

# ***ImmunoComb®***

## **CANINE PARVOVIRUS & DISTEMPER IgG ANTIBODY TEST KIT**

### **ИНСТРУКЦИЯ**

Предназначен для 12/120 исследований  
15.11.2008 18.12.2008

#### **I. Назначение**

Бесприборная ИФА тест-система предназначена для определения титра IgG антител в сыворотке крови собак к Парвовирусу собак (CPV) и Вирусу собачей чумы (CDV). Основная цель этого комплекта состоит в том, чтобы обеспечить возможность оценки иммунного статуса собак относительно этих двух патогенов. Кроме того, имеется возможность определить титр антител IgG до и после вакцинации или же при наличии инфекции.

#### **II. Общая информация**

Парвовирус собак (CPV) и Вирус собачей чумы (CDV) являются важными причинами заболеваемости и смертности у собак. Щенки наиболее подвержены CPV и CDV, 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, CPV и CDV продолжают вызывать большие клинические опасения 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 IgG CPV и CDV доступны в течение 25 минут.

#### **IV. Как работает IMMUNOCOMB®?**

- Набор ImmunoComb® содержит два основных компонента: Гребень в виде пластиковой карты 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 CPV антиген нанесен на среднюю точку и очищенный CDV антиген — на нижнюю из 3 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 (п. VII). 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 собаки.

■ 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**

### **Парвовирус собак**

Распространение парвовирусной инфекции собак может происходить при контакте с зараженной окружающей средой. Клинические признаки CPV - сонливость, угнетённое состояние, отсутствие аппетита, высокая температура, рвота и понос (иногда с кровью). Высокая смертность среди щенков.

### **Вирус Чумы Собак**

Вирус чумы собак в природе передается от собаки к собаке аэрозольным путем. CDV может вызывать кратковременную лихорадку, которая может пройти незаметно. В некоторых случаях, когда развивается болезнь, она может характеризоваться перемежающейся лихорадкой, депрессией, выделением из глаз и носа и анорексией. Также могут проявляться респираторные и/или гастроэнтерологические признаки. У многих (но не у всех) собак, переживших острую стадию заболевания, развиваются симптомы нарушения центральной нервной системы (ЦНС), включая воспаление зрительного нерва и поражение сетчатки. Наиболее известные признаки нарушения ЦНС — атаксия, парезы и эпилептические припадки.

## **VI. Диагностика**

Обычно ветеринары ставят предполагаемый диагноз на основании клинических признаков, которые варьируются от легких до тяжелых.

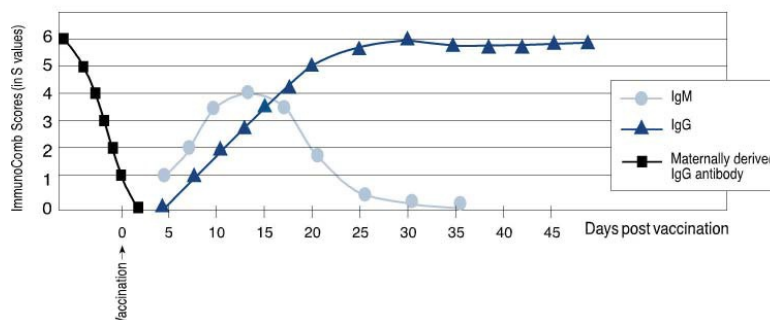
Лабораторные тесты используются для подтверждения диагноза. В дополнение к общему и биохимическому анализу крови широкое распространение получает серология с использованием диагностических инструментов. Серология обеспечивает более полную картину иммунологического статуса собаки.

Гуморальный иммунный ответ в основном состоит из двух классов иммуноглобулинов (антител): IgM и IgG. В первые дни инфицирования или вакцинации в большом количестве вырабатываются IgM антитела. Позже уровень IgM антител снижается, в то время как увеличивается уровень IgG антител. Таким

образом, у собак, которые способны развить иммунный ответ, повышенный уровень IgM антител свидетельствует о недавнем инфицировании.

Отсутствие IgM антител при увеличенном титре IgG свидетельствует о раннем контакте с вирусом, и собака в настоящее время иммунная. Увеличенный IgG титр, как правило, обнаруживается у собак, переживших острую фазу заболевания или после вакцинации (Рис.1).

Рис. 1 — Уровень антител после вакцинации на CPV и CDV у здоровых собак



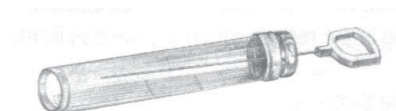
## VII. Процедура анализа на ИммуноКомб

Анализ проводится при температуре 20<sup>0</sup>-25<sup>0</sup>С (68<sup>0</sup>—77<sup>0</sup>F).

1. Забрать образец крови у собаки



2. Используйте пипетку или капилляр\*.



При тестировании цельной крови используйте 10 мкл

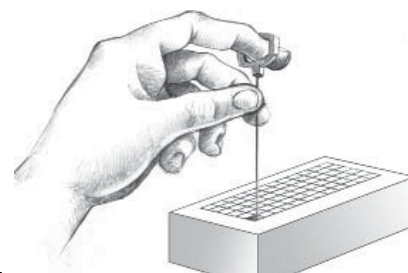
При тестировании сыворотки/плазмы используйте 5 мкл

3. Используйте пинцет (проколите) 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**

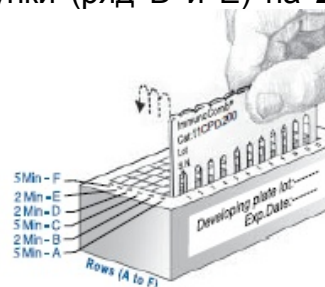
**По запросу можно приобрести набор из 40 капилляров и 1 поршня**

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/ячейки ряда А (печатной стороной к себе) и инкубируйте 20 минут. Для улучшения перемешивания аккуратно передвигайте Гребень вверх вниз в начале каждой инкубации (каждого ряда). Повторите это



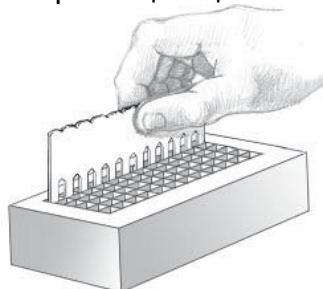
движение как минимум дважды во всех остальных рядах.

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 20 минут. Переместите Гребень в оставшиеся лунки (ряд D и E) на 2 минуты в



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

7. По завершению проявления цвета в ряду 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**

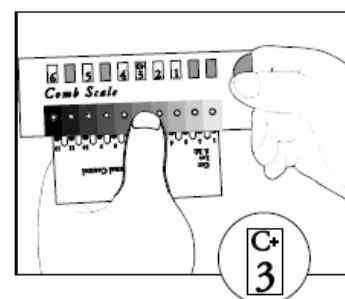
- Самая верхняя точка - точка положительного контроля, которая должна дать четко выраженный пурпурно-серый цвет. Это тот же самый тон, который создается в результате значительного положительного ответа при титре антител к CPV 1:80 в тесте и титра антител к CDV равному 1:80. При использовании CombScale, эта точка должна читаться как S3 (см. раздел IX) (на шкале от S0 до S6).
- Средняя точка показывает результат на CPV IgG антител в образце.
- Нижняя точка на Гребне показывает результат CDV IgG антител в образце.
- Сравните цветовой фон точек на CPV и CDV с точкой положительного контроля (раздельно).
- Для оценки количества антител используйте прибор CombScale, предоставляющийся в наборе.
- Цветовой тон, который равен или темнее, чем у эталонного места считается положительным ответом.
- Слабый цвет ( $\leq S1$ ) считается неубедительным.
- Для оценки титра используйте CombScale, который входит в набор.

#### **IX. Чтение результатов с использованием CombScale**

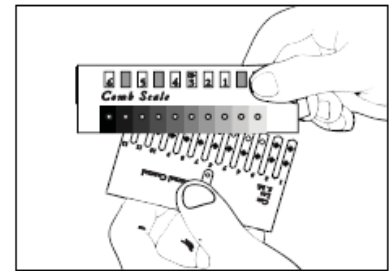
Значение S — это число, которое появляется в желтом окошке, соответствующем цвету тестовой точки, при откалиброванном приборе по положительному контролю, соответствующему S3.

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.



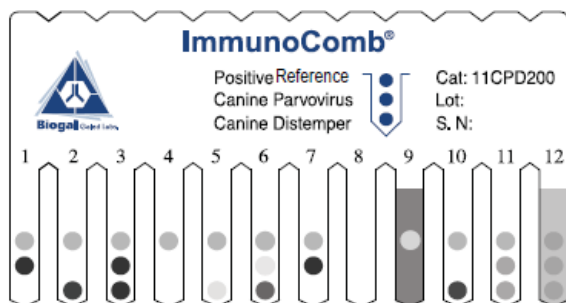
Удерживая линейку, найдите тон на шкале, который будет наиболее подходит к точке результата теста (нижние точки). Значение, которое появится в окошке сверху, является оценкой CombScale (S0-S6).



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.

#### Х. Пример проявленного Гребня



№ зубца	Результат на Парвовирус		Результат на Вирус Чумы	
	Степень	Описание	Степень	Описание
1	≥ S5	Высоко положительный	S0	Отрицательный
2	S0	Отрицательный	≥ S5	Высоко положительный
3	≥ S5	Высоко положительный	≥ S5	Высоко положительный
4	S0	Отрицательный	S0	Отрицательный
5	S0	Отрицательный	S1-2	Недостаточный иммунитет
6	S1-2	Недостаточный иммунитет	S4	Положительный
7	≥ S5	Высоко положительный	S0	Отрицательный
8*		Неверно		Неверно
9**		Неверно		Неверно

10	S0	Отрицательный	$\geq S5$	Высоко положительный
11	$\geq S3$	Положительный	$\geq S3$	Положительный
12***	$\geq S3$	Положительный	$\geq S3$	Положительный

**Примечание:**

\*Нет Положительной Ссылки. Повторное испытание.

\*\*Высокий фон. Повторное испытание.

\*\*\* Высокий фон с положительными результатами

**XI. Меры предосторожности и условия хранения 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(55CPD201)	Тест набор на 120 исследований (55CPD210)
А. Гребень (в алюминиевой оболочке)	1	10
В. Проявочная ванна	1	10
С. Одноразовый пинцет	1	1
Д. Прибор CombScale	1	1
Е. Набор из 12 капилляров и одного поршня	1	Под заказ
Инструкция	1	1

### XIII. Литература

ААНА Vaccine Task Force. (2006). *JAANA*, **42**, 80-89.

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)**, 267-270.

Производитель: Biogal – Galed Labs, Galed 19240 M.P. Megidol, Израиль Tel: 972-4-9898605 • Fax: 972-4-9898690 E-mail: <a href="mailto:Info@biogal.co.il">Info@biogal.co.il</a> • Site: <a href="http://www.biogal.co.il">www.biogal.co.il</a>	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 <a href="http://www.biograd.ru">http://www.biograd.ru</a> <a href="mailto:biograd@biograd.ru">biograd@biograd.ru</a>
--	---