

ImmunoComb[®]

Feline VacciCheck

PANLEUKOPENIA, HERPES VIRUS & CALICI VIRUS IgG ANTIBODY TEST KIT

**ИНСТРУКЦИЯ
17.7.2007**

I. Цель использования

Бесприборная иммуноферментная тест-система Feline VacciCheck предназначена для определения титра антител в сыворотке крови кошек к панлейкопении, вирусный ринотрахеиту (герпес-вирус), калицивирусу кошек. Основной целью данного набора является предоставление полезного инструмента для оценки иммунного статуса кошек касательно этих трех патогенов. Тест-система может определить титр IgG как до, так и после вакцинации, а так же продолжительность иммунитета.

II. Общая информация

Feline Panleukopenia Virus (FPLV), Feline Herpes Virus (FHV) и Feline Calici Virus (FCV), являются важными причинами заболеваемости и смертности у кошек. Котята наиболее подвержены PFLV, FHV, FCV особенно после отлучения, когда снижается уровень защитных материнских антител. Иногда защитные материнские антитела могут мешать вакцинации, которая делается для иммунизации.

Во многих странах, программы вакцинации значительно сократили, но не устранили заболеваемость этими болезнями. Таким образом, PFLV, FHV, FCV продолжают являться большим клиническим опасением для ветеринаров во всем мире и до сих пор представляют проблему в диагностике.

III. Что такое IMMUNOCOMB[®]?

Тест ImmunoComb[®] является модифицированным иммуноферментным анализом, который может быть описан как точечный анализ с использованием вторичных антител, меченных ферментом, при котором определяется уровень антител в сыворотке или цельной крови. Набор содержит все необходимые реагенты для выполнения теста. Результаты анализа вакцинации кошки доступны менее чем за 20 минут.

IV. Как работает IMMUNOCOMB[®]?

- Набор ImmunoComb[®] содержит два основных компонента: Гребень в виде пластиковой карты, далее Гребень и Проявочную ванну.
- Гребень имеет 12 зубцов, рассчитанных на 12 тестов. Каждый зубец последовательно проходит через все соответствующие ячейки каждого ряда Проявочной ванны. Для индивидуального или группового исследования отламывается необходимое количество зубцов Гребня.

■ Тестовые точки нанесены на каждый зубец Гребня. Верхняя точка — это Положительный контроль. Очищенный антиген FPLV нанесен на верхнюю среднюю точку, очищенный FHV антиген — на нижней средней точке и очищенный FCV антиген — на нижнюю из 4 точек (см. рисунок в разделе X).

■ На первом этапе образец сыворотки, плазмы или цельной крови вносится в ячейку ряда А Проявочной ванны.

■ Далее Гребень вставляется в ячейку с образцом и переносится в оставшиеся ячейки через определенный интервал времени в соответствии с инструкцией (рис №4). Специфичные IgG антитела из образца, при их наличии, связывается с антигеном на точке зубца Гребня и помечаются в ряде С, который содержит меченые ферментом антитела к IgG антителам кошки.

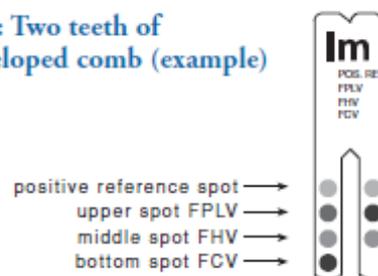
■ В конце проявочного процесса во всех точках положительного контроля (верхняя точка) и любых положительных тестируемых точках проявится пурпурно-серое пятно.

■ Интенсивность цвета результата соответствует уровню антител в тестируемом образце. Результаты оцениваются с использованием точки Положительного контроля и калибровочной шкалы CombScale.

Рис.1 Пример: два зубца гребня

1. положительное справочное пятно
2. верхнее пятно FPLV (панлейкопения)
3. среднее пятно FHV (вирусный ринотрахеит)
4. нижнее пятно FCV (калицивироз)

Fig. 1: Two teeth of a developed comb (example)



V. Описание болезней

FPLV, FHV и FCV вызывают заболевания верхних дыхательных путей (горла, носовых пазухи трахеи).

Панлейкопения кошек (FP, ПЛК, парвовирусная инфекция кошачьих, чума кошек, инфекционный парвовирусный энтерит, контагиозный агранулоцитоз кошек, кошачья лихорадка, инфекционный парвовирусный гастроэнтерит кошек, кошачья атаксия, инфекционный ларинготрахеит кошек) – очень опасная, высококонтагиозная (острозаразная -лат. contagiosus заразительный, заразный; синоним заразительность) и обычно остропротекающая болезнь домашних кошек, клинически проявляющаяся лейкопенией (снижением уровня лейкоцитов в крови, общей интоксикацией, лихорадкой, расстройством нормальных функций желудочно-кишечного тракта: рвотой, сильной диареей (возможен понос с прожилками крови); поражением респираторных органов, сердечно-сосудистой недостаточностью, крайним обезвоживанием организма, иногда анемией. При клинически выраженной болезни погибает 65 – 90% кошек. Панлейкопения часто сопровождается присоединившейся бактериальной инфекцией. Особенно часто это бывает когда заболевают котята, которые могут быть заражены

панлейкопенией как внутриутробно, так и после рождения. Смертность котят при заболевании панлейкопенией превышает 90%.

Кошачий вирус герпеса вызывает FHV типа 1, также известный как вирус кошачьего ринотрахеита.

Симптомы включают в себя чихание, кашель, фотосенсибилизацию, отек конъюнктивы и выделения из носа. Наблюдается лихорадка, депрессия, и отсутствие аппетита. Так же развиваются язвы на роговице глаза, которые могут привести к усилению протекания тяжести заболевания и даже к слепоте кошки.

Кошачий кальцивироз это респираторное заболевание, аналогичное простудному заболеванию человека. Это вызвано РНК-вирусом, который более устойчив, чем FHV, но симптомы менее выражены, чем при кошачьем герпес-вирусе. Часто появляются язвочки на языке больного животного. У котят может развиваться пневмония, что может привести к высокой смертности среди молодняка.

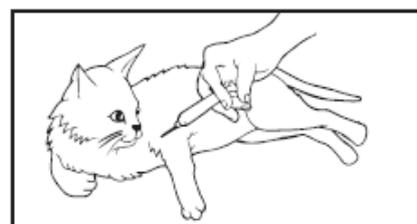
VI. Диагноз

Предполагаемый диагноз обычно ставится на основании клинических признаков. Некоторые клинические признаки являются общими сразу по двум или трём заболеваниям. Лабораторные тесты в данном случае полезны для подтверждения диагноза. В дополнение к анализам по гематологии и биохимии крови, серология становится всё более распространённым диагностическим инструментом. Она измеряет количество специфических антител IgG, циркулирующих в крови, обеспечивает контроль за состоянием иммунитета кошки после заражения или вакцинации. Своевременная вакцинация кошек позволяет им быть защищенными от заболеваний. Тем не менее, вакцинация не всегда даёт надлежащий иммунитет, или же она могла быть не сделана по какой-либо причине. Поэтому необходимо контролировать серологический статус кошки.

VII. Процедура анализа на ИммуноКомб

Анализ проводится при температуре 20⁰-25⁰С (68⁰—77⁰F).

1. Забрать образец крови у кошки.



2. Используйте пипетку или капилляр*.

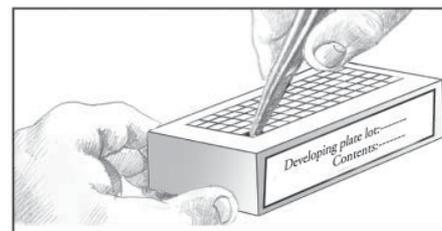


При тестировании цельной крови используйте 10 мкл,

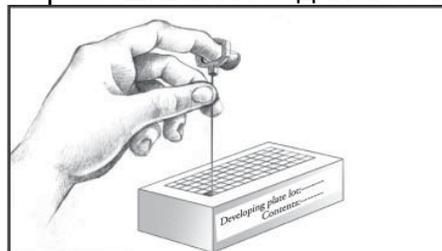
При тестировании сыворотки/плазмы используйте 5 мкл

3. Используйте пинцет для вскрытия алюминиевой защитной пленки ряда А

(одна ячейка для одного образца)



4. Внесите образец в ячейку ряда А. Для перемешивания поднимите и



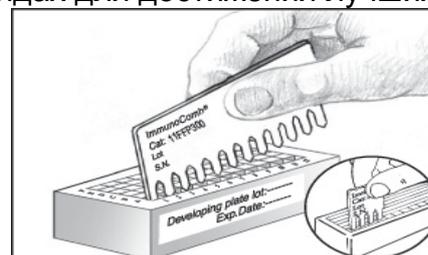
опустите пипетку/поршень несколько раз.

Не открывайте ячейки ряда А или других рядов, которые вы не собираетесь использовать.

По запросу можно приобрести набор из 40 капилляров и 1 поршня.

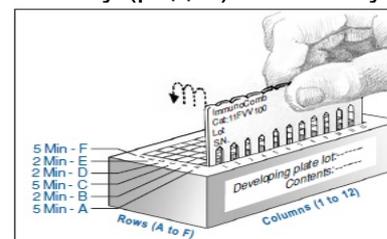
5. Выньте гребень из защитной обертки. Для тестирования менее 12 образцов, разрежьте или отломите Гребень по меткам в зависимости от количества тестов.

Вставьте Гребень в открытую ячейку/и ряда А (печатной стороной к себе) и инкубируйте 5 минут. Для улучшения перемешивания аккуратно передвигайте Гребень вверх вниз в начале каждой инкубации (каждого ряда). Повторите это движение каждые 2-3 минуты во всех остальных рядах для достижения лучших

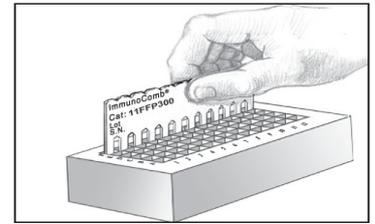


результатов.

6. Используйте пинцет для вскрытия следующего ряда (ряд В) и вставьте Гребень на 2 минуты. До перенесения Гребня из одного ряда в следующий, вскройте последующий ряд. **Удалите капли жидкости с заостренных концов зубцов Гребня** с помощью чистой фильтровальной бумаги. Не прикасайтесь к фронтальной поверхности Гребня. Вставьте Гребень в следующий ряд (ряд С) на 5 минут. Переместите Гребень в оставшиеся ячейки (ряд D и E) на 2 минуты, а в последнюю ячейку (ряд F) на 5 минут.



7. По завершению проявления цвета в ряду F переместите Гребень обратно в ряд E на 2 минуты для фиксации цвета. Выньте Гребень, дайте ему высохнуть.



VIII. Чтение и интерпретация результатов

Самая верхняя точка откалибрована так, чтобы дать пороговые значения для каждого из 3 антигенов, и должна давать четкий серый цвет, который следует читать как S3 на CombScale (шкале от S0 до S6; см. раздел IX). Это пороговые значения для FPLV, FHV и FCV для ревакцинации, их титр 1:40; 1:16 и 1:32. Сравните цвет каждого пятна результата испытаний с цветом верхней точки. Если тон любой из пятен равен или темнее оттенка самого верхней точки, то кошка имеет защитный титр антител к конкретному вирусному антигену. Если цветовой тон любой из точек светлее, чем цвет тона контрольной точки или отсутствует цвет в местах, где должен быть результат теста, то титр антител к вирусу, находится ниже принятого защитного уровня. Должна быть рассмотрена ревакцинация.

Для оценки количества антител используйте прибор CombScale, предоставляющийся в наборе.

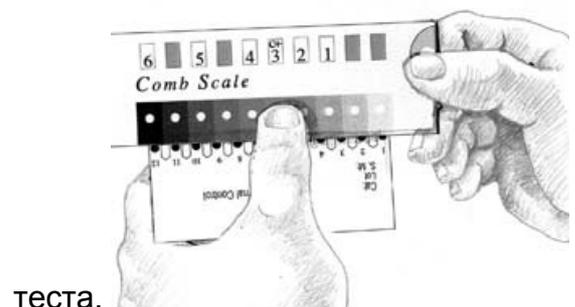
Сухой Гребень может храниться в качестве отчета.

IX. Чтение результатов с использованием CombScale

Значение S — это число, которое появляется в желтом окошке, соответствующем цвету тестовой точки при откалиброванном приборе по положительному контролю, соответствующему S3.

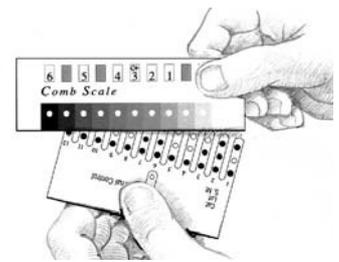
Когда Гребень полностью высохнет, откалибруйте его по шкале CombScale. Найдите тон пурпурно-серый на шкале, который наиболее близко подходит к точке Положительного Контроля (верхняя точка). Двигая желтую линейку, найдите отметку C+, появившуюся в окошке над цветом, который вы только что нашли.

Держите линейку в таком положении на протяжении всего чтения результатов. Этот шаг фактически калибрует C+ и S, с которыми будут сравниваться точки



теста.

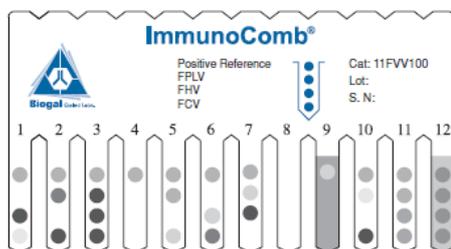
Удерживая линейку, найдите тон на шкале, который будет наиболее подходит точке результата теста (нижняя точка). Значение, которое появится в окошке сверху, является оценкой CombScale (S0-S6).



Повторите этот шаг с каждой точкой теста отдельно.

Другой способ чтения результатов — это использование прибора CombScan 2007. Это программа, которая использует компьютер и TWAIN совместимый сканер. Когда Гребень помещается в сканер, программа считывает цветовой результат в числовом значении. CombScan помогает лаборатории в чтении результатов ImmunoComb и сохранении данных. Программа устанавливается бесплатно по запросу.

X. Пример проявленного Гребня



№ зубца	Результат по FPLV	Результат по FHV	Результат по FCV	Примечание
1	S-0 Отрицательный	≥S5 Высокий положительный	0<S1 Отрицательный	
2	S4 Положительный	S-0 Отрицательный	≥S5 Высокий положительный	
3	≥ S5 Высокий положительный	≥S5 Высокий положительный	≥S5 Высокий положительный	
4	S-0 Отрицательный	S-0 Отрицательный	S-0 Отрицательный	
5	≥S3 Положительный	S-0 Отрицательный	S1-2 Недостаточный иммунитет	
6	S-0 Отрицательный	S1-2 Недостаточный иммунитет	S4 Положительный	
7	S1-2 недостаточный иммунитет	≥S5 Высокий положительный	S-0 Отрицательный	
8	недействительный	недействительный	недействительный	Повторное испытание.
9	недействительный	недействительный	недействительный	Высокий фон. Повторное испытание
10	0<S1 Отрицательный	S-0 Отрицательный	≥ S5 Высокий положительный	
11	≥S3 Положительный	≥S3 Положительный	≥S3 Положительный	
12	≥S3 Положительный	≥S3 Положительный	≥S3 Положительный	Высокий фон с положительными

				результатами
--	--	--	--	--------------

XI. Меры предостережения и хранение теста

1. Хранить набор при температуре 2-8°C. Не замораживать набор.
2. Перед проведением теста выдержите все элементы набора и исследуемые образцы при комнатной температуре примерно 60-120 минут (или инкубируйте Проявочную ванночку 22 минуты при 37°C). Исследование проводится при комнатной температуре (20-25°C).
3. Избегайте утечки и перекрестного контаминирования растворов.
4. Перемешивайте реагенты путем переворачивания проявочной ванны несколько раз до использования.
5. Не смешивайте реагенты разных наборов или разных ячеек одного набора.
6. Не касайтесь зубцов Гребня.
7. При использовании проявочной ванны, вскрывайте покрытие каждой ячейки строго следуя процедурным инструкциям. Не снимайте алюминиевое покрытие проявочной ванны все сразу.
8. Набор ИммуноКомб содержит инактивированный биологический материал. С набором следует обращаться и утилизировать его в соответствии с принятыми санитарно-гигиеническими нормами.

XII. Содержимое набора

Компоненты	Тест набор на 12 исследований (CVVV101)	Тест набор на 120 исследований (50CVV110)
A. Гребень (в алюминиевой оболочке)	1	10
B. Проявочная ванна	1	10
C. Одноразовый пинцет	1	1
D. Прибор CombScale	1	1
E. Набор из 12 капилляров и одного поршня	1	Под заказ
Инструкция	1	1

XIII. Литература

- ААНА Vaccine Task Force. (2006). JAANA, **42**, 80-89.
 Lappin et al. (2002). J Am Vet Med Assoc, **220(1)**, 38-42 .
 Mouzin et al. (2004). J Am Vet Med Assoc. Jan 1, **224(1)**, 61-66.
 Waner et al. (2006). J Vet Diag. Invest., **18. (3)**, 267-270.

<p>Производитель: Biogal – Galed Labs, Galed 19240 M.P. Megidol, Израиль Tel: 972-4-9898605 • Fax: 972-4-9898690 E-mail: Info@biogal.co.il • Site: www.biogal.co.il</p>	<p>Эксклюзивный дистрибьютор в Российской Федерации: ЗАО «Биоград» Россия, 197110, г. Санкт-Петербург, Петровский пр., д. 14, литер А, офис 19-Н. тел/факс: +7 (812) 325 21 70 http://www.biograd.ru biograd@biograd.ru</p>
--	--