

ImmunoComb

FELINE TOXOPLASMA & CHLAMYDOPHILA ANTIBODY TEST KIT

Kit de teste para detecção de anticorpos IgG de
Toxoplasma gondii e Chlamydophilose felina

USO VETERINÁRIO

Nº Cat. do Produto: 50FTC201/50FTC210

PRODUTO IMPORTADO



Proprietário e Fabricante: Biogal Galed Laboratories Asc. Ltd., Galed, 19240000 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 (41)3779-2130 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br
Responsável Técnica: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV PR nº 3288

I. FINALIDADE DO KIT

O kit Feline Toxoplasma & Chlamydomphila Antibody Test Kit determina no soro de gatos, o anticorpo IgG da *Toxoplasma gondii* e *Chlamydomphila sp.* O principal objetivo do presente kit consiste em proporcionar uma ferramenta útil para avaliar o estado de imunidade em gatos, relativas a estes agentes patogênicos e para ajudar no diagnóstico de casos clínicos.

II. INFORMAÇÕES GERAIS

Toxoplasma gondii e *Chlamydomphila felis* infectam gatos em todo o mundo, causando doença, especialmente em gatos jovens, porém os gatos adultos também podem ser infectados. A toxoplasmose constitui preocupação especialmente zoonótica. Não existe vacina contra *T. gondii*, somente contra *Chlamydomphila*. O monitoramento do nível de anticorpos por sorologia pode auxiliar no 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 IgG contida no sangue do paciente felino, são obtidas em torno de 40 minutos.

IV. COMO FUNCIONA O IMMUNOCOMB?

■ O Kit ImmunoComb contém dois componentes principais: um cartão de plástico em forma de pente e uma placa com multi compartimento para desenvolvimento do teste.

■ O Pente tem 12 dentes - suficientes para 12 testes. Cada dente será utilizado em uma coluna correspondente de poços na placa de desenvolvimento. Amostras individuais ou múltiplas

podem ser testadas, basta destacar a quantidade desejada de dentes do pente.

■ Antígenos de *Toxoplasma* e *Chlamydomphila* são adsorvidos em pontos em cada dente do pente. O ponto superior é referência positiva. Antígeno purificado de *Chlamydomphila* está adsorvido no ponto médio, o antígeno purificado de *Toxoplasma gondii* adsorvido no ponto inferior (ver figura na secção X).

■ A primeira etapa do ensaio é depositar amostra de soro ou plasma, no poço da linha A da placa de desenvolvimento.

■ Em seguida, o pente é inserido no poço (s) já com a amostra (s) e transferidos para os poços restantes (B-F), em intervalos de tempo informados na instruções passo a passo (ver secção VII). Os anticorpos IgG específicos da espécie, se presentes, ligam-se aos antígenos adsorvidos nos pontos do pente.

■ O pente é transferido para o poço seguinte (linha B) em que os anticorpos não ligados são lavados.

■ O pente é inserido no poço seguinte (linha C), que contém enzima marcada anti-anticorpos IgG de felino, que ligam-se aos complexos antígeno-anticorpo .

■ Após mais duas lavagens (linhas D & E), o pente é movido para o poço seguinte (linha F), onde ocorre o desenvolvimento de cor através de uma reação enzimática.

■ A intensidade do resultado de cor corresponde diretamente ao nível de anticorpos na amostra. Os resultados são registrados com o ponto de Referência Positiva e CombScale (ver secção IX).

V. DESCRIÇÃO DAS DOENÇAS

Toxoplasmose

Toxoplasma gondii, parasita intracelular obrigatório que pode infectar o sistema nervoso central de animais de sangue quente, incluindo seres humanos. A infecção é adquirida, principalmente, pela ingestão de oocistos ou cistos teciduais. Os gatos têm um papel importante na propagação de toxoplasmose, porque são os únicos mamíferos que segregam oocistos resistentes através das suas fezes. Oócitos ingeridos podem migrar para o músculo e cérebro. *T. gondii* também pode ser transmitido através da placenta e leite. As principais fontes de infecção de um gato são através de carne crua, presa infectada, ainda filhotes no útero ou através do leite. No entanto, em gatos saudáveis, a infecção será geralmente assintomática.

Os sinais de toxoplasmose em animais de estimação são inespecíficos: febre, perda de apetite, depressão. Outros sinais podem ocorrer, dependendo se a infecção é aguda ou crônica, e onde o *T. gondii* é encontrado no corpo, os mais graves são localizados no sistema nervoso.

Chlamydiose

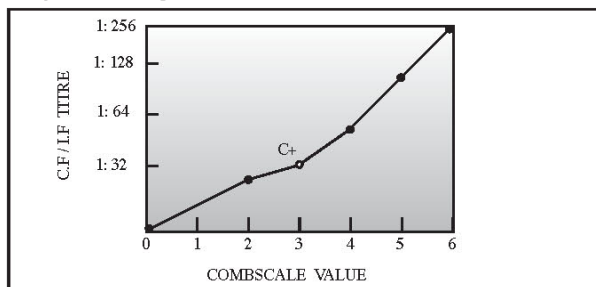
Chlamydophila felis (anteriormente *Chlamydia psittaci* var. *Felis*) é uma bactéria intracelular obrigatória, com paredes de células que se assemelham

às de bactérias Gram-negativas. *C. felis* é principalmente um patógeno conjuntival, capaz de causar conjuntivite aguda a crônica, com blefaroespasma, quemose, congestão e secreção ocular serosa a mucopurulenta. Febre transitória, inapetência e perda de peso, pode ocorrer logo após a infecção, embora a maioria dos gatos, aparentemente, continuam bem e continuam a comer. Os sinais clínicos melhoram após algumas semanas, mas conjuntivite leve, muitas vezes, persiste por meses.

VI. DIAGNÓSTICO

A medição de anticorpos de *T. gondii* no sangue é o melhor método para diagnosticar a toxoplasmose. Às vezes, os oocistos podem ser encontrados nas fezes, mas são tão semelhantes a alguns outros parasitas que este não é um método confiável de diagnóstico. Além disso, os gatos lançam os oocistos apenas por um curto período de tempo (cerca de 2-3 semanas) e muitas vezes não são mais vistos mesmo quando eles estão mostrando sinais da doença. PCR pode ser utilizado para confirmar a infecção e para o monitoramento da eficiência do tratamento. Entre todas as técnicas de sorologia existentes: teste de aglutinação em látex (LAT), Imunofluorescência (IF) e ELISA, a técnica dot-ELISA, utilizada pelo ImmunoComb, é a técnica mais prática e confiável.

Fig. 1 Relationship between the CombScale's "S" value and the C.F. or I.F.



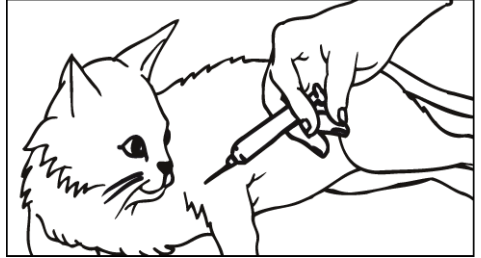
VII. TÉCNICA PASSO A PASSO DO IMMUNOCOMB

Preferencialmente realizar o teste em sala com temperatura entre 20^o -25^o C.

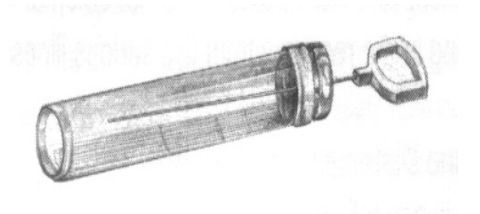
Misturar os reagentes agitando suavemente a placa várias vezes antes do uso.

Antes de realizar o teste manter todos os elementos do kit e amostras à temperatura ambiente por 60-120 minutos ou incubar somente a placa durante 20 minutos a 37 °C.

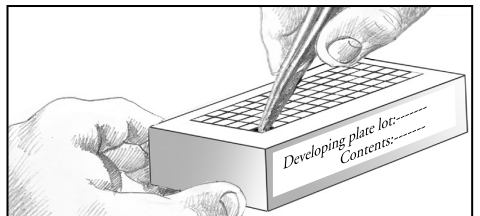
(1) Coleta do sangue felino.



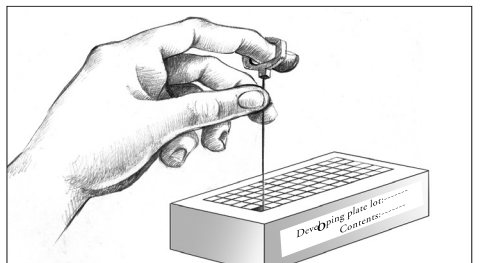
(2) Usar uma pipeta calibrada ou tubo capilar* e pipetar 5µL do soro/plasma.



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



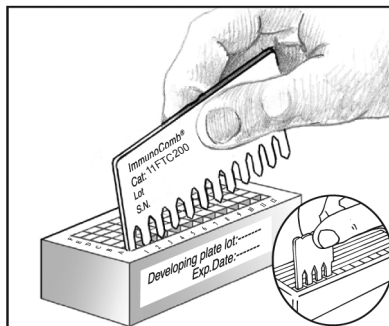
(4) Depositar uma amostra na cavidade da fileira A. Levantar e abaixar o pistão da pipeta/tubo capilar, várias vezes para homogeneizar a amostra e o diluente do poço.



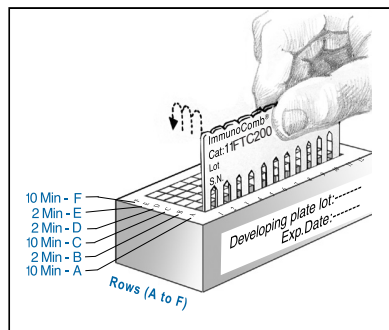
Não abra qualquer cavidade da linha A ou de outras linhas que você não pretenda usar.

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

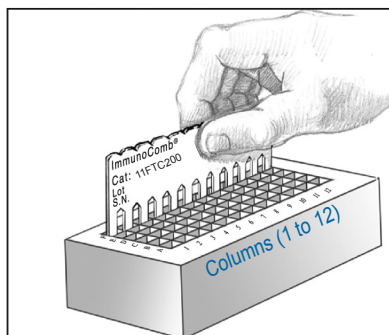
(5) Retire o pente de seu envelope de proteção. Para testar menos do que 12 amostras, cortar ou romper o pente por dobragem nos entalhes, para a quantidade de testes necessários. Inserir o Pente no poço aberto (s) **na linha A** (o lado impresso de frente para você) e incubar por **10 minutos**. Para 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 teste.



(6) Use a pinça para furar o alumínio do próximo poço (**linha B**), e introduza o pente por **2 minutos**. Antes de transferir o pente de um poço para o seguinte, perfure o alumínio do poço seguinte. Gentilmente retire o excesso do líquido que está no pente batendo sobre um lenço absorvente colocado em cima de uma superfície plana. Introduza o pente no poço (**linha C**) por **10 minutos**. Introduza o pente nos demais poços (**linha D & E**) por **2 minutos** cada e no último poço (**linha F**) por **10 minutos**



(7) Quando a cor dos pontos estiverem desenvolvidas na linha F, retorne o pente para a linha E por **2 minutos** para fixação da cor. Retire o pente e deixe secar entre 1 e 10 minutos.



VIII. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

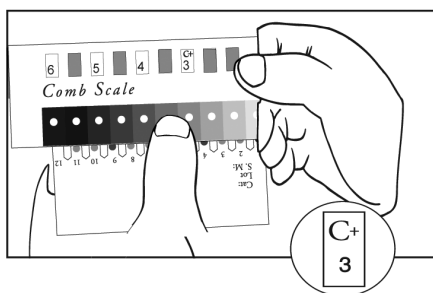
- O ponto superior é a Referência Positiva do teste e deve ter uma cor roxo-cinza. Esta é a mesma tonalidade de cor gerada com um soro que tem uma reação positiva anti-anticorpos de Chlamydomphila com título de 1:32 no teste de Fixação de Complemento e anticorpos anti Toxoplasma com título 1:32 na técnica de Imunofluorescência (veja Fig.1). Ao fazer a leitura utilizando a CombScale, este ponto deve ser lido como S3 (veja seção IX).
- O ponto mediano do Pente dá o resultado da IgG anti Chlamydomphila.
- O ponto inferior do Pente dá o resultado da IgG anti Toxoplasma.
- Compare a tonalidade da cor do ponto da Chlamydomphila e Toxoplasma com o ponto Referência Positiva (separadamente).
- A tonalidade de cor igual ou mais forte que o ponto da Referência positiva considera-se resultado positivo.
- Tonalidade igual ou mais fraca do que S1 considera-se resultado negativo.
- Para avaliar a pontuação de anticorpos, utilizar o CombScale fornecido no kit (ver seção IX)

IX. LEITURA COM O COMBSCALE

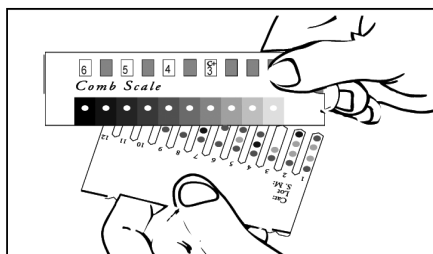
O valor CombScale S é o número que aparece na janela amarela correspondente ao tom da cor, do ponto referência positiva, que é calibrada em S3.

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

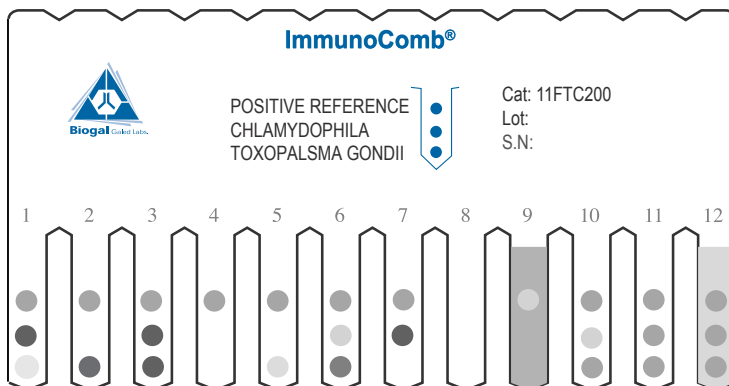


Enquanto mantém a régua fixa, encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do ponto do resultado do teste desejado (um dos pontos mais baixos). O número que aparece na janela acima é a pontuação CombScale (S0-S6). Repita este passo com cada ponto de teste separadamente.



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

IX. EXEMPLO DE TESTE



Dente No.	Resultados da <i>Chlamydomphila</i>		Resultados da <i>Toxoplasma</i>	
	Resultado	Interpretação	Resultado	Interpretação
1	≥S5	Fortemente positivo	<S1	Negativo
2	S0	Negativo	S6	Fortemente Positivo
3	≥S5	Fortemente positivo	≥S5	Fortemente positivo
4	S0	Negativo	S0	Negativo
5	S0	Negativo	S1-2	Inconclusivo
6	S1-2	Inconclusivo	S4	Positivo
7	≥S5	Fortemente positivo	S0	Negativo
8*		Inválido		Inválido
9**		Inválido		Inválido
10	S1-2	Inconclusivo	≥S3	Positivo
11	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo
12***	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo

Observações:

* O Ponto Referência (+) não reagiu. 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

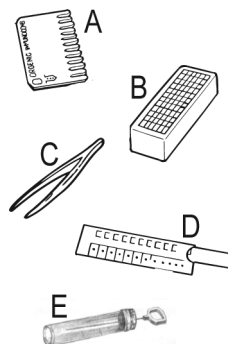
e-mail: info@biogal.co.il - website: www.biogal.co.il

XI. 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 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. COMPONENTES DO KIT

Components	Kit com 12 testes (50FTC201)	Kit com 120 testes (50FTC210)
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

- Dubey (1986). Feline Practice 16: 12-26, 44-45.
- Montoya & Liesenfeld (2004) Lancet, 363: 1965-1976.
- Molina & Ridley-Dash (2008) USM R & D J: 16(1): 53-55.
- Sykes JE (2005) Feline chlamydia. Clin Tech Small Anim Pract. 20(2):129-34.

Biogal's
ImmunoComb