Instruções de Uso

ImmunoComb

BOVINE NEOSPORA

Kit de teste para determinação de anticorpos IgG de *Neospora caninum* no soro ou leite

USO VETERINÁRIO

N° Cat. do Produto: 50BNC103/50BNC130

PRODUTO IMPORTADO

Biogal Galed Labs.

Instruction Cat. No: 63BNC53317.02.15

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 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br
Licenciado no Ministério da Agricultura sob o n° 10.220/2019
Responsável Técnica: Dra. Margareth Carvalho S. Agottani CRMV PR nº 3288

I. FINALIDADE DO KIT

Para determinar o nível do anticorpo IgG de *Neospora caninum*, no sangue total, plasma / soro ou leite de bovinos, visando o diagnóstico de Neosporose em bovinos.

II. O QUE É O TESTE IMMUNOCOMB?

O ImmunoComb é um kit portátil DOT-ELISA auto-suficiente. Um ensaio sensível, que detecta os níveis de anticorpos em sangue, soro / plasma ou leite. O ImmunoComb fornece resultados em cerca de 38 minutos.

III. COMO FUNCIONA O IMMUNOCOMB?

- O kit é baseado no princípio Imunoensaio em fase sólida, DOT-ELISA. Contém 2 componentes principais: 1 cartão plástico ImmunoComb (Fig. 1) e 1 placa reveladora (Fig. 2) contendo reagentes para o teste.
- O cartão de plástico tem formato de um pente com 12 dentes. Cada dente testa 1 uma amostra.
- Em cada dente está adsorvido em um ponto o antígeno purificado de *Neospora caninum*.
- As amostras (que podem ser leite, plasma ou soro) deverão ser depositadas em poços separados na fileira A da Placa Reveladora.
- Amostras de Controle Positivo e Controle Negativo, que são fornecidas no kit, devem ser aplicadas em poços separados na linha A.
- O pente é inserido nos poços com as amostras, de modo que os anticorpos presentes, liguem-se aos antígenos adsorvidos no dente do pente.
- Cada placa pode ser usada para testar amostra individual ou qualquer número de amostras até um total de 10, destacando-se a quantidade de dentes do pente e utilizando a coluna correspondente de poços na placa de desenvolvimento. Cada execução deve incluir Controle Positivo e Controle Negativo.
- Anticorpos não ligados são lavados na segunda fila.
- A próxima linha C, contém conjugado o anticorpo IgG anti bovino marcado com uma enzima. Enquanto o pente está imerso neste “conjugado”, os anticorpos ligados serão marcados.
- Depois de duas fases de lavagem, o pente é inserido na linha em que a reação enzimática acontece. Isto gera uma mudança de cor e a sua intensidade indicará a quantidade de anticorpos presentes em cada amostra.
- Intensidade da cor roxa-cinzento obtida nos pontos devem ser convertidos para os níveis de anticorpos, usando o CombScale (Escala de Cores).
- Desenvolvimento de cor no Controle Interno (pontos superiores) indicam que o teste é válido.

Figura 1

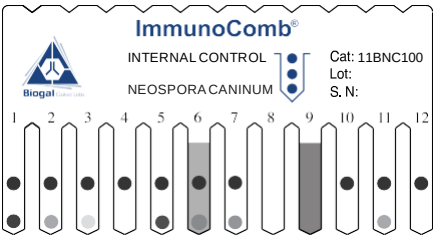
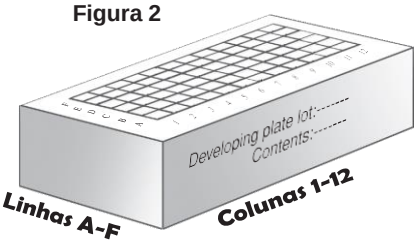


Figura 2

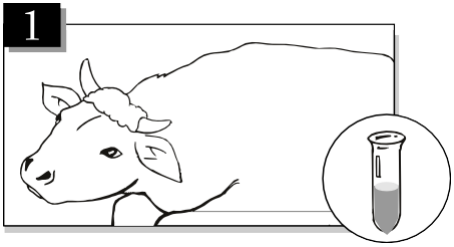


IV. EXPLICAÇÃO PASSO A PASSO DO TESTE

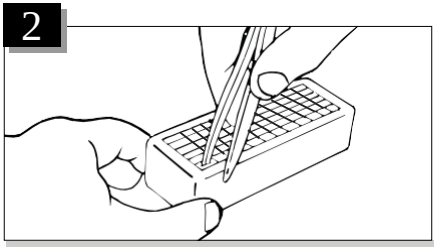
Para obter melhores resultados realizar o teste em temperatura ambiente entre 20-25 ºC.

Antes de realizar o teste manter todos os elementos do kit e amostras à temperatura ambiente por 60 - 120 minutos ou incubar apenas a placa durante 22 minutos 37 ºC.

Para amostras soro/plasma ou leite

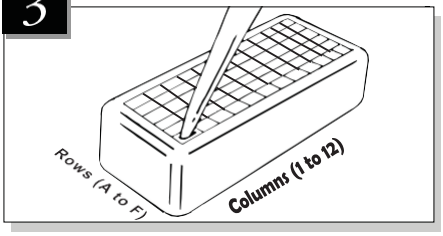


Ao testar o soro / plasma pipetar 5µL. Ao testar o leite, utilize 100 µL de leite fresco no máximo com 2 dias.



Com a pinça perfurar a proteção de alumínio da linha A. Um poço para cada amostra.

3

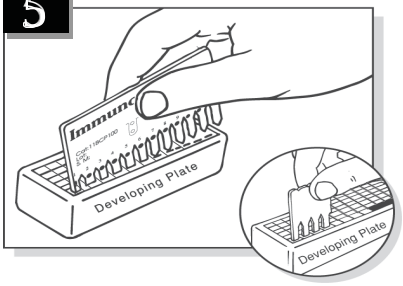


Dispensar amostra em cada poço utilizando uma pipeta, misturar pressionando o êmbolo algumas vezes. Prosseguir para o passo 4.

4

Abrir 2 poços consecutivos para o Controle Positive e Negativo. Pipetar 5µl do soro Controle Positivo (C+) inserindo no poço A próximo a última amostra. Misturar bem o soro no poço. Fazer o mesmo com o soro Controle Negativo (C-) no poço seguinte.

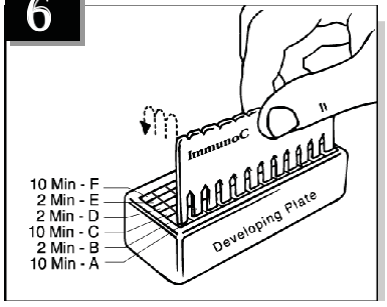
5



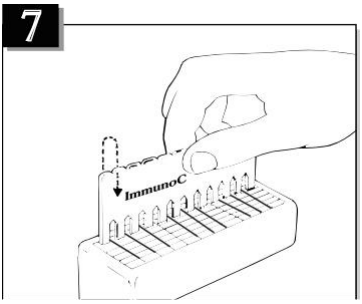
Remover um pente de sua embalagem protetora e inserir (com o lado impresso de frente para o operador) na **Linha A**. Incubar durante **10 minutos**. Para melhorar a mistura, mova suavemente o pente **para cima e para baixo**, no início de cada incubação (cada linha). Repetir este movimento, pelo menos, duas vezes em todas as demais linhas. Para utilizar um pente parcial, destacar o número de dentes necessários incluindo os Controles Positivo e Negativo.

Manter os dentes restantes, não utilizados, selados em seu envelope original para uso posterior. Em cada passo, abrir e usar apenas os poços correspondentes na placa de desenvolvimento.

6

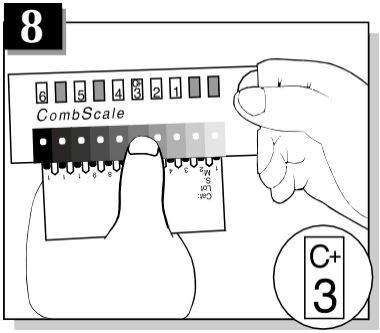


Perfurar o aluminio dos poços da **linha B** com a pinça. Antes de transferir o pente de uma linha para outra, retirar o excesso de solução dos dentes, batendo a ponta dos dentes perpendicularmente sobre papel absorvente. Inserir o pente nas cavidades da **fileira B** e incubar por **2 minutos**, transferir o Pente para a **linha C** e incubar por **10 minutos**. Coloque o Pente na **linha D** por **2 minutos**, **Linha E** por **2 minutos** e **Linha F** por **10 minutos**, permitindo que o processo de reação da cor seja realizado.

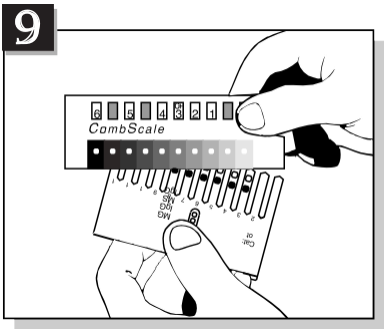


Após a conclusão do ciclo da **Linha F,** transferir o Pente de volta à **Linha E** e incubar por **2 minutos** para fixação da cor.

V. LEITURA DO RESULTADO USANDO A COMBSCALE



A. Secar o pente a temperatura ambiente. Quando o pente **estiver completamente seco**, alinhá-lo com o CombScale calibrador de cor fornecido no kit. Encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do **ponto de Controle Positivo**. Deslize a régua amarela até a marca C+ aparecer na janela acima da cor que você tenha encontrado. **Segurar a régua nesta posição durante toda a leitura**. Este passo realmente calibra a C+ a S3, que é o ponto de "cut-off" para que os pontos das amostras testadas sejam comparados.



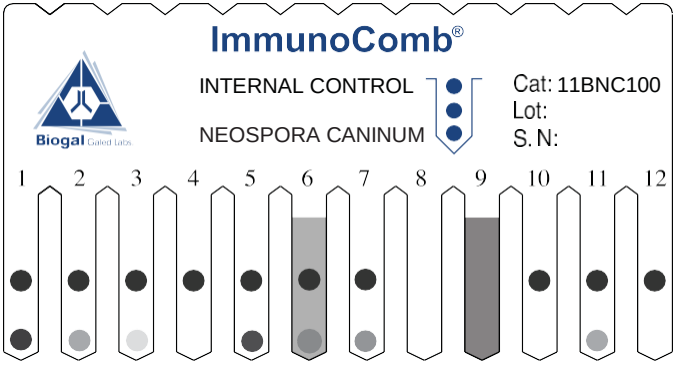
B. Ler cada um dos pontos separadamente: Escolha o tom de cor mais adequada e leia o título nas janelas amarelas.

Outra maneira de ler o resultado é usando a CombScan, um programa, que utiliza um computador e um scanner compatível TWAIN. Quando é colocado um pente no digitalizador, o programa traduz os resultados de cor em valores numéricos. O CombScan fornece aos laboratórios a leitura dos resultados ImmunoComb e conserva os dados. É fornecido gratuitamente, mediante solicitação.

VI. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- Ler o resultado de cada ponto separadamente.
- O ponto inferior no cartão ImmunoComb é do anticorpo anti- *Neospora caninum*.
- O Título do anticorpo IgG anti- *Neospora caninum* é determinado comparando-se a intensidade da cor de cada amostra com o Controle positivo (C +), que é calibrado para o título de 1:400 no teste de Imunofluorescência (IFA). Instruções de leitura são descritos na seção VII. Veja as ilustrações 9 e 10 para mais detalhes.
- Amostras de soro/plasma com intensidade de cor idêntica ou superior ao Controle Positivo são consideradas positivas. Amostras de leite são consideradas positivas em pontos de corte de S2.
- O Controle Negativo consiste de soros não-imunes e deve ser lido como zero (S = 0). Soro com a intensidade da cor como de S0 e S1 são considerados negativos. Amostras de leite com tonalidade S1, são consideradas suspeitas.
- Para ajudá-lo a interpretar os resultados, consulte o exemplo do pente e as observações abaixo.

Exemplo de um teste



DENTE No.	RESULTADO & OBSERVAÇÕES
1,5	Fortemente positivo – Reagente para Neospora.
2 ,7	Positivo - Reagente para Neospora.
3	Baixa reação para Neospora - Considerado negativo. Em caso de leite, considerar suspeito.
4,10	Reação negativa para Neospora.
6	Cor de fundo com reação positiva.
8	Controle interno inexistente - Teste inválido.
9	Cor de fundo forte - Teste inválido.
11	Controle positivo.
12	Controle negativo.

Importante: A margem de erro é semelhante ao procedimento de imunoensaio de enzima. Portanto, um erro em um tom de cor não resultará em um diagnóstico incorreto.

VII. 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 ºC).
- Não tocar com os dedos a ponta dos dentes dos pentes onde está adsorvido o antígeno.
- Não expor a vácuo.

VIII. RISCOS PARA A SAÚDE PÚBLICA DURANTE SUA MANIPULAÇÃO

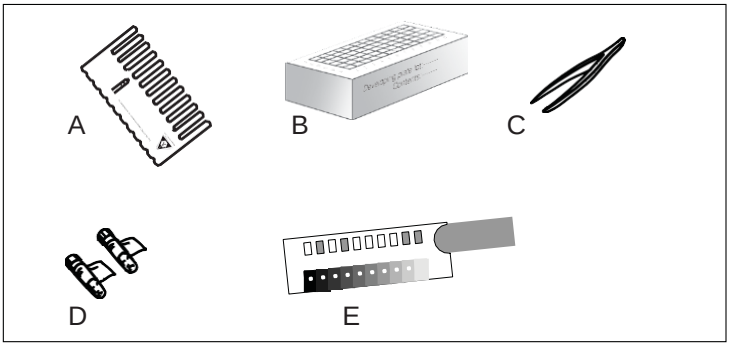
- O kit contem azida sódica, NaN3 0,1%, considerado carcinogênico e material biológico inativado.
- Ao proceder o teste é recomendado utilizar luvas descartáveis e óculos.
- Caso as soluções dos poços caiam acidentalmente nas mãos ou olhos e bancada, lavar com bastante água corrente.
- Eliminar as soluções dos poços primeiramente em frasco com hipoclorito. Ao eliminar no sistema de esgôto deixar escorrer bastante água pelo sistema.
- Manter longe de crianças e animais domésticos.

Para auxílio adicional, contatar:
Distribuidor local pelo telefone/fax: (41) 3779-2130
e-mail: info@vpdiagnositico.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

IX APRESENTAÇÃO

1 caixa de papelão com componentes para 30 testes.
1 caixa de papelão com componentes para 300 testes.



Componentes	Embalagem 30 testes Cat.50BNC103 Quantidade	Embalagem 300 testes Cat.50BNC130 Quantidade
A. Cartão ImmunoComb (embalado em envelope de alumínio)	3	30
B. Placa reveladora	3	30
C. Pinça	1	1
D. Soros de controle positivo e soro de controle negativo	1	1
E. Escala de cores (Combscale)	1	1
Instruções de uso	1	1

X. REFERÊNCIAS

Toolan (2002), *Neospora caninum* in cattle - a clinical perspective.
I Vet J 56(8) 404-410.

Biogal's ImmunoComb