

ImmunoComb

Feline VacciCheck

PANLEUKOPENIA, HERPES VIRUS & CALICI VIRUS IgG ANTIBODY TEST KIT

Teste para Detecção Simultânea dos Anticorpos IgG da
Panleukopenia, Herpesvirus e Calicivirus dos felinos

INSTRUÇÕES DE USO



Proprietário e Fabricante: Biogal Galed Laboratories, Galed, 19240 Israel
Tel: 972-4-9898605 / Fax: 972-4-9898690 e-mail: info@biogal.co.il www.biogal.co.il

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
Responsável Técnica: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV PR nº 3288
SAC info@vpdiagnostico.com.br www.vpdiagnostico.com.br

I.FINALIDADE DO KIT

Este kit tem a finalidade de determinar no soro de felinos, o título de anticorpos IgG do Vírus da Panleucopenia Felina (FPLV), do Herpesvírus Felino (FHV) e do Calici Vírus Felino (FCV). O objetivo principal deste kit, é fornecer uma ferramenta útil para avaliar o estado da imunidade de gatos, relativo a estes três patógenos. Como tal, ele pode determinar o título de IgG antes e após a vacinação ou a validação da.

II.INFORMAÇÕES GERAIS

O Vírus da Panleukopenia Felina (FPLV), Herpevírus Felino (FHV) e Calici Virus Felino (FCV) são reconhecidos como importantes causas de doença e morte em gatos. Os gatinhos são mais suscetíveis a FPLV, FCV e FHV, especialmente após o desmame quando anticorpos maternos protetores (MDA) diminuem. Às vezes MDA podem realmente interferir com vacinas que são aplicadas para a imunização.

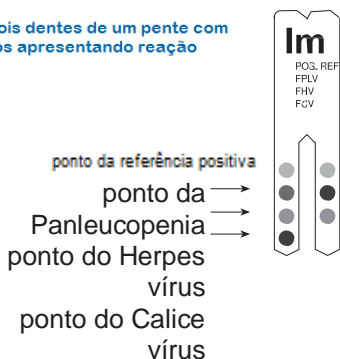
Em muitos países, os programas de vacinação reduziram significativamente, mas não eliminaram a incidência dessas doenças. Assim, FPLV, FCV e FHV continuam a ser motivo de grande preocupação clínica entre médicos veterinários em todo o mundo e ainda representam um desafio diagnóstico.

III.COMO FUNCIONA O IMMUNOCOMB?

- O Kit ImmunoComb contém dois componentes principais: um cartão de plástico em forma de pente, a seguir designado o Pente e um multi compartimento de desenvolvimento, a Placa
- O Pente tem 12 dentes - suficientes para 12 testes. Cada dente será introduzido em uma coluna correspondente de poços na placa de desenvolvimento. Testes individuais ou múltiplos são processados, destacando a quantidade de dentes do pente.
- Antígenos purificados FPLV, FCV e FHV são adsorvidos em pontos de teste de cada dente do pente. O ponto mais superior é uma referência positiva. Antígeno purificado de FPLV está no ponto médio superior, antígeno purificado de FHV no ponto médio inferior e antígeno purificado de FCV está no ponto inferior (ver figura 1).
- A primeira etapa do ensaio é pipetar soro, plasma ou amostras de sangue inteiro no poço da linha A do multi-compartimento da placa reveladora..
- Em seguida, o pente é inserido no(s) poço (s) com a amostra (s) e transferido 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 felino.
- 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 secção III).

FIG 1. Dois dentes de um pente com os pontos apresentando reação



VI. DESCRIÇÃO

Panleukopenia Felina (FPLV também conhecida como cinomose ou enterite infecciosa felina) é uma doença viral altamente contagiosa que pode matar, gatinhos e gatos adultos não vacinados. Os sintomas incluem início súbito de febre, falta de apetite, desidratação, depressão, vômitos e tonturas. Gatos infectados podem apresentar diminuição do número de células no sangue.

Herpesvírus Felino é causada por FHV do tipo 1, também conhecido como rinotraqueíte felina viral.

Os sintomas incluem espirros, tosse, fotossensibilidade, edema conjuntival, ocular e corrimento nasal. Também febre, depressão e falta de apetite. Úlceras da córnea podem desenvolver-

se, o que pode levar a infecções graves e mesmo à cegueira.

Calici Virus Felino é um vírus respiratório, causa uma doença semelhante um resfriado humano. É um vírus RNA, e é mais resistente do que o Herpesvírus Felino, embora os seus sintomas podem aparecer menos grave. Os sintomas são semelhantes aos de FHV, mas geralmente incluem úlceras na língua. Pneumonia pode se desenvolver, levando a altas taxas de mortalidade em filhotes.

V. DIAGNÓSTICO

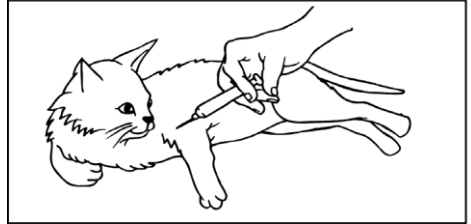
Diagnóstico de FPLV, FCV e FHV é muitas vezes feito com base em sinais clínicos. Alguns dos sinais são comuns a duas ou as três doenças.

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.

Sorologia, medindo a quantidade de anticorpos IgG específicos que circulam no sangue, proporciona o meio para monitorar o estado de imunidade do gato ou depois da infecção ou vacinação. A vacinação adequada dos gatinhos e gatos lhes permite serem protegidos contra as doenças infecciosas graves dos felinos. No entanto, uma vez que as vacinas nem sempre conferem imunidade adequada, é aconselhável monitorar o estado sorológico do gato, e vacinar se necessário.

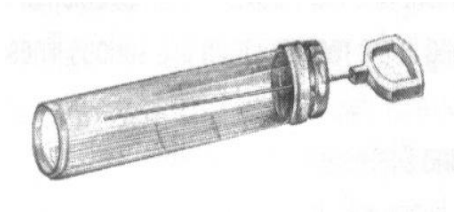
VII.PASSO A PASSO DO IMMUNOCOMB

1. Realizar o teste preferencialmente em
2. sala com temperatura entre 20-25 °C.
3. Deixar todos os ingredientes do kit por
4. 60-120 minutos a temperatura ambiente ou somente a placa por 22 minutos a 37 °C. Homogeneizar delicadamente a placa de desenvolvimento em movimentos basculantes.

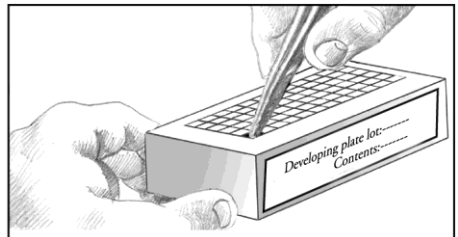


(1) Obter a amostra de sangue

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



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



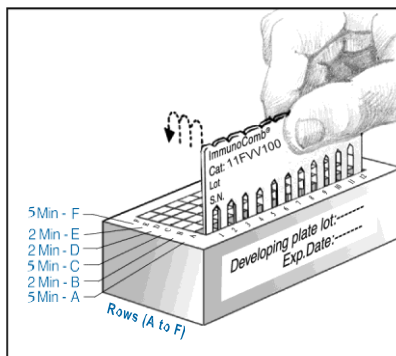
(4) Depositar uma amostra na cavidade da fileira **A**. Levantar e abaixar o pistão da pipeta/tubo capilar, várias vezes para homogeneizar a amostra e o diluente do poço.

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

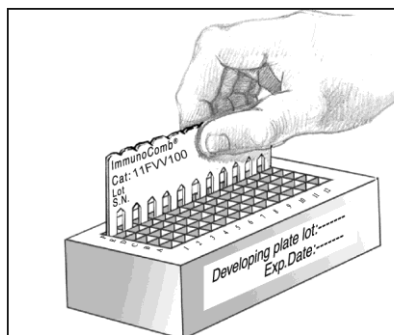
* Unidade de 40 tubos capilares e um pistão podem ser adquiridos mediante solicitação

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



(7) Para fixar a cor retorne o pente para o **poço E** por **2 minutos**. Retire o pente e deixar secar entre 1-10 minutos. NÃO SEQUE COM PAPEL



VIII. LENDO E INTERPRETANDO OS RESULTADOS

O ponto superior é o ponto da 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 FPLV com título de 1:80, na técnica de HI, de anticorpos com título 1:16 anti FHV na técnica de soroneutralização e anticorpos com título de 1:32 anti-FCV na Técnica de Soroneutralização. Ao usar o CombScale, este local deve **ser lido como S3 (ver secção IX).**

O ponto médio superior ,do pente, dá o resultado de anticorpos IgG anti-FPLV na amostra.

O ponto médio inferior,do pente, dá o resultado de anticorpos IgG anti-FHV na amostra.

O ponto inferior, no dente do pente, dá o resultado dos anticorpos IgG anti- FCV na amostra.

Comparar o tom da cor de FPLV, FHV e pontos de teste FCV com o ponto de referência positiva (separadamente).

Um tom de cor que é igual ou mais escuro do que o ponto de referência é considerado resposta positiva.

Um tom de cor tênue de S1 ou menos é considerado um resultado negativo.

Para avaliar a pontuação de anticorpos usar o CombScale fornecido no kit (ver secção IX).

■ O Pente seco pode ser mantido como registro.

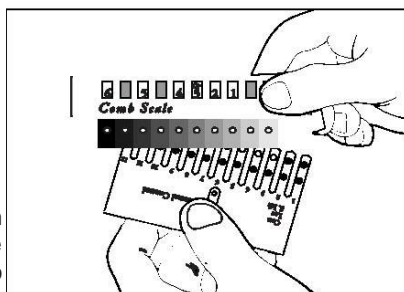
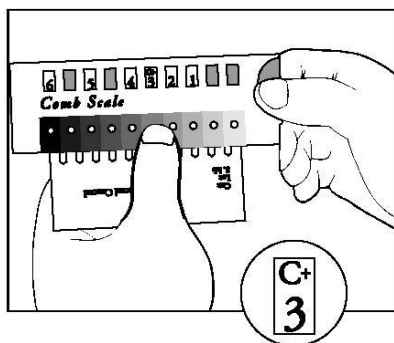
IX. LENDO OS RESULTADOS COM A COMBSCALE

IX. LEITURA COM A COMBSCALE

1. Alinhar o pente (CombScale) com os tons de cinza dos retângulos da escala. Parear o ponto do controle positivo do pente (ponto superior), com o retângulo cuja tonalidade de cinza seja mais parecida.

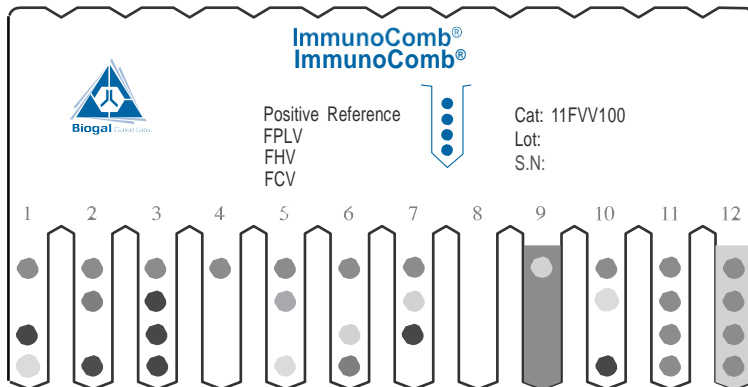
2. Marcar o retângulo escolhido e agora deslizar a régua amarela com números, até o C+ parear com o retângulo escolhido. **Fixar a régua dentro desta posição durante a leitura.** Esta etapa calibra o C+ S3.

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.



Outra forma de ler os resultados é usando o CombScan. É um programa de software que utiliza um computador e um escaner compatível com TWAIN. Quando é colocado o pente no escaner, o programa traduz os resultados **da cor** em valores numéricos. O CombScan além dos resultados, armazena os dados. É fornecido gratuitamente, mediante solicitação.

X. EXEMPLO DE TESTE



Dente Nº	Resultado do FPLV		Resultado do FHV		Resultado do FCV	
	Resultado	Interpretação	Resultado	Interpretação	Resultado	Interpretação
1	S0	Negativo	≥S5	Forte Positivo	<S1	Negativo
2	S4	Positivo	S0	Negativo	S6	Forte Positivo
3	≥S5	Forte Positivo	≥S5	Forte Positivo	≥S5	Forte 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	Forte Positivo	S0	Negativo
8*		Inválido		Invalido		Inválido
9**		Inválido		Inválido		Inválido
10	<S1	Negativo	S0	Negativo	≥S5	Forte Positivo
11	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo
12***	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo

Observações

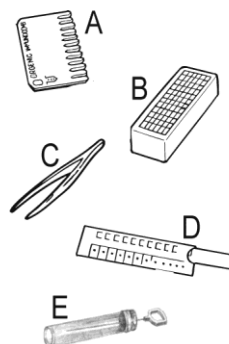
- * Referência positiva não reagiu. Repetir o teste.
- ** Forte background. Repetir o teste.
- *** Forte background com resultado positivo.

XI. ESTOCAGEM E MANUSEIO

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 a 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 a 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. COMPONESTES DO KIT

Componentes	12 TESTES	120 TESTES
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 capilar com 12 tubos & um pistão	1	Incluído caso solicitado
F. Instruções de uso	1	1



XIII. REFERÊNCIAS

- AAHA Vaccine Task Force. (2006). JAAHA, 42, 80-89.
DiGangi et al. (2011). J Feline Med Surg. 13(12): 912-918.
Lappin et al. (2002). J Am Vet Med Assoc. 220(1), 38-42 .
Mouzin et al. (2004). J Am Vet Med Assoc. Jan 1, 224(1), 61-66.
Waner et al. (2006). J Vet Diag. Invest. 18. (3), 267-270.

Para obter assistência adicional, contatar nosso distribuidor local, JMR Trading Ltda, info@jmrtrading.com.br ou Laboratories Galed Biogal diretamente pelo E-mail: info@biogal.co.il ou pelo tel: 972-4-9898605 / fax: 972-4-9898690.