

ImmunoComb®

CANINE EHRLICHIA ANTIBODY TEST KIT

ИНСТРУКЦИЯ

Предназначен для 12/120 исследований
30.12.2008

I. Назначение

Бесприборная ИФА тест-система Canine Ehrlichia Antibody Test Kit предназначена для определения титров антител в сыворотке крови собак к *Ehrlichia canis*.

II. Общая информация

Это инфекционное заболевание является одним из [клещевых заболеваний](#) собак, как правило, вызываемое *Ehrlichia canis*. Возбудитель *Ehrlichia canis* является первичным клещевым паразитом, и поэтому клещи также образуют резервуар возбудителей. Эрлихиоз является широко распространенным заболеванием собак в тропических и субтропических областях. Заражение осуществляется через слюну клещей и в редких случаях при переливании крови или через зараженные иглы. Является мультисистемным заболеванием и его клинические признаки меняются в зависимости от тяжести и длительности заболевания. Поражая в первую очередь моноциты у собаки, болезнь получила название Canine Monocytotropic Ehrlichiosis (CME).

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 *Ehrlichia canis* доступны в течение 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.
- Диагностическая точка антигена *E. canis* нанесена на нижнюю точку каждого зубца Гребня. Верхняя точка — Положительный контроль.
- 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 ряду С, который содержит меченные ферментом антитела к IgMG 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. Клинические признаки

Течение болезни протекает в три этапа:

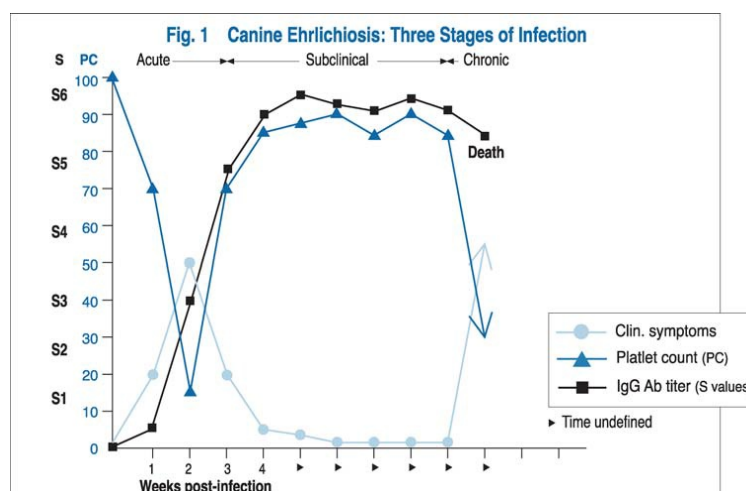
1-й этап: ранней или острой стадии инфекции включает в себя неспецифические клинические признаки, которые могут быть скрытыми и слабовыраженными и могут пройти незаметно для владельца собаки. У некоторых собак появляется снижение аппетита с повышенной температурой и вялость. После осмотра ветеринарный врач может обнаружить увеличение лимфоузлов и селезёнки. Снижение количества тромбоцитов является наиболее выраженным показателем при гематологии. Если животное не лечилось, то большинство собак может "выздороветь" от острой стадии заболевания. Тем не менее, они не обязательно поправились, и таким образом может начаться второй этап инфекции.

2-й этап: Это субклиническая стадия инфекции (т.е. нет признаков болезни), которая может длиться неопределенный срок. Правильное лечение на этой стадии, особенно у животных с высоким риском заболевания, является важным для того, чтобы предотвратить дальнейший прогресс заболевания.

3-й этап: Непонятно, что заставляет некоторых собак переходить от субклинической стадии в хроническую (3-ю) стадию эрлихиоза. Однако признано, что после того, как собаки достигли этой стадии, попытки лечения часто малоэффективны. Клинические признаки хронического эрлихиоза включают сильную вялость, лихорадку, потерю аппетита и веса, частые кровотечения и в конечном итоге смерть.

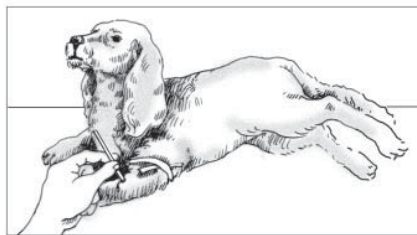
VI. Диагностика

Диагноз СМЕ в значительной мере основан на клинических признаках при остром и хроническом этапе заболевания. Принимая во внимание, что снижение количества тромбоцитов является наиболее важным при гематологическом исследовании показателем, серологическое исследование является предпочтительным методом для подтверждения инфекции *E. Canis*. Это особенно важно во 2-й стадии заболевания, когда клинические проявления отсутствуют. (См. рис. 1)



VII. Процедура анализа на ИммуноКомб

Анализ проводится при температуре 20°-25°C (68°—77°F).



1. Забрать образец крови у собаки.

2. Используйте пипетку или капилляр*.



При тестировании цельной крови используйте 10 мкл

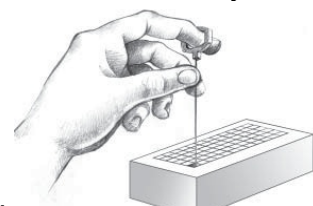
При тестировании сыворотки/плазмы используйте 5 мкл

3. Используйте пинцет для вскрытия алюминиевой защитной пленки ряда А (одна ячейка



для одного образца).

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

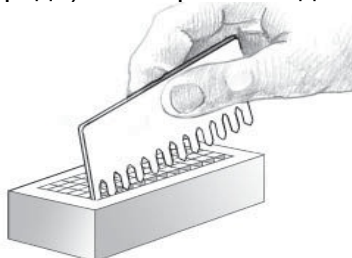


пипетку/поршень несколько раз.

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

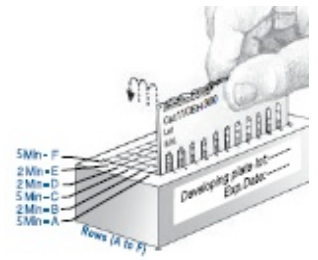
По запросу можно приобрести набор из 40 капилляров и 1 поршня.

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 5 минут. Для улучшения перемешивания аккуратно передвигайте Гребень вверх вниз в начале каждой инкубации (каждого ряда). Повторите это движение как минимум дважды во всех

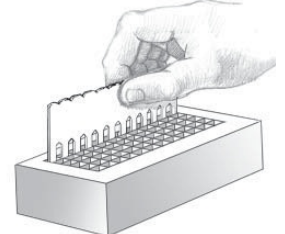


остальных рядах.

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 5 минут. Переместите Гребень в оставшиеся ячейки (ряд D и E) на 2 минуты в каждой, а в последнюю ячейку (ряд F) на 5 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

Верхняя точка должна дать пурпурно-серый цвет. Это тот же тон цвета, который создается при значительном положительном ответе. Эта точка должна читаться, как S3 на шкале от S0 до S6/S3 считается точкой отсчета уровня IgG антител, что примерно эквивалентно положительному иммунному ответу при титре 1:80 по иммунофлуоресцентному анализу (РИФ).

Нижняя точка Гребня дает результат E.Canis антител IgG в образце теста. Сравните цвет нижней и верхней точки. Четкая, видимая пурпурно-серая точка показывает на положительный результат. Более темная точка, чем точка положительного контроля, указывает на высший титр. Более слабый цвет указывает на низкий ответ, который приблизительно равен от 1:20 до 1:40 титру по иммунофлуоресцентному анализу (РИФ).

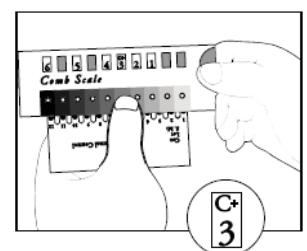
Для оценки титра используйте CombScale, который входит в набор (см. раздел IX).

IX. Чтение результатов по шкале CombScale

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

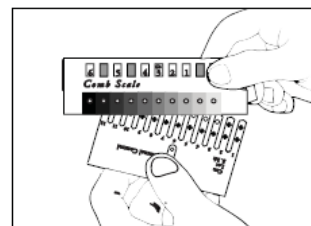
Когда Гребень полностью высохнет, откалибруйте его по шкале CombScale. Найдите тон пурпурно-серый на шкале, который наиболее близко подходит к точке Положительного Контроля (верхняя точка). Двигая желтую линейку, найдите отметку C+, появившуюся в окошке над цветом, который вы только что нашли.

Держите линейку в таком положении на протяжении всего чтения результатов. Этот шаг фактически калибрует C+ и S3, с которым и будут сравниваться точки теста.

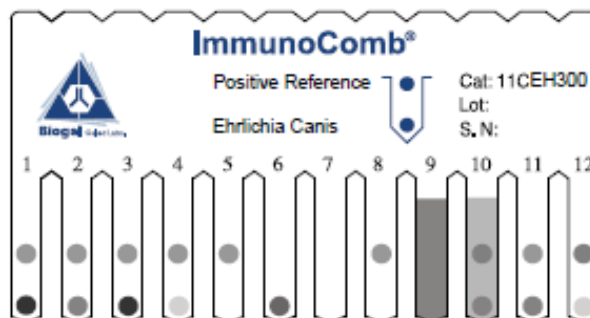


Удерживая линейку, найдите тон на шкале, который будет наиболее точно подходить к точке результата теста (нижняя точка). Значение, которое появится в окошке сверху,

является оценкой CombScale (S0-S6).



X. Пример использованного Гребня



Номер теста	Результат		Примечание
1	≥S5	Высокая положительная реакция на E. Canis	Титр 1:320-1280
2	S3-S4	Средняя положительная реакция на E. Canis	Титр 1:80-1:160
3	≥S5	Высокая положительная реакция на E. Canis	Титр 1:320-1280
4	S1-2	Низкая положительная реакция на E. Canis	Титр 1:20-1:40
5	S0	Отрицательная реакция на E. Canis	Отрицательный
6		*Нет положительной ссылки	Неверно
7		*Нет положительной ссылки	Неверно
8	S0	Отрицательная реакция на E. Canis	Отрицательный
9		*Высокий цвет фона - мешает чтению.	Неверно
10	≥S3	Положительная реакция с высоким фоном.	Положительный
11	S3-S4	Средняя положительная реакция на E. Canis	Титр 1:80-1:160
12	S1-2	Низкая положительная реакция на E. Canis	Титр 1:20-1:40

*Повторите тест.

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.

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 (50LCL 201)	Тест набор на 120 исследований (50LCL210)
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

- Harrus S et al. (2002). *Vet Microbiol.* **86 (4)**, 361-368.
 Waner T et al. (2000). *Jl of Vet Diag Invest.* **12**, 240-244.
 Waner T (1999). *Diag of Canine Monocytic Eh Thesis*, Utrecht U.
 Waner T et al. (1997). *Vet Para.* **69**, 307-317.

Производитель: Biogal – Galed Labs, Galed 19240 М.Р. 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
--	---