

# ANTÍGENO PARA DIAGNÓSTICO DE *Brucella ovis*

## USO VETERINÁRIO

**COMPOSIÇÃO** - O Antígeno consiste de proteínas e lipopolissacarídeos solúveis, extraídos da bactéria *Brucella ovis*, amostra Reo 198. Padronizado por comparação com antígeno de referência. Sua preparação segue normas internacionais.

**INDICAÇÕES** - Os reagentes aqui contidos são usados em testes de imunodifusão em gel de ágar, para detecção de anticorpos contra *Brucella ovis*. A sensibilidade deste teste com o de Fixação de complemento são similares. O teste de imunodifusão comparado ao de Fixação de complemento é mais prático e seu custo muito menor, mostrando ser teste de eleição para diagnóstico de *Brucella ovis* (1). A especificidade do teste é de 100% e sensibilidade 96,4% (2).

A infecção por *Brucella ovis* em ovelhas pode ocasionar placentite, interferindo na nutrição fetal, parindo cordeiros fracos e de pouco peso. Nos carneiros as consequências são a epididimite e a esterilidade.

## MODO DE USAR

### 1. PREPARAÇÃO DAS LÂMINAS PARA IMUNODIFUSÃO.

#### 1.1 Preparo do tampão borato:

Ácido Bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>)..... 6,20g  
Cloreto de Potássio (KCL)..... 7,25g  
Água destilada..... 800,00 ml

Agitar para dissolver e ajustar o pH em 8.3 com Hidróxido de Sódio (NaOH) 0,2M e completar para 1 litro com água destilada.

#### 1.2 Preparo do gel de ágar:

Ágar noble..... 1,0g  
Tampão borato..... 100,0ml  
Cloreto de Sódio (NaCl)..... 10,0g

- Adicionar 1.0ml de Azida sódica a 1% e homogeneizar.
- Ferver em banho-maria até o gel ficar translúcido e homogêneo.
- Distribuir 4,5ml de ágar quente em lâmina de vidro 25x76mm.
- Após solidificação do ágar, usar as lâminas imediatamente ou armazená-las em geladeira, acondicionadas em caixa bem vedada com ambiente úmido. Deve-se utilizá-las em 24 horas.

### 2. CORTES DOS POÇOS DE ÁGAR

- Perfurar o ágar com roseta contendo 7 perfuradores, 1 central e 6 periféricos, com perfurador de 4,0mm de diâmetro, e distância entre eles de 3,0mm.
- Retirar o ágar dos poços com vácuo ou agulha encurvada.
- Se permanecer água nos poços retirar.
- O gel, após cortado, deve ser imediatamente preenchido com soro e antígeno.

### 3. RESSUSPENSÃO, CONSERVAÇÃO E VAL. DOS REAGENTES.

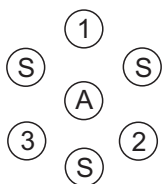
OBS. Como o produto é liofilizado nunca abrir os frascos sem antes reconstituir o pó com o diluente que acompanha o kit.

- Com seringa descartável de 2 ou 3 ml retirar 1,0ml do diluente e introduzir através da tampa de borracha no frasco de antígeno. Diluir frasco de soro controle positivo com 1ml de diluente.
- Deixar os frascos em repouso até completa dissolução do liofilizado.
- Homogeneizar lentamente e abrir a tampa de alumínio.
- Dependendo do volume de exames, sugere-se fracionar o antígeno e o soro em alíquotas e mantê-las entre 15°C e 20°C negativos.
- Manter o frasco trabalho entre 2 a 8°C.

### 4. O TESTE

- Ao retirar os frascos com antígeno e soro da geladeira, deixá-los em banho de gelo.
- Nas lâminas com o gel já perfurado, colocar 25 µL dos soros a testar, alternadamente em 3 poços periféricos, 25 µL do soro controle positivo intercalado nos 3 poços restantes periféricos e o antígeno no poço central. (Figura 1)
- Colocar as lâminas em caixas com ambiente úmido, e incubá-las em temperatura ambiente, ou em estufa entre 18 e 28°C. Pode ocorrer problemas com a linha de precipitação quando a temperatura de incubação for abaixo de 18°C ou acima de 28°C.

(FIGURA 1)



1, 2, 3 - Soros a Testar  
S - Soro Controle Positivo  
A - Antígeno

## 5. LEITURA DO TESTE:

- Leitura em 24 e 48 horas, utilizando sistema de iluminação com luz indireta e fundo preto. Para melhor visualização utilizar lente de aumento.
- O resultado final deve ser relatado após a leitura de 48 horas.
- O soro controle positivo é a base para leitura do teste. Se não houver uma linha de precipitação nítida entre o mesmo e o antígeno, o teste não é válido e necessita ser repetido.
- Embora a *Brucella ovis* não seja patogênica para o homem, as lâminas após leitura devem ser mergulhadas em solução de hipoclorito à 5%.

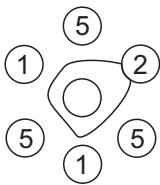
## 6. INTERPRETAÇÃO DO TESTE:

A **reação positiva** é indicada por uma linha de precipitação entre o poço de soro teste e o poço de antígeno, a qual apresenta continuidade com a linha de precipitação do soro controle positivo.

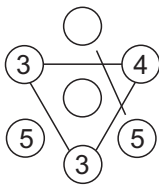
Na **reação fraca positiva** a linha de precipitação do soro controle apresenta leve curvatura, unindo-se com a outra linha de precipitação do soro controle. Esta união ocorre rente ao poço do soro-teste.

A **reação negativa** não apresenta linha de precipitação entre o soro teste e o antígeno. As linhas do soro controle prolongam-se até ao poço do soro teste sem encurvar-se ou unir-se com a outra linha de precipitação.

A **reação inespecífica** apresenta linha de precipitação sem identidade com o soro-controle. Neste caso deve-se coletar nova amostra dentro de 15 dias para repetir-se o teste.



- 1 - Soro Teste Positivo
- 2 - Soro Teste Fraco Positivo
- 3 - Soro Teste Negativo



- 4 - Linha Inespecífica
- 5 - Soro Controle Positivo

## APRESENTAÇÃO

1 frasco de vidro contendo antígeno liofilizado (reconstituir com 1,0 ml do diluente).

3 frascos de vidro contendo soro controle positivo liofilizado (reconstituir cada frasco com 1,0 ml do diluente).

1 frasco de vidro contendo 4,0 ml de diluente, 1 ml para antígeno e 3 ml para soro.

Volume suficiente para realização de até 120 testes, utilizando roseta especificada no item 2.

## CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO

Manter o Kit estocado entre 2 a 8°C.

Após ressuspendidos os frascos de antígeno e soro, aliquotar e congelar de preferência à 20°C negativos, caso não for utilizado em poucos dias.

Manter fora do alcance de crianças e animais domésticos.

Não utilizar os frascos para outros fins após término do produto.

## VENDA EXCLUSIVA A MÉDICO VETERINÁRIO

Licenciado no Ministério da Agricultura sob n° 4577, em 23/02/94

Responsável Técnico: Médica Veterinária Giselle Almeida Nocera Espírito Santo

CRMV-PR n°5633

(1) Ovine Epididymitis. OIE Manual Of Diagnostic Tests And Vaccines For Terrestrial Animals, 5th Edition, 2004. Pag. 1A16 Chapter 2.4.1

(2) CM. Marin, M.P. Jimenez De Bagués, J.M. Blasco, C. Gamazo, I. Moriyón, R. Diaz Comparison Of Three Serological Tests For Brucella ovis Infection Of Rams Using Different Antigenic Extracts, The Veterinary Record, November 1989 125, 504-508

# TÈCPAR

INSTITUTO DE TECNOLOGIA DO PARANÁ

Rua João Américo de Oliveira, 330  
CEP 80.035-060 - CNPJ 77.964.393/0005-01 - Curitiba - Paraná - Brasil  
GOVERNO DO ESTADO DO PARANÁ  
SAC 0800 6451725 - sac@tecpar.br