

# *VacciCheck*<sup>®</sup>

## **PARVOVIROSE & CINOMOSE & HEPATITE IgG**

### **Kit de teste para determinação de anticorpo IgG**

#### **Instruções de Uso**

#### **USO VETERINÁRIO - PRODUTO IMPORTADO**

Nº Cat. do Produto: 50CVV101/50CVV110



#### **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 9982/2014

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

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

SAC: [info@vpdiagnostico.com.br](mailto:info@vpdiagnostico.com.br) [www.vpdiagnostico.com.br](http://www.vpdiagnostico.com.br)

## **I. FINALIDADE DO KIT**

O Kit VacchiCheck Parvovirose & Cinomose & Hepatite foi projetado para determinar no soro, plasma ou sangue total de cão, o nível de anticorpos IgG, de Hepatite Infecciosa Canina (ICH/CAV), Parvovirose Canina (CPV) e Cinomose Canina (CDV). O objetivo principal deste kit é fornecer ferramenta útil para avaliar o estado de imunidade de cães sobre estes três patógenos. Como tal, ele pode determinar o título de IgG antes e após a vacinação ou a duração da imunidade.

## **II. INFORMAÇÕES GERAIS**

A Hepatite Infecciosa Canina (HIC), Parvovirose Canina (CPV) e Cinomose Canina (CDV), são conhecidas como importantes causas de doenças e morte em caninos. Filhotes são os mais suscetíveis para ICH, CPV and CDV, especialmente após a amamentação, quando o nível de anticorpos protetores materno declina. Às vezes estes anticorpos podem interferir com a vacinação para a imunização. Em muitos países, os programas de vacinação reduziram significativamente mas não eliminaram a incidência dessas doenças. Assim, ICH, CPV e CDV continuam a ser motivo de grande preocupação clínica entre médicos veterinários em todo o mundo e ainda representam um desafio diagnóstico.

## **III. 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.

Os resultados das 3 doenças, ICH, CPV e CDV são obtidos simultaneamente em cerca de 23 minutos.

## **IV. COMO FUNCIONA O CARTÃO PLÁSTICO IMMUNOCOMB?**

- O kit é baseado no princípio do Imunoensaio em fase sólida, DOT-ELISA.
- Contém 2 componentes principais: 1 cartão plástico ImmunoComb e 1 placa reveladora contendo reagentes para o teste.
- O cartão de plástico tem formato de um pente com 12 dentes. Cada dente testa 1 soro.
- Em cada dente do cartão estão adsorvidos 3 antígenos e 1 controle positivo.
- Pontos para o diagnóstico de ICH, CPV e CDV são aplicados em cada dente do pente. O ponto superior é o controle positivo. Antígeno do Adenovírus canino Purificado (CAV) para o diagnóstico de ICH está aplicado ao ponto médio superior, antígeno purificado da CPV é aplicado no ponto médio mais baixo e antígeno purificado CDV aplicado no ponto inferior (ver figura na seção X).
- A primeira etapa do ensaio é pipetar soro, plasma ou amostras de sangue total no poço na linha A do multi-compartimento da placa reveladora.
- Em seguida, o pente é inserido no(s) poço(s) com a amostra(s) e transferidos para os poços restantes (B-F), em intervalos de tempo, de acordo com as instruções passo a passo (ver VII). 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 cão.
- 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 IX).

## V. DESCRIÇÃO DAS DOENÇAS

### **ICH**

A hepatite infecciosa canina é uma doença causada por adenovírus canino (CAV). A transmissão ocorre pelo contato direto com cães infectados ou áreas contaminadas pelo vírus. O primeiro sinal é a tosse, que pode evoluir para pneumonia. Mais tarde, quando o vírus entra na corrente sanguínea, fígado, rim e outros órgãos do corpo, pode causar sinais clínicos, tais como: "olho azul", vômitos, diarreia, aumento da sede e convulsões. Os filhotes têm a maior taxa de mortalidade.

### **CPV**

A propagação da Parvovirose Canina pode ocorrer por meio da exposição ao ambiente contaminado. Os sinais clínicos da CPV incluem letargia, depressão, inapetência, febre, vômitos e diarreia (às vezes com sangue). As mortes são comuns em filhotes.

### **CDV**

Vírus da cinomose canina é naturalmente transmitida de cão para cão por via aérea. A infecção natural da CDV pode causar febre transitória que pode passar despercebida. Em alguns casos, quando a doença é caracterizada por febre intermitente, depressão, secreção óculo-nasal e anorexia. Sinais respiratórios e gastrointestinais podem surgir. Em cães que sobrevivem das fases agudas da doença, muitos (mas não todos) irão desenvolver problemas relacionados ao sistema nervoso central (SNC) incluindo neurite óptica e lesões de retina. Os que mais ocorrem são ataxia, paresia e convulsões.

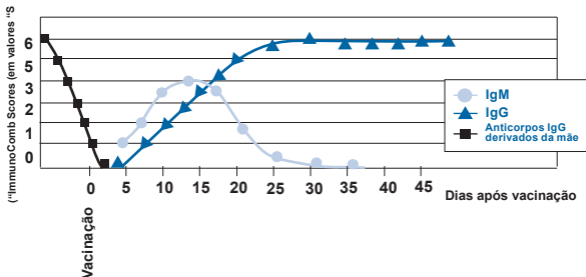
## VI. DIAGNÓSTICO

Os Veterinários normalmente fazem diagnóstico presuntivo de ICH, CPV e CDV baseado em sinais

clínicos que variam em gravidade de leve a grave. Os exames laboratoriais podem ser úteis para confirmar o diagnóstico. Além da hematologia e bioquímica do sangue, a sorologia está se tornando ferramenta mais amplamente aceita de diagnóstico. A sorologia fornece uma idéia mais ampla do estado imunológico do cão. A resposta imunitária humoral é largamente composta de duas classes de imunoglobulinas (anticorpos), IgM e IgG. Nos primeiros dias após a infecção ou vacinação, os anticorpos IgM são produzidos em grandes quantidades. Posteriormente, os títulos de IgM declinam, enquanto os níveis de IgG aumentam. Portanto, em cães com capacidade de fornecer resposta imune, os níveis elevados de IgM indicam infecção recente.

A ausência de anticorpos IgM com elevado título de IgG, sugere que a exposição ao vírus ocorreu mais cedo, e considera-se o cão imune. Elevados níveis de IgG são tipicamente encontrados em cães que sobrevivem à fase aguda da infecção, ou após a vacinação (Fig. 1).

**Fig. 1 – Níveis de Anticorpos Pós-Vacinação de ICH, CPV e CDV em cães saudáveis**



## **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.

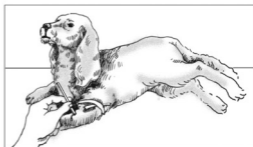
■ Não remover e sim perfurar o alumínio somente dos poços suficientes para o teste.

### **TÉCNICA**

**OBS.: 1 - Pipeta e ponteiras 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 cão. 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.

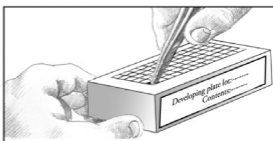
■ Armazenar amostra de soro e plasma a 2-8°C se o teste for executado dentro de 3 dias da coleta. Se o teste for realizado após 3 dias da coleta, congelar as amostras a -20°C ou mais.

■ 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  $\mu\text{L}$  (pipetar 2 vezes 5  $\mu\text{L}$ ). Para testar o soro / plasma usar 5  $\mu\text{L}$ .

(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.



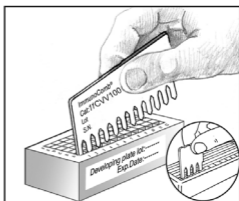
(5) Depositar amostra no poço da fileira A.

Para o teste de soro / plasma usar 5 $\mu\text{l}$ . Para testar sangue total 10 $\mu\text{l}$  \*. 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 $\mu\text{l}$  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 ou romper 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.**

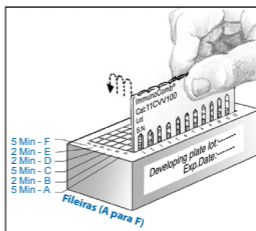
**Evite encostar o lado da frente do pente, inclinándolo para a parte de trás durante a mistura.**

**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 5 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 5 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.

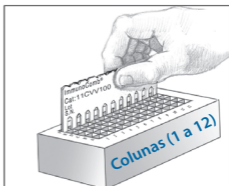
■ Movimentar o pente como descrito acima.\*\*

■ No último poço (linha F) mergulhar o pente durante 5 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](http://www.vpdiagnostico.com.br)

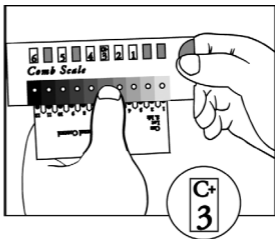
## **VIII. LEITURA DO TÍTULO DE IgG E INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO**

■ O ponto mais superior é o ponto de 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-ICH 1:16 no teste de Soro Neutralização, de anticorpos anti CPV com título de 1:80 no teste de HI e de anticorpos anti-CDV iguais a 1:32 na Soro Neutralização. Ao usar o CombScale, este local deve ser lido como S3 (ver secção IX).

- O ponto médio superior no dente dá o título dos anticorpos IgG anti-ICH da amostra.
- O ponto médio inferior do dente dá o resultado de anticorpos IgG anti CPV na amostra.
- O ponto inferior do dente dá o título dos anticorpos IgG anti- CDV na amostra.
- Comparar o tom da cor do ICH, CPV e pontos de teste CDV com o ponto de referência positiva (separadamente).
- Um tom de cor que é igual ou mais escura do que o ponto de referência é considerada uma resposta positiva.
- Um tom de cor tênue em S1 ou menos é considerado um resultado negativo.
- Um ponto de teste com aparência azul lavado é inválido. Consulte [jorge@jmrtrading.com.br](mailto:jorge@jmrtrading.com.br) para obter mais informações.
- Avaliar a pontuação de anticorpos usando o CombScale fornecido no kit (ver secção IX).
- Conservado seco o dente pode ser mantido como registro.

## **IX. LEITURA DOS RESULTADOS 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.



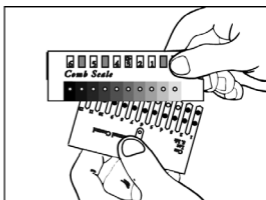
Quando o pente estiver completamente seco, alinhá-lo com o CombScale fornecido no kit. Encontrar o tom de roxo-cinza no CombScale que mais se aproxima do ponto de Referência Positiva (ponto superior).

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.

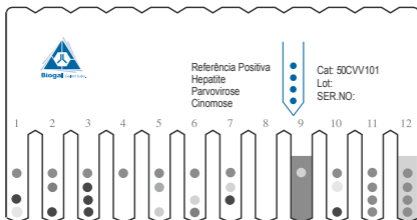
**Enquanto mantém a régua**

**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.



**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**



| Dente No. | ICH Resultado |                     | CPV Resultado |                     | CDV Resultado       |                     |
|-----------|---------------|---------------------|---------------|---------------------|---------------------|---------------------|
|           | 1             | <b>S0</b>           | Negativo      | <b>≥S5</b>          | Fortemente Positivo | <b>&lt;S1</b>       |
| 2         | <b>S4</b>     | Positivo            | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>S6</b>           | Fortemente Positivo |
| 3         | <b>≥S5</b>    | Fortemente Positivo | <b>≥S5</b>    | Fortemente Positivo | <b>≥S5</b>          | Fortemente Positivo |
| 4         | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>S0</b>           | Negativo            |
| 5         | <b>≥S3</b>    | Positivo            | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>S2</b>           | Fraco Positivo      |
| 6         | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>S2</b>     | Fraco Positivo      | <b>S4</b>           | Positivo            |
| 7         | <b>S2</b>     | Fraco Positivo      | <b>≥S5</b>    | Fortemente Positivo | <b>S0</b>           | Negativo            |
| 8*        |               | Inválido            |               | Inválido            |                     | Inválido            |
| 9**       |               | Inválido            |               | Inválido            |                     | Inválido            |
| 10        | <b>&lt;S1</b> | Negativo            | <b>S0</b>     | Negativo            | <b>≥S5</b>          | Fortemente Positivo |
| 11        | <b>≥S3</b>    | Positivo            | <b>≥S3</b>    | Positivo            | <b>≥S3</b>          | Positivo            |
| 12***     | <b>≥S3</b>    | Positivo            | <b>≥S3</b>    | Positivo            | <b>≥S3</b>          | Positivo            |

### **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](mailto:info@vpdiagnostico.com.br)

website: [www.vpdiagnostico.com.br](http://www.vpdiagnostico.com.br)

### **Fabricante:**

Laboratórios da Biogal Galed,

pelo telefone: 972-4-9898605 / Fax: 972-4-9898690

e-mail: [info@biogal.com](mailto:info@biogal.com)

website: [www.biogal.com](http://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, NaN<sub>3</sub> 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 (50CVV101) | Kit com 120 testes (50CVV110) |
|-------------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| 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

- AAHA. Vaccine Task Force. (2006). *JAAHA*, 42, 80-89.  
Day et al. (2010) Guidelines for the vaccination of dogs and cats. *JSAP* 51:1-32.  
Dudley et al. (1998). *JAVMA*, 213(1), 72-75.  
Pollock & Carmichael. (1982). *JAVMA*, 180(1), 37-42.  
Waner et al. (2006). *J. Vet. Dia. Invest.*, 18(3), 267-2

**Biogal's**  
**ImmunoComb**