

### 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).

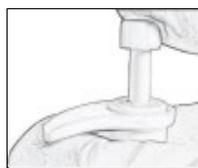
### PASSO 2

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



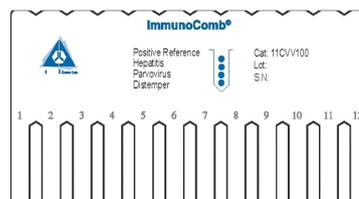
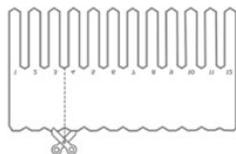
### PASSO 3

- **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** ( no máximo 1 dia da coleta).
- Movimente o embolo da pipeta, para cima e para baixo, várias vezes.



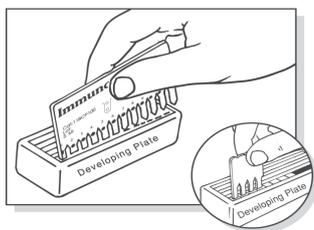
### PASSO 4

**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.
- No ponto superior do dente > antígeno inativado para controle positivo
- No ponto mediano superior do dente > antígeno do vírus da hepatite canina
- No ponto mediano inferior do dente > antígeno do vírus da parvovirose inativado
- No ponto inferior do dente > antígeno do vírus da cinomose inativado.

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.

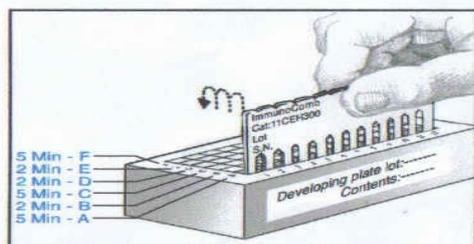
### PASSO 5

- 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, 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/>)



- No ponto superior do dente > antígeno inativado para controle positivo
- No ponto mediano superior do dente > antígeno do vírus da hepatite canina
- No ponto mediano inferior do dente > antígeno do vírus da parvovirose inativado
- No ponto inferior do dente > antígeno do vírus da cinomose inativado.

## PASSO 8 –INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

### PARA DIAGNÓSTICO

Score S	Resultado HEPATITE	Resultado PARVOVIROSE	Resultado CINOMOSE
<b>S0</b>	negativo - anticorpos IgG não detectáveis para Hepatite	negativo - anticorpos IgG não detectáveis para Parvovirose	negativo - anticorpos IgG não detectáveis para Cinomose
<b>≤S1</b>	negativo	negativo	negativo
<b>S2</b>	FRACO POSITIVO	FRACO POSITIVO	FRACO POSITIVO
<b>S3-S4</b>	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO
<b>S5-S6</b>	FORTE POSITIVO	FORTE POSITIVO	FORTE POSITIVO

### PARA NÍVEL DE PROTEÇÃO:

Score S	Resultado		
<b>S0</b>	NEGATIVO	NÍVEL DE PROTEÇÃO BAIXA	REVACINAR
<b>≤S1</b>	cor tênue S1 ou abaixo – Negativo	NÍVEL DE PROTEÇÃO BAIXA	REVACINAR
<b>S2</b>	quantidade de anticorpos IgG reduzida	NÍVEL DE PROTEÇÃO BAIXA	REVACINAR
<b>S3-S4</b>	anticorpos IgG presentes	Vacinado e apresentando anticorpos IgG contra os 3 vírus	NÍVEL DE PROTEÇÃO IDEAL
		Caso 1 ou 2 vírus apresentarem nível baixo de anticorpos, S1-S2	REVACINAR
<b>S5-S6</b>	anticorpos IgG presentes	Vacinado e apresentando anticorpos IgG contra os 3 vírus.	NÍVEL DE PROTEÇÃO IDEAL
		Caso 1 ou 2 vírus apresentarem nível baixo de anticorpos S1-S2	REVACINAR

Leitura em CombScale e CombCan	Parvovírus Canino Títulos de Inibição da Hemaglutinação	Vírus da Cinomose Canina Títulos Soroneutralização	Hepatite Infecciosa Canina Títulos Soroneutralização
S0	0	0	0
S1	<1:40	<1:8	1:4
S2	1:40	1:16	1:8
S3	1:80	1:32	1:16
S4	1:160	1:64	1:32
S5	1:320	1:128	1:64
S6	≥1:640	≥1:256	1:128

## PASSO 9 – INFORMAÇÕES

O **Kit VacciCheck 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 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.

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 os anticorpos maternos podem interferir na imunização.

A **resposta imunitária humoral** é 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, cães, imunocompetentes, os níveis elevados de IgM indicam infecção recente. Um ano após a imunização inicial, os anticorpos presentes após segunda vacinação, serão somente da classe IgG.

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

Se o cão não estiver com sinais típicos dessa infecção e for detectada a presença de IgG em grau identificado como S3-S4 ou acima (S5-S6), significa que ele está protegido contra essas infecções.

### As Diretrizes de Vacinação WSAVA 2016 declaram:

Recomendamos **seguir as diretrizes da WSAVA e testar cachorros 4 semanas** após a conclusão da série de vacinação inicial.

Tendo em conta que a vacinação inicial de cachorros termina às 16 semanas ou mais, recomenda-se que teste o cão com 20 semanas de idade. Se o resultado for negativo, vacine mais uma vez e repita o teste após duas a quatro semanas. Dessa forma, você pode ter certeza de que o cão está protegido.

A **WSAVA recomenda uma vacinação básica inicial às 6-8 semanas de idade**, depois a cada 2-4 semanas até que o cão atinja 16 semanas de idade ou mais. Portanto, o número de vacinações primárias para cachorros será determinado pela idade em que a série de vacinação foi iniciada e o intervalo selecionado entre as vacinas. Dessa forma, você pode ter certeza de que o cão está protegido.

O **VacciCheck também pode ser usado para controlar surtos de infecções em abrigos, determinando quais cães estão protegidos e seguros e quais precisam ser colocados em quarentena.** Além disso, ao testar o título de um novo cachorro após a admissão no abrigo, em vez de vacinar cães com um histórico

desconhecido, você pode ignorar com segurança quaisquer quarentenas que possam ser necessárias. Isso permite uma adoção mais rápida e garante a segurança de todos os cães do abrigo.

**Se o teste de título Vaccicheck do cão for positivo** (pontuação 2 ou superior), ele estará protegido e provavelmente permanecerá imune nos três anos seguintes.

**Quanto à duração da imunidade, o conselho do professor Ronald Schultz é:** “Nem um título nem uma vacinação anual são necessários todos os anos devido à duração da imunidade das 'vacinas essenciais'. No entanto, uma amostra de sangue coletada anualmente de um animal para verificação do título é preferencial a uma vacinação desnecessária, pois uma vacina pode causar danos”.

**De acordo com as Diretrizes da WSAVA: “Uma alta porcentagem (98%)** de vacinas essenciais para filhotes administradas entre 14 e 16 semanas de idade fornecerá imunidade contra parvovírus, cinomose e adenovírus por muitos anos e provavelmente por toda a vida do animal .”

Existem várias razões pelas quais as vacinas podem não induzir imunidade protetora em um cachorro:

1. Baixa imunogenicidade da vacina
2. Não respondedores genéticos
3. Anticorpos derivados da mãe (MDA)