

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 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

R. Mandaguari, 1752 – Pinhais – PR

Fone: (41)3779-2130 e-mail: info@vpdiagnostico.com.br

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

Licenciado no Ministério da Agricultura sob nº: 10.208/2017 10/10/2017

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

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, relativo 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 obtidos 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 compartimentos 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* está 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 comparados 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 eliminam oocistos resistentes nas fezes. Oocistos 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, transplacentária 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

Chlamydomphila 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 blefaroespasmos, 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

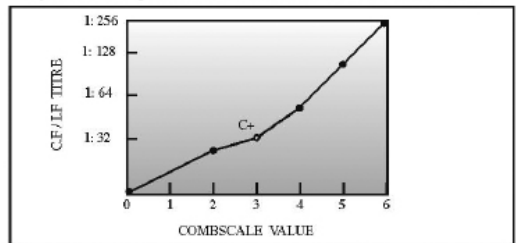
sinais clínicos melhoram após algumas semanas, mas conjuntivite leve, muitas vezes, persiste por meses.

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. 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.

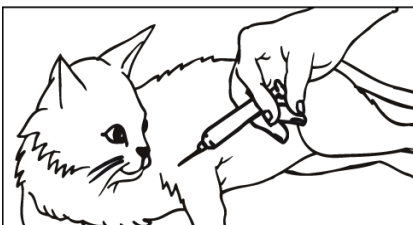
Para melhores resultados realizar o teste em temperatura entre 20-25 °C.

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 25 minutos a 37 °C

OBS.: Pode-se utilizar a placa aquecedora, para aquecimento, das soluções do teste.

Contatar info@vpdiagnostico.com.br

(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.



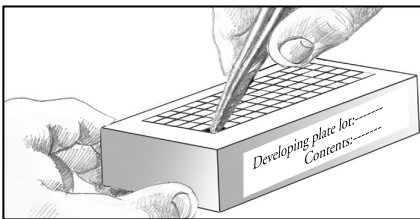
Recomenda-se a utilização de amostras frescas

■ **Armazene sangue inteiro a 2-8°C se o teste for realizado no prazo de 1 dia da colheita. 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 e misturar bem antes do teste.**

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



(3) Misturar os reagentes agitando suavemente a placa várias vezes antes de usar. Usar a pinça para perfurar a tampa de alumínio de proteção da linha A. Um poço para cada amostra.

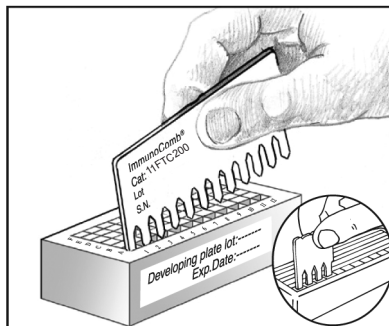
(4) Depositar amostra em poço na fileira A. Para o teste de soro / plasma use 5µl. Para testar sangue total 10µl*. Com a ponteira mergulhada na mistura subir e abaixar o êmbolo da pipeta várias vezes para homogeneizar a mistura. Evitar derramamento e contaminação cruzada de soluções.

*** Somente para sangue total: pipetar a amostra com a pipeta fornecida no kit, use a mesma ponta para depositar duas vezes 5µl 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.

*** Pipeta e ponteiros não são incluídos nos kits com 120 testes.**

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



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

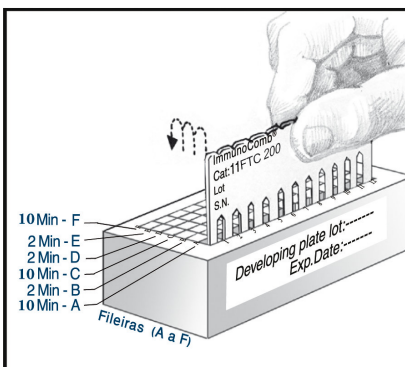
**** Para melhorar a mistura, mova o pente para cima e para baixo 3-4 vezes. Durante a incubação, repetir o mesmo processo de mistura 2-3 vezes. Evite encostar o lado da frente do pente, inclinando para a parte de trás durante a mistura.**

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

■ 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.

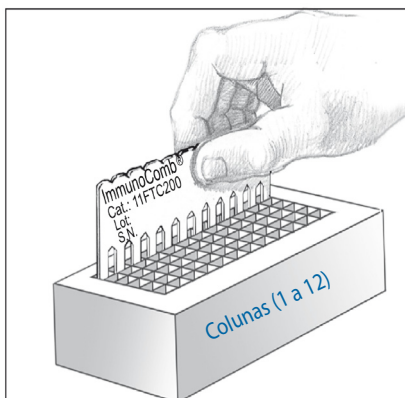
■ **Movimentar o pente como descrito acima****

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

■ Retirar o pente e deixar secar naturalmente por 5 minutos. **NÃO SECAR COM PAPEL.**

A sequência da técnica pode ser vista no site:

www.vpdiagnostico.com.br

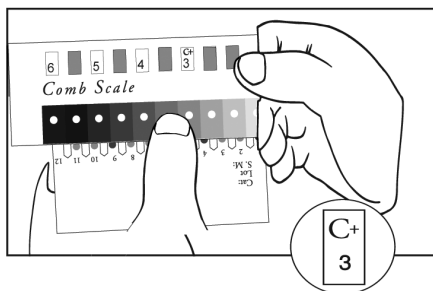


VIII. LEITURA E INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

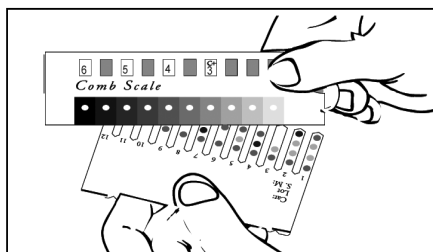
- O ponto superior no dente é a referência positiva. O tom da cor desse ponto é a mesma tonalidade de cor gerada com um soro que tem uma reação positiva anti-anticorpos de Chlamydomphila com título de 1:32 no teste de Fixação de Complemento e anticorpos anti Toxoplasma com título 1:32 na técnica de Imunofluorescência (veja Fig.1, pág. 3). 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).
- 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.

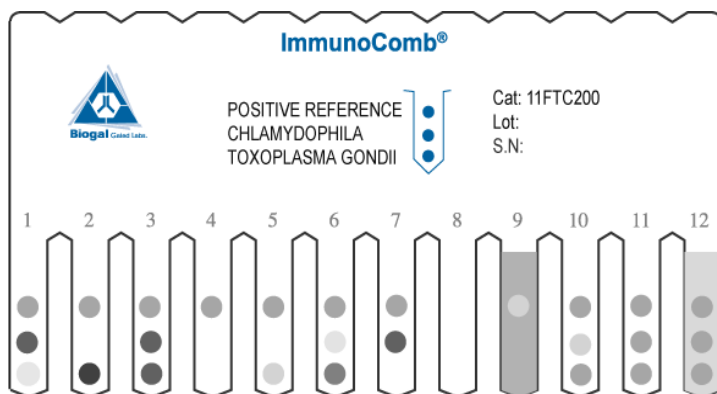


Enquanto mantém a régua fixa, encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do ponto do resultado do teste desejado (um dos pontos mais baixos). O número que aparece na janela acima é a pontuação CombScale (S0-S6). Repita este passo com cada ponto de teste separadamente.



- Outra forma de ler os resultados é utilizando a Leitora CombCam, especialmente desenvolvida para leitura do ImmunoComb. Para maiores informações contatar info@vpdiagnostico.com.br ou no site www.vpdiagnostico.com.br.

X. 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	S2	Inconclusivo
6	S2	Inconclusivo	S4	Positivo
7	≥S5	Fortemente positivo	S0	Negativo
8*		Inválido		Inválido
9**		Inválido		Inválido
10	≤S1	Negativo	≥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: (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.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, Na₃ 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. COMPONENTES DO KIT

Components	12 Test Kit (50FTC201)	120 Test Kit (50FTC210)
A. Cartão ImmunoComb (embalado em envelope de alumínio)	1	10
B. Placa reveladora	1	10
C. Pinça	1	1
D. Escala de cores (Combscale)	1	1
E. Micropipeta para 5 µL	1	Não incluído*
F. Ponteiras capacidade 10 µL	15	Não incluído*
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.**



A



B



C



D



E



F

XIV.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 chlamydiosis. Clin Tech Small Anim Pract. 20(2):129-34.

Biogal's
ImmunoComb