

CANINE LEPTOSPIRA ANTİKOR TEST KİTİ

I. KULLANIM AMACI

ImmunoComb Canine Leptospira Antikor Test kiti, köpek serumunda Leptospira interoganların farklı patojen serovarlarına karşı antikor titresini tespit etmek için tasarlanmıştır.

Bir grup antijen karışımı: L. ichterohaemorrhagiae (copenhageni and RGA), L. canicola, L. pomona and L. Grippotyphosa köpeklerde bulunan en yaygın antikor varyantları kendilerine bağlarlar. Pozitif sonuç mevcut bir enfeksiyonu ifade eder. Bu kit spesifik serotipi ayırt etmek ya da aşı durumunu monite etmek için kullanılmaz.

II. GENEL BİLGİ

Leptospirosis dünyada farklı hayvan tiplerinde spiroketal hastalıklara sebep olmakta ve son zamanlarda önemli zoonoz bir hastalık olarak dikkat çekmektedir. Dünya üzerinde son zamanlarda yaygınlaştığı bir çok çalışmada rapor edilmektedir.

Leptospira interogansının farklı serovarları, doğada klinik olarak enfekte olmuş birçok vahşi ve evcil hayvan barınağında bulunmaktadır. Rezervuar barınakları, insanlara ve geçici olarak kalanlar için bir enfeksiyon kaynağıdır.

Köpeklerde enfeksiyon, çoğunlukla avcılık ya da spor amaçlı kullanılan ve yaban hayatı yiyen köpeklerde veya nehir yatakları, bataklıklar ya da ormanlık alanlara erişimi olan köpeklerde görülür. Durgun su, Leptospira için doğal bir ortamdır. Enfeksiyon, kontamine idrar ile doğrudan temas yoluyla ve transplasental ve zührevi yollarla oluşur. Dolaylı enfeksiyon, kirlenmiş suya, bitki örtüsüne, toprağa veya gıdaya maruz kalma yoluyla da mümkündür.

Leptospira, bir konakçının dışında çoğalmaz ve dayanımı, bulunduğu ortamın koşullarına bağlıdır. Leptospira, kuraklığa duyarlıdır ve pH değişikliklerinden zarar görebilir. Yağışlı mevsimlerde durgun su ve bataklık koşullarının bolluğunda Leptospiroz insidansı yüksektir.

Hastalığı kontrol altına almak için aşılama programları başlatılmıştır. Ancak aşı her zaman ilgili serovarları içermemekte ve elde edilen bağışıklık süresi çok kısadır (6-12 ay).

III. IMMUNOCOMB NEDİR?

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

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

Canine Leptospira test sonuçları 23 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.

■ Leptospira serovar karışımı test noktası tarağın her bir dişinin en alt noktasına iliştilmiştir. En üstteki nokta Pozitif Referansı simgeler.

■ 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 oluşum görülür.

■ Renk değişiminin yoğunluğu örnekte bulunan antikor seviyesini belirtmektedir. Sonuçlar Pozitif

referans noktası ve Ölçüm cetveliyle karşılaştırılarak puanlanır. (Bkz. Bölüm IX).

V. KLİNİK BELİRTİLER

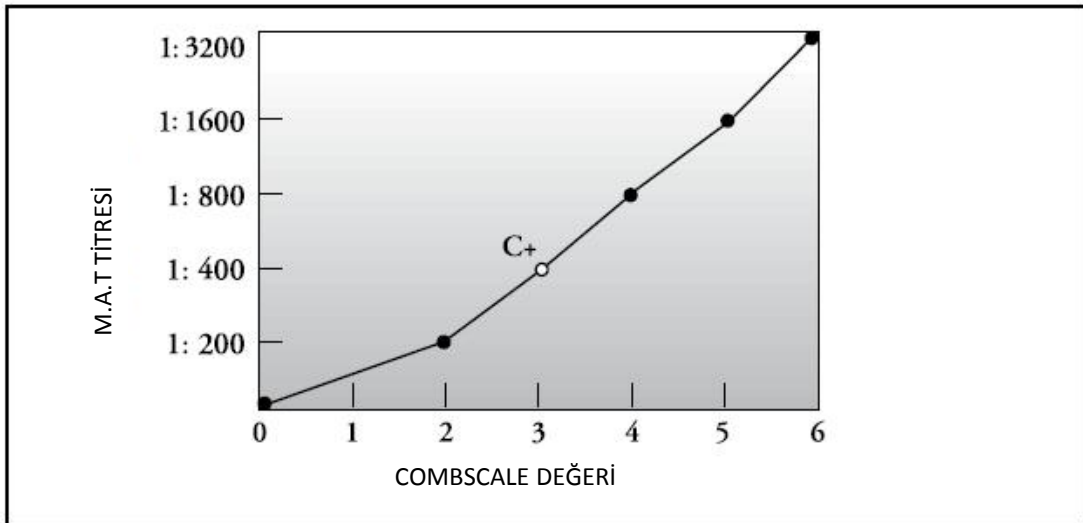
Köpeklerde hastalık, böbrek ve karaciğerin akut enfeksiyonu ve hatta bir septisemi olarak karşımıza çıkmaktadır. Kronik böbrek hastalığı enfeksiyonun ortak bir tezahürüdür. Hamile dişilerde düşük meydana gelebilir. Asemptomatik enfeksiyon nedeniyle köpeklerde Leptospirosis prevalansı hafife alınabilir.

VI. TANI

Köpek Leptospira tanısı büyük oranda klinik bulgulara dayanmaktadır. Tanı konulmasında serolojik test çok yararlıdır. Mikroskopik Aglütinasyon Testi (MAT), leptospirosis serolojik olarak teşhis edilmesi için standart laboratuvar yöntemidir. Bir Leptospira serovarına karşı antikor titresinde dört kat artış anlamlı kabul edilir. Çapraz reaksiyonlar nedeniyle birden fazla serovara karşı titrenin yükselmesi sıradışı değildir. Pozitif çapraz reaksiyon varsa, en yüksek titrlere sahip serovarlardan en önemli olduğu düşünülmelidir.

"Nokta" -ELISA teknolojisine dayanan ImmunoComb testi, MAT'den daha duyarlı, ancak spesifik serotipi tanımlamayı varsaymaz. Immunocomb Canine Leptospira test kiti, aşağıdaki serovarlardan herhangi biriyle enfeksiyona bağlı olarak yükselen antikor düzeylerini saptamak için uygundur: *L. canicola*, *L. icterohaemorrhagiae*, *L. grippityphosa* ve *L. pomona* serovarlari.

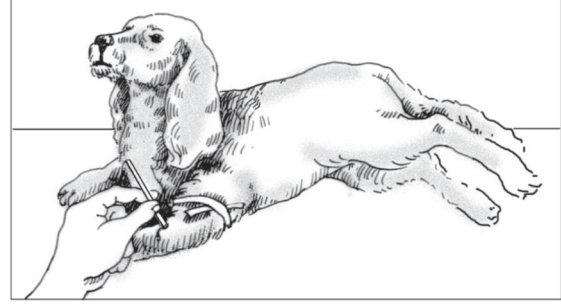
Şekil : 1 COMBSCALE S DEĞERİ İLE MAT TİTRE SEVİYESİ ARASINDAKİ İLİŞKİ



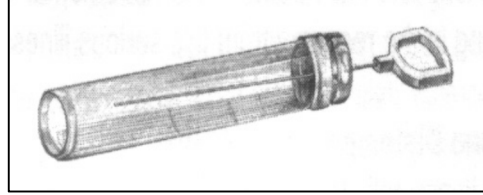
VII. ADIM ADIM IMMUNOCOMB'UN
KULLANIMI

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.

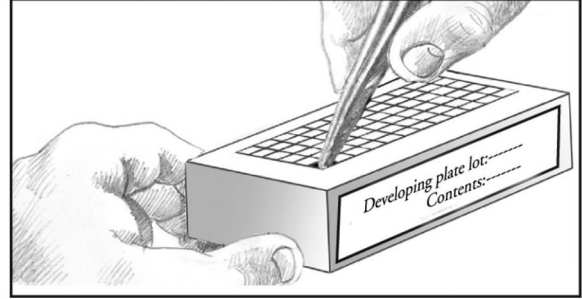
- I. Köpekten kan numunesi alınız.



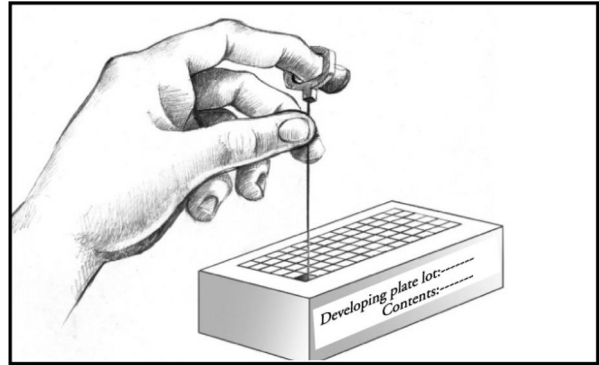
- II. Pipet veya kapiler tüp kullanın*. Tam kan testi için 10µl, Serum/plazma için 5µl kullanınız.



- 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.

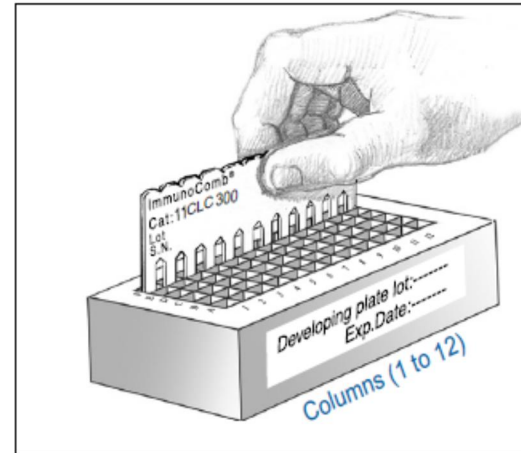
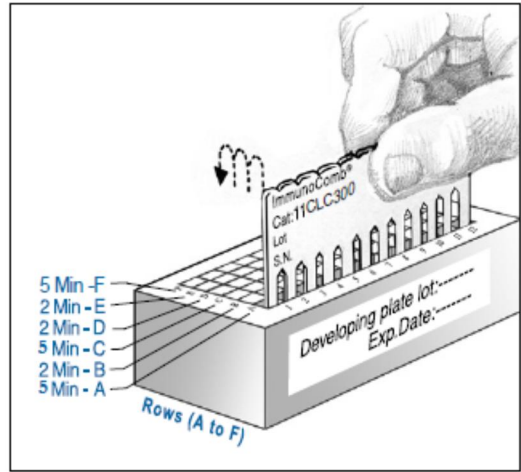
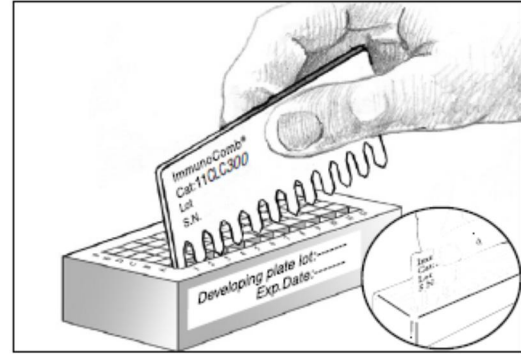
- V. Tarağı koruyucu ambalajından çıkarınız. **ImmunoComb kartının dışlarına dokunmayınız.** 12 numuneden daha azını test etmek için, gereken test sayısı kadar taraktaki dişleri çentikli kısımlarından kesin veya kırın.

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 (S0 ile S6 arasında ölçeklenmiş cetvel üzerinde) olarak belirlenmelidir. S3 noktası Mikroskopik Aglutinasyon Testinde (MAT) 1:400 titresindeki bir IgG antikor eşik değerine denk gelmektedir. (Şekil 1'e bakınız)
- Tarağın alt noktası örnekteki *Leptospira serovar karışımına* karşı IgG antikor miktarını gösterir. *Leptospira serovar karışımı* 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. (1:100 ile 1:200 arasında MAT titresine karşılık gelir)
- Antikor ölçümlerini değerlendirmek için kit ile birlikte verilen CombScale aracını kullanınız. (Bkz. Bölüm IX).

IX. ÖLÇÜM CETVELİ (COMBSCALE) İLE SONUÇLARIN OKUNMASI

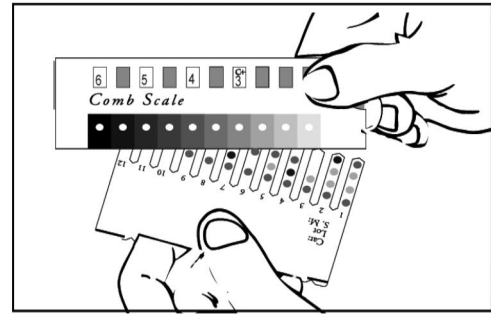
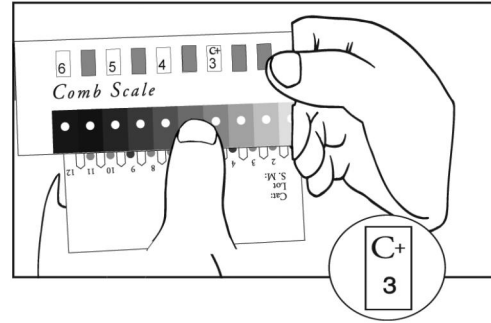
Pozitif Referans rengi S3'e kalibre edildiğinde, CombScale S değeri, renk tonuna karşılık gelen sarı pencerede görünen sayıdır.

Tarak tamamen 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.

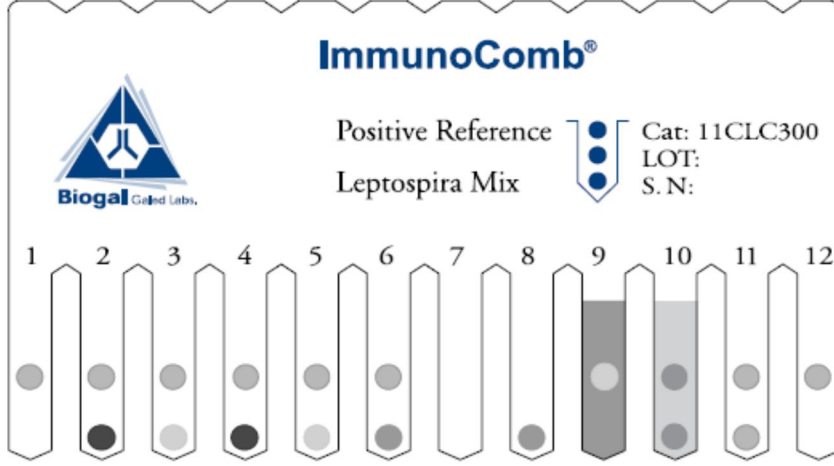
Cetveli tüm okuma aşamasında bu konumda tutun. Bu aşama, test noktalarının karşılaştırılmasını sağlayan ayırma noktası; C+'yı S3'e kalibre eder.

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.



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



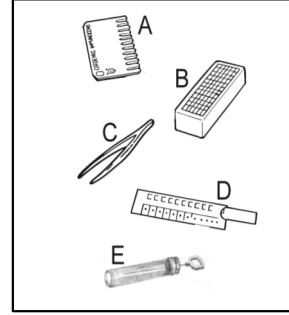
Diş No.	Sonuçlar	
1	S0	Negatif reaksiyon <i>Leptospira</i>
2	≥S5	Yüksek pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
3	S1-2	Düşük pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
4	≥S5	Yüksek pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
5	S1-2	Düşük pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
6	≥S3	Pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
7*		* Geçersiz. Pozitif referans yok
8*		* Geçersiz. Pozitif referans yok
9**		** Geçersiz. Yüksek arkaplan rengi okumaya engel
10***	≥S3	*** Yüksek arkaplan rengi Pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
11	≥S3	Pozitif reaksiyon <i>Leptospira</i>
12	S0	Negatif reaksiyon <i>Leptospira</i>

XI. DEPOLAMA VE KULLANIM

- I. Kit'i normal soğutucuda saklayınız (2°- 8°C). **Kiti dondurmayınız.**
- II. **Farklı kitlelere 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 (50CLC201)	120 Test Kit (50CLC210)
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

- Noel R. (2002). An overview of canine leptospirosis. <http://www.vet.uga.edu/vpp/clerk/noel/>
- McDonough, P.L. (2001). Leptospirosis in dogs current status, Recent Advances in Canine Infectious Diseases. International Veterinary Information Services, July. <http://www.ivis.org>
- Levett, P. Leptospirosis. (2001). Clinical Microbial Reviews, 14(2), 296-326. Harrus S et al. (2002). Vet Microbiol. 86 (4), 361-368.

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