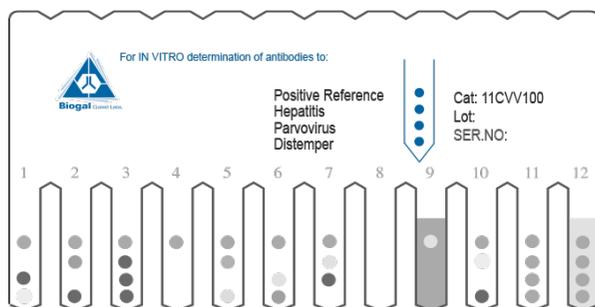




Professional Veterinary Diagnostic Test

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



## ImmunoComb VacciCheck Canine

**Kit per la determinazione degli anticorpi IgG anti-Epatite infettiva, Parvovirus e Cimurro**

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

Nr. Dentino	Risultato per ICH		Risultati per CPV		Risultati per CDV	
1	S0	Negativo	≥S5	Forte pos.	<S1	Negativo
2	S4	Positivo	S0	Negativo	S6	Forte pos.
3	≥S5	Forte pos.	≥S5	Forte pos.	≥S5	Forte pos.
4	S0	Negativo	S0	Negativo	S0	Negativo
5	≥S3	Positivo	S0	Negativo	S2	Debole pos.*
6	S0	Negativo	S2	Debole pos*	S4	Positivo
7	S2	Debole pos*	≥S5	Forte pos.	S0	Negativo
8**		Non valido		Non valido		Non valido
9***		Non valido		Non valido		Non valido
10	<S1	Negativo	S0	Negativo	≥S5	Forte pos
11	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo
12****	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo	≥S3	Positivo

**Note:**

- \* Da considerare dubbio in caso di sospetta infezione.
- \*\* Assenza di controllo positivo. Ripetere il test.
- \*\*\* Elevata colorazione di fondo. Ripetere il test.
- \*\*\*\* Elevata colorazione di fondo con risultato positivo.

**Tabella di conversione da valori S a titoli con la tecnica di riferimento per le diverse patologie**

Valori S	ICH	CPV	CDV
0	Negativo	Negativo	Negativo
1	Negativo	Negativo	Negativo
2	VN 1:8	HI 1:40	VN 1:16
3	VN 1:16	HI 1:80	VN 1:32
4	VN 1:32	HI 1:160	VN 1:64
5	VN 1:64	HI 1:320	VN ≥1:128
6	VN ≥1:128	HI ≥1:640	VN ≥1:256

**SCOPO DEL KIT**

Questo kit viene utilizzato per determinare il titolo di anticorpi IgG anti-epatite canina infettiva (ICH), parvovirus canino (CPV) e virus del cimurro canino (CDV). Lo scopo principale di questo kit è di fornire un ausilio nell'accertamento dello stato immunitario del cane verso questi tre patogeni. Si possono così determinare i titoli di IgG prima e dopo la vaccinazione o la durata dell'immunizzazione. Si raccomanda di testare questi tre titoli anticorpali per verificare lo stato di salute dell'animale ed il livello del titolo ogni anno prima della 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, IMB VacciCheck Canine è composto da una carta plastificata a forma di pettine su cui sono adesi gli antigeni purificati di ICH, CPV e CDV. Il campione viene deposto nella cassetta 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 nel livello di immunoglobuline anti-ICH, CPV e CDV, 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**

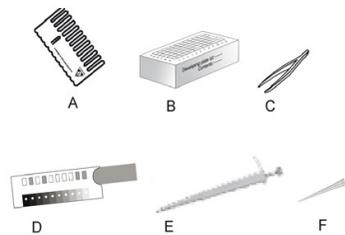
1. Conservare il kit a +2-8°C. NON CONGELARE IL KIT.
2. Prima di condurre le analisi portare il kit e i campioni a temperatura ambiente, mantenendoli a tale temperatura (+20-25°C) per almeno 60-120 minuti.
3. Evitare il rovesciamento o la cross-contaminazione delle soluzioni.
4. Miscelare i reagenti 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 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 un'altra volta dopo 2-3 minuti

## PROCEDURA D'ANALISI

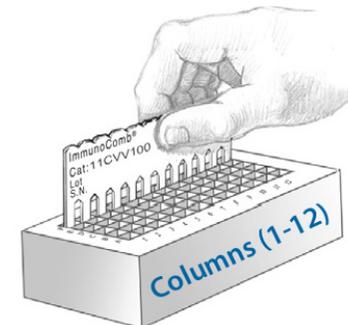
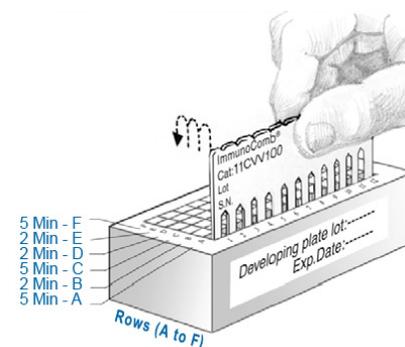
1. Prelevare il campione di sangue dal cane.
2. Agitare delicatamente la piastra di sviluppo in modo tale da miscelare i reagenti prima dell'utilizzo. Incidere la copertura di alluminio che copre lo scomparto A con le pinzette (uno scomparto per ogni campione).
3. Dispensare il campione nello scomparto 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. 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 allinearli 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.



## LETTURA E INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Il Controllo Positivo interno dovrebbe dare un colore grigio chiaro 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 titoli di 1:16 con tecnica V.N. per ICH, 1:80 con tecnica H.I. per CPV e 1:32 con tecnica V.N. per CDV. Il secondo spot dall'alto fornisce il risultato degli anticorpi anti-ICH. Il terzo spot degli anticorpi anti-CPV e lo spot più in basso degli anticorpi anti-CDV. Il colore del controllo positivo deve essere paragonato al colore degli spot delle tre patologie. Un colore uguale o più scuro rispetto a quello del controllo positivo indica una risposta positiva. Un colore che corrisponde a S2 è da considerare un debole positivo. Un colore che corrisponde a S1 o più debole è da considerare un risultato negativo. Se appare una colorazione blu, il test deve essere considerato non valido. I campioni con valore che corrisponde a S1 o S0 sono da considerarsi negativi, sarà quindi necessario vaccinare l'animale.

