

ImmunoComb

Canine VacciCheck[®]

INFECTIOUS HEPATITIS, PARVOVIRUS & DISTEMPER IgG ANTIBODY TEST KIT

INSTRUCTION MANUAL

Sufficient for 12/120 assays

10 OCT 2016



Biogal Galed Laboratories Acs. Ltd., tel: 972-4-9898605. fax: 972-4-9898690,
e-mail: info@biogal.co.il www.biogal.co.il

Instruction Cat. No: 63CW711

ImmunoComb *Canine VacciCheck*[®]

ТЕСТ КИТ ЗА ДЕТЕКЦИЯ НА ПОСТВАКСИНАЛНИ IgG АНТИТЕЛА СРЕЩУ ВИРУСИТЕ НА ИНФЕКЦИОЗЕН ХЕПАТИТ, ПАРВОВИРОЗА И ГАНА ПО КУЧЕТАТА

ЛИСТОВКА ЗА УПОТРЕБА Достатъчен за 12/120 изпитвания

I. ПРЕДНАЗНАЧЕНИЕ ЗА УПОТРЕБА

Комплектът за тестване на антитела Canine VacciCheck е предназначен за определяне титъра антитела срещу инфекциозен хепатит по кучетата (ICH), парвовируса (CPV) и вирус на Гана по кучетата (CDV). Основната цел на този кит е да предостави полезен инструмент за оценка на имунитета на кучета спрямо тези три патогена. Като такъв тестът може да определи IgG титъра преди и след ваксинацията, или продължителността на имунитета.

За осигуряване защитата на кученцето, се препоръчва тестване на титъра за тези три патогена на годишна база, преди прилагане на ваксина.

II. ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Вирусите на инфекциозен хепатит по кучетата (ICH), парвовируса (CPV) и Гана по кучетата (CDV) са доказани като главни причини за болести и смърт при кучетата.

Кученцата са най-възприемчиви към ICH, CPV и CDV особено след отбиване, когато нивата на защитните майчини антитела (МА) намаляват. Понякога МА пречат на ваксинацията, която се провежда за имунизация.

В много страни ваксинационните програми са значително ограничени, но не елиминират честотата за поява на тези заболявания. Така ICH, CPV и CDV продължават да представляват голяма клинична загриженост сред ветеринарите по света и диагностично предизвикателство.

III. КАКВО Е IMMUNOCOMB ТЕСТА

Тестът ImmunoComb е модифицирана ЕЛАЙЗА, описана като ензимно белязан „точков метод”, който установява антителните нива в плазма, серум или цяла кръв.

Китът съдържа всички необходими реагенти за провеждане на теста. Резултатите са готови в рамките на 23 минути.

IV. КАК РАБОТИ IMMUNOCOMB

- Тестът съдържа 2 главни компонента: пластмасова карта с форма на гребен и многоямкова плака.

- Гребенът има 12 зъба – достатъчен за 12 теста. Всеки зъб се преобразува спрямо съответната колонка от ямки в плаката. В зависимост от желания брой проби се отчупват толкова броя зъби от гребена.

- Тестовите точки за ICH, CPV и CDV са натоварени върху всеки един от зъбите на гребена. Най - отгоре е положителната контрола. Пречистен CAV антиген (за ICH тестване) е натоварен върху горната средна точка, пречистен CPV антиген е прикрепен към долната средна точка и пречистен CDV антиген – към най-долната от 4-те точки (Виж Раздел X).

- Първата стъпка от теста е накапване на серум, плазма или цяла кръв в ред А от плаката.

- Гребенът се поставя в плаката с накапаните проби в останалите редове (B-F), във времеви интервали, както е посочено в стъпка по стъпка инструкциите (виж стр.4). Специфичните IgG, ако са налични в пробата се залавят за антигена в тест точките, и ще бъдат белязани в ред С, който съдържа ензимно белязано анти-кучешко IgG антитяло.

- В края на процеса лилаво-сиво оцветени точки се появяват в точките на Положителната контрола и при положителните проби.

- Интензитетът на оцветяването отговаря на нивото на антителата в пробата. Резултатите се отчитат чрез използване на точката на Положителната контрола и приложената скала (виж Раздел IX).

V. ОПИСАНИЕ НА БОЛЕСТИТЕ

ICH

Инфекциозният хепатит по кучетата е болест, причиняваща се от кучешки аденовирус (CAV). Заразяването се наблюдава при пряк контакт със заразено куче или контаминирани с вирус зони. Първият признак е кашлица, която може да прогресира в пневмония. По-късно, когато вируса премине в кръвния ток, черния дроб, бъбреците и/или други органи може да предизвика клинични признаци като „синьо око”, повръщане, диария, повишена жажда и припадъци. Кученцата имат най-висока смъртност.

CPV

Кучешкият парвовирус може да се разпространява чрез излагане на контаминирана среда. Клиничните признаци на CPV включват летаргия, депресия, липса на апетит, треска, повръщане и диария (понякога с кръв). Фаталните случаи са често срещани при кученцата.

CDV

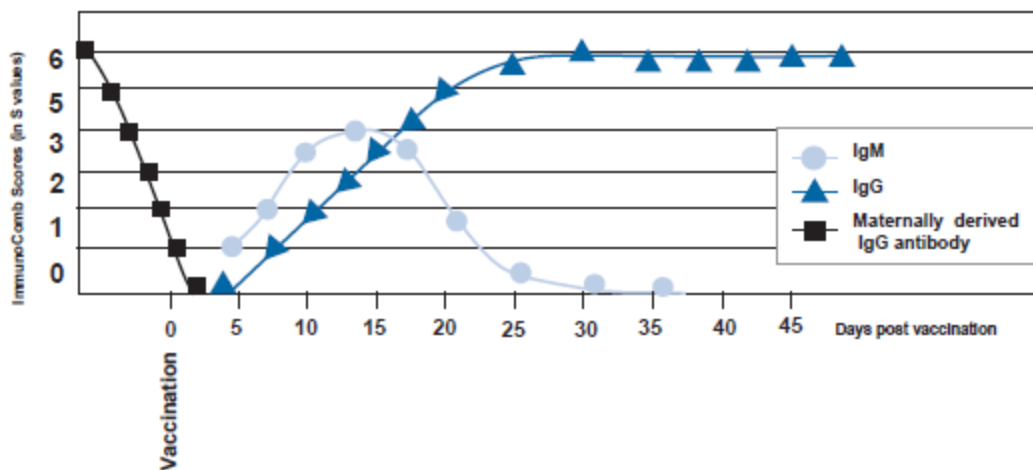
Вирусът на гана по кучетата се предава обикновено от куче на куче по аерозолен път. Естествената инфекция с CDV може да причини преходна треска, която може да премине незабелязано. В някои случаи, интермитираща треска, депресия, окуло-назални изтечения и анорексия. Могат да последват респираторни и/или стомашно-чревни признаци. Много от кучетата, които преживяват остри стадии на заболяването, (но не всички) развиват признаци на централната нервна система (ЦНС), включително очни неврити и лезии на ретината. Най-известните признаци на ЦНС са атаксия, пареза и гърчове.

VI. ДИАГНОЗА

Ветеринарните лекари обикновено поставят предполагаема диагноза за ICH, CPV и CDV, въз основа на клинични признаци. Лабораторните тестове могат да бъдат полезни за потвърждаване на диагнозата. В допълнение към хематологията и кръвната химия, серологията е широко прието диагностично средство.

Серологията предоставя по-широка картина на имунологичния статус на кучето. Хуморалният имунен отговор се състои главно от 2 класа имуноглобулини (антитела), IgM и IgG. В първите дни след инфектирането или ваксинирането, IgM антителата се произвеждат в големи количества. По-късно тигрите на IgM намаляват, докато нивата на IgG се повишават. Ето защо, при кучета, които са в състояние да изградят имунен отговор, повишените нива на IgM показват скорошна инфекция. Заместването на IgM антитела с повишени IgG предполага, че излагането на вируса се е случило на по-ранен етап и кучето понастоящем е имунно. Повишени нива на IgG обикновено се срещат при кучета, които преживяват острата фаза на инфекция или след ваксинация (Фигура 1).

Фиг. 1 Нива на антитела след ваксинация срещу ICH, CPV & CDV при здрави кучета

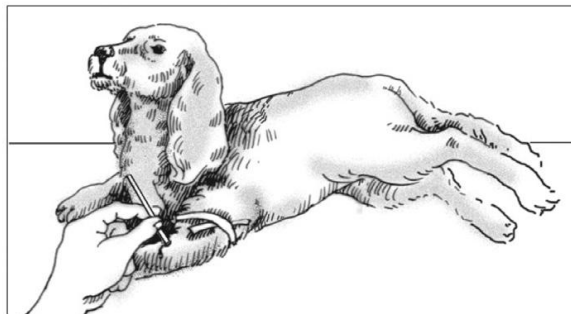


VII. СТЬПКА ПО СТЬПКА С IMMUNOCOMB

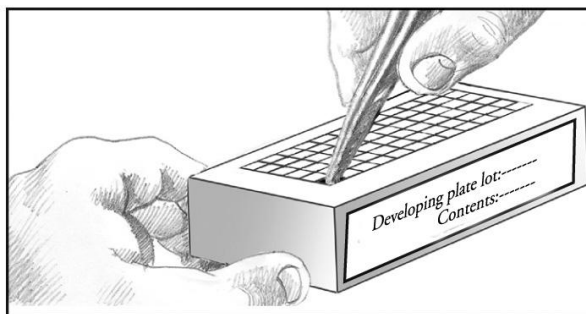
Преди тестване доведете плаката до стайна температура, като извадите всички реагенти от кутията на кита и ги поставите на работната маса за 60-120 минути или като инкубирате плаката само при 37°C за 25 минути.

Изпълнете теста на стайна температура 20°-25°C.

(1) Вземете кръвна проба от кучето. Когато тествате цяла кръв – вземете я в ЕДТА или хепарин антикоагулантна епруветка.



(2) Миксирайте реагентите чрез внимателно разклащане на плаката няколко пъти преди употреба. Използвайте пинсети да пробие защитното алуминиево фолио на Ред А. Една ямка за проба.



(3) Накапете проба в една ямка на ред А
При тестване на серум/плазма използвайте 5µl
За цяла кръв – 10 µl

Издърпвайте и връщайте няколко пъти с пипетата за миксиране.

Избягвайте разливане или контаминиране на разтворите.

***За цяла кръв само: Ако накапвате пробата с включената в комплекта пипета с фиксиран обем, използвайте едно и също връхче за накапване на двойно 5µl количество в ямката от ред А.**

Не отваряйте други ямки от ред А или други редове от плаката, които няма да използвате.

Не премахвайте цялото алуминиево покривало от плаката.

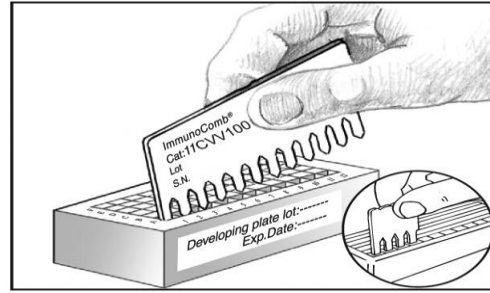
(4) Извадете гребена от защитната опаковка. **Не докосвайте зъбите на ImmunoComb гребена.**

За тестване на по-малко от 12 проби отрежете или отчупете гребена, като го прегънете през разпределените вдлъбнатини за необходимия брой тестове.

Бележка: Миксирането повреме на инкубацията съгласно инструкциите е от решаващо значение за валидните резултати

****За подобряване на миксирането преместете гребена нагоре и надолу 3-4 пъти. По време на инкубацията повторете същия процес на смесване 2-3 пъти.**

Избягвайте надраскане на предната активна страна на гребена като облягате гребена на задната му повърхност докато миксирате. Внимателно изтръсквайте излишната течност от зъбите на гребена върху попивателна хартия, преди преместването му в следващия ред.



- Поставете гребена в отворената ямка(и) от ред А (отпечатаната страна към Вас) и нкубирайте за 5 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

- Използвайте пинсети за пробиване фолиото на следващата ямка(и) в ред В. Изтръскайте излишната течност от гребена и го вкарайте за 2 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

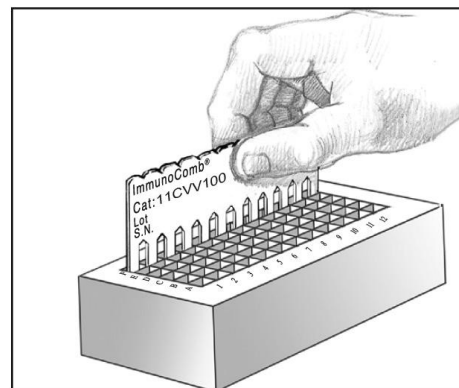
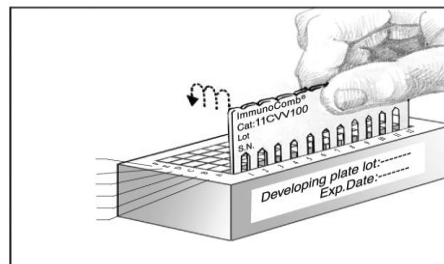
- Пробийте фолиото на следващата ямка(и) в ред С. Изтръскайте излишната течност от гребена и го вкарайте за 5 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

- Пробийте фолиото на следващата ямка(и) в ред D. Изтръскайте излишната течност от гребена и го вкарайте за 2 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

- Пробийте фолиото на следващата ямка(и) в ред Е. Изтръскайте излишната течност от гребена и го вкарайте за 2 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

- Пробийте фолиото на следващата ямка(и) в ред F. Изтръскайте излишната течност от гребена и го вкарайте за 5 минути. Миксирайте както е описано по-горе. **

- След формирането на оцветяване в ред F, преместете гребена обратно в ред Е за 2 минути за фиксиране на цвета. Оставете гребена да изсъхне за 5 минути преди да отчетете резултатите.



VIII. ОТЧИТАНЕ И ИНТЕРПРЕТАЦИЯ НА РЕЗУЛТАТИТЕ НА IgG АНТИТЕЛАТА

- Най-горната точка е Положителната контрола, и трябва да дава добре оформен лилаво-сив цвят. Това е същия тон на цвета, който се генерира при значителен положителен отговор на анти-ICN антителата при 1:16 от ВН тест, анти-CPV антитела при титър 1:80 от РВХА тест, или на анти-CDV антитела равни на 1:32 ВН тест. Когато използваме CombScale, тази точка трябва да се чете като S3 (Виж Раздел IX).
- Горната средна точка на гребена дава резултата за ICN IgG антитела в пробата.
- Долната средна точка на гребена дава резултата за CPV IgG антитела в пробата.
- Най-долната точка на гребена дава резултата за CDV IgG антитела в пробата.
- Сравнете цветовия тон на всяка от точките (ICN, CPV и CDV) поотделно спрямо този на Положителната контрола.
- Цветовият тон, който е еднакъв или по-тъмен от този на положителната контрола се счита за Положителен отговор.
- Цветовият тон, който съвпада с S2 се отчита като слабо положителен резултат.
- Бледият цветова тон на S1 или по-блед, се счита за отрицателен резултат.
- Тестова точка с отмито синьо оцветяване се счита за невалиден. Обърнете се към Вашия представител на Biogal за по-нататъчен съвет.
- За да оцените антителния резултат използвайте скалата CombScale, включена в комплекта (виж Раздел IX).
- Суши гребени могат да се държат като архив.

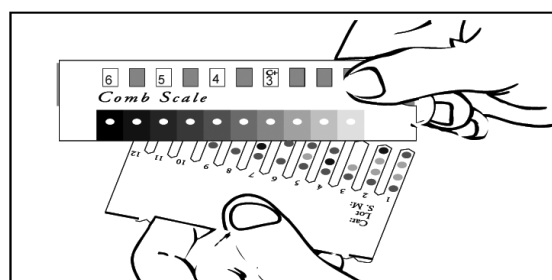
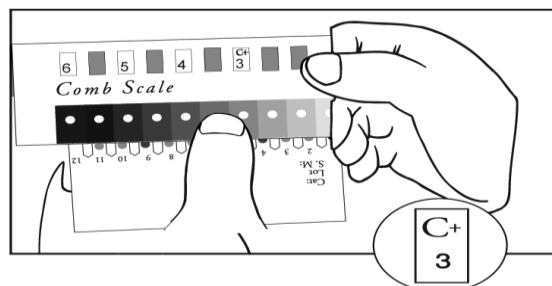
IX. ОТЧИТАНЕ НА РЕЗУЛТАТИТЕ С COMBSCALE

Стойността S на скалата CombScale е цифра, която се появява в жълтия прозорец, отговарящ на цветовия тон, когато Положителната контрола е калибрирана към S3.

Когато гребена е напълно сух го подравнете с калибрирания цвят на CombScale, предоставен в кита. Открийте цветовия тон от скалата, който най-много съответства на **Положителната контрола** (най-горната точка). Плъзнете жълтата линейка, докато се появи знака C+, в прозореца на току-що намерения цвят.

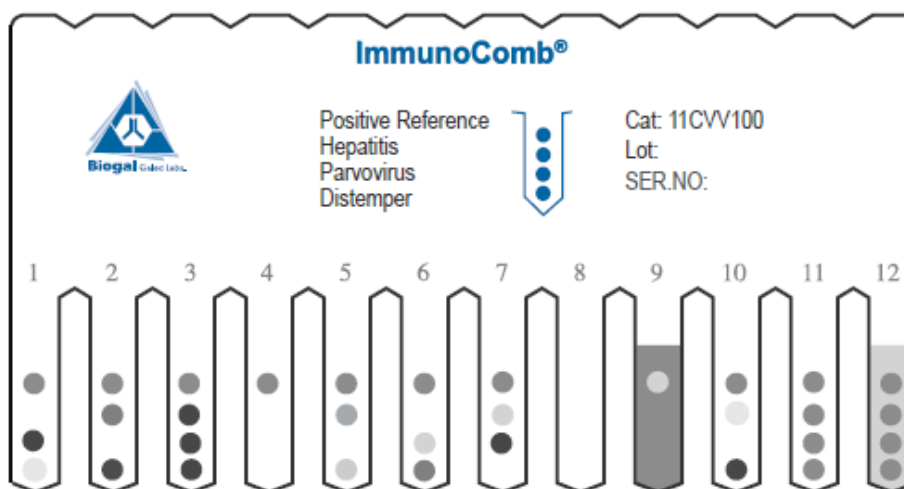
Задръжте линейката в това положение по време на цялостното отчитане. Тази стъпка всъщност калибрира C+ към S3, която е граничната стойност, спрямо, която ще се сравняват тестовите точки.

Докато държите линейката, намерете тона на лилаво-сиво върху скалата, който на-точно отговаря на желаната **тестова точка** (една от по-долните точки). Цифрата, която се показва в прозореца по-горе е резултата на CombScale (S0-S6). Повторете тази стъпка за всяка тестова точка поотделно.



Друг начин за отчитане на резултатите е чрез CombScan. Това е софтуерна програма, която използва компютър, съвместим с TWAIN скенер. Когато поставим гребен върху скенера, програма превежда цветните резултати в цифрови стойности. CombScan подпомага лабораториите при отчитане на резултатите от ImmunoComb, запазва данните и се доставя безплатно при поискване.

X. ПРИМЕР ЗА РАЗРАБОТЕН ГРЕБЕН



Зъб №	Резултати Вирус на Инфекциозен хепатит		Резултати Парвовирус		Резултати Вирус на Гана	
	Стойност	Описание	Стойност	Описание	Стойност	Описание
1	S0	Отрицателен	≥S5	Силно Положителен	<S1	Отрицателен
2	S4	Положителен	S0	Отрицателен	S6	Силно Положителен
3	≥S5	Силно Положителен	≥S5	Силно Положителен	≥S5	Силно Положителен
4	S0	Отрицателен	S0	Отрицателен	S0	Отрицателен
5	≥S3	Положителен	S0	Отрицателен	S2	Слабо Положителен
6	S0	Отрицателен	S2	Слабо Положителен	S4	Положителен
7*	S2	Слабо Положителен	≥S5	Силно Положителен	S0	Отрицателен
8**		Невалиден		Невалиден		Невалиден
9***		Невалиден		Невалиден		Невалиден
10	<S1	Отрицателен	S0	Отрицателен	≥S5	Силно Положителен
11	≥S3	Положителен	≥S3	Положителен	≥S3	Положителен
12****	≥S3	Положителен	≥S3	Положителен	≥S3	Положителен

Забележки:

* Считано за неопределено в случай на съмнение за заболяване.

**Без положителна контролна точка. Повторете теста.

***Оцветен заден фон. Повторете теста.

**** Оцветен заден фон с Положителни резултати.

XI. СЪХРАНЕНИЕ И УПОТРЕБА

1. Съхранявайте теста под нормална хладилна температура (2-8°C). **Не замразявайте кита.**
2. **Не смесвайте реагенти от различни партии на кита.**
3. ImmunoComb съдържа инактивиран биологичен материал, затова трябва да се манипулира и изхвърля, в съответствие с приетите санитарни изисквания.

XII. РАБОТА И СЪХРАНЕНИЕ НА ПРОБИТЕ

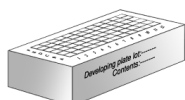
- Използват се свежи проби.
- Съхранявайте цяла кръв при 2-8°C, ако тестът ще се проведе до 1 ден от вземането на пробите. Не замразявайте проби от цяла кръв.
- Съхранявайте серумни/плазмени проби при 2-8°C, ако тестът трябва да се проведе до 3 дни от вземането на пробите. Ако тестът се забави повече от 3 дни, замразявайте пробите до -20 °C или по-ниска температура.
- Върнете пробите до стайна температура и миксирайте добре преди тестването.

XIII. СЪДЪРЖАНИЕ НА КИТА

Компоненти	12 тест кита (50CVV201)	120 тест кита (50CVV110)
A. ImmunoComb гребен (запечатан в алуминиево фолио)	1	10
B. Плака	1	10
C. Пинцети - еднократни	1	1
D. Калибрирана CombScale скала	1	1
E. Малка пипета 5 µl – фикс.	1	-
F. 10 µl градуирано връхче	15	-
Листовка за употреба	1	1



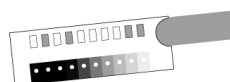
A



B



C



D



E



F

XIV. РЕФЕРЕНЦИИ

- AAHA. Vaccine Task Force. (2006). *JAHA*, **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
WSAVA - Vaccination Guidelines For New Puppy Owners

За допълнителни въпроси и помощ, моля свържете се с Вашия представител на Biogal:

VetLab
BULGARIA

7000 Русе
бул. "Липник" № 79
тел. 082/524024, факс: 082/524525
email: info@vetlab.bg

VetLab
BULGARIA
The right choice

**Biogal's
ImmunoComb**

Biogal Galed Laboratories Acs. Ltd., tel: 972-4-9898605. fax: 972-4-9898690,
e-mail: info@biogal.co.il www.biogal.co.il