

### 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.



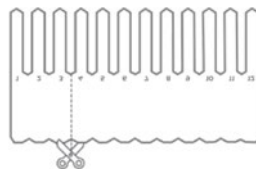
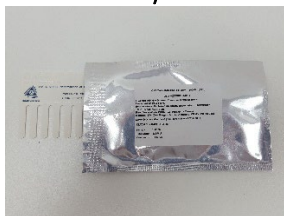
### PASSO 3

- **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**.
- Movimento o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.



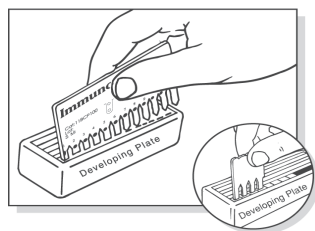
### PASSO 4

**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	10'

- Minutos 0, 2, 4, 6, 8, 10 movimento o pente, para cima e para baixo, 3-4 vezes.

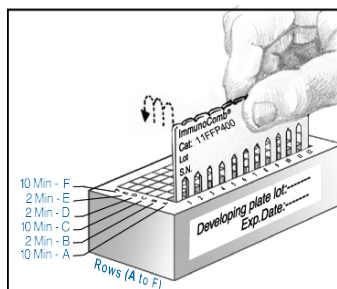
### PASSO 5

- 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

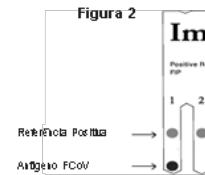
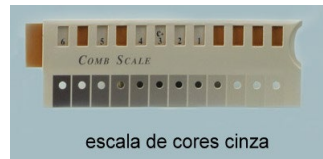
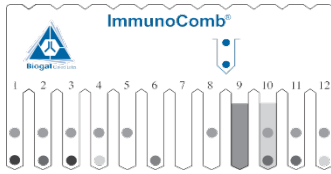


- Repita os passos anteriores para os poços das linhas C, D, E, F e E. Observe o tempo em cada poço e o movimento do dente (tabela abaixo)

	Linha	Tempo de incubação (minutos)	Movimente o pente nos tempos (minutos)
Amostra	A	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
Lavagem	B	2'	0,1,2
Conjugado	C	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
Lavagem	D	2'	0,1,2
Lavagem	E	2'	0,1,2
Cromógeno	F	10'	0, 2, 4, 6, 8, 10
lavagem	Volta ao E	2'	0,1,2
<b>Tempo Total</b>		<b>38'</b>	

## PASSO 7

- Após a última incubação no poço E, retirar o pente, encostar a ponta em papel absorvente, deixar o pente secando com a frente para cima.
- Leia os resultados quando o pente estiver completamente seco (usar 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

ESCORE	RESULTADO	RECOMENDAÇÕES
S0	Negativo	Paciente não exposto ao Coronavírus Felino
≤S1	Inconclusivo	Reação não específica. Considerar negativa. Monitorar
S2	Fraco positivo	Houve contato com o vírus. Paciente suspeito. Monitorar,
S3 – S4	Positivo	Indica infecção recente anterior por Coronavírus Felino.
S5 – S6	Forte positivo	Indica infecção por Coronavírus Felino, com risco de disseminação do agente. Nos animais com sintomas e achados Laboratoriais, o diagnóstico é considerado positivo.

### IMMUNOCOMB FCoV (PIF) IgG

Títulos de Imunofluorescência	0	<1:10	1:10	1:20	1:40-80	1:160-320	>1:320
Leitura em CombScale e CombCam	S0	S1	S2	S3	S4	S5	S6

### **INFORMAÇÕES DO TESTE**

- Gato com sorologia negativa, menor que S1 e sem sintomas, indica que não foi exposto ao vírus e está livre do FCoV.
- Gato com sorologia negativa e sem sinais clínicos: não teve contato com FCoV, e se mantiver assim, dificilmente terá PIF;
- Gato com qualquer título (S1, S2, S3, S4) para FCoV e sem sinais clínicos poderá desenvolver a doença caso haja mutação do FCoV para o VPIF, a não ser que o organismo elimine o vírus antes da mutação ocorrer;
- Gato com títulos S5-6 com sinais clínicos e achados laboratoriais: é considerado positivos para PIF.
- É importante sempre associar o resultado do teste com sinais clínicos, hemograma, proteínas plasmáticas e análise do líquido peritoneal.
- Esse teste pode ser utilizado para rastrear a presença de infecções por FCoV em Gatos, antes de introduzi-los em abrigos ou gatis livres de FCoV.

**Estima-se que acima de 70% de gatos** ao redor do mundo, estão expostos ao Coronavírus Felino (FCoV). A infecção é transmitida via oro-fecal. 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 com FCoV é assintomática** na maioria dos gatos. Em pequena porcentagem de casos, pode ocorrer febre, diarreia e sinais respiratórios superiores, como conjuntivite. Esta fase pode durar um tempo indefinido e depois evoluir para uma doença sistêmica grave conhecida como Peritonite Infecciosa Felina (PIF). A PIF manifesta-se clinicamente em 2 formas: efusiva (úmida) e não efusiva (seca). PIF é geralmente associada a um resultado fatal, mesmo com terapia. O prognóstico é grave.

**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 em programas de prevenção em gatis.