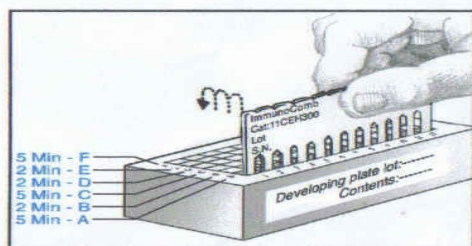
### PASSO 5

- 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          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| Lavagem            | B          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Conjugado          | C          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| Lavagem            | D          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Lavagem            | E          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Cromógeno          | F          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| lavagem            | Volta ao E | 2'                           | 0,1,2                                   |
| <b>Tempo Total</b> |            | <b>23'</b>                   |   |

### 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).

- Ou utilize a leitora CombCam (para informações acesse <https://vpdiagnostico.shop/loja/produto/combcam/>)



- No ponto superior do dente > antígeno inativado para controle positivo
- No ponto mediano do dente > antígeno do vírus da parvovirose inativado
- No ponto inferior do dente > antígeno do vírus da cinomose inativado.

## PASSO 8 – RESULTADO

| Score S       | Resultado   | Título Imunofluorescência<br>PARVOVIROSE E CINOMOSE |
|---------------|---|---|
| <b>S0</b>     | (sem cor) Anticorpos não detectáveis para Parvovirose ou Cinomose | Negativo  |
| <b>≤S1</b>    | (cor tênue igual ou abaixo de S1)<br>Resultado inconclusivo.      | 1:10  |
| <b>S2</b>     | Positivo  | 1:50  |
| <b>S3</b>     | Positivo  | 1:250   |
| <b>S4</b>     | Fortemente positivo   | 1:1250  |
| <b>S5</b>     | Fortemente positivo   | 1:6250  |
| <b>&gt;S6</b> | Fortemente positivo   | >1:6250   |

## DIAGNOSTICO

- Os veterinários, normalmente, fazem o diagnóstico presuntivo de Parvovirose e Cinomose baseado em sinais clínicos que variam em gravidade de leve à grave.
- Os exames laboratoriais (bioquímica do sangue, hematologia e sorologia) podem ser úteis para confirmar o diagnóstico.
- A sorologia é a ferramenta de avaliação do estado imunológico do cão.
- A resposta imune humoral é composta de duas classes de imunoglobulinas (anticorpos), IgM e IgG. Nos primeiros sete dias, após a infecção ou primo-vacinação, os anticorpos IgM são produzidos em grandes quantidades. Posteriormente, os títulos de IgM diminuem, enquanto os níveis de IgG aumentam.
- Portanto, em cães imunocompetentes, os níveis elevados de IgM indicam infecção recente.
- Elevados níveis de IgG são tipicamente encontrados em cães que sobrevivem a fase aguda da infecção, ou seguinte a vacinação.