

FELINE TOXOPLASMA & CHLAMYDOPHILA ANTİKOR TEST KİTİ

I. KULLANIM AMACI

Kedi Toxoplasma ve Chlamydomphila Antikor Test kiti, kedi serumunda Toxoplasma gondii ve Chlamydomphila sp.'na karşı oluşan IgG antikor titresinin değerlendirilmesi için tasarlanmıştır.

Bu kitin temel amacı, bu patojenlere ilişkin kedilerin bağışıklık durumunu değerlendirmek ve klinik vakaların teşhisine yardımcı olmaktır.

II. GENEL BİLGİ

Toxoplasma gondii ve Chlamydomphila felis tüm dünyada özellikle genç kedilerde hastalığa neden olan, ancak yetişkin kedileri de hasta eden bulaşıcı bir hastalıktır. Toksoplazmanın özellikle zoonoz olması bir endişe kaynağıdır. T.gondii'ye karşı aşı yokken, Chlamydomphila'ya karşı aşı uygulanabilir. Serolojiyle antikor seviyesinin izlenmesi tanıda yardımcı olmaktadır.

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.

■ Toxoplasma ve Chlamydomphila test sonuçları 38 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 yapılmasını 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.

■ Toxoplasma ve Chlamydomphila test noktaları tarahın her bir dişine iliştirilmiştir. En üstteki nokta Pozitif Referansı simgeler.

■ Safılaştırılmış Chlamydomphila antijeni orta noktaya bağlanır, safılaştırılmış Toxoplasma gondii antijeni en alt noktaya bağlanır (bkz. Bölüm X'deki şekil).

■ 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 bölüm VII'de detayları adım adım anlatıldığı şekilde inkübe edilir. Eğer mevcutsa, örnekte bulunan IgG antikorları, tarak test noktalarındaki antijenlere bağlanır.

■ A sırasından sonra tarak, bağlanmamış antikorların yıkandığı bir sonraki sıraya (sıra B) aktarılır. Ardından tarak test noktalarındaki antijen-antikor komplekslerine bağlanacak anti-kedi IgG antikorunu etiketleyen enzimi içeren sonraki sıraya (sıra C) sokulur.

■ Tarak sonraki sıralarda iki kez daha yıkandıktan (D ve E sıraları), bir enzimatik reaksiyon vasıtasıyla bir renk sonucunun ortaya çıktığı bir sonraki sıraya (F satırı) taşınır.

■ Renk sonucunun yoğunluğu örnekteki antikor seviyesine doğrudan karşılık gelir. Sonuçlar, Pozitif Referans noktası ve ölçüm cetveliyle (bkz. Bölüm IX) kullanılarak puanlanır.

V. KLİNİK BELİRTİLER

Toxoplasmosis

Toxoplasma gondii, insanlar da dahil olmak üzere sıcakkanlı hayvanlardaki merkezi sinir sistemini enfekte edebilen ve hücreyi yaşayan bir parazittir.

Enfeksiyon çoğunlukla ookistlerin veya doku kistlerinin yenmesi ile bulaşır. Kediler toksoplazmosis'in yayılmasında önemli bir rol oynamaktadırlar, çünkü dışkılarıyla dirençli ookist yayan tek memelidirler.

Yutulmuş oositler kaslara ve beyine göç edebilir. *T.gondii*, plasenta üzerinden ve süt yoluyla da aktarılabilir, böylece bir kedi için ana bulaşma kaynağı pişmemiş et, enfekte av hayvanlarıdır. Kedi yavruları da uterusunda buldukları sürede veya süt yoluyla alabilirler.

Sağlıklı kedilerde enfeksiyon genellikle asemptomatiktir.

Evcil hayvanlarda toksoplazmoz belirtileri nonspesifiktir: ateş, iştahsızlık, depresyon. Enfeksiyonun akut veya kronik olup olmadığına ve nerede bulunduğuyla ilgili olarak başka belirtiler ortaya çıkabilir. *T. gondii* vücutta en belirgin olarak sinir sisteminde bulunduğu hissedilir.

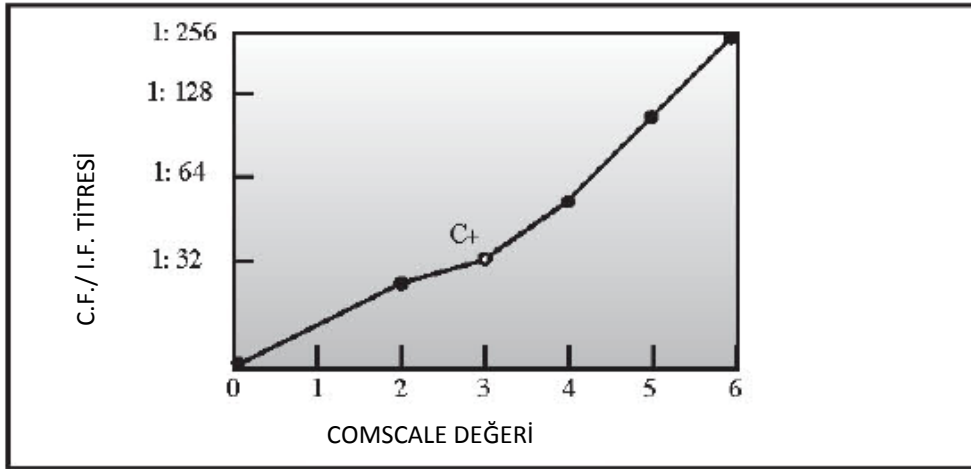
Chlamydia

Chlamydia felis, hücrenin duvarları Gram-negatif bakterilere benzeyen, hücre içi yaşayan bir bakteridir. *C. felis* esasen konjonktival bir patojendir ve akut veya kronik konjonktivite, blefarospazm, kemozis, tıkanıklık ve seröz ile mukopürülan göz akıntısına neden olabilir.

Çoğu enfekte kedi görünüşte iyi olmasına ve yemeye devam etmesine rağmen, enfeksiyondan kısa bir süre sonra geçici ateş, iştahsızlık ve kilo kaybı ortaya çıkabilir. Klinik bulgular birkaç hafta sonra düzeler ancak hafif konjonktivit aylarca devam eder.

VI. TANI

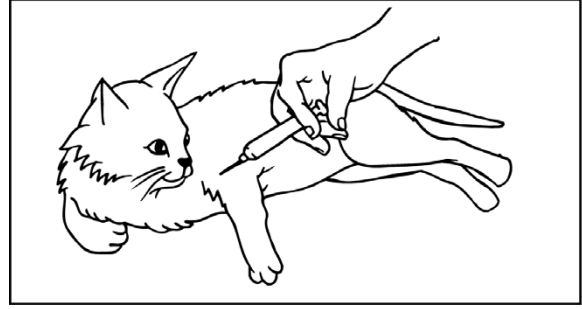
T.gondii'ye karşı antikorların kandaki ölçülmesi Toksoplazmosis'in teşhisi için en iyi yöntemdir. Bazen oositler dışkıda bulunabilir, ancak diğer parazitlere çok benzer göründüklerinden bu güvenilir bir tanı yöntemi değildir. Ayrıca, kediler oositleri yalnızca kısa bir süre (yaklaşık 2-3 hafta) dökerler ve hastalık bulguları ortaya çıktığında atılma genellikle sona erer. PCR, enfeksiyonu teyit etmek ve tedavinin etkinliğini izlemek için kullanılabilir. Mevcut tüm serolojik tekniklerden: lateks aglutinasyon testi (LAT), immüno-flüoresan (IF) ve ELISA, ImmunoComb® tarafından kullanılan dot-ELISA en kullanıcı dostu ve güvenilir olanıdır.



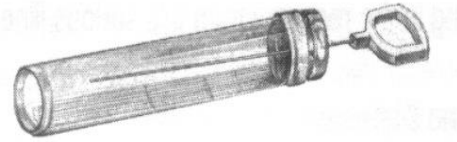
VII. ADIM ADIM IMMUNOCOMB'UN
KULLANIMI

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.

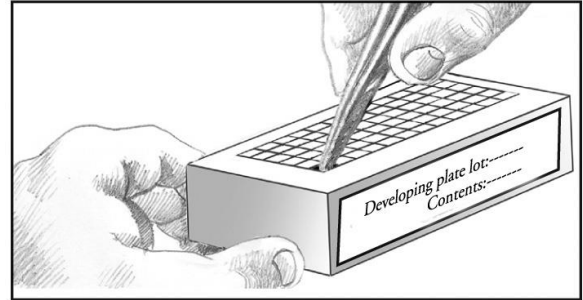
- I. Kediden kan numunesi alınız.



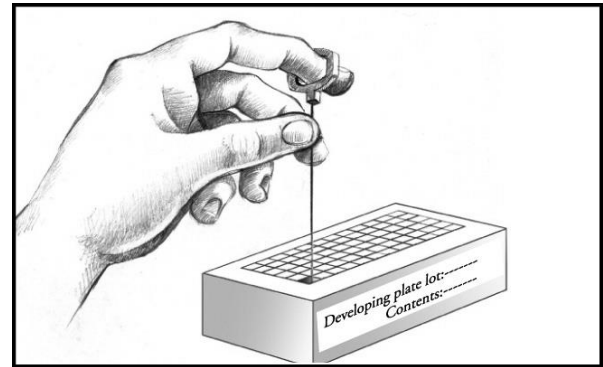
- II. Pipet veya kapiler tüp kullanın*. Tam kan testi için 10µl, Serum/plazma için 5µl kullanınız.



- 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.

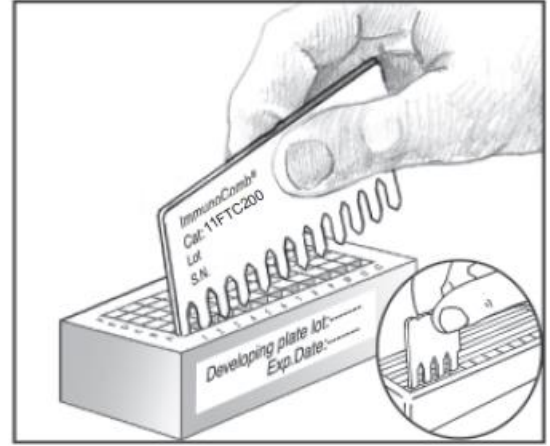


A satırında ve diğer satırlarda, kullanmayacağınız bölümlerin üzerindeki alüminyum örtüyü kaldırmayın. Geliştirme plakasındaki alüminyum örtüyü tek seferde kaldırmayın.

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

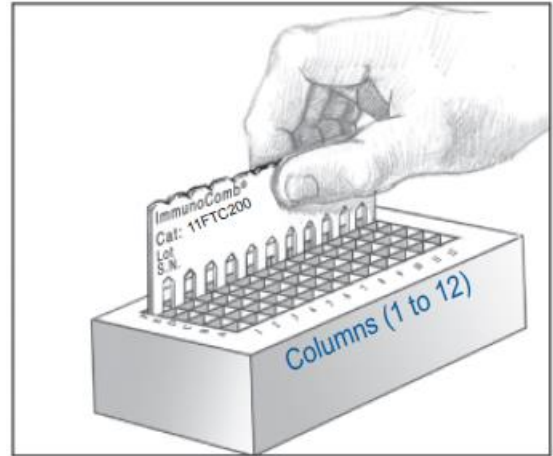
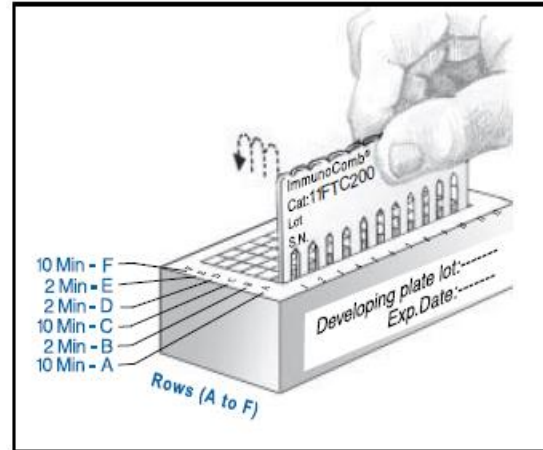
Not: İnkübasyon sırasında talimatlara uygun şekilde karıştırma, geçerli sonuçların alınması bakımından kritik öneme sahiptir.

** 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.



ve sonuçları okumadan önce 1-10 dakikalığına kurumaya bırakın.

- Tarağı **A** sırasındaki boşluklara yerleştirin (baskılı tarafı size dönük olacak şekilde) ve **10 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 **10 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 **10 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**



VIII. IgG ANTİKOR SONUÇLARININ OKUNMASI VE YORUMLANMASI

- Üst nokta Pozitif Referans olup, farkedilir bir şekilde mor-gri renkte olmalıdır. Bu renk, C.F'de 1:32 anti Chlamydomphila antikor titresinde ve I.F'de 1:32 Toxoplasma antikor titresinde bir pozitif reaksiyona karşılık (bkz. Şekil 1) üretilen renk tonu ile aynıdır. CombScale'yi kullanırken, bu nokta S3 olarak belirlenmelidir (bkz. Bölüm IX).
- Tarak üzerindeki orta nokta, örnekteki Chlamydomphia IgG antikorlarının sonucunu gösterir.
- Tarak üzerindeki alt nokta, numunede Toxoplasma IgG antikorlarının sonucunu gösterir.
- Chlamydomphila ve Toxoplasma test noktalarındaki renk tonlarını Pozitif Referansla karşılaştırın. (Ayrı ayrı)
- Referans noktasından eşit veya daha koyu olan bir renk tonu pozitif bir sonuç olarak kabul edilir.
- S1'le aynı veya daha soluk bir renk tonu negatif sonuç olarak kabul edilir.
- Antikor ölçümlerini değerlendirmek için kit ile birlikte verilen CombScale aracını kullanınız. (Bkz. Bölüm IX).

IX. ÖLÇÜM CETVELİ (COMBSCALE) İLE SONUÇLARIN OKUNMASI

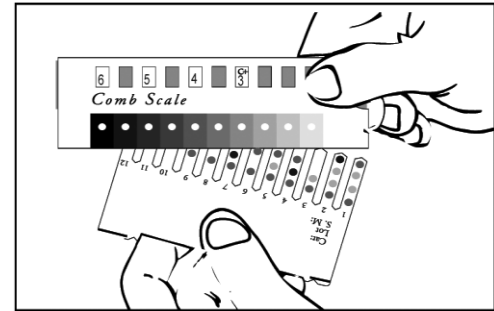
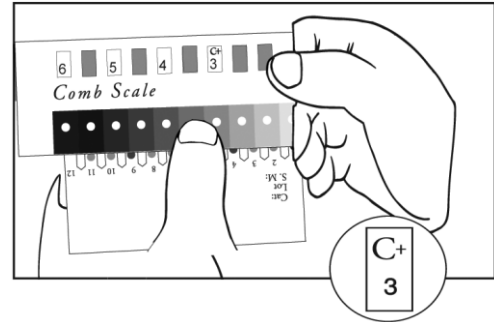
Pozitif Referans rengi S3'e kalibre edildiğinde, CombScale S değeri, renk tonuna karşılık gelen sarı pencerede görünen sayıdır.

Tarak tamamen kuruduğunda, 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.

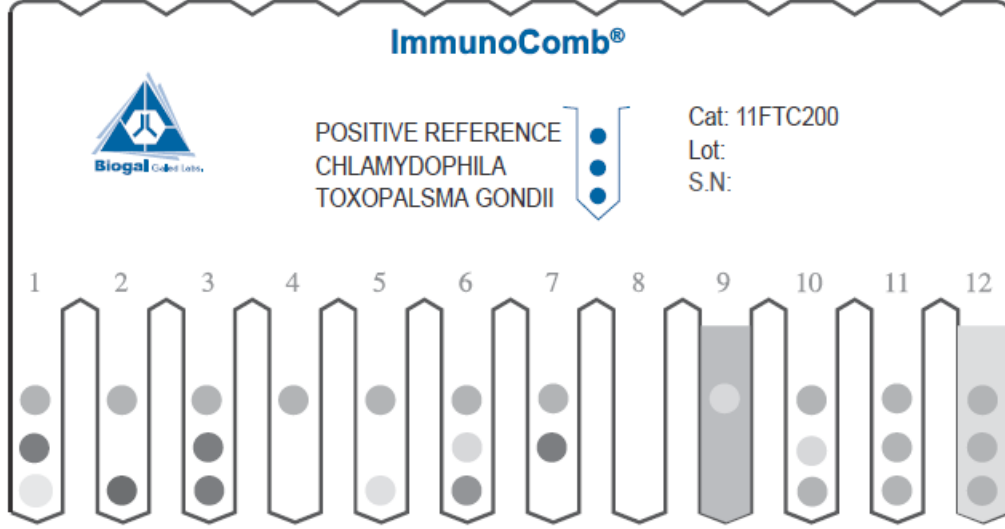
Cetveli tüm okuma aşamasında bu konumda tutun. Bu aşama, test noktalarının karşılaştırılmasını sağlayan ayırma noktası; C+'yı S3'e kalibre eder.

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.



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.

X. GELİŞİMİNİ TAMAMLAMIŞ TARAK ÖRNEĞİ



Diş No.	CHLAMYDOPHILA Sonuçları		TOXOPLASMA GONDII Sonuçları	
	Skor	Sonuç	Skor	Sonuç
1	≥S5	Yüksek Pozitif	≤S1	Negatif
2	S0	Negatif	S6	Yüksek Pozitif
3	≥S5	Yüksek Pozitif	≥S5	Yüksek Pozitif
4	S0	Negatif	S0	Negatif
5	S0	Negatif	S1-2	Sonuç belirsiz
6	S1-2	Sonuç belirsiz	S4	Pozitif
7	≥S5	Yüksek Pozitif	S0	Negatif
8*		Geçersiz		Geçersiz
9**		Geçersiz		Geçersiz
10	S1-2	Sonuç belirsiz	≥S3	Pozitif
11	≥S3	Pozitif	≥S3	Pozitif
12***	≥S3	Pozitif	≥S3	Pozitif

Açıklama:

* Geçersiz. Pozitif referans yok. Testi tekrar edin.

** Geçersiz. Yüksek arkaplan rengi okumaya engel. Testi tekrar edin.

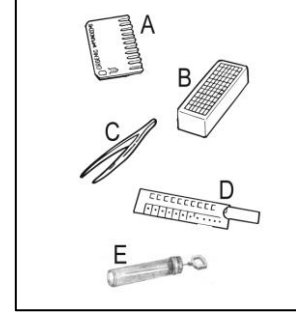
** Yüksek arkaplan rengi, pozitif sonuç

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. KİT İÇERİĞİ

İÇERİK	12 Test Kit (55FTC201)	120 Test Kit (55FTC210)
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



XIII. REFERANSLAR

- Dubey (1986). Feline Practice 16: 12-26, 44-45.
- Montoya & Liesenfeld (2004) Lancet, 363: 1965-1976.
- Molina & Ridley-Dash (2008) USM R & D J: 16(1): 53-55.
- Sykes JE (2005) Feline chlamydiosis. Clin Tech Small Anim Pract. 20(2):129-34.

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

BiOGAL Galed Labs

E-posta: info@biogal.co.il

Telefon: + 972-4-9898605

Faks: + 972-4-9898690

MediCare Sağlık Hizmetleri

E-posta: info@medicareint.com

Telefon: + 90 (533) 433 8214

Telefon: + 90 (216) 330 8489

Biogal's
ImmunoComb

mediCare
MediCare Sağlık Hizmetleri