

ImmunoComb

FCoV (FIP)

Kit de teste para detecção de anticorpos IgG

Anti-Coronavírus Felino

PERITONITE INFECCIOSA FELINA (PIF)

Instruções de Uso

USO VETERINÁRIO - PRODUTO IMPORTADO

Nº Cat. do Produto: 50FFP201/50FFP210



Proprietário e Fabricante:

Biogal Galed Laboratories Acs. 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 Mandaguari, 1752 - Pinhais - Paraná-Brasil

Registrado no Ministério da Agricultura sob nº 9.704/2012

Fone: (41)37792130 / 988178372 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br

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

SAC: info@vpdiagnostico.com.br www.vpdiagnostico.com.br

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. O QUE É O TESTE IMMUNOCOMB?

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 Infeciosa 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.

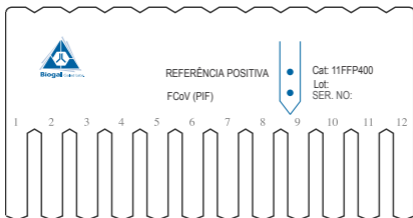
V. O QUE É O TESTE IMMUNOCOMB?

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
- 2 antígenos (**Figura 2**).

Figura 2.

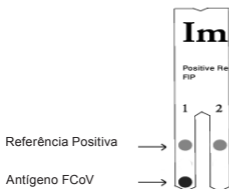
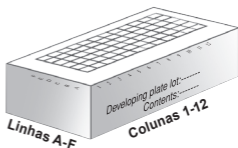


Figure 3.



- 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 gato, 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. 7).
- 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:

MANUSEIO E USO:

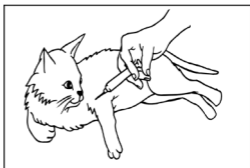
- Para melhores resultados realizar o teste em temperatura entre 20-25°C.
- Armazenar o kit sob refrigeração normal de 2°C a 8°C. Não congelar!
- Não misturar reagente proveniente de kits ou diferentes poços da placa reveladora.
- Não tocar nos dentes do cartão ImmunoComb ao retirar da embalagem ou ao destacar os dentes para o teste. Ao utilizar a placa reveladora, perfurar a cobertura de alumínio de cada poço, obedecendo às instruções de procedimento do teste. Não remover ou rasgar a cobertura de alumínio de uma só vez.
- Não remover e sim perfurar o alumínio somente dos poços suficientes para o teste.

TÉCNICA

OBS.: 1 - Pipeta e ponteiros não são incluídas nos kits com 120 testes.

Antes de realizar o teste, manter todos os componentes do kit e as amostras a temperatura ambiente (20° a 25°C), por 60 a 120 minutos ou incubar apenas a placa durante 22 minutos a 37°C Homogeneizar delicadamente os reagentes invertendo a placa reveladora várias vezes antes do uso.

(1) Obter uma amostra de sangue do gato. Pode ser sangue sem anticoagulante para obtenção de soro. Caso testar com sangue total, coletar amostra com EDTA ou Heparina.



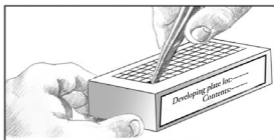
Recomenda-se a utilização de amostras frescas.

- Armazenar sangue inteiro a 2-8°C se o teste for realizado no prazo de 1 dia da coleta. Não congelar amostras de sangue total.
- Armazenar amostra de soro e plasma a 2-8°C se o teste for executado dentro de 3 dias da coleta. Se o teste for realizado após 3 dias da coleta, congelar as amostras a -20°C ou mais.
- Deixar as amostras à temperatura ambiente por 2 horas e homogeneizar bem antes do teste.

(2) Usar a micropipeta. Para amostra de sangue total pipetar 10 μ L (pipetar 2 vezes 5 μ L). Para testar o soro / plasma usar 5 μ L.

(3) Misturar os reagentes da placa invertendo suavemente a placa várias vezes antes de usar.

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



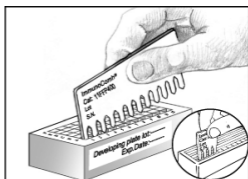
(5) Depositar amostra no poço da fileira A.

Para o teste de soro / plasma usar 5 μ l. Para testar sangue total 10 μ l *. Com a ponteira mergulhada na mistura subir e abaixar o êmbolo da pipeta várias vezes para homogeneizar a mistura. Evitar derramamento e contaminação cruzada de soluções.

* Somente para sangue total: pipetar a amostra com a pipeta fornecida no kit, use a mesma ponta para depositar duas vezes 5 μ l no mesmo poço na linha A.

Não abrir qualquer cavidade da linha A ou de outras linhas que você não pretenda usar. Não retire a proteção de alumínio.

(6) Retirar o pente de seu envelope de proteção. Não tocar nos dentes do pente. Para testar menos do que 12 amostras, cortar o pente por dobragem nos entalhes, para a quantidade de testes necessários ou cortar com uma tesoura.



NOTA: MISTURAR DURANTE A INCUBAÇÃO É CRÍTICO PARA RESULTADOS VÁLIDOS.

****** Para melhorar a mistura, mova o pente para cima e para baixo 3-4 vezes. Durante a incubação, repetir o mesmo processo de mistura 2-3 vezes.

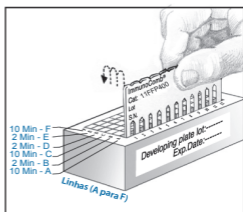
Evite encostar o lado da frente do pente, inclinándolo para a parte de trás durante a mistura.

Retirar o excesso de líquido dos dentes do pente, encostando a ponta do dente em papel absorvente, antes de movê-lo para o próximo poço.

■ Inserir o Pente no poço aberto (s) na linha A (o lado impresso de frente para o operador) e incubar por 10 minutos.

■ Movimentar o pente conforme descrito acima.**

■ Antes de transferir o pente de um poço para outro, perfurar o alumínio do poço seguinte usando a pinça (linha B).



Retirar suavemente o excesso de líquido dos dentes do pente encostando a ponta do dente em papel absorvente, e encaixar o pente, durante 2 minutos na linha B.

- Movimentar o pente como descrito acima.**

- Retirar o excesso.

Inserir pente no poço seguinte (linha C) durante 10 minutos.

- Movimentar o pente como descrito acima.**

- Retirar o excesso. Mergulhar nas cavidades restantes (linhas D & E), durante 2 minutos cada e retirar o excesso, após cada etapa.

- Movimentar o pente como descrito acima.**

- No último poço (linha F) mergulhar o pente durante 10 minutos.

- Movimentar o pente como descrito acima**

- Após a fileira F, mova o pente de volta para a linha E por 2 minutos para fixação da cor.

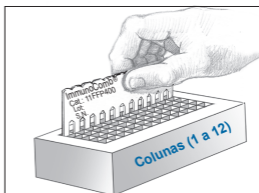
- Retirar o pente, eliminar o excesso da solução da ponta do dente e deixar secar naturalmente por 5 minutos. NÃO SECAR COM PAPEL.

A sequência da técnica pode ser vista no site:

www.vpdiagnostico.com.br

VIII. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

- O ponto superior 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 superior da referência positiva.

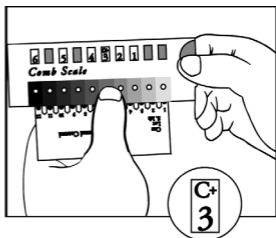
■ Cor mais fraca do que a referência positiva indica uma resposta baixa.

■ 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.

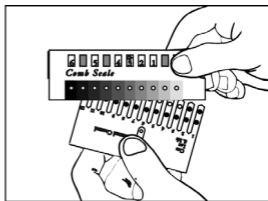
IX. LEITURA DOS RESULTADOS COM O COMBSCALE

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



■ 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.

■ 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.



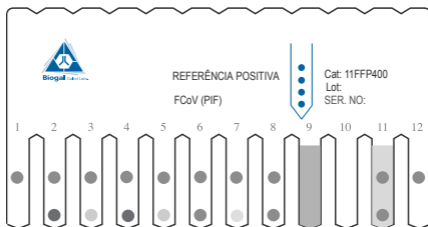
■ O número acima da cor escolhida que aparece na janela é o valor "S" de intensidade. Anotar.

■ Proceder da mesma maneira com os demais dentes.

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

OBS.: o resultado pode ser avaliado por meio do programa CombScan e escaner com compatibilidade TWAIN (cd é fornecido gratuitamente se solicitado) ou leitora CombCan.

X. EXEMPLO DE UM TESTE



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

Tabela 1.

Dente Nº		
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*		Teste inválido.
10**		Teste inválido.
11***	≤S3	Reação medianamente positiva – Relacionado com PIF.

Observações:

* 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: (41)3779-2130,
988178372, 3434-2721

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.com

website: www.biogal.com

XI. 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.

XII. RISCOS PARA A SAÚDE PÚBLICA DURANTE SUA MANIPULAÇÃO

- O kit contém 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 esgoto deixar escorrer bastante água pelo sistema.
- Manter longe de crianças e animais domésticos.

XIII. APRESENTAÇÃO

Componentes	Kit com 12 testes (50FFP201)	Kit com 120 testes (50FFP210)
A. Cartão Plástico ImmunoComb	1	10
B. Placa reveladora	1	10
C. Pinça de plástico	1	1
D. Escala de cores CombScale	1	1
E. Micropipeta para 5 µL	1	Não incluída*
F. Ponteiras capacidade 10 µL	15	Não incluída*
Instruções de uso	1	1

***Para kit de 120 testes, usar micropipeta calibrada: 5µL se amostra de soro ou plasma e 10µL se sangue total.**



XIV. REFERÊNCIAS

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.*

Addie, D. D. (2000). Guest editorial: Clustering of feline Coronaviruses in multicat households. *The Veterinary Journal*, 159, 8-9.

Addie, D. D., et al. (2002). Evaluation of the feline Coronavirus antibody ImmunoComb®. 2nd International FCoV/FIP Symposium, Glasgow, UK.

Kiss, I., et al. (2000). Prevalence and genetic pattern of feline Coronavirus in urban cat populations. *The Veterinary Journal*, 159, 64-70.

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.