

CHLAMYDOPHILA PSITTACI ANTİKOR TEST KİTİ

I. KULLANIM AMACI

ImmunoComb Avian Chlamydomphila Psittaci Antikor Test kiti, avian kan/serumunda C.psittaci antikor titresini tespit etmek için tasarlanmıştır. Bu kit klinik ortamında laboratuvar testleri gerçekleştirerek klinik vakaların teşhisine yardımcı olmak üzere geliştirilmiştir.

II. GENEL BİLGİ

Chlamydomphila psittaci, birçok kuş türlerine bulaşan ve insanlara bulaşabilen, genelde Chlamydiosis (Klamidy) olarak bilinen bir hastalığa neden olan bir bakteridir. Bu hastalık, papağan ve diğer psittacine kuşlarında Psittakoz ("Parrot Fever") (Papağan Ateşi) ve tavuklar ve hindilerde Ornithosis olarak da adlandırılır.

Enfekte olmuş kuşlarla ilgilenen veya maruz kalmış olan kişiler, tipik olarak hava yolu ile bulaşan C. Psittaci'den kaynaklı Psittakoz Enfeksiyonu açısından risk altındadır.

Antikorların saptanması tanıda yardımcı olur.

III. IMMUNOCOMB NEDİR?

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

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

Sonuçlar 60-120 dakika içinde elde edilir

IV. IMMUNOCOMB NASIL ÇALIŞIR?

1. Katı faz immünoassay prensibine dayanan ImmunoComb, arıtılmış Chlamydomphila psittaci antijeninin üzerine bulunduğu tarak şeklinde plastik bir karttır.
2. Numuneler (tam kan doymuş kağıt diskleri, plazma / serum), geliştirme plakasının A sırasındaki hücrelere sokulmalıdır.

3. Kite verilen Pozitif Kontrol ve Negatif Kontrol numuneleri, A satırında farklı hücrelerde kullanılmalıdır.
4. Kit tarağı numune hücrelerine sokulur ve numunede bulunan antikorlar tarağın dışlarındaki antijenlere bağlanır.
5. Taraktan istenen diş sayısını kopararak ve geliştirme plakasında ilgili hücre kullanılarak 1 ila 10 kadar numuneyi test etmek için kullanılabilir. Her çalışma Pozitif Kontrol ve Negatif Kontrol hücre / dişlerini içermelidir.
6. Bağlanmamış antikorlar ikinci sırada yıkanır.
7. Sonraki sıra, bir enzimle etiketlenmiş bir anti-parrot IgG antikoru içerir. Tarak, bu konjugata daldırılırken, bağlanmış antikorlar etiketecektir.
8. Bir kez daha yıkama aşamasından sonra, Tarak, enzim reaksiyonunun gerçekleştiği bir sıraya sokulur. Bu aşamada renk değişikliği oluşur, renk yoğunluğu her numunede bulunan antikor miktarını gösterir.
9. Tarağın alt noktalarında oluşan mor-gri renk yoğunluğu CombScale (Ölçme tarağı) kullanılarak antikor düzeyleri ölçülür.
10. İç Kontrol (Internal Control) noktaları, test gelişiminin eksiksiz ve geçerli olduğunu göstermektedir.

V. KLİNİK BELİRTİLER

Enfekte olmuş kuşlar, öncelikli olarak solunum yollarında belirsizden çok şiddetli belirtilere farklı klinik bulgular gösterebilir. Hasta kuş "sağlıksız" görünür ve ishalle birlikte ya da ishal olmadan göz-burun akıntısı sergiler.

Chlamydomphila organizmaları ağız, göz ve solunum salgılarında ve dışkıda bırakılır. Hastalıklı kuşların yanı sıra, virüslü fakat görünüşte sağlıklı olan kuşlar, Chlamydomphila salgılayabilirler.

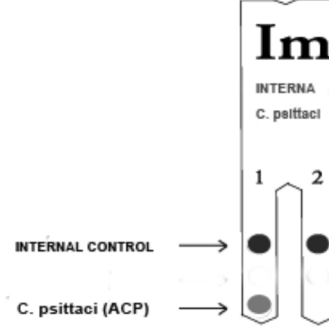
Bununla birlikte dökülme aralıklı olabilir, bu nedenle dışkıda veya dışkı sürüntü muayenesinden negatif bir sonuç her zaman kuşun enfekte olma ihtimalini ortadan kaldırmaz.

VI. TANI

Kuşlarda C. psittaci enfeksiyonunun teşhisi için günümüzde özel bazı tahliller kullanılmaktadır. Testler 2 kategoriye ayrılmıştır:

1. Vücut salgıları, dışkılar ve/veya dışkı sürüntü bezlerinde antijen tespiti: Bu yöntemler direkt immünfloresan, PCR ve kültür kullanımını içerir. Bu yöntemlerin başlıca kısıtı, organizmaların aralıklı dökülmesinden yanlış negatif sonuç alınması ve testlerin gerçekleştirilmesi için uzmanlaşmış laboratuvar olanakları ve uzmanlığa ihtiyaç duymasındır.

2. Kuşlarda kandan anti-Chlamydomphila antikorlarının değerlendirilmesi: Teknikler: komplement fiksasyon, temel body aglütinasyonu ve ELISA'yi (ImmunoComb Antikor Test Kiti) içerir. Bu serolojik yöntemler, organizma dökmeyen dönemdeki enfekte kuşları tanısında avantaj sağlar. ImmunoComb haricindeki tüm yöntemler uzmanlaşmış laboratuvarlar tarafından gerçekleştirilir.



Şekil 1: Geliştirme tarağının 2 test dişi (Örnek)

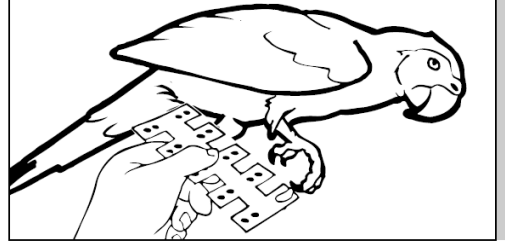
VII. DEPOLAMA VE KULLANIM

1. Kiti normal soğutma koşullarında (2° - 8° C) arasında saklayınız. Kiti dondurmayınız.
2. Testi yapmadan önce tüm kit elemanları ve numuneyi oda sıcaklığında, tercihen 60 - 120 dakika boyunca (veya 37° C'de 22 dakika) muhafaza edin. Deneyi oda sıcaklığında 20° - 25° C gerçekleştiriniz.
3. Solüsyonların dökülmesini ve karışmamasına dikkat ediniz.
4. Kullanmadan önce geliştirme plakasını birkaç kez yavaşça sallayarak reaktifleri karıştırınız.
5. Farklı kitleri veya bir kitin farklı bölmelerinden gelen reaktifleri karıştırmayınız.
6. ImmunoComb kartının dışlarına dokunmayınız.
7. Geliştirme plakasını kullanırken, her bölmenin kapağını test prosedürü talimatlarına uygun şekilde deliniz. Bir kerede geliştirme plakasındaki alüminyum kapağın tamamını çıkarmayınız.
8. ImmunoComb kiti inaktif biyolojik materyal içerir. Kit, kabul edilmiş sıhhi şartlara uygun olarak ele alınmalı ve atılmalıdır.

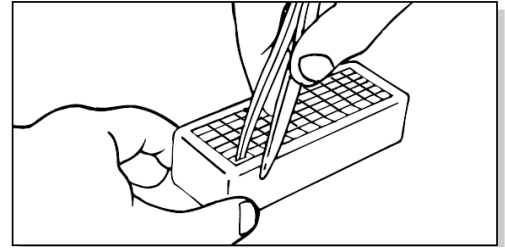
VIII. ADIM ADIM IMMUNOCOMB'UN
KULLANIMI

Tahlili 20° - 25° C oda sıcaklığında yapınız.

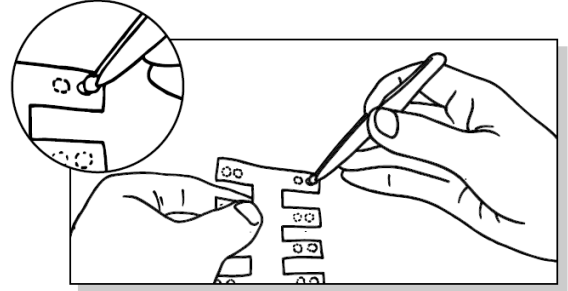
- I. Kuştan kan numunesi alınız.
- II. **Kağıt disk kullanıldığında**, dikkatli bir şekilde kuşun tırnağından birini kesiniz. Numune kağıt grubunda önceden delinmiş diskin her iyi yüzeyini doyacak şekilde kana satüre ediniz (doyurunuz).



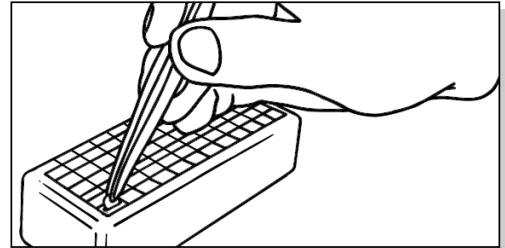
- III. A satırının koruyucu alüminyum kapağını delmek için cımbız kullanınız. Her bir numune için bir tane hücre kullanınız.
Kullanmayacağınız hücrelerin açmayınız.



- IV. Kanla doyurulmuş bir diski çıkartınız. Kan doymuş disk kuru olabilir.

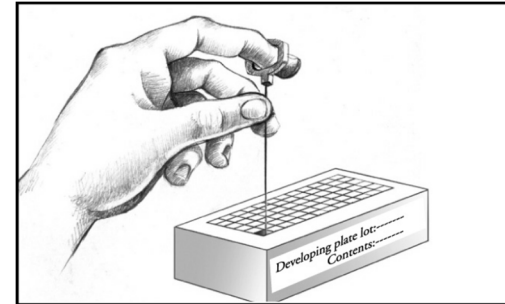


- V. Diski, A sırasındaki bir hücreye yerleştirin. Diskin tamamını sıvı reajana batırın. Diğer örnekleri diğer hücrelerde kullanarak devam edin.



Antikor ekstraksiyonu için, oda sıcaklığında 60 dakika boyunca diski A' sırasında inkübe edin.

Serum/plazma örnekleri kullanıldığında, 2., 4. ve 5. adımlar atlanmalıdır. **5µl** serum/plazma numunelerini, bir pipet veya kılcal bir tüp kullanarak A sırasındaki hücrelere koyunuz. İyi bir karışım elde etmek için pipet/pistonu birkaç kez kaldırın ve indiriniz. **Adım 6'ya geçin**



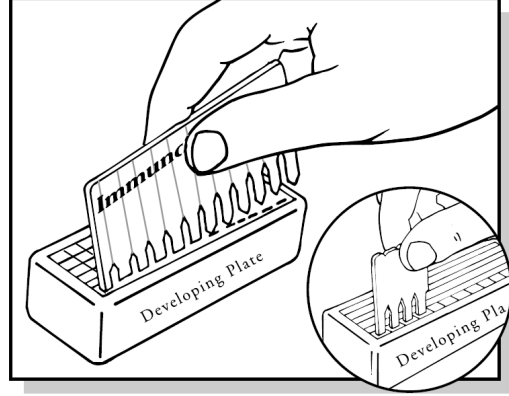
- VI. Kontrol serumları için sonraki 2 ardışık kuyu açınız.

5µl Pozitif Kontrol serumunu (C+) alın ve son numunenin yanındaki **A** hücresine yerleştirin.

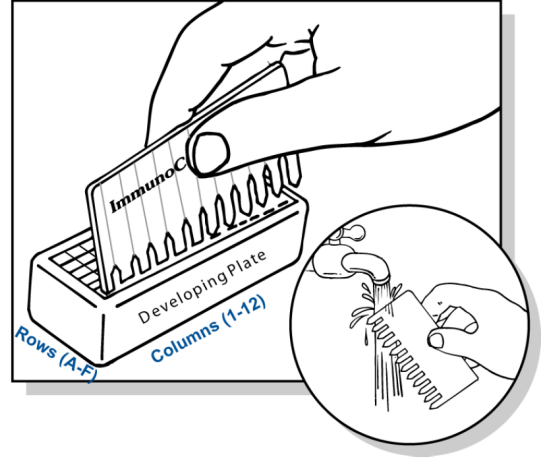
Serumu iyice karıştırın. **Aynı işlemi, Negatif Kontrol serumuyla (C-) sonraki hücrede yapın.**

- VII. Tarağı koruyucu zarfından çıkartın. 12 numuneden daha azını test etmek için, gerekli test sayısı için ayrılmış çentiklerden katlayarak tarağı kesiniz veya kırınız.

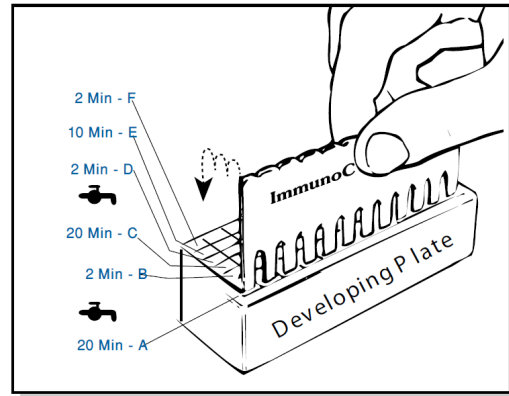
Tarağı A satırındaki açık hücrelere (basılı tarafı size bakacak şekilde) yerleştirin ve 20 dakika inkübe edin. Karıştırma işlemini iyileştirmek için her inkübasyonun başlangıcında (her sıra) tarağı aşağı yukarı dikkatlice sallayınız. Kalan satırların tümünde bu işlemi en az iki kere tekrarlayınız.



- VIII. Sonraki sırada (**satır B**) hücrelerdeki folyoyu delmek için cımbız kullanın. **Tarağı serin musluk suyu altında yıkayın ve 2 dakika boyunca B sırasına** yerleştirin. Tarak bir sonraki satıra aktarılmadan önce, **C satırında** gerekli hücrelerin folyosunu deliniz. Tarak dışındaki fazla sıvı yavaşça sallayarak bir kağıda aktarın. Tarağı sonraki hücreye (**satır C**) 20 dakika boyunca yerleştirin. Bir sonraki hücrelerin (**D satırı**) folyolarını delmek için cımbız kullanın. Tarağı serin musluk suyu altında yıkayın ve **D satırına 2 dakika boyunca** takın. Tarağı bir sonraki sıraya aktarmadan önce, **sıra E'nin** gerekli hücrelerin folyosunu delin. Taraktaki fazla miktardaki sıvıyı hafifçe sallayarak bir kağıda aktarın ve tarağı **10 dakika boyunca E satırına** yerleştirin.



- IX. Bir sonraki hücre (lerin) (**satır F**) folyosunu delmek için cımbız kullanın. **Satır E'deki** renk gelişimi tamamlandıktan sonra, renk sabitleme için tarağı **2 dakika boyunca F satırına** getirin. Tarak dışarı alın, fazla sıvıyı sallayın ve **1-10 dakika boyunca** kurumaya bırakın.



VIII. IgG ANTİKOR SONUÇLARININ OKUNMASI VE YORUMLANMASI

1. Test sonuçlarını derhal okuyun. Bu bölümü okurken Tamamlanmış test sonuçları olan bir tarak örneğine ve sayfa 7'deki tabloya bakın.
2. Tarak üzerindeki alt nokta Chlamydophila psittaci değerlendirme noktasıdır.
3. Tarağın her bir ucundaki noktayı (numuneyi) ayrı ayrı değerlendirin.
4. C. psittaci IgG seviyesi, her numunenin renk yoğunluğunu Pozitif Kontrol (C+) renk şiddeti ile karşılaştırarak tespit edilir.
5. Test noktalarında mor-gri renk yoğunluğu, herhangi bir test renginin sonucunu pozitif kontrol renk sonucuyla (3 puan) karşılaştırarak 1'den 6'ya kadar bir ölçekte puanlanarak ölçülür. (CombScale - bkz. Bölüm X).
6. Pozitif Kontrol'ten daha yüksek renk yoğunluğuna sahip sonuçlar yüksek antikor titresi belirten ≥ 3 olarak puanlanır. S2 olarak puanlanan sonuçlar da pozitif olarak kabul edilir. Skorlama sonucu < 2 ve > 1 belirsiz olarak değerlendirilir.
7. Farklı kuş türleri bu testte farklı hassasiyet göstermektedir. Düşük pozitif sonuç daha hassas kuş türlerinde anlamlı olmayabilir ve bunun tersi de geçerlidir. Türler ve duyarlılık dereceleri hakkında ayrıntılı bilgi için lütfen ürün bilgisi için web sitemize (www.biogal.co.il) başvurun.
8. Negatif Kontrol, bağışık olmayan serumdan oluşur ve sıfır olarak okunmalıdır (S = 0). Renksiz veya sadece mor-gri izi olan örnekler S0 veya S1 olarak puanlanır ve negatif kabul edilir.
9. Bölüm XI'de, gelişmiş bir Tarak örneğini ve sonuçlarının yorumlanmasını göreceksiniz.
10. Kuru Tarak kayıt olarak saklanabilir

IX. SCALE) İLE SONUÇLARIN OKUNMASI

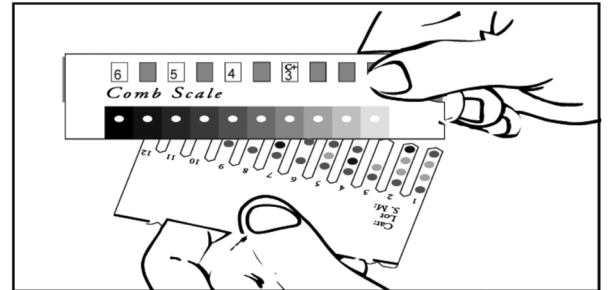
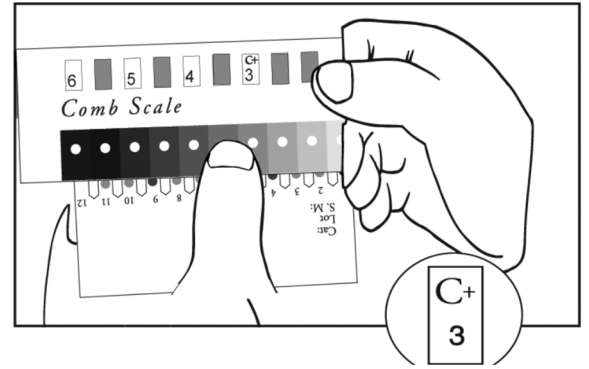
Pozitif Referans rengi S3'e kalibre edildiğinde, CombScale S değeri, renk tonuna karşılık gelen sarı pencerede görünen sayıdır.

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

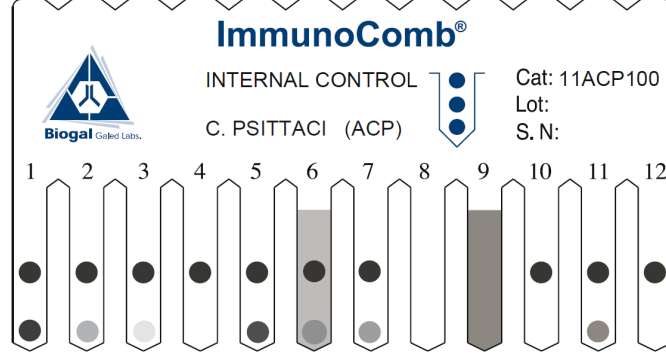
CombScale üzerinde **Pozitif Referans noktası** ile en iyi şekilde eşleşen mor-gri tonunu bulun. Sarı cetveli, bulduğunuz rengin üzerindeki pencerede **C+** işareti görününceye kadar kaydırın.

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.



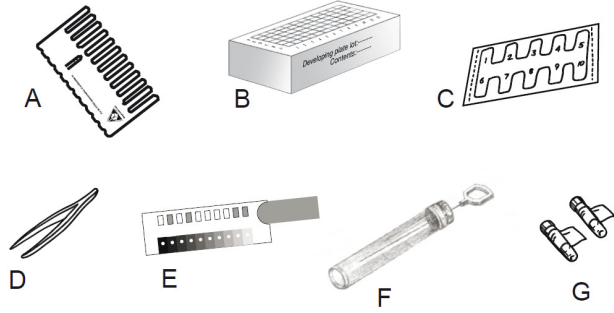
X. GELİŞİMİNİ TAMAMLAMIŞ TARAK ÖRNEĞİ



Diş No.	Sonuçlar	Açıklamalar	
1, 5	>S3	Yüksek pozitif reaksiyon C.psittacci	
2, 7	≥S2	Pozitif reaksiyon C.psittacci	
3	S1-2	Belirsiz – Şüpheli olarak değerlendirilir	
4, 10	<S1	Negatif reaksiyon C.psittacci	
6		Yüksek arkaplan rengi pozitif reaksiyon	ACP positive
8		Internal control noktası yok. Geçersiz test	Geçersiz test
9		Yüksek arkaplan rengi	Geçersiz test
11	S3	Pozitif kontrol	
12	S0	Negatif kontrol	

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. KİT İÇERİĞİ



İÇERİK	10 Test Kit (50AC301)	100 Test Kit (50ACP310)
A. ImmunoComb kartı (alüminyum folyoya sarılı)	1	10
B. Geliştirme plakası	1	10
C. Numune kağıdı ve delinmiş diskler	1	10
D. Tek kullanımlık cımbızlar	1	1
E. Kalibre Edilmiş CombScale kartı	1	1
F. 12 adet kapiler tüp ve pistondan oluşan ünite	1	Talep üzerine satın alınabilir.
G. Pozitif ve negatif kontrol serum tüpleri	1	1
H. Kullanma Kılavuzu	1	1

XII. REFERANSLAR

1. Bendheim et al. (1994). Proceedings of Deutsch Veterinarmedizinische Gesellschaft, Munchen, Germany.
2. Lublin et al. (1997). The 4th Conference of the European Committee of the Association of Avian Veterinarians, May, London, England.
3. Morales et al. (2007). Proceedings of the 12th International Conference of the Association of Institutions for Tropical Veterinary Medicine (AITVM), Montpellier, France, 20-22 August, 2007. Does control of animal infectious risks offer a new international perspective?
4. Phalen et al. (1999). Proceedings: Birds and all that Jazz. 20th Annual Conference and Expo, September, New Orleans, Louisiana, USA.
5. Phalen D. N. (2001). Seminars in Avian & Exotic Pet Medicine, 10 (2), 77-89. Waner T et al. (2000). JI of Vet Diag Invest. 12 240-244

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

Telefon: + 972-4-9898605

Faks: + 972-4-9898690

MediCare Sağlık Hizmetleri

E-posta: info@medicareint.com

Telefon: + 90 (533) 433 8214

Telefon: + 90 (216) 339 8489

**Biogal's
ImmunoComb**

mediCare
MediCare Sağlık Hizmetleri