

### PASSO 1

- Estabilize a temperatura da sala teste a (20 - 25 °C) com termômetro.
- Retire o kit da geladeira e os componentes da embalagem.
- Deixe a placa de reação, o pente e a amostra em temperatura de (20 – 25 °C) por 90 minutos.
- E a placa de reação mais 10 minutos na placa de aquecimento (caso tenha).

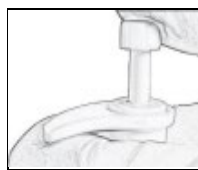
### PASSO 2

- Inverta a placa de reação e a amostra por 10 vezes.



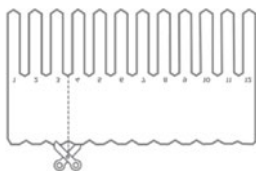
### PASSO 3

- Perfure o(s) lacre(s) do(s) poço(s) da linha A, com a pinça. Um poço para cada amostra.
- Armazenagem da amostra: Sangue 2-8°C até 1 dia pós coleta, soro/plasma 2-8°C até 3 dias pós coleta. Se o teste for realizado após 3 dias da coleta, congelar as amostras a -20°C ou mais.
- Pipete para o poço linha A: **Soro ou plasma = 5 uL** ou **sangue total = 10 uL** .
- Movimente o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.



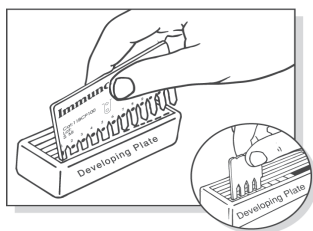
### PASSO 4

**OBS.- Retire o pente da embalagem, sem tocar na ponta**



- Com tesoura, destaque do pente a quantidade exata de dentes conforme quantidade de amostras a serem testadas. (1 amostra/1 dente). (ver figura)
- Guarde cuidadosamente o restante do pente na embalagem com o sachê de sílica-gel.

Introduza o(s) dente(s) no (s) poço(s) da linha A.



| Linha | Tempo de incubação (minutos) |
|-------|------------------------------|
| A     | 5'                           |

- Minutos 0, 2, 3, 4, 5 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

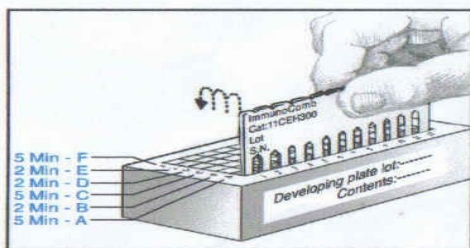
### PASSO 5

- Perfure o(s) poço(s) da linha B.
- Retire o pente do poço A.
- Encoste a ponta do dente em papel absorvente, para retirar o excesso de fluidos dos dentes.
- Introduza o(s) dente(s) no poço B.

| Linha | Tempo de incubação (minutos) |
|-------|------------------------------|
| B     | 2'                           |

- Minutos 0, 1, 2 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

### PASSO 6

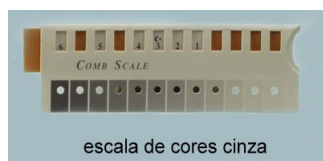
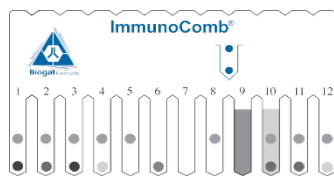


- Repita os passos anteriores para os poços das linhas C, D, E, F e E. Observe o tempo em cada poço e o movimento do dente (tabela abaixo)

|                    | Linha      | Tempo de incubação (minutos) | Movimentar o pente nos tempos (minutos) |
|--------------------|------------|------------------------------|---|
| Amostra            | A          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| Lavagem            | B          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Conjugado          | C          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| Lavagem            | D          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Lavagem            | E          | 2'                           | 0,1,2                                   |
| Cromógeno          | F          | 5'                           | 0, 2, 3, 4, 5                           |
| lavagem            | Volta ao E | 2'                           | 0,1,2                                   |
| <b>Tempo Total</b> |            | <b>23'</b>                   |   |

## PASSO 7

- Após a última incubação no poço E, retire o pente do poço, encoste a ponta em papel absorvente, deixe o pente secando com a frente para cima.
- Leia os resultados quando o pente estiver completamente seco (use a escala de cores – CombScale – disponível no kit).
- Ou utilize a leitora CombCam (para informações acesse <https://vpdiagnostico.shop/loja/produto/combcam/>)



## PASSO 8 – RESULTADO

| Score S    | Resultado                 | Título            |
|------------|---------------------------|-------------------|
| S 0 (zero) | Negativo                  | Negativo          |
| S1 - 2     | Fraco Positivo (Suspeito) | 1:20-1:40         |
| S3-S4      | Positivo                  | 1:80-1:160        |
| ≥S5        | Reação forte positiva     | Título 1:320-1280 |

### Sinais Clínicos:

**1º estágio agudo:** O estágio inicial ou agudo da infecção inclui os sinais clínicos inespecíficos que podem ser suaves e podendo passar despercebidos pelo proprietário do cão. Alguns cães apresentam apetite diminuído, febre e letargia. Ao exame clínico, o veterinário pode detectar linfadenopatias e esplenomegalia. O decréscimo na contagem de plaquetas é o achado hematológico mais consistente. Se deixado sem tratamento, a maior parte dos cães pode sair deste estágio. Aqueles animais que não eliminaram a *Rickettsia* do organismo podem entrar no segundo estágio da infecção.

**2º estágio subclínico:** Pode perdurar por um período indefinido. O tratamento correto neste estágio, especialmente em animais de alto risco, é importante, a fim de impedir o progresso da doença.

**3º estágio crônico:** Não está claro por que os animais passam do estágio subclínico para o estágio crônico de Erliquiose. É sabido, entretanto, que depois de alcançado este estágio o tratamento é ineficaz. Os sinais clínicos da Erliquiose crônica incluem: letargia, febre, inapetência, perda de peso, tendência a sangramento e finalmente morte.