

Instruções de Uso
ImmunoComb

CANINE PARVOVIRUS & DISTEMPER IgM
Kit para detecção de anticorpos IgM de
Parvovirose e Cinomose Canina

USO VETERINÁRIO
Nº Cat. do Produto: 55CPD201/55CPD210
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 ImmunoComb Canine Parvovirus e Distemper IgM Antibody Test Kit determina, no soro de cães, os níveis do anticorpo IgM contra o Vírus da Parvovirose canina (CPV) e Vírus da Cinomose canina (CDV), tanto na infecção como na vacinação.

II. INFORMAÇÕES GERAIS

Parvovírus canino (CPV) e o vírus da Cinomose canina (CDV) são reconhecidos como importantes causas de doença e morte em cães. Os filhotes são mais suscetíveis a CPV e CDV, especialmente após o desmame quando o nível de anticorpos protetores maternos (MDA) diminuem. Às vezes a MDA pode realmente interferir com vacinas que são dadas para a imunização. Em muitos países, os programas de vacinação reduziram significativamente mas não eliminaram a incidência dessas doenças. Assim, CPV e CDV continuarão 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 um kit de ELISA portátil. É um teste sensível que detecta níveis de anticorpos no soro. Os resultados da IgM contida no sangue do paciente canino para CPV and CDV são obtidas em torno de 60 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 de ELISA

■ 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.

■ A placa reveladora contém 12 colunas de poços (1-12). Uma coluna é constituída de 6 linhas de 5 poços (A,B,C,D,E,F) com reagentes diferentes. Cada coluna testa uma amostra, iniciando no poço da linha A.

■ Testando 1 amostra de soro: Após perfurar o alumínio do 1º poço da fileira "A", o soro a ser testado será introduzido com o auxílio de uma pipeta ou tubo capilar.

■ Destaca-se 1 dente do cartão e insere-se no poço. Anticorpos IgM contra os vírus da cinomose e parvovirose, se presentes no soro do cão, ligam-se aos antígenos adsorvidos, os anticorpos que não se ligarem serão lavados na segunda fileira "B" da placa.

■ A fileira "C" contém anticorpos anti-IgM canino ligados a uma enzima (conjugado). Ao inserir o dente do cartão plástico neste conjugado, os anticorpos que se ligaram nos antígenos no dente na fileira "A" serão marcados.

■ Após lavagens nas fileiras "D" e "E", o dente é inserido na fileira "F", onde ocorre a reação enzimática. Isso provocará produção de cor cinza nos pontos do dente do cartão plástico, revelando o nível de anticorpos presentes.

■ A intensidade do tom roxo-cinza, determinará a quantidade de anticorpos presentes no soro.

■ Através da escala de tons cinza (CombScale), compara-se a intensidade da cor entre o ponto Referência Positiva (ponto superior) e os pontos inferiores (parvovirose e cinomose)

■ Obs: Os dentes do cartão ImmunoComb são destacáveis, podendo ser utilizado(s) individualmente.

V. DESCRIÇÃO DAS DOENÇAS

CPV

A propagação da infecção 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). A mortalidade é alta em filhotes.

CDV

O Vírus da cinomose canina é naturalmente transmitido cão para cão por via aérea. A infecção natural CDV pode causar febre transitória que pode passar despercebida. Em alguns casos, quando se desenvolve a doença é caracterizada por febre intermitente, depressão, secreção óculo-nasal e anorexia. Sinais respiratórios e / ou gastrointestinais podem existir. Em cães que sobrevivem à fase aguda da doença, muitos (mas não todos) vão desenvolver sinais no sistema nervoso central (SNC), incluindo neurite óptica e lesões de retina. Os sinais mais conhecidos do SNC são ataxia, paresia e convulsões.

VI. DIAGNÓSTICO

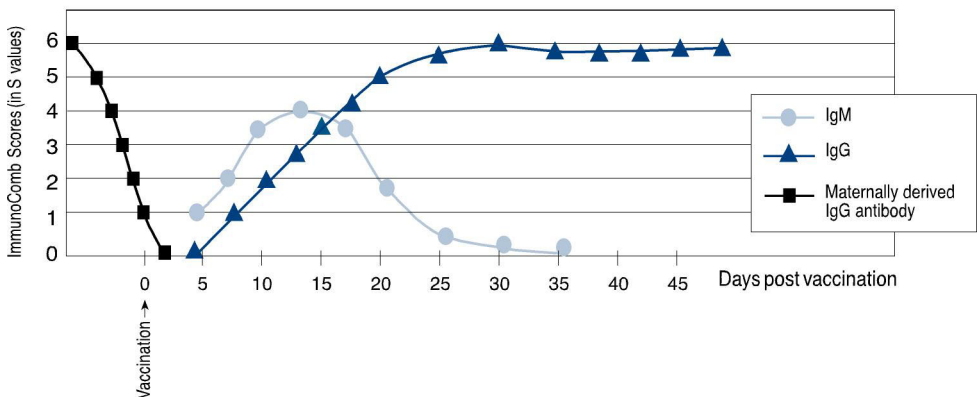
Veterinários, normalmente, fazem um diagnóstico presuntivo de CPV e CDV baseado em sinais clínicos que variam em gravidade de leve a grave.

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

A sorologia fornece 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, 7 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, que são capazes de uma resposta imune, os níveis elevados de IgM indicam infecção recente.

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

FIG. 1 - NÍVEIS DE ANTICORPOS DE CDV E CPV PÓS VACINAÇÃO, EM CÃES SADIOS

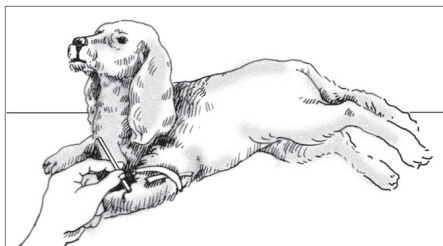


VII. TESTE PASSO A PASSO

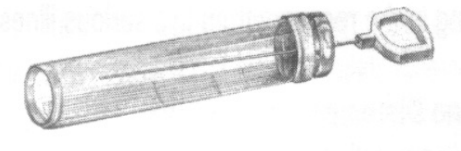
Para obter melhores resultados realizar o teste em temperatura ambiente entre 20-25 °C

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

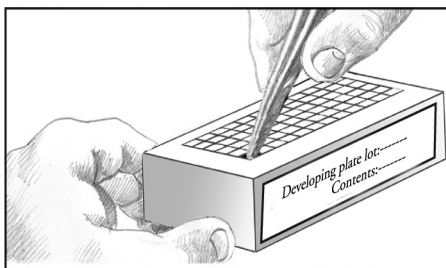
(1) Obter amostra de sangue do cão.



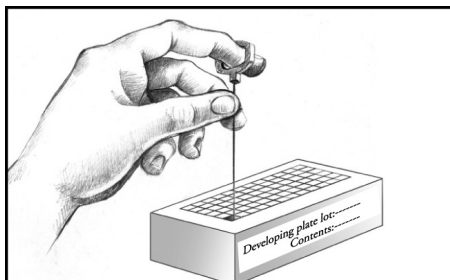
(2) Usar uma pipeta ou tubo capilar *. Para amostra de sangue total pipetar 10 µL. Para testar o soro / plasma usar 5 µL.



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



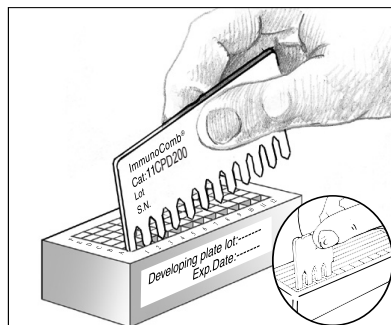
(4) Depositar uma amostra na cavidade da linha A. Levantar e abaixar pistão da pipeta/tubo capilar, várias vezes para homogeneizar a amostra e o diluente do poço.



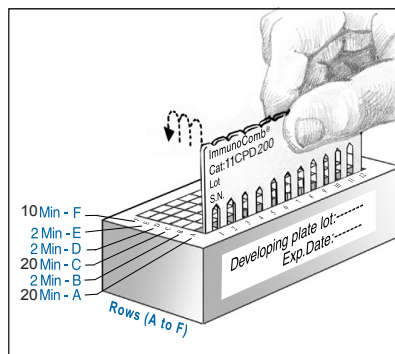
Não abra qualquer cavidade da linha A ou de outras linhas que você não pretenda usar

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

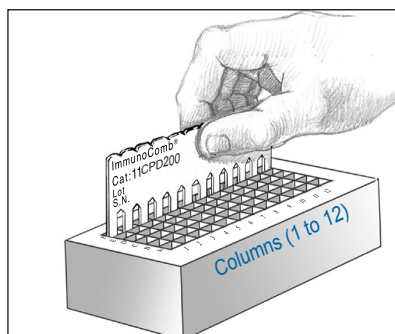
(5) Retire o pente de seu envelope de proteção. Para testar menos do que 12 amostras, cortar ou romper o pente por dobragem nos entalhes, para a quantidade de testes necessários. Inserir o Pente no poço aberto (s) na **linha A** (o lado impresso de frente para você) e incubar por **20 minutos**. Para 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 **20 minutos**. E nas cavidades restantes (**linhas D & E**), durante **2 minutos cada** e o último poço (**linha F**) durante **10 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.**



VIII. LEITURA DO TÍTULO DE IGG E INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

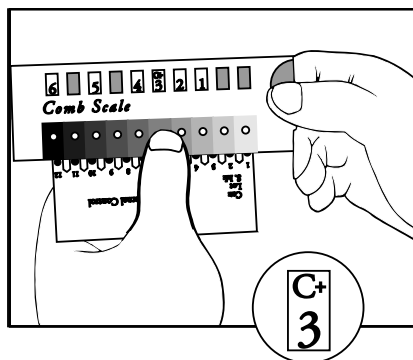
- O ponto mais superior é o local de referência positiva e deve ter cor roxo-cinza. Esta é a mesma tonalidade de cor que é gerada por uma resposta de IgM positiva elevada. Este ponto deve ser lido como S3 numa escala de S0 a S6.
- O ponto mediano no Pente dá o resultado de anticorpos IgM CPV na amostra.
- O ponto inferior do Pente dá o resultado dos anticorpos IgM anti CDV na amostra.
- Comparar o tom da cor dos pontos do CPV e pontos de teste do CDV com o ponto de referência positiva (separadamente).
- Para avaliar a pontuação de anticorpos, utilizar o CombScale fornecido no kit (ver secção IX).
- Um resultado com a cor claramente mais forte de S1 é considerado positivo.
- Sem cor é considerado resultado negativo.
- Cor tênue igual ou menor \leq S1 é considerada inconclusiva

IX. LEITURA DOS RESULTADOS COM O A COMBSCALE

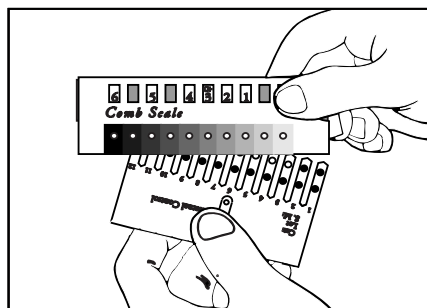
O valor CombScale S é o número que aparece na janela amarela correspondente ao tom da cor, do ponto referência positiva, que é calibrada em S3.

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

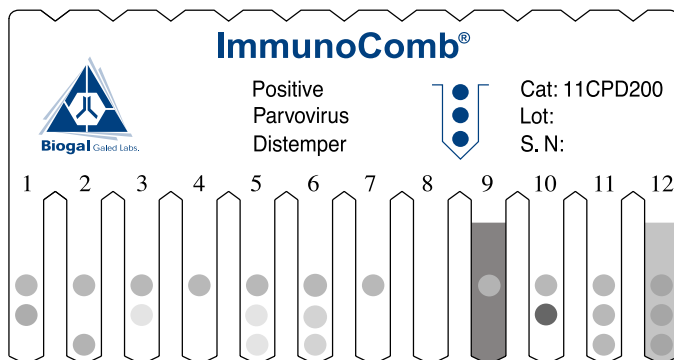


Enquanto mantém a régua fixa, encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do ponto do resultado do teste desejado (um dos pontos mais baixos). O número que aparece na janela acima é a pontuação CombScale (S0-S6). Repita este passo com cada ponto de teste separadamente.



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

X. EXEMPLO DE UM TESTE



D E N T E NO.	RESULTADO DA PARVOVIROSE		RESULTADO DA CINOMOSE	
	1	≥S3	Positivo	S0
2	S0	Negativo	≥S3	Positivo
3	≤S1	Inconclusivo	S0	Negativo
4	S0	Negativo	S0	Negativo
5	≤S1	Inconclusivo	≤S1	Inconclusivo
6	S2	Positivo	S2	Positivo
7	S0	Negativo	S0	Negativo
8*		Inválido		Inválido
9**		Inválido		Inválido
10	≥S5	Positivo	S0	Negativo
11	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo
12***	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo

REMARKS:

* 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

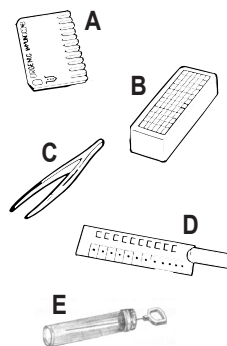
e-mail: info@biogal.co.il - website: www.biogal.co.il

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 (55CPD201)	Kit com 120 testes (55CPD210)
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

- Harrus et al. (2002). *Jl of Small Animal Prac.*, **43**,27-31.
Waner T. (2002). *27th WSAVA Congress*, **Oct.**, Spain.
Waner et al. (2003). *Vet. Record*, **152**,588-591