

## XII. REFERÊNCIAS

1. Addie, D. D. (1998). The diagnosis and prevention of FIP and recent research into feline Coronavirus shedding. *ESVIM Proceedings: 8th Annual Congress of the European Society of Veterinary Internal Medicine*.
2. Addie, D. D. (2000). Guest editorial: Clustering of feline Coronaviruses in multicat households. *The Veterinary Journal*, 159, 8-9.
3. Addie, D. D., et al. (2002). Evaluation of the feline Coronavirus antibody ImmunoComb®. 2nd International FCoV/FIP Symposium, Glasgow, UK.
4. Kiss, I., et al. (2000). Prevalence and genetic pattern of feline Coronavirus in urban cat populations. *The Veterinary Journal*, 159, 64-70.
5. Addie D. D. et al. (2004) Evaluation of an in-practice test for feline coronavirus antibodies. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 63-67.

**Biogal's**  
**ImmunoComb®**

## Instruções de Uso

# *ImmunoComb® FCoV (FIP)*

**KIT DE TESTE PARA DETECÇÃO DE  
ANTICORPOS IgG  
Anti-Coronavírus Felino  
*PERITONITE INFECCIOSA FELINA (PIF)***

**USO VETERINÁRIO**

**Nº Cat. do Produto: 50FFP201/50FFP210**

**PRODUTO IMPORTADO**



**Proprietário e Fabricante:** Biogal Galed Laboratories, Galed, 19240 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 / 3668-1184 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br

Licenciado no Ministério da Agricultura sob o nº 9.704/2012

Responsável Técnica: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV PR nº 3288

## I. FINALIDADE DO KIT

Determinar no soro de gatos o nível de anticorpo IgG contra Coronavírus Felino (FCoV). Gatos com Peritonite Infecciosa Felina (PIF) contêm altos níveis de anticorpo anti-Coronavírus Felino. O resultado negativo é útil para afastar um diagnóstico da PIF.

	A*	B*	C*
Specificity	83%	99%	100%
Sensitivity	95%	93.4%	100%

A\* - Dados publicados no artigo Evaluation of an in-practice test for feline coronavirus antibodies, by Dr. Diane D. Addie

B\* - Baseado em dados inéditos (2007) obtidos no laboratório de virologia da faculdade de Medicina Veterinária da Universidade de Auburn.

C\* - Baseado na especificidade e sensibilidade dos dados, obtidos nos laboratórios veterinários Leeds, Reino Unido 1997

## II. INFORMAÇÕES GERAIS

Estima-se que acima de 70% de gatos ao redor do mundo, estão expostos ao Coronavírus Felino (FCoV). A infecção é transmitida via fecal e oral. O vírus pode sobreviver em secreções secas por até 7 semanas. O risco de transmissão é alto em gatis ou em residências com muitos gatos. A infecção pelo Coronavírus Felino na maioria dos gatos não está associada com doença clínica aparente. Em alguns gatos, entretanto, uma severa e normalmente fatal Peritonite Infecciosa Felina (conhecida como PIF) pode se desenvolver

## III. SINAIS CLÍNICOS

A infecção por FCoV – Coronavírus Felino é assintomático na maioria dos gatos.

Uma pequena porcentagem dos casos podem apresentar febre, diarreia e conjuntivite.

Alguns casos podem progredir para doença severa e sistêmica conhecida por PIF – Peritonite Infecciosa Felina.

A PIF se manifesta clinicamente por 2 formas:

- Forma efusiva (úmida).
- Forma não efusiva (seca).

A PIF geralmente está associada a óbito a despeito de terapia.

## IV. DIAGNÓSTICO

O diagnóstico positivo para Coronavírus Felino indica prévia exposição ao agente.

Não está claro por qual razão a doença clínica (PIF) desenvolve-se somente em pequena porcentagem de gatos infectados.

Muitos deles têm histórico de stress recente como mudança de casa, cirurgia e alto nível de anticorpos contra corona vírus.

Testes sorológicos são considerados úteis no auxílio do diagnóstico de casos clínicos individuais e também em programas de prevenção em gatis.

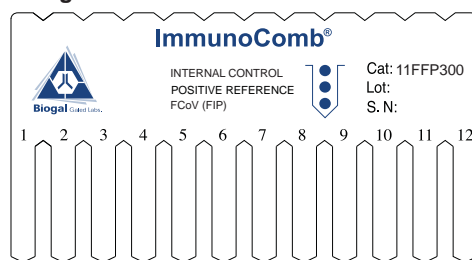
## V. O QUE É O TESTE IMMUNOCOMB® ?

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. O resultado é obtido em 36 minutos.

## VI. COMO FUNCIONA O IMMUNOCOMB® ?

- O kit é baseado no princípio Imunoensaio em fase sólida, DOT-ELISA.
- Contém 2 componentes principais: 1 cartão plástico ImmunoComb® (Figura 1) e 1 placa reveladora contendo reagentes para o teste de ELISA (Figura 3).

Figura 1



- 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. (Figura 2)

## X. CONDIÇÕES DE CONSERVAÇÃO & MANIPULAÇÃO

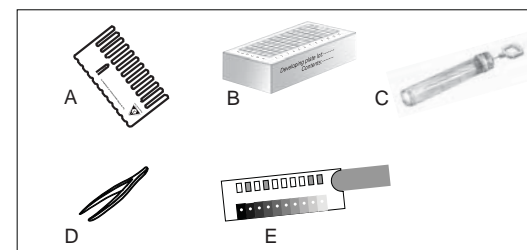
- Armazenar o kit entre 2°C e 8°C.
- Não utilizar pente e placa de lotes diferentes.
- Não congelar o produto ( temperatura abaixo de 0 °C ).
- Não tocar com os dedos a ponta dos dentes dos pentes onde está adsorvido o antígeno.
- Não expor a vácuo.

## XI. RISCOS PARA A SAÚDE PÚBLICA DURANTE SUA MANIPULAÇÃO

- O kit contém azida sódica, NaN<sub>3</sub> 0,1%, considerado carcinogênico e material biológico inativado.
- Ao proceder o teste é recomendado utilizar luvas descartáveis e óculos.
- Caso as soluções dos poços caiam acidentalmente nas mãos ou olhos e bancada, lavar com bastante água corrente.
- Eliminar as soluções dos poços primeiramente em frasco com hipoclorito. Ao eliminar no sistema de esgoto deixar escorrer bastante água pelo sistema.
- Manter longe do alcance de crianças e animais domésticos.

## XII. APRESENTAÇÃO

- 1 caixa de papelão com componentes para 12 testes.
- 1 caixa de papelão com componentes para 120 testes.



Componentes	Embalagem 12 testes Cat.50FFP201 Quantidade	Embalagem 120 testes Cat. (50FFP210) Quantidade
A. Cartão ImmunoComb® (embalado em envelope de alumínio)	1	10
B. Placa reveladora	1	10
C. Um tubo com 12 microcapilares e um pistão	1	*
D. Pinça	1	1
E. Escala de cores (Combscale)	1	1
Instruções de uso	1	1

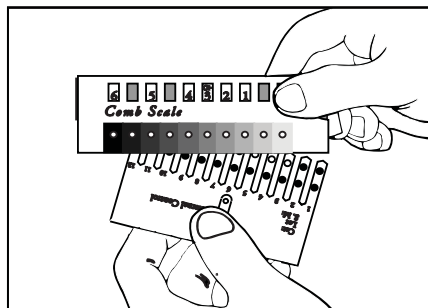
\* Nas embalagens para 120 testes não é fornecido pipeta. Deve ser utilizado pipeta automática calibrada para 5 µL.

3. Escolher na escala de tons cinzas (CombScale) a tonalidade de cinza que seja igual ao ponto de leitura da FCoV, ponto inferior, do 1º dente.

4. O número acima da cor escolhida que aparece na janela é o valor "S" de intensidade. Anotar.

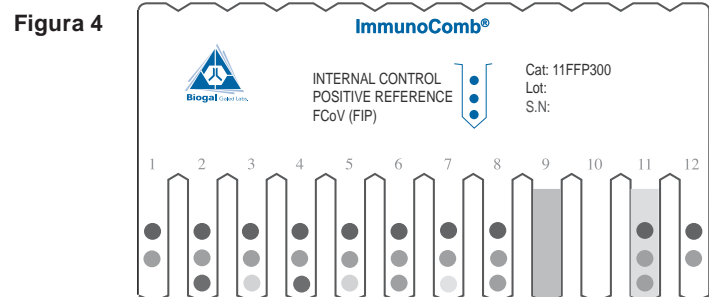
5. Proceder da mesma maneira com os demais dentes.

6. Com os valores "S" obtidos interpretar na Tabela 1.



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

## IX. EXEMPLO DE TESTE PRÁTICO



Valor "S" obtido na CombScale, comparando a tonalidade na escala cinza da CombScale, com a tonalidade dos pontos no dente

Tabela 1

Dente nº	Resultado	Resultado do Reação
1, 12	S0	Resultado Negativo – Sem reação para FCoV e PIF.
2, 4	≥ S5	Reação altamente positiva – Relacionado com PIF.
3, 5	S2	Reação fraca positiva – Improvável PIF.
6, 8	≥ S3	Reação medianamente positiva – Relacionado com PIF.
7	≤ S1	Reação considerada negativa.
9	Inálido	Teste inválido.
10	Inálido	Ausência de cor nos pontos mediano e superior – Teste inválido.
11	≥ S3	Cor cinza de fundo – Reação mediana positiva – Relacionado com PIF.

### Para auxílio adicional contatar:

Distribuidor local pelo telefone/fax: (41)3779-2130  
e-mail: [info@vpdiagnostico.com.br](mailto:info@vpdiagnostico.com.br) - website: [www.vpdiagnostico.com.br](http://www.vpdiagnostico.com.br)

Fabricante: Laboratórios da Biogal Galed pelo telefone: 972-4-9898605 / Fax: 972-4-9898690  
e-mail: [info@biogal.co.il](mailto:info@biogal.co.il) - website: [www.biogal.co.il](http://www.biogal.co.il)

Figura 2

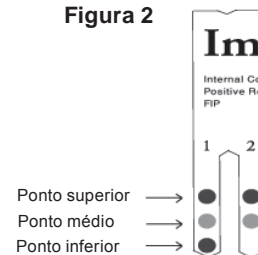
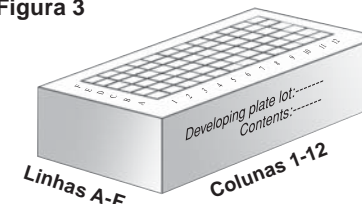


Figura 3



- A placa reveladora contém 12 colunas de poços (1-12). Uma coluna é constituída de 6 linhas de 6 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 IgG contra o Corona Virus Felino se presentes no soro do cão, ligam-se ao antígeno adsorvido, os anticorpos que não se ligarem serão lavados na segunda fileira "B" da placa.
- A fileira "C" contém anticorpos anti-IgG felino 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. (Figura 4 pag. 6).
- A intensidade do tom 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 controle positivo (ponto superior) e os pontos inferiores (FCoV).

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

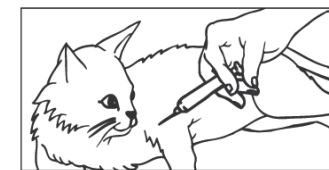
## VII. EXPLICAÇÃO PASSO A PASSO DO TESTE

### CUIDADOS INICIAIS:

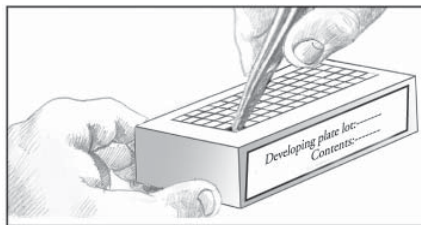
- Não tocar nos dentes do pente (cartão ImmunoComb®). Utilizar somente os componentes do mesmo kit.
- Não remover e sim perfurar o alumínio somente dos poços suficientes para o teste.
- Antes de realizar o teste, manter todos os componentes do kit e as amostras a temperatura ambiente (20° a 25°C) por 60 minutos.

### TÉCNICA:

1. Homogeneizar delicadamente os reagentes invertendo a placa reveladora várias vezes antes do uso.
2. Antes de realizar o teste, manter todos os componentes do kit, e as amostras a temperatura ambiente (20 a 25 °C) por 60-120 minutos ou incubar somente a placa por 22 minutos a 37 °C.
3. Coletar sangue do gato sem anticoagulante. Cerca de 1 a 2 ml. Aguardar coagular em temperatura ambiente e se possível, separar o soro do coágulo e deixar em geladeira entre 2-8°C. Enviar o mais breve possível para o laboratório. Não ultrapassar 72 horas. Homogeneizar delicadamente a amostra.



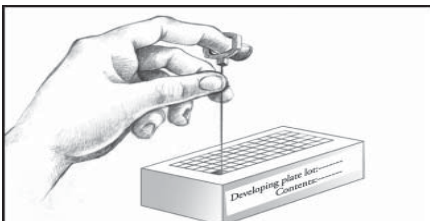
4. Com a pinça perfurar o alumínio protetor do poço da linha (A) da placa reveladora. Um poço para cada amostra. Se for analisar por exemplo 4 amostras, perfurar os poços da coluna 1,2,3 e 4 da linha A.



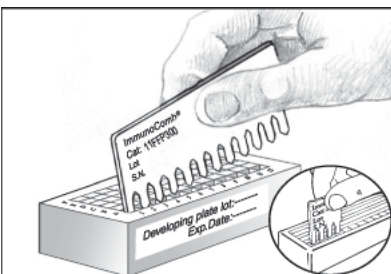
5. Introduzir 5µL de soro. Usar pipeta automática ou o tubo microcapilar (fornecido no kit para 12 testes).



6. Homogeneizar a mistura levantando e abaixando várias vezes o pistão do tubo capilar ou da pipeta automática. Depositar a 2ª amostra no poço da linha (A) coluna 2 e assim sucessivamente

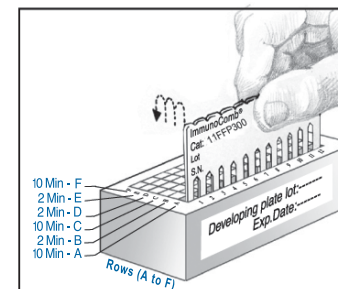


7. Remover o pente (cartão ImmunoComb®) do seu protetor de alumínio, SEM TOCAR NOS DENTES DO PENTE. Destacar a quantidade de dentes igual à quantidade dos soros a testar. Introduzir o pente nos poços abertos na fileira (A) (lado impresso voltado para o operador) e incubar por 10 minutos. Guardar o restante do pente novamente no envelope de alumínio, com o sachê de gel sílica, fechar com fita adesiva e armazenar na geladeira.

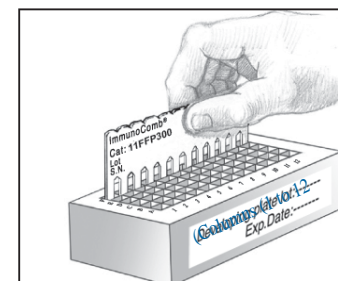


8. Mergulhar e suspender gentilmente o dente do pente pelo menos duas vezes em todas as linhas restantes. Antes de transferir o pente de uma linha para outra, retirar o excesso de solução do dente, batendo a ponta do dente perpendicularmente sobre papel absorvente.

9. Use a pinça para perfurar o alumínio do poço da fileira "B" e insira o pente por 2 minutos. Introduzir o pente no poço da linha (C) deixando-o por 10 minutos e nos poços restantes das linhas (D) e (E) por 2 minutos, insira no poço da linha (F) por 10 minutos e depois retorne ao poço da linha (E) por 2 minutos para fixar a cor.



10. Remover o pente, retirar o excesso de solução dos dentes, batendo a ponta do dente perpendicularmente sobre papel absorvente. Aguardar até secar. Fazer a leitura.



## VIII. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- O ponto superior no dente é o Controle Interno, deve apresentar cor cinzenta escura.
- O ponto médio do dente é a referência positiva. O tom da cor é o mesmo gerado por uma resposta positiva significativa de IgG, este ponto deve ser lido como S3 na CombScale, escala de S0 a S6. S3 é considerado "cutoff" do nível do anticorpo IgG, que é equivalente a um resultado positivo.
- O ponto inferior do dente de acordo com a intensidade da cor, informará o nível de IgG contra FCoV presente no soro do gato examinado. O tom da cor dos pontos inferiores deverão ser comparados com a cor do ponto médio da referência positiva.
- Cor mais fraca do que a referência positiva indica uma resposta baixa.
- Os Gatos acometidos por PIF geralmente tem altos níveis de anticorpos.
- Resultados negativos menores que S1 indicam que o gato não foi exposto ao vírus e está livre do FCoV.

**Para a leitura com a escala de tons de cinza deverão ser seguidos os seguintes passos:**

1. Alinhar o pente (CombScale) com os tons de cinza dos retângulos da escala. Parear o ponto do controle positivo do pente (ponto médio), com o retângulo cuja tonalidade de cinza seja mais parecida.
2. Marcar o retângulo escolhido e agora deslizar a régua amarela com números, até o C+ parear com o retângulo escolhido. Fixar a régua dentro desta posição durante a leitura. Esta etapa calibra o C+ S3.

