

ImmunoComb®

FELINE TOXOPLASMA & CHLAMYDOPHILA ANTIBODY TEST KIT

Инструкция

08.03. 2011

Предназначен для 12/120 исследований

I. Назначение

Бесприборная иммуноферментная тест-система предназначена для определения титра антител IgG в сыворотке крови кошек к *Toxoplasma gondii* и *Chlamydomphila sp.* Целью данного набора является получение полезной информации для оценки иммунного статуса кошек в отношении этих возбудителей и оказания помощи в случае положительного диагноза.

II. Общая информация

Токсоплазмоз и хламидиоз кошек распространены по всему миру. Чаще всего болеют молодые животные, но взрослые кошки так же могут быть подвержены данным заболеваниям. Токсоплазмоз особенно опасен как зооноз, так как пока нет никакой вакцины против *T.gondii*, вакцинация возможна только против *Chlamydomphila*. Мониторинг уровня антител при данных заболеваниях сможет помочь при постановке диагноза.

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 будут получены через 40 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 *Chlamydomphila* нанесен на среднюю точку, очищенный антиген *Toxoplasma gondii* — на нижней точке (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. Специфичные IgG антитела из образца, при их наличии, связываются с антигеном на точке зубца Гребня и помечаются в ряде С, который содержит меченные ферментом антитела к IgG антителам кошки.

■Гребень переносится в следующую ячейку (ряд В), где вымываются не связавшиеся антитела.

■Гребень вставляется в следующую ячейку (ряд С), которая содержит антитела к IgG антителам кошки, помеченные ферментом, которые связываются с комплексом антиген-антитело на зубце гребня.

■После еще двух промывок (ряд D и E) Гребень переносится в следующую ячейку (ряд F), где проявляется цвет благодаря ферментативной реакции.

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

V. Описание болезней.

Токсоплазмоз

Toxoplasma gondii, является облигатным внутриклеточным паразитом, который может поражать ЦНС теплокровных животных, в том числе человека. Кошки заражаются возбудителями токсоплазмоза, поедая мышевидных грызунов, органы и ткани промежуточных хозяев, пораженных и содержащих эндозоиты и цисты (при хронической инвазии). Кошки играют важную роль в распространении токсоплазмоза, потому что они единственные млекопитающие, которые передают ооцисты со своими экскрементами. В дальнейшем ооцисты мигрируют в мышцы и головной мозг.

T. gondii также может передаваться через плаценту и с молоком матери. Итак, основными источниками инфекции для кошек являются сырое мясо, зараженная добыча, внутриутробное заражение котят или же подсосный период. Но у здоровых кошек, инфекция обычно протекает бессимптомно.

Признаки заболевания токсоплазмозом у домашних животных неспецифические: лихорадка, потеря аппетита, угнетённое состояние. Дальнейшие признаки могут проявляться в зависимости от острого или хронического течения инфекции и где *T. gondii* находится в организме, наиболее тяжелое течение болезни при нахождении их в нервной системе.

Хламидиоз

Chlamydomphila felis (ранее *Chlamydia psittaci*.var *felis*) является облигатным внутриклеточным паразитом, который обладает ригидной клеточной стенкой, но по строению занимает некое промежуточное положение между бактериями и вирусами. Поражает слизистые оболочки глаз кошек, вызывая у них конъюнктивит, который начинается в одном глазу и затем, приблизительно через неделю, переходит на другой. Особенно часто страдают хламидиозным конъюнктивитом котята в возрасте от полутора до трех месяцев, т.е. после того, как их отрывают от материнского молока. Однако взрослые кошки так же могут болеть.

Клинические признаки конъюнктивита уменьшаются в течение нескольких недель, но лёгкая форма конъюнктивита может сохраняться в течение многих месяцев.

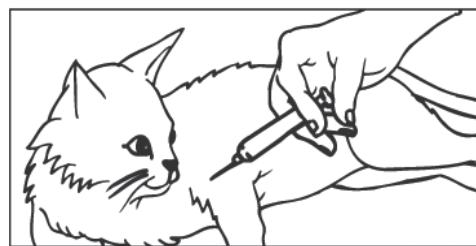
VI. Диагноз

Измерения антител к *T. gondii* в крови - это лучший метод для диагностики токсоплазмоза. Иногда ооцисты можно найти в фекалиях кошки, но выглядят они настолько похоже на некоторых других паразитов, что это не является надежным методом диагностики. Кроме того, кошки выделяют ооцисты только в течение короткого периода времени (около 2-3 недель), и часто больше не происходит их выделения, хотя имеются все клинические признаки заболевания. ПЦР также может быть использован для подтверждения инфекции и для контроля эффективности лечения. Из всех существующих серологических методов: РПГА, Иммунофлюоресцентный анализ, планшетный ИФА, точечный анализ с использованием вторичных антител, меченных ферментом ИммуноКомб® является наиболее лёгким, удобным и надежным методом.

VII. Процедура анализа на **ImmunoComb®**

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

1. Получить образцы крови у кошки.



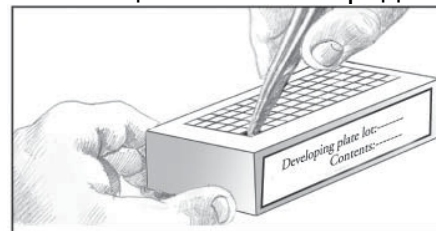
2. Используйте пипетку или капилляр*.



При тестировании цельной крови используйте 10 мкл

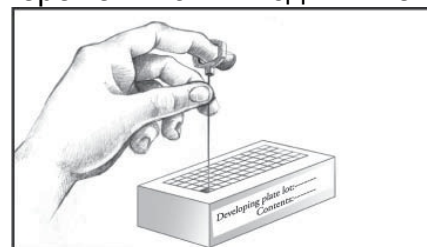
При тестировании сыворотки/плазмы используйте 5 мкл

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

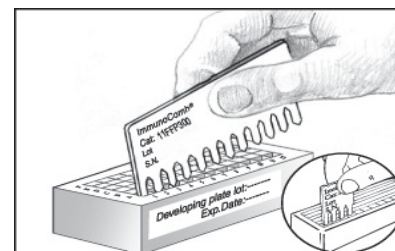


опустите пипетку/поршень несколько раз.

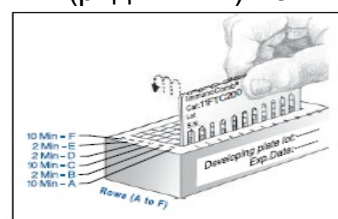
Не открывайте ячейки ряда А или других рядов, которые вы не собираетесь использовать.

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/ячейки ряда А (печатной стороной к себе) и инкубируйте 10 минут. Для улучшения перемешивания аккуратно передвигайте Гребень вверх вниз в начале каждой инкубации (каждого ряда). Повторите это движение как минимум дважды во всех остальных рядах.

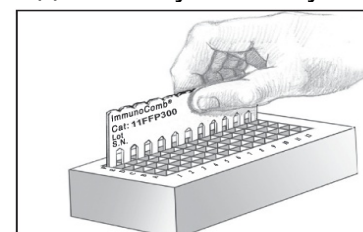


6. Используйте пинцет для вскрытия следующего ряда (ряд В) и вставьте Гребень на 2 минуты. До перенесения Гребня из одного ряда в следующий, вскройте последующий ряд. **Удалите капли жидкости с заостренных концов зубцов Гребня** с помощью чистой фильтровальной бумаги. Не прикасайтесь к фронтальной поверхности Гребня. Вставьте Гребень в следующий ряд (ряд С) на 10 минут. Переместите Гребень в оставшиеся ячейки (ряд D и E) на 2 минуты в



каждой, а в последнюю ячейку (ряд F) на 10 минут.

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

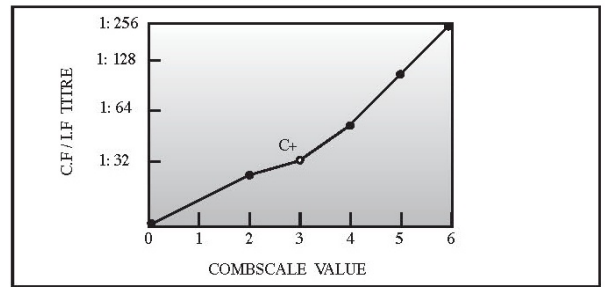


течение 1-10 минут

VIII. Чтение и интерпретация результатов

- Самая верхняя точка - точка положительного контроля, которая должна дать четко выраженный пурпурно-серый цвет. Это тот же самый тон, что дает существенно положительный результат на антитела *Chlamydia* в разведении 1:32 С и антитела *Toxoplasma* при титре 1:32 (см. Рис. 1). При использовании CombScale, эта точка должна читаться как S3 (см. раздел IX) (на шкале от S0 до

Fig. 1 Relationship between the CombScale's "S" value and the C.F. or I.F.



S6).

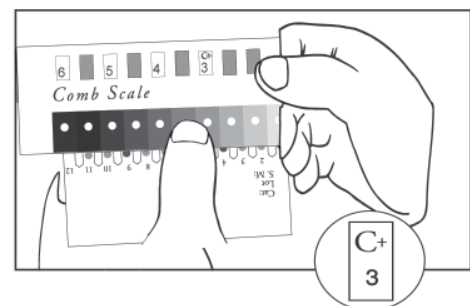
- Средняя точка показывает результат на Chlamydia IgG антитела в образце.
- Нижняя точка на Гребне показывает результат Toxoplasma IgG антител в образце.
- Сравните цветовой фон точек на Chlamydia и Toxoplasma с точкой положительного контроля (раздельно).
- Цвет результата темнее или же равный по цвету с точкой эталона считается положительным.
- Слабый цвет точки S1 или меньше считается отрицательным результатом.
- Для оценки количества антител используйте прибор CombScale, предоставляющийся в наборе (см. раздел IX).

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.

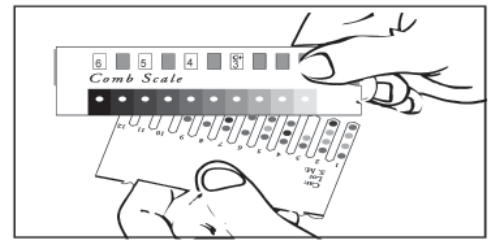
Держите линейку в таком положении на протяжении всего чтения результатов. Этот шаг фактически калибрует C+ и S, с которыми будут сравниваться точки



теста.

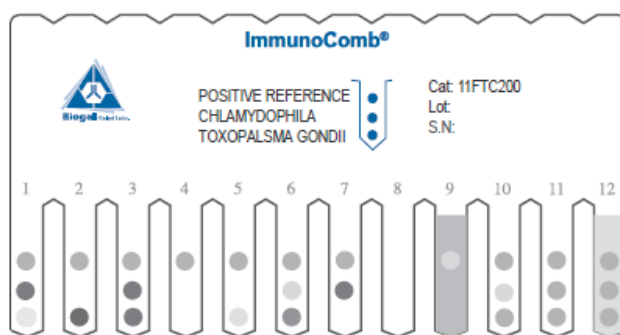
Удерживая линейку, найдите тон на шкале, который будет наиболее подходит точке результата теста (нижние точки). Значение, которое появится в окошке сверху, является оценкой CombScale (S0-S6).

Повторите этот шаг с каждой точкой теста отдельно.



Другой способ чтения результатов — это использование прибора CombScan. 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.

I. Пример проявленного Гребня



Номер зуба	Результат по Chlamydomphila		Результат по Toxoplasma	
	Ссылка	Интерпретация	Ссылка	Интерпретация
1	≥ S5	Высоко положительный	<S1	Отрицательный
2	S0	Отрицательный	S6	Высоко положительный
3	≥ S5	Высоко положительный	≥ S5	Высоко положительный
4	S0	Отрицательный	S0	Отрицательный
5	S0	Отрицательный	S1-2	Неопределённый
6	S1-2	Неопределённый	S4	Положительный
7	≥ S5	Высоко положительный	S0	Отрицательный
8*		Недействительный		Недействительный
9**		Недействительный		Недействительный
10	S1-2	Неопределённый	≥ S3	Положительный
11	≥ S3	Положительный	≥ S3	Положительный
12***	≥ S3	Положительный	≥ S3	Положительный

Примечания:

* Нет Положительной Ссылки. Повторное испытание.

** Высокий фон. Повторное испытание.

*** Высокий фон с положительными результатами.

II. Меры предостережения и хранение теста

V. Хранить набор при температуре 2-8°C. Не замораживать набор.

VI. 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).

VII. Избегайте утечки и перекрестного контаминирования растворов.

VIII. Перемешивайте реагенты путем переворачивания проявочной ванны несколько раз до использования.

IX. Не смешивайте реагенты разных наборов или разных ячеек одного набора.

X. Не касайтесь зубцов Гребня.

XI. При использовании проявочной ванны, вскрывайте покрытие каждой ячейки, строго следуя процедурным инструкциям. Не снимайте алюминиевое покрытие проявочной ванны все сразу.

XII. Набор ИммуноКомб содержит инактивированный биологический материал. С набором следует обращаться и утилизировать его в соответствии с принятыми санитарно-гигиеническими нормами.

III. Содержимое набора

Компоненты	Тест набор на 12 исследований (55CPD201)	Тест набор на 120 исследований (55CPD210)
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

- Dubey (1986). Feline Practice 16: 12-26, 44-45.
- Montoya & Liesenfeld (2004) Lancet, 363: 1965-1976.
- Molina & Ridley-Dash (2008) USM R & D J: 16(1): 53-55.
- Sykes JE (2005) Feline chlamydiosis. Clin Tech Small Anim Pract. 20(2):129-34.

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	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
---	--