



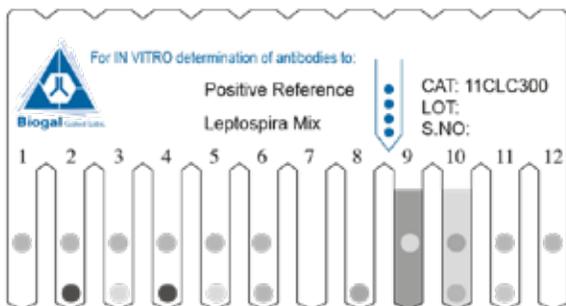
Professional Veterinary Diagnostic Test

For Veterinary use only. For in vitro use only.
IMMUNOCOMB is a registered trademark of BIOGAL GALED Labs
 Distributed exclusively in Italy by AGROLABO SpA



LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il Controllo Positivo interno dovrebbe dare un colore grigio chiaro e brillante. Questa intensità di colore corrisponde ad una significativa risposta immunitaria. Questo spot dovrebbe essere letto come S3 su una scala da S0 a S6. Il valore S3 è considerato il livello di cut-off di anticorpi IgG, equivalente ad una risposta immune con titolo di 1:400 con la tecnica di microagglutinazione (MAT). Lo spot inferiore è il risultato degli anticorpi anti-Leptospira eventualmente presenti nel campione esaminato. Un chiaro grigio visibile indica una risposta positiva. Un risultato più scuro del Controllo Positivo indica un titolo più alto. Una colorazione più debole del Controllo Positivo indica una risposta bassa, che corrisponde approssimativamente ad un titolo in MAT compreso tra 1:100 e 1:200.



Nr. Dentino	Risultato
1	S0 Reazione negativa
2	≥S5 Reazione positiva forte
3	S1-S2 Reazione positiva debole
4	≥S5 Reazione positiva forte
5	S1-S2 Reazione positiva debole
6	≥S3 Reazione positiva
7*	Non valido
8*	Non valido
9**	Non valido
10***	≥S3 Reazione positiva
11	≥S3 Reazione positiva
12	S0 Reazione negativa

Tabella di conversione da valori S a titoli con la tecnica di microagglutinazione (MAT) per Canine Leptospira

Valori S	Canine Leptospira
0	Negativo
1	MAT <1:100
2	MAT 1:200
3	MAT 1:400
4	MAT 1:800
5	MAT 1:1600
6	MAT 1:3200

Note:

- * Assenza di controllo positivo. Ripetere il test.
- ** Elevata colorazione di fondo. Ripetere il test.
- *** Elevata colorazione di fondo con risultato positivo.

ImmunoComb Canine Leptospira

Kit per la determinazione degli anticorpi IgG anti-Leptospira interrogans

MANUALE D'USO
 Rev. R1 - 21/10/2020

SCOPO DEL KIT

Questo kit viene utilizzato per determinare il titolo degli anticorpi diretti verso diversi sierotipi di *L. interrogans* in campioni di siero/plasma o sangue intero di cane. Nel test viene utilizzato un mix dei seguenti antigeni: *L. icterohaemorrhagiae* (copenhageni and RGA), *L. canicola*, *L. pomona* and *L. grippityphosa*. Il risultato positivo indica un'infezione in corso. Il kit non permette di distinguere il sierotipo specifico e non si deve utilizzare per monitorare la vaccinazione. Il kit ImmunoComb è un test ELISA modificato. Il kit contiene tutti i reagenti necessari per lo sviluppo del test e fornisce i risultati in circa 20-25 minuti.

FUNZIONAMENTO DEL KIT

Basato sul principio del saggio immunoenzimatico su fase solida, ImmunoComb è composto da una carta plastificata a forma di pettine su cui sono adesi il mix di antigeni purificati della *Leptospira interrogans*. È possibile testare sia campioni di sangue intero che campioni di siero. Il campione viene deposto nella celletta del primo scomparto, dove si inserisce il pettine plastificato in modo che gli anticorpi eventualmente presenti nel campione si leghino agli antigeni adesi al pettine, formando il complesso Ag-Ab. Nel secondo scomparto viene eseguito il ciclo di lavaggio, così tutto il materiale non legato viene eliminato. Il successivo scomparto contiene un anticorpo anti-IgG di cane coniugato con un enzima. I complessi Ag-Ab fissati sul pettine si legano al coniugato. Dopo altri due lavaggi, il pettine viene inserito nell'ultimo scomparto dove avviene la reazione enzimatica che porta allo sviluppo di colore sul pettine. Usando la CombScale, si converte l'intensità del colore degli spot in livello di anticorpi IgG anti-*Leptospira interrogans* utilizzando come riferimento un controllo positivo che è localizzato sullo spot più alto del pettine. Il pettine può essere diviso in singoli dentini ed usato per determinazioni singole.

PRECAUZIONI

1. Conservare il kit a +2-8°C. NON CONGELARE IL KIT.
2. Prima di condurre le analisi portare il kit e i campioni a temperatura ambiente, mantenendoli a tale temperatura (+20-25°C) per almeno 60-120 minuti.
3. Evitare il rovesciamento o la cross-contaminazione delle soluzioni.
4. Miscelare i reagenti invertendo delicatamente la piastra di sviluppo prima dell'uso.
5. Non mischiare i reagenti di diversi kit o da differenti scomparti dello stesso kit.
6. Non toccare i dentini del pettine.
7. Quando si usa la piastra di sviluppo tagliare le pellicole di ogni scomparto con precisione seguendo la procedura delle istruzioni d'uso. NON STRAPPARE O RIMUOVERE LA PELLICOLA DELL'INTERA PIASTRA DI SVILUPPO TUTTA INSIEME.

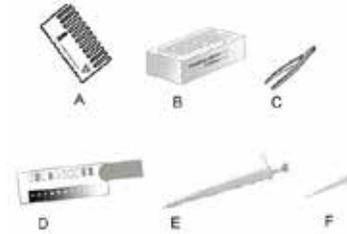


8. Il kit ImmunoComb contiene materiali biologici inattivati. Il kit deve essere maneggiato e eliminato in accordo con le norme sanitarie.

COMPONENTI DEL KIT

Il kit ImmunoComb include:

- A. un pettinino plastificato chiuso in una bustina di alluminio;
- B. una piastra di sviluppo;
- C. pinzette;
- D. una scala colorimetrica calibrata CombScale;
- E. pipetta da 5µl;
- F. puntali monouso.



ATTENZIONE

1. Prima di iniziare il test, portare il kit a temperatura ambiente (+20-25°C) per 1-2 ore, o in un incubatore a +37°C per 20 minuti. Le soluzioni del kit devono raggiungere una temperatura di +20-25°C.
2. Durante l'incubazione del pettine nei pozzetti A, C e F è fondamentale muovere il pettine su e giù diverse volte, all'inizio dell'incubazione e dopo 2-3 minuti.

PROCEDURA D'ANALISI

1. Prelevare il campione di sangue dal cane.
2. Agitare delicatamente la piastra di sviluppo in modo tale da miscelare i reagenti prima dell'utilizzo. Incidere la copertura di alluminio che copre lo scomparto A con le pinzette (uno scomparto per ogni campione).
3. Dispensare il campione nello scomparto A. Con la pipetta muovere il pistone su e giù alcune volte per miscelare.
Campione: sangue intero con anticoagulante - volume 10 µl, siero/plasma - volume 5 µl.
Utilizzo della pipetta: Inserire un puntale nuovo e tenendo premuto fino al primo "stop" prelevare la quantità di 5 µl. Espellere la quantità premendo fino al secondo "stop" della pipetta. Se il campione è sangue intero ripetere per 2 volte.
4. Rimuovere il pettinino plastificato dalla busta. Ogni dentino può essere utilizzato separatamente, utilizzare un numero di dentini pari al numero di campioni da testare. Inserire i dentini con il lato stampato verso l'operatore nel primo scomparto della riga A.



Muovere delicatamente su e giù il pettine alcune volte quindi lasciarlo nello scomparto A per 5 minuti. È importante muovere il pettine su e giù diverse volte, all'inizio dell'incubazione e dopo 2-3 minuti.

5. Forare la copertura dello scomparto B con le pinzette. Seguire la stessa procedura per le rimanenti righe alla fine di ogni tempo di incubazione. Tamponare delicatamente su carta il pettine per eliminare il liquido in eccesso. Inserire il pettine nello scomparto B e incubare per 2 minuti. Scuotere e trasferire il pettine allo scomparto C e incubare per 5 minuti. Il pettine poi è incubato nello scomparto D per 2 minuti, scomparto E per 2 minuti e scomparto F per 5 minuti, permettendo lo sviluppo del processo di colorazione.
6. Dopo che il pettine ha completato il ciclo nello scomparto F, trasferirlo di nuovo nello scomparto E. Incubare per 2 minuti per fissare il colore. Asciugare all'aria per 5 minuti prima di leggere i risultati.
7. Calibrare la scala con il Controllo Positivo di riferimento (spot superiore). Quando il pettine è asciutto allinearla con la scala di colore. Cercare il colore dello spot del Controllo Positivo sul dentino simile al colore sulla scala e far scorrere la striscia gialla finché la scritta C+ appare nella finestra corrispondente al colore. Mantenere ben ferma la scala su questa posizione durante la lettura.
8. Leggere ogni spot separatamente. Scegliere il colore più simile e leggere il valore S nella finestra gialla della CombScale.

