



# CANINE EHRlichIA ANTİKOR TEST KİTİ

## I. KULLANIM AMACI

ImmunoComb Canine Ehrlichia Antikor Test kiti, köpek serumunda Ehrlichia canis antikor titresini tespit etmek için tasarlanmıştır.

## II. GENEL BİLGİ

Canine Ehrlichiosis dünyada rickettsia Ehrlichia canis'den kaynaklanan enfeksiyöz bir kan hastalığı olarak bilinir. Bu enfeksiyon genellikle "Rhipicephalus sanguineum" yaygın ismiyle "kahverengi kene" olarak bilinen kene vektöründen yayılmaktadır. Bu nedenle hastalık "Kene ateşi" olarak ta adlandırılır. Rickettsia'nın diğer bir yayılma yöntemi enfekte bir donörden yapılan kan transfüzyonudur.

Canine Ehrlichiosis multisistemik bir hastalıktır ve klinik belirtilerinin şiddeti ve süresi değişebilir (bakınız bölüm V), köpeklerde öncelikle monositleri bozmasından dolayı hastalık Canine Monocytotropic Ehrlichiosis (CME) adını almaktadır.

## III. IMMUNOCOMB NEDİR?

ImmunoComb testi, serum veya tam kanda antikor seviyelerini tespit eden, enzime bağlı "nokta tahli" çeşidi olan geliştirilmiş bir ELISA testidir.

ImmunoComb® test için ihtiyaç duyulan tüm bileşenleri (reaktifleri) içerir.

Test sonuçları 20 dakikada alınır.

## IV. IMMUNOCOMB NASIL ÇALIŞIR?

■ ImmunoComb Kiti 2 ana bileşenden oluşur: Bunlar, kılavuzun devamında "tarak" ismiyle anılacak olan tarak şeklinde plastik bir kart ve çok bölmeli bir geliştirme plakasıdır.

■ Tarakta 12 adet testin yapılmasına sağlayan 12 diş bulunur. Her dişin karşısında, geliştirme plakasında testin gerçekleştirildiği bölmelerden oluşan bir sütun bulunur. Tekil veya çoklu testler, taraktaki dişlerden ihtiyaç duyulan kadarı koparılarak yürütülebilir.

■ E. Canis antijen test noktası tarahın her bir dişinin en alt noktasına iliştilmiştir. En üstteki nokta Pozitif Referansı simgeler. (Bkz. Bölüm X'da Şekil 1).

■ Testin ilk adımı, serum, plazma veya tam kandan numune alınması ve çok bölmeli geliştirme plakasının A sırasına batırılmasıyla başlatılır.

■ Daha sonra tarak (B-F) sıralarında belirlenen sürelerde sayfa 4.'te detayları adım adım anlatıldığı şekilde inkübe edilir.

■ Eğer mevcutsa, örnekte bulunan IgG antikorları, tarak test noktalarındaki antijenlere bağlanır ve C sırasında bulunan anti-köpek IgG antikor enzimiyle etiketlenir.

■ Geliştirme süreci sonunda tüm pozitif referans noktalar ile pozitif örneklerde test noktalarında mor-gri renkte oluşumu görülür.

■ Renk değişiminin yoğunluğu örnekte bulunan antikor seviyesini belirtmektedir. Sonuçlar Pozitif referans noktası ve Ölçüm cetveliyle karşılaştırılarak puanlanır. (Bkz. Bölüm IX).

## V. HASTALIĞIN TANIMI

Genel olarak, hastalığın seyri üç aşamada tarif edilmektedir:

**1. Aşama:** Enfeksiyon erken ya da akut evrede nonspesifik klinik belirtiler gösterir. Belirtilerin hafif olması bazen köpek sahibi tarafından fark edilmemesine neden olabilir. Bazı köpeklerde iştah azalma ve ateş ve uyuşukluk gözlenir. Veteriner Hekim fiziki muayenede, lenfadenopati ve splenomegali tespit edebilir.

Azalmış trombosit sayısı en tutarlı hematolojik bulgudur. Tedavi edilmediği halde, çoğu köpek akut evrede iyileşebilir. Ancak, organizmayı bünyelerinden tam anlamıyla elimine edemezler ve bu nedenle hastalık ikinci aşamasına geçer.

**2. Aşama:** Bu aşama ne kadar süreceği belirsiz olan subklinik aşamadır. (Örn: Hiçbir hastalık belirtisi görünmez).

Özellikle yüksek riske sahip hayvanlarda bu aşamada gerçekleşecek doğru tedavi, hastalığın daha fazla ilerlemesini önlemek için önemlidir.

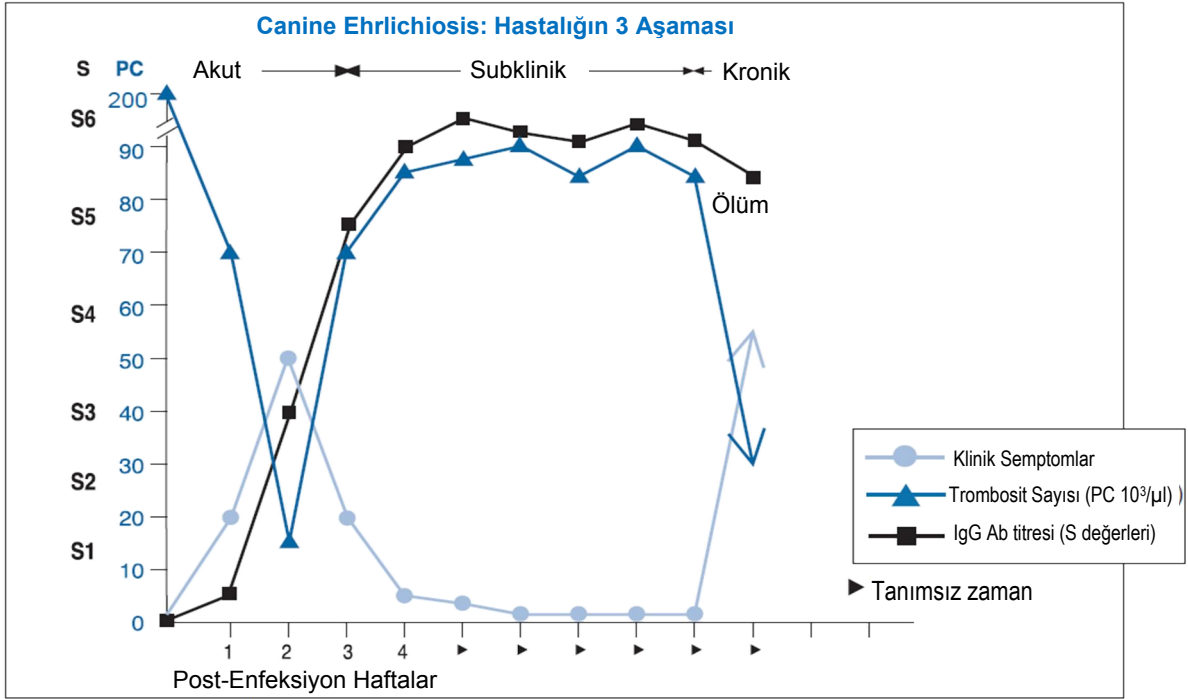
**3. Aşama:** Hastalığın bazı köpeklerde 2. aşamasından (subklinik) 3. Aşaması olan kronik Ehrlichiosis'e geçmesine neyin sebep olduğu bilinmemektedir.

Bu aşamaya ulaşan hastalıkta tedavi çabaları çoğunlukla sonuçsuz kalmaktadır. Kronik Ehrlichiosis safhasının klinik belirtileri uyuşukluk, ateş, iştahsızlık, kilo kaybı, kanama eğilimleri ve sonucunda ölümdür.

## VI. TANI

CME tanısı büyük ölçüde akut ve kronik aşamalarında klinik bulgulara dayanmaktadır. Azalan trombosit sayısı en tutarlı hematolojik bulgu ise de, özellikle klinik bulguların bulunmadığı hastalığın 2. aşamasında, E. canis enfeksiyonu teyidi için seroloji tercih edilen bir yöntemdir. (Bkz. Şekil. 1)

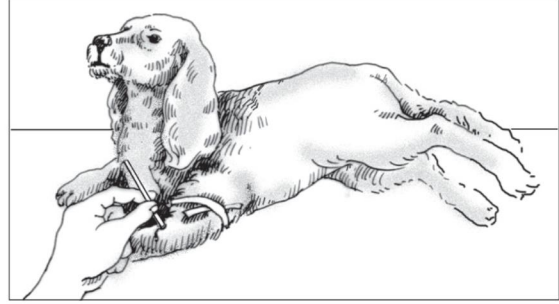
Şekil : 1 Canine Ehrlichiosis Hastalığının 3 Aşaması



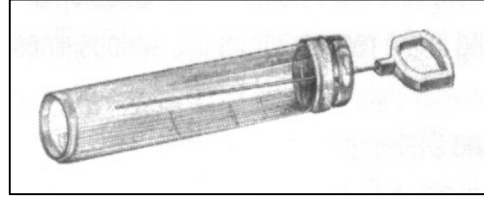
VII. ADIM ADIM IMMUNOCOMB'UN  
KULLANIMI

*Testi yürütmeden önce, kit kartonundaki tüm kit bileşenlerini çıkararak geliştirme plakasını oda sıcaklığına getirin, malzemeleri 60-120 dk. boyunca çalışma ortamında bekletin veya yalnızca geliştirme plakasını 25 dakikalığına 37° C sıcaklıkta inkübe edin. Tahlili 20° - 25° C oda sıcaklığında yapınız.*

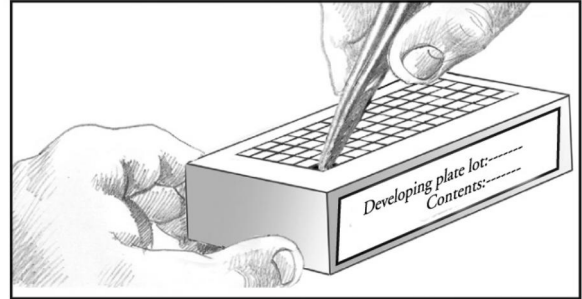
- I. Köpekten kan numunesi alınız.



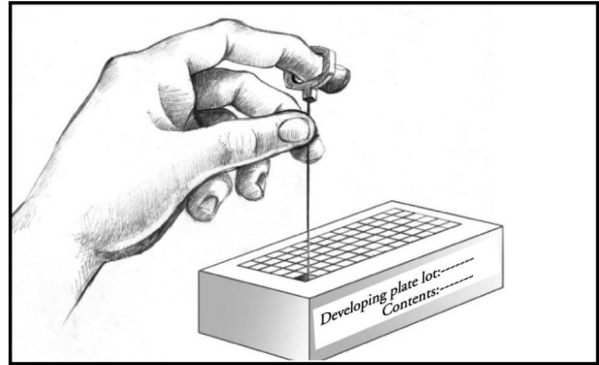
- II. Pipet veya kapiler tüp kullanın\*. Tam kan testi için 10µl, Serum/plazma için 5µl kullanınız.



- III. Kullanmadan önce, geliştirme plakasını nazikçe sallayarak reaktifleri karıştırın. A sırasındaki koruyucu alüminyum örtüyü delmek için cımbız kullanın. Her bir numune için bir bölme kullanılır.



- IV. A satırındaki boşluğa kan örneğini bırakın. Reaktiflerin karışması için Pipeti birkaç kez boşluğa daldırıp çıkarın. Bu işlem esnasında solüsyonların sıçramamasına ve birbirlerine karışmamasına özen gösterin.



**A satırında ve diğer satırlarda, kullanmayacağınız bölümlerin üzerindeki alüminyum örtüyü kaldırmayın. Geliştirme plakasındaki alüminyum örtüyü tek seferde kaldırmayın.**

\* Talebinize göre 40 adet kapiler tüp ve bir adet piston satın alabilirsiniz.

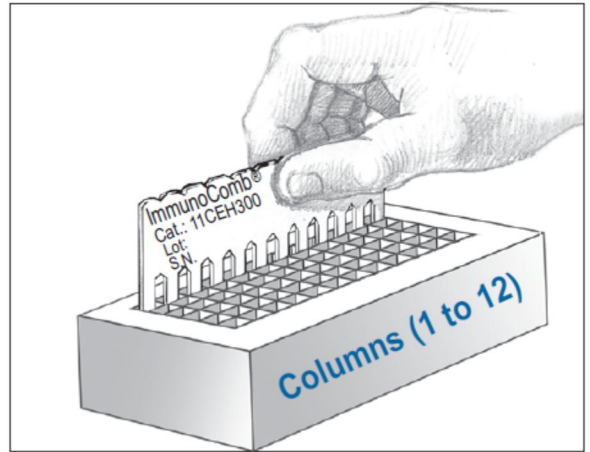
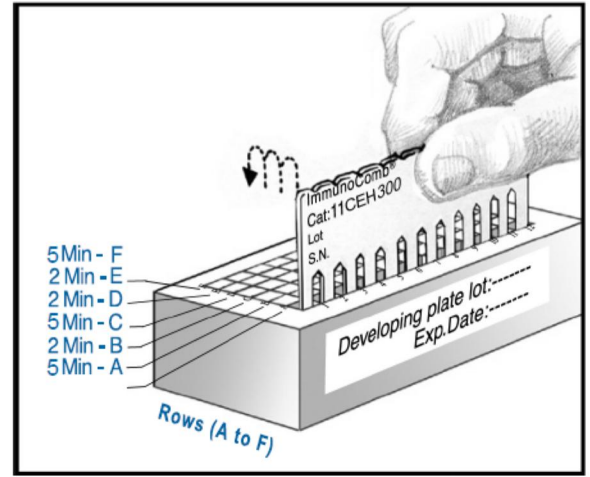
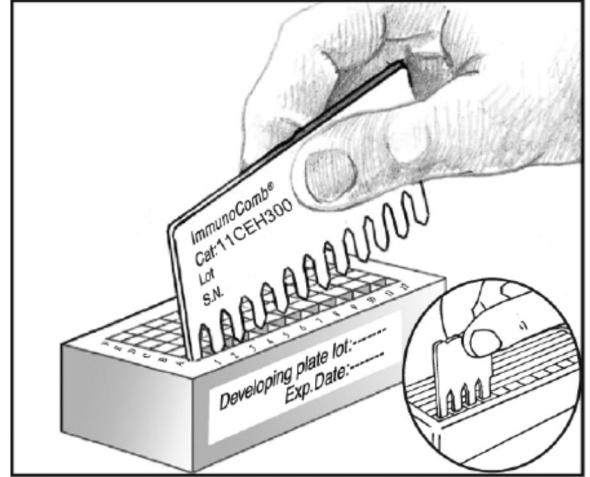
- V. Tarağı koruyucu ambalajından çıkarınız. **ImmunoComb kartının dışlarına dokunmayınız.** 12 numuneden daha azını test etmek için, gereken test sayısı kadar taraktaki dişleri çentikli kısımlarından kesin veya kırın.

**Not:** İnkübasyon sırasında talimatlara uygun şekilde karıştırma, geçerli sonuçların alınması bakımından kritik öneme sahiptir.

**\*\* Karıştırma işlemini daha iyi yapmak için tarağı 3-4 defa yukarı aşağı doğru oynatın. İnkübasyon esnasında, aynı karıştırma işlemini 2-3 kez tekrarlayın.**

Karıştırma esnasında tarağı yüzeye değdirerek ya da arkaya doğru eğerek aktif ön yüzeyinde sıyrıklar oluşturmaktan kaçının. Tarağın dişini başka sıraya taşımadan önce ekstra sıvıyı hafifçe sallayarak bir beze damlatın.

- Tarağı **A** sırasındaki boşluklara yerleştirin (baskılı tarafı size dönük olacak şekilde) ve **5 dakikalığına** inkübasyona bırakın. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- B sırasındaki boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbızı kullanın. Tarak üzerindeki fazla sıvıyı silkeleyin ve tarağı **2 dakika** için **B** sırasına yerleştirin. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- C sırasındaki boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbızı kullanın. Tarak üzerindeki fazla sıvıyı silkeleyin ve tarağı **5 dakika** için **C** sırasına yerleştirin. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- D sırasındaki boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbızı kullanın. Tarak üzerindeki fazla sıvıyı silkeleyin ve tarağı **2 dakika** için **D** sırasına yerleştirin. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- E sırasındaki boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbızı kullanın. Tarak üzerindeki fazla sıvıyı silkeleyin ve tarağı **2 dakika** için **E** sırasına yerleştirin. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- F sırasındaki boşluğu kapatan folyoyu delmek için cımbızı kullanın. Tarak üzerindeki fazla sıvıyı silkeleyin ve tarağı **5 dakika** için **F** sırasına yerleştirin. Yukarıda açıklandığı gibi karıştırın. \*\*
- F satırında, renk gelişimi tamamlandıktan sonra, renklerin sabitlenmesi için tarağı **2 dakika** için tekrar **E** satırına yerleştirin. **Sonra, tarağı çıkarın ve sonuçları okumadan önce 5 dakikalığına kurumaya bırakın.**



### VIII. IgG ANTİKOR SONUÇLARININ OKUNMASI VE YORUMLANMASI

- En üstteki nokta Pozitif Referans'tır ve belirgin bir mor-gri rengindedir. Bu renk tonu belirgin pozitif IgG tepkisiyle aynı tonundadır. CombScale kullanırken, bu nokta S3 (Bkz. Blm. IX) olarak belirlenmelidir. S3 noktası Immunofluorescent tahlilinde (IFA) 1:80 titresindeki bir IgG antikor eşik değerine denk gelmektedir.
- Tarağın alt noktası örnekteki *E. canis* IgG antikor miktarını gösterir. *E. canis* test noktasının renk tonunu Pozitif Referans noktası ile karşılaştırın (ayrı şekilde)
- Referans noktasıyla eşit tonda veya daha koyu bir renk pozitif tepki olarak değerlendirilir.
- Referans noktasından daha açık renk tonu zayıf pozitif sonuç olarak görülür.
- Antikor ölçümlerini değerlendirmek için kit ile birlikte verilen CombScale aracını kullanınız. (Bkz. Bölüm IX).
- Kuruyan tarak kayıt amacıyla saklanılabilir.

### IX. ÖLÇÜM CETVELİ (COMBSCALE) İLE SONUÇLARIN OKUNMASI

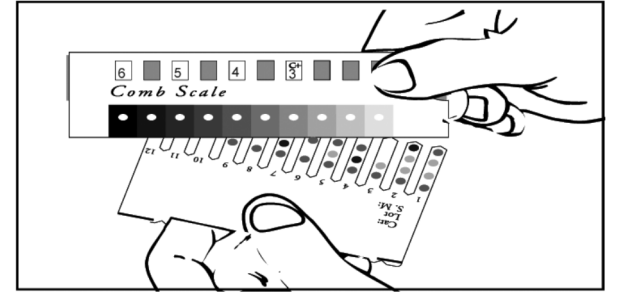
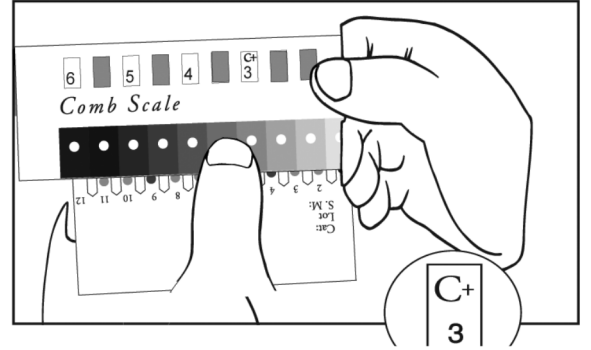
Pozitif Referans rengi S3'e kalibre edildiğinde, CombScale S değeri, renk tonuna karşılık gelen sarı pencerede görünen sayıdır.

Tarak tamamen kurduğunda, kit'le birlikte verilen kalibre renkli CombScale ile hizalayın.

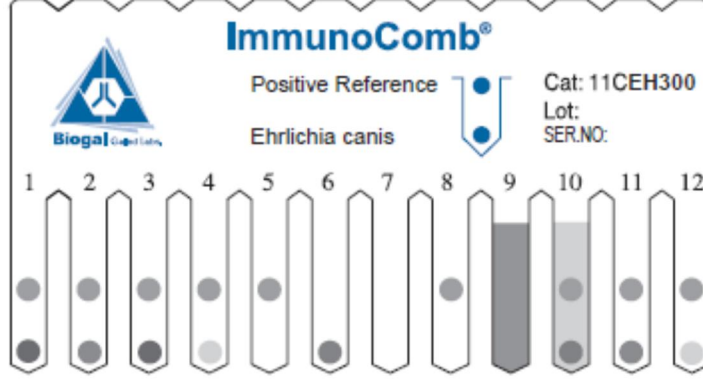
CombScale üzerinde **Pozitif Referans noktası** (üst nokta) ile en iyi şekilde eşleşen mor-gri tonunu bulun. Sarı cetveli, bulduğunuz rengin üzerindeki pencerede **C+** işareti görününceye kadar kaydırın.

**Cetveli tüm okuma aşamasında bu konumda tutun.** Bu aşama, test noktalarının karşılaştırılmasını sağlayan ayırma noktası; C+'yı S3'e kalibre eder.

Cetveli sabit tutarken, CombScale üzerinde **test sonuç noktasıyla** en iyi şekilde eşleşen mor-gri tonunu bulun. Yukarıdaki pencerede görülen sayı test sonucunun titre ölçüsüdür (S0-S6). Bu testi, her örnek test noktası için ayrı ayrı değerlendiriniz.



## X. GELİŞİMİNİ TAMAMLAMIŞ TARAK ÖRNEĞİ



Dış No.	Sonuçlar	Açıklamalar
1	≥S5	Yüksek pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:320-1:280
2	S3-S4	Orta Pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:80-1:160
3	≥S5	Yüksek pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:320-1:280
4	S1-2	Düşük pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:20-1:40
5	S0	Negatif reaksiyon E.canis Negatif
6		* Pozitif referans yok Geçersiz test
7		* Pozitif referans yok Geçersiz test
8	S0	Negatif reaksiyon E.canis Negatif
9		* Yüksek arkaplan rengi – okumaya engelidir Geçersiz test
10	≥S3	Pozitif reaksiyon yüksek arka plan rengi Pozitif
11	S3-S4	Orta Pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:80-1:160
12	S1-2	Düşük pozitif reaksiyon E.canis Titre: 1:20-1:40

**Açıklamalar:**

\* Testi tekrar ediniz.

Sonuçları okumanın diğer bir yolu ise "CombScan"dir. Bu, bilgisayar ve TWAIN uyumlu tarayıcı ile çalışan bir yazılım programıdır. Tarak, tarayıcının üzerine yerleştirildiğinde, program renk sonuçlarını numerik değerlere dönüştürür. CombScan, laboratuvarların ImmunoComb sonuçlarının okunması ve verinin saklanması konusunda yardım sağlar, talep halinde ücretsiz olarak tedarik edilmektedir.

## XI. DEPOLAMA VE KULLANIM

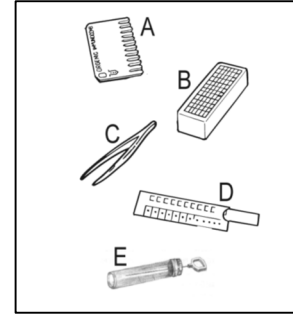
- I. Kit'i normal soğutucuda saklayınız (2°- 8°C). **Kiti dondurmayınız.**
- II. Farklı kitlere ait veya aynı kitin farklı bölümlerindeki reaktifleri karıştırmayınız.
- III. ImmunoComb aktive edilmemiş biyolojik materyaller içerir. Kit, kabul edilmiş arıtma koşullarına uygun bir şekilde kullanılmalı ve imha edilmelidir.

## XII. NUMUNELERİN DEPOLANMASI VE KULLANIMI

- I. Numunelerin beklememiş olması tercih edilir.
- II. Test **1** gün içinde gerçekleşecekse **Tam Kan'ı (2°- 8°C)** de saklayınız. **Kan örneklerini dondurmayınız.**
- III. Test **3** gün içinde gerçekleşecekse **Serum ya da Plazma'yı (2°- 8°C)** de saklayınız. Eğer test 3 günden daha uzun bir süre sonrasında gerçekleşecekse numuneleri **-20° ya da daha soğuk** bir ortamda muhafaza ediniz.
- IV. Test öncesinde numuneleri oda sıcaklığına getiriniz ve karıştırınız.

## XIII. KİT İÇERİĞİ

İÇERİK	12 Test Kit (50CEH201)	120 Test Kit (50CEH210)
A. ImmunoComb kartı (alüminyum folyoya sarılı)	1	10
B. Geliştirme plakası	1	10
C. Tek kullanımlık cımbızlar	1	1
D. Kalibre Edilmiş CombScale	1	1
E. 12 adet kapiler tüp ve pistondan oluşan ünite	1	Talep üzerine satın alınabilir.
F. Kullanma Kılavuzu	1	1



## XIV. REFERANSLAR

- 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.

Daha fazla bilgi ve yardım almak için lütfen Türkiye distribütörünüzle (MediCare) veya Biogal Galed Labs ile iletişime geçiniz.

### BIOGAL Galed Labs

E-posta: [info@biogal.co.il](mailto:info@biogal.co.il)

Telefon: + 972-4-9898605

Faks: + 972-4-9898690

### MediCare Sağlık Hizmetleri

E-posta: [info@medicareint.com](mailto:info@medicareint.com)

Telefon: + 90 (533) 433 8214

**Biogal's**  
**ImmunoComb**

**mediCare**  
MediCare Sağlık Hizmetleri