

ImmunoComb

Canine VacciCheck

INFECTIOUS HEPATITIS, PARVOVIRUS & DISTEMPER IgG ANTIBODY TEST KIT

Instruções de Uso

USO VETERINÁRIO

Nº Cat. do Produto: 50CVV101/50CVV110

PRODUTO IMPORTADO



Proprietário e Fabricante: Biogal Galed Laboratories Asc. Ltd., Galed, 1924000 Israel
Tel: 972-4-9898605 / Fax: 972-4-9898690

Representante Exclusivo no Brasil, Importador e Distribuidor: JMR TRADING LTDA
CNPJ 11.857.347/0001-71
Rua Santa Alves Petra, 173 - Pinhais - Paraná-Brasil
Fone/Fax: (41)3779-2130 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br
Responsável Técnica: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV PR nº 3288
SAC info@vpdiagnostico.com.br www.vpdiagnostico.com.br

I. FINALIDADE DO KIT

O Kit Canine VacCiCheck foi projetado para determinar no soro de cão o título de anticorpos IgG, de Hepatite Infecciosa Canina (ICH/CAV), Parvovirose Canina (CPV) e Cinomose Canina (CDV). O objetivo principal deste kit é fornecer ferramenta útil para avaliar o estado de imunidade de cães sobre esses três patógenos. Como tal, ele pode determinar o título de IgG antes e após a vacinação ou a duração da imunidade.

II. INFORMAÇÕES GERAIS

A Hepatite Infecciosa Canina (HIC), Parvovirose Canina (CPV) e Cinomose Canina (CDV), são conhecidas como importantes causas de doenças e morte em caninos. Filhotes são os mais suscetíveis para ICH, CPV and CDV, especialmente após a amamentação, quando o nível de anticorpos protetores materno declina. Às vezes estes anticorpos podem interferir com a vacinação para a imunização. Em muitos países, os programas de vacinação reduziram significativamente mas não eliminaram a incidência dessas doenças. Assim, ICH, CPV e CDV continuam a ser motivo de grande preocupação clínica entre médicos veterinários em todo o mundo e ainda representam um desafio diagnóstico.

III. O QUE É O TESTE IMMUNOCOMB?

O teste ImmunoComb é uma modificação do teste de ELISA e pode ser denominado também como “o teste do ponto”. Ao invés do antígeno estar adsorvido no fundo do poço de uma placa, está adsorvido em um ponto do dente de um cartão plástico em formato de pente (cartão ImmunoComb). O kit contém todos os reagentes necessários para desenvolvimento do teste.

Os resultados das 3 doenças, ICH, CPV e CDV são obtidos simultaneamente em 23 minutos.

IV. COMO FUNCIONA O IMMUNOCOMB?

- O kit é baseado no princípio Imunoensaio em fase sólida, DOT-ELISA.
- Contém 2 componentes principais: 1 cartão plástico ImmunoComb e 1 placa reveladora contendo reagentes para o teste.
- O cartão de plástico tem formato de um pente com 12 dentes. Cada dente testa 1 soro.
- Em cada dente do cartão estão adsorvidos 3 antígenos.
- Pontos para o diagnóstico de ICH, CPV e CDV são aplicados a cada dente do pente. O ponto superior é o controle positivo. Antígeno do Adenovírus canino Purificado (CAV) para o diagnóstico de ICH está aplicado ao ponto médio superior, antígeno purificado da CPV é aplicado no ponto médio mais baixo e antígeno purificado CDV aplicado no ponto inferior (ver figura na seção X).
- A primeira etapa do ensaio é pipetar soro, plasma ou amostras de sangue inteiro no poço na linha A do multi-compartimento da placa reveladora..
- Em seguida, o pente é inserido no(s) poço (s) com a amostra (s) e transferidos para os poços restantes (B-F), em intervalos de tempo, de acordo com as instruções passo a passo (ver p 4.). Os anticorpos IgG específicos do vírus, se presentes, se ligam ao antígeno nos locais de teste e serão identificados na linha C, que contém enzima marcada anti-anticorpo IgG de cão.
- No final do processo, um ponto de cor púrpura cinza aparece em todos os pontos de referência positiva e na amostra testada que seja positiva.
- A intensidade da cor corresponde diretamente para o nível de anticorpos na amostra de teste. Os resultados são comparados com o ponto de Referência Positiva e CombScale (ver seção IX).

V. DESCRIÇÃO DAS DOENÇAS

ICH

A hepatite infecciosa canina é uma doença causada por adenovírus canino (CAV). A transmissão ocorre pelo contato direto com cães infectados ou áreas contaminadas pelo vírus. O primeiro sinal é a tosse, que pode evoluir para pneumonia. Mais tarde, quando o vírus entra na corrente sanguínea, fígado, rim e / ou outros órgãos do corpo, pode causar sinais clínicos, tais como: "olho azul", vômitos, diarreia, aumento da sede e convulsões. Os filhotes têm a maior taxa de mortalidade.

CPV

A propagação da Parvovirose Canina pode ocorrer através da exposição ao ambiente contaminado. Os sinais clínicos da CPV incluem letargia, depressão, inapetência, febre, vômitos e diarreia (às vezes com sangue). As mortes são comuns em filhotes.

CDV

Vírus da cinomose canina é naturalmente transmitida de cão para cão por via aérea. A infecção natural da CDV pode causar febre transitória que pode passar despercebida. Em alguns casos, quando a doença é caracterizada por febre intermitente, depressão, secreção óculo-nasal e anorexia. Sinais respiratórios e / ou gastrointestinal podem surgir. Em cães que sobrevivem das fases agudas da doença, muitos (mas não todos) irão desenvolver

problemas relacionados ao sistema nervoso central (SNC), incluindo neurite óptica e lesões de retina. Os que mais ocorrem são ataxia, paresia e convulsões

VI. DIAGNÓSTICO

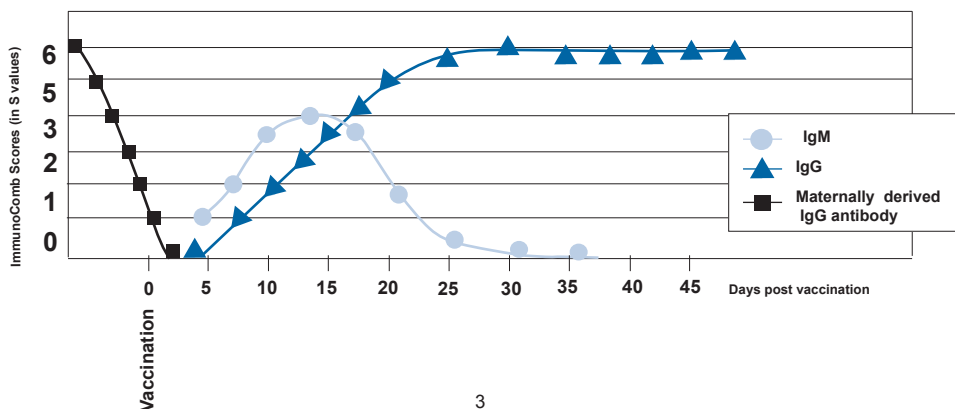
Veterinários normalmente fazem diagnóstico presuntivo de ICH, CPV e CDV baseado em sinais clínicos que variam em gravidade de leve a grave.

Os exames laboratoriais podem ser úteis para confirmar o diagnóstico. Além da hematologia e bioquímica do sangue, a sorologia está se tornando ferramenta mais amplamente aceita de diagnóstico.

A sorologia fornece uma imagem mais ampla do estado imunológico do cão. A resposta imunitária humoral é largamente composta de duas classes de imunoglobulinas (anticorpos), IgM e IgG. Nos primeiros dias após a infecção ou vacinação, os anticorpos IgM são produzidos em grandes quantidades. Posteriormente, os títulos de IgM declinam, enquanto os níveis de IgG aumentam. Portanto, em cães, com capacidade de fornecer resposta imune, os níveis elevados de IgM indica infecção recente.

A ausência de anticorpos IgM, com um elevado título de IgG, sugere que a exposição ao vírus ocorreu mais cedo, e considera-se o cão imune. Elevados níveis de IgG são tipicamente encontrados em cães que sobrevivem à fase aguda da infecção, ou após a vacinação (Fig. 1).

Fig. 1 – Níveis de Anticorpos Pós-Vacinação de ICH, CPV e CDV em cães saudáveis

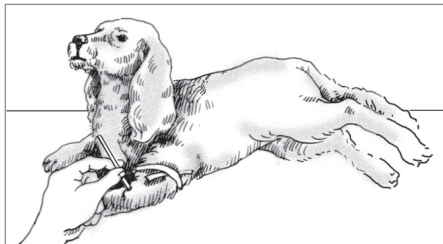


VII. TÉCNICA PASSO A PASSO

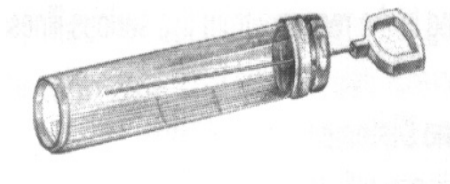
Para melhores resultados realizar o teste em temperatura entre 20-25 °C

Misturar os reagentes agitando suavemente a placa várias vezes antes de usar. Antes de realizar o teste manter todos os elementos do kit e amostras à temperatura ambiente por 60 - 120 minutos ou apenas incubar a placa durante 22 minutos 37 °C

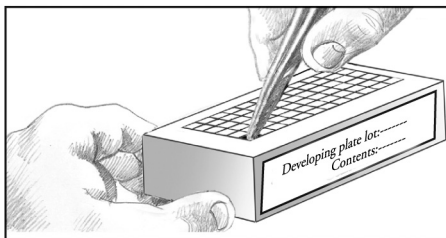
(1) Obter amostra de sangue do cão.



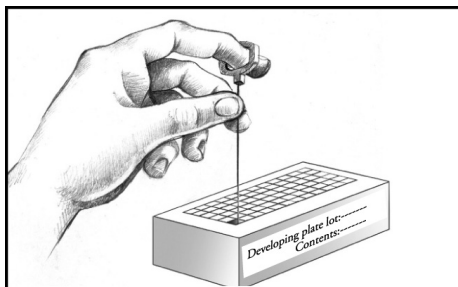
(2) Usar uma pipeta ou tubo capilar *. Para amostra de sangue total pipetar 10 µL. Para testar o soro / plasma usar 5 µL.



(3) Use a pinça para perfurar a tampa de alumínio de proteção da linha A. Um poço para cada amostra.



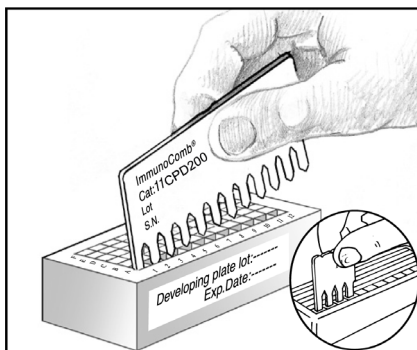
(4) Depositar uma amostra na cavidade da linha A. Levantar e abaixar pistão da pipeta/tubo capilar, várias vezes para homogeneizar a amostra e o diluente do poço.



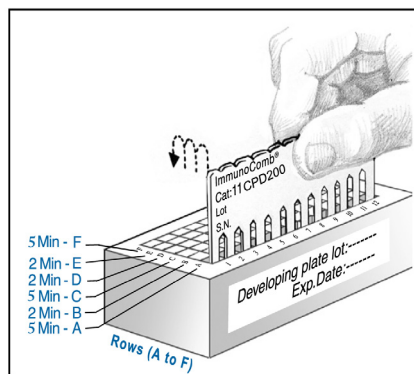
Não abra qualquer cavidade da linha A ou de outras linhas que você não pretenda usar.

* Unidade de 40 tubos capilares e um pistão podem ser adquiridos mediante solicitação.

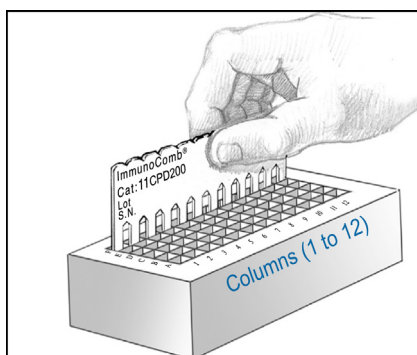
(5) Retire o pente de seu envelope de proteção. Para testar menos do que 12 amostras, cortar ou romper o pente por dobragem nos entalhes, para a quantidade de testes necessários. Inserir o Pente no poço aberto (s) na **linha A** (o lado impresso de frente para você) e incubar por **5 minutos**. Para melhorar a mistura, mergulhe suavemente **para cima e para baixo** o pente, no início de cada incubação. Repetir este movimento, pelo menos, duas vezes até terminar o tempo.



(6) Antes de transferir o pente de um poço para outro, perfure o alumínio do poço seguinte usando a pinça (**linha B**). Retirar suavemente o excesso de líquido dos dentes do pente batendo com a ponta do dente em um papel absorvente, e encaixe o pente, durante **2 minutos na linha B**. Inserir pente no poço seguinte (**linha C**) durante **5 minutos**. E nas cavidades restantes (**linhas D & E**), durante **2 minutos** cada e o último poço (**linha F**) durante **5 minutos**.



(7) Após a fileira F, mova o pente de volta para a linha E por **2 minutos** para fixação da cor. Retirar o Pente e deixar secar naturalmente por 1-10 minutos. **NÃO SEQUE COM PAPEL.**



A sequência da técnica pode ser vista no site: www.vpdiagnostico.com.br

VIII. LEITURA DO TÍTULO DE IgG E INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

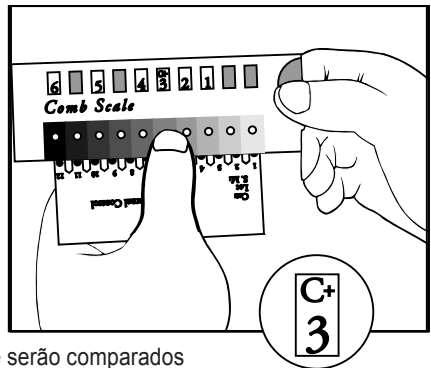
- O ponto mais superior é o ponto de referência positiva e deve ter uma cor roxo-cinza . Esta é a mesma tonalidade de cor que é gerada por uma resposta positiva significativa de anticorpos anti-ICH 1:16 no teste de Soro Neutralização, de anticorpos anti CPV com título de 1:80 no teste de HI e de anticorpos anti-CDV iguais a 1:32 na Soro Neutralização. Ao usar o CombScale, este local deve ser lido como S3 (ver secção IX).
- O ponto médio superior no dente dá o título dos anticorpos IgG anti-ICH da amostra.
- O ponto mais baixo no meio do dente dá o resultado de anticorpos IgG anti CPV na amostra.
- O ponto médio inferior do dente dá o título dos anticorpos IgG anti- CDV na amostra.
- Comparar o tom da cor do ICH, CPV e pontos de teste CDV com o ponto de referência positiva (separadamente).
- Um tom de cor que é igual ou mais escura do que o ponto de referência é considerada uma resposta positiva.
- Um tom de cor tênue em S1 ou menos é considerado um resultado negativo.
- Avaliar a pontuação de anticorpos usando o CombScale fornecido no kit (ver secção IX).
- Conservado seco o pente pode ser mantido como registro.

IX. LEITURA DOS RESULTADOS COM O A COMBSCALE

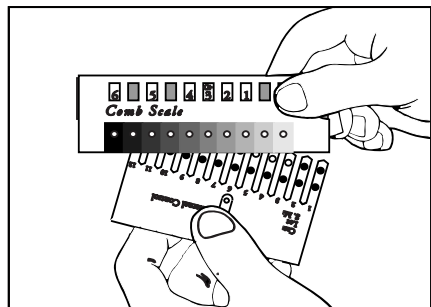
O valor CombScale S é o número que aparece na janela amarela correspondente ao tom da cor, do ponto referência positiva, que é calibrada em S3.

Quando o pente estiver completamente seco, alinhá-lo com o CombScale fornecido no kit. Encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do ponto de **Referência Positiva** (ponto superior). Deslize a régua amarela até a marca C+ aparecer na janela, acima da cor que você encontrou.

Segure a régua nesta posição durante toda a leitura. Este passo realmente calibra a C + à S3, que é o ponto de “cut-off” , que os pontos de teste serão comparados

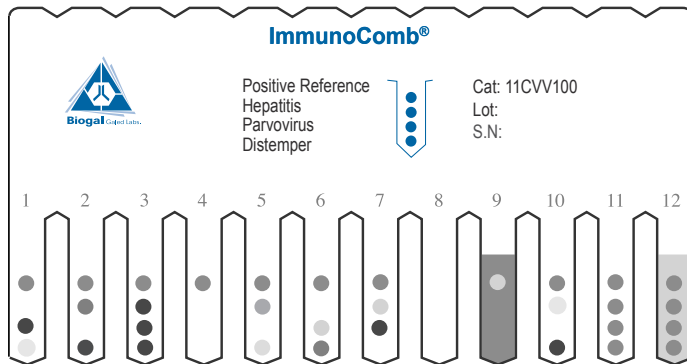


Enquanto mantém a régua fixa, encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do resultado do teste desejado (um dos pontos mais baixos). O número que aparece na janela acima é a pontuação CombScale (S0-S6). Repita este passo com cada ponto de teste separadamente.



OBS.: o resultado pode ser avaliado através do programa CombScan e escanar com compatibilidade TWAIN (cd é fornecido gratuitamente se solicitado).

X. EXEMPLO DE TESTE PRÁTICO



Dente No.	Resultado Hepatite Infecciosa Canina		Resultado da Parvovirose		Resultado da Cinomose	
	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado	Resultado
1	S0	Negativo	≥S5	Fortemente Positivo	<S1	Negativo
2	S4	Positivo	S0	Negativo	S6	Fortemente Positivo
3	≥S5	Fortemente Positivo	≥S5	Fortemente Positivo	≥S5	Fortemente Positivo
4	S0	Negativo	S0	Negativo	S0	Negativo
5	≥S3	Positivo	S0	Negativo	S1-2	Imunidade Inadequada
6	S0	Negativo	S1-2	Imunidade Inadequada	S4	Positivo
7	S1-2	Imunidade Inadequada	≥S5	Fortemente Positivo	S0	Negativo
8*		Inválido		Inválido		Inválido
9**		Inválido		Inválido		Inválido
10	<S1	Negativo	S0	Negativo	≥S5	Fortemente Positivo
11	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo
12***	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo

Observações:

* Nenhuma Referência Positiva. Repetir o teste.

** Cor de fundo muito escura. Repetir o teste.

*** Cor de fundo escura com resultado positivo.

Para auxílio adicional contatar:

Distribuidor local pelo telefone/fax: (41)3779-2130

e-mail: info@vpdiagnostico.com.br - website: www.vpdiagnostico.com.br

Fabricante: Laboratórios da Biogal Galed pelo telefone: 972-4-9898605 / Fax: 972-4-9898690

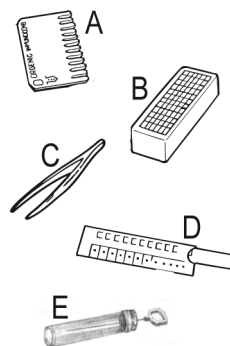
e-mail: info@biogal.co.il - website: www.biogal.co.il

XI. MANUSEIO E ESTOCAGEM

1. Armazenar o kit sob refrigeração normal (2 - 8 °C). Não congelar o kit.
2. Antes de realizar o teste manter todos os elementos do kit e amostras à temperatura ambiente, de preferência por 60 - 120 minutos (ou apenas incubar a placa durante 22 minutos 37 °C). Realizar ensaio à temperatura ambiente de 20 ° - 25 °C
3. Evite derramamento e contaminação cruzada de soluções.
4. Misturar os reagentes agitando suavemente a placa várias vezes antes do uso.
5. Não misturar reagentes de diferentes kits ou de diferentes compartimentos do mesmo kit.
6. Não toque nos dentes do cartão ImmunoComb.
7. Quando se utiliza o desenvolvimento de placa, perfure a tampa de cada compartimento de acordo com as instruções do procedimento de teste. Não retire a proteção de alumínio.
8. O kit contém material biológico inativado. O kit deve ser manuseado e eliminado de acordo com as exigências sanitárias local.

XII. APRESENTAÇÃO

Componentes	Kit com 12 testes (50CVV101)	Kit com 120 testes (50CVV110)
A. Cartão ImmunoComb	1	10
B. Placa reveladora	1	10
C. Pinça de plástico	1	1
D. Escala de cores CombScale	1	1
E. Tubo com 12 microcapilares e um pistão	1	Incluído mediante solicitação.
Instruções de uso	1	1



XIII. REFERÊNCIAS

- AAHA. Vaccine Task Force. (2006). *JAAHA*, **42**, 80-89.
- Day et al. (2010) Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *JSAP* **51**:1-32.
- Dudley et al. (1998). *JAVMA*, **213(1)**, 72-75.
- Pollock & Carmichael. (1982). *JAVMA*, **180(1)**, 37-42.
- Waner et al. (2006). *J. Vet. Dia. Invest.*, **18(3)**, 267-2

Biogal's
ImmunoComb