

FASTest® BOR in TICK

ad us. vet.



In vitro Diagnostikum

Testkit zum qualitativen Nachweis von Borrelienantigenen in der Zecke

GEBRAUCHSINFORMATION



1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

TESTKITKOMPONENTEN

1 Testkit **FASTest® BOR in TICK** enthält:

- 1 oder 5 Testkassetten, beschichtet mit monoklonalen Antikörpern
- 1 Tropfflasche **A** mit 1,0 ml oder 1,5 ml Pufferlösung
- 1 oder 5 Probenröhrchen mit Stößel
- 1 oder 5 Einmal-Kunststoffpipetten
- 1 Zeckentferner
- 1 Gebrauchsinformation

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

- Lagerung 15-25°C
- Verwendbar bis - siehe Etikett

ANWENDUNG UND ABKÜRZUNGEN

- Für den tierärztlichen Gebrauch
- In vitro Diagnostikum
- Gebrauchsinformation genau beachten
- LOT Chargen-Bezeichnung
- Keine Reagenzien verschiedener Testkits, Chargennummern oder mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.
- T - TESTLinie, C - KONTROLLlinie, LF - Lateral flow

HAFTUNG

Das gesamte Haftungsrisiko im Zusammenhang mit der Verwendung dieses Produktes liegt beim Käufer. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für indirekte, spezielle oder daraus folgende Schäden jeglicher Art, die aus der Benutzung, Testdurchführung und -auswertung dieses Produktes resultieren.

2. EINLEITUNG

Die Lyme-Borreliose kommt bei Tier und Mensch weltweit, meist in der nördlichen Hemisphäre, vor. Die Schildzecke (*Ixodes ricinus* („Holzbock“)) gilt in Europa als Hauptvektor für Borrelien (schraubenförmige Bakterien, Spirochaetaceae) aus dem *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. b. s.l.*)-Komplex. Zu diesem Komplex gehören ca. 19 Arten, u. a. die humanpathogenen *B. b. sensu stricto* (*B. b. s.s.*), *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* und *B. spielmanii*. Nach derzeitigen Erkenntnissen ist die Pathogenität beim Hund nur für *B. b. s.s.* sicher bewiesen.

Ob und wie viele Borrelien in einer Zecke enthalten sind, hängt vom Entwicklungsstadium der Zecke, Anzahl der Blutmahlzzeiten sowie von jahreszeitlichen und geographischen Einflüssen ab. Durchseuchungsraten von bis zu 50% sind in endemischen Gebieten nachgewiesen worden. Erregerreservoir für Borrelien sind kleine Nagetiere, Vögel, Rehe und Hirsche. Hier infizieren sich schon die Larven- und Nymphenstadien der Zecken bei ihrer Blutmahlzzeit.

Die Borrelien leben im Darmtrakt von Zecken und werden durch den Zeckenstich auf Tier und Mensch übertragen. Etwa 12h nach dem Zeckenstich werden die im Zeckendarm befindlichen Borrelien über die Speicheldrüsen der Zecke in die Stichwunde übertragen. Dabei wird der Höhepunkt der Borrelienübertragung ca. 72h nach Zeckenstich erreicht. Durch die lange Inkubationszeit treten Krankheitssymptome wie Fieber, wechselnde Lahmheit, Lymphadenopathie, Muskel- und Gelenkentzündung meist erst Wochen oder Monate nach dem Zeckenstich auf. Das für Menschen erste und charakteristische Borreliosesymptom, eine ringförmige Hautrötung (Erythema migrans), tritt bei Tieren eher selten auf. Durch den Fellbesatz wird es zudem häufig übersehen.

Die Borreliosedagnostik und -therapie im Tier gestaltet sich häufig sehr schwierig. Gründe dafür sind lange Inkubationszeiten, langwierige Laboruntersuchungen sowie oft sehr ungünstige Heilungsverläufe. Daher kommt einer Frühdiagnostik in der am Tier saugenden Zecke große Bedeutung zu. Ein Nachweis von Borrelien in der Zecke konnte bis dato nur über eine aufwändige, zeit- und kostspielige Untersuchung mittels PCR im Labor erfolgen.

Mit Hilfe des **FASTest® BOR in TICK** können potentiell vorhandene Borrelien in der Zecke schnell, einfach und zuverlässig vor Ort nachgewiesen werden. Im positiven Fall können unverzüglich weitere diagnostische, therapeutische und prophylaktische Maßnahmen eingeleitet werden.

3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Zur vollständigen Entfernung der Zecke mitsamt Kopf wird die Verwendung des beigelegten Zeckentferners empfohlen. Es ist insbesondere darauf zu achten, dass der Zeckenkopf mit entfernt wird. Die Wunde versorgen!

Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren! Die Testdurchführung sollte möglichst direkt oder maximal bis 48 Stunden (Austrocknungsgefahr!) nach Entfernung der Zecke durchgeführt werden. Die Zecke kann bis zur Testdurchführung im Probenröhrchen aufbewahrt werden.

Beachten Sie, dass das Probenmaterial, ebenso wie alle verwendeten Testkitkomponenten, zum Zeitpunkt der Anwendung **Raumtemperatur** haben sollte.

4. PROBENVORBEREITUNG (Kleine und große Zecke)

- a. Öffnen Sie das Probenröhrchen und platzieren Sie die Zecke mittig in die Vertiefung des Probenröhrchens (Abb.1).
- b. Zerquetschen Sie die Zecke, indem Sie den blauen Deckel mit dem daran befestigten Stößel fest auf das Probenröhrchen drehen (Abb.2).

Kleine Zecke (Ø unter 5 mm)

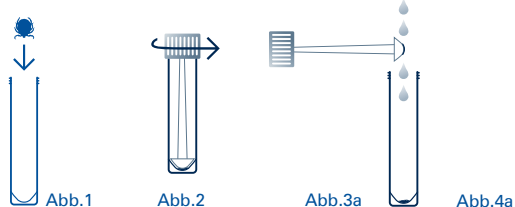
- c. Öffnen Sie das Probenröhrchen erneut. Halten Sie die Tropfflasche **A** senkrecht und geben Sie **4 Tropfen Pufferlösung** (ca. 160-200 µl) dazu. Sollten sich Zeckenreste am Stößel befinden, geben Sie die 4 Tropfen Puffer über den Stößel in das Probenröhrchen (Abb.3a).

- d. Mischen Sie das zerquetschte Zeckenmaterial mit dem Puffer möglichst homogen durch mehrmaliges Auf- und Zudrehen des Probenröhrchendeckels (vgl. Abb.2).

Große Zecke (Ø über 5 mm)

- c. **Keine Pufferzugabe!**

Kleine Zecke (Ø unter 5 mm)



5. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.

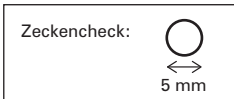
Kleine Zecke (Ø unter 5 mm)

2. Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die gesamte Zecken-Puffer-Mischung (ZPM, möglichst ohne Zeckenreste) auf (Abb.4a). Geben Sie davon **3 Tropfen** (120-150 µl) **langsam** (ohne Luftblasen, **einen Tropfen nach dem anderen**) in das Probenfenster **S** der Testkassette (Pipette senkrecht halten, Abb.5a). Restvolumen siehe Kapitel 9.

Große Zecke (Ø über 5 mm)

2. Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die gesamte Zecken-Mischung (ZM, möglichst ohne Zeckenreste) auf (Abb.4b). Geben Sie davon **1 Tropfen** (40-50 µl) in das Probenfenster **S** der Testkassette (Pipette senkrecht halten, Abb.5b). Restvolumen siehe Kapitel 9.
3. Geben Sie **2 Tropfen** (80-100 µl) **Puffer** in das Probenfenster **S** der Testkassette (Abb.6).

Sollte 1 Minute nach Auftropfen der ZPM (5.2) bzw. des Puffers (5.3) kein beginnender m. o. w. pinkfarbener LF sichtbar werden, vermischen Sie das ZPM/den Puffer im Probenfenster **S** mit der benutzten Pipettenspitze unter leichtem Druck auf die Membran oder geben Sie 1 Tropfen Pufferlösung dazu.



6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von **10 Minuten** nach Zugabe der drei Tropfen in das Probenfenster **S** abzulesen. Darüber hinaus abgelesene Testresultate sind nicht zu interpretieren!

POSITIVES TESTERGEBNIS (Abb.7)

Eine **pink-purpurfarbene TESTLinie** **jedweder Intensität** (variabel von sehr schwach bis stark intensiv) und eine **pink-purpurfarbene KONTROLLlinie** erscheinen.

NEGATIVES TESTERGEBNIS (Abb.8)

Nur eine **pink-purpurfarbene KONTROLLlinie** erscheint. Diese Linie zeigt, unabhängig von ihrer Intensität, die korrekte Testdurchführung an.

UNGÜLTIGES TESTERGEBNIS

Keine KONTROLLlinie sichtbar. Der Test muss unter Verwendung einer neuen Testkassette wiederholt werden.

Abb.7 POSITIVES TESTERGEBNIS



Abb.8 NEGATIVES TESTERGEBNIS



7. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Die Richtlinien zur Arbeit in medizinischen Laboratorien sind zu beachten. Es wird empfohlen, Einmal-Handschuhe und weitere persönliche Schutzausrüstung (Schutzkleidung, evtl. Mundschutz) zu tragen. Nach Abschluss des Tests die Hände waschen und desinfizieren.
- Beschriften Sie Probenmaterial und zugehörige Testkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe ein neues Probenröhrchen und eine neue Pipette verwenden.
- Die Pufferlösung enthält geringgradige Konzentrationen an toxischem Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut-/Augenkontakt und/oder Ingestion sind unbedingt zu vermeiden!
- Das Probenmaterial muss als potentiell infektiös für den Menschen angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

8. TESTPRINZIP

Der **FASTest® BOR in TICK** basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“.

Die in der Zecke enthaltenen Borrelienantigene reagieren nach Auftropfen der Zecken-Puffer-Mischung (ZPM) in das Probenfenster **S** mit spezifischen mobilen, an Goldpartikel konjugierten Antikörpern. Diese Antigen-Antikörper-Komplexe wandern entlang der Membran („lateral flow“, **LF**) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen TESTLinie (**T**) an membranfixierte, monoklonale Anti-Borrelien-Antikörper.

Die korrekte Testdurchführung wird durch die Ausbildung einer zweiten pink-purpurfarbenen KONTROLLlinie (**C**) angezeigt.

9. INFORMATIONEN ZUR TESTAUSWERTUNG

- Die Interpretation des abgelesenen Testergebnisses sollte im Rahmen der Anamnese, Klinik, Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten betrachtet werden.
- Jegliche nicht beschriebenen Farb- und Konturabweichungen von **T** und **C** (z.B. gräuliche, schattenartige Linien) sind als spezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Positive Testergebnisse können in Abhängigkeit von der Antigenkonzentration innerhalb von 10 Minuten auftreten.
- Im Falle stark blutigen Probenmaterials (große vollgeseugene Zecken) kann **T** aufgrund des m. o. w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.
- **T** kann sowohl in der Intensität als auch in der Breite variieren und ist daher im Falle eines Erscheinens innerhalb der angegebenen Inkubationszeit als positiv zu interpretieren.
- Restvolumen (ZPM oder ZM) kann zur PCR-Bestätigung verwendet werden.

FASTest® BOR in TICK

ad us. vet.



In vitro diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of
Borrelia antigens in the tick

INSTRUCTIONS FOR USE



1. INFORMATION ON THE TEST-KIT

TEST-KIT COMPONENTS

1 test-kit FASTest® BOR in TICK contains:

- 1 or 5 test cassettes coated with monoclonal antibodies
- 1 dropper bottle A with 1.0 ml or 1.5 ml buffer diluent
- 1 or 5 sample tubes with squeezer
- 1 or 5 disposable plastic pipettes
- 1 tick remover
- 1 instructions for use

STABILITY AND STORAGE

Store at
15–25°CExpiry date
– see label

APPLICATION AND ABBREVIATIONS



For veterinary use only



Lot number



In vitro diagnosticum



Do not use test-kit components from different kits, lot numbers or beyond stated expiry date.



Follow instructions for use precisely

T – TEST line, C – CONTROL line, LF – Lateral flow

LIABILITY

The entire risk due to the performance of this product is assumed by the purchaser. The manufacturer shall not be liable for indirect, special or consequential damages of any kind resulting from the use of this product.

2. INTRODUCTION

Lyme borreliosis is present in animals and humans world-wide, mostly in the northern hemisphere. The castor bean tick *Ixodes ricinus* ("wood tick") is said to be the main vector for borrelia (spiral bacteria, Spirochaetaceae) of the *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. b. s. l.*) complex. Ca. 19 species, among them the human-pathogen species *B. b. sensu stricto* (*B. b. s. s.*), *B. afzelii*, *B. garinii*, *B. bavariensis* and *B. spielmanii* belong to this complex. According to current knowledge, the pathogenicity for the dog is only proven for *B. b. s. s.*

Whether and how many *Borrelia* are contained in a tick is dependent on development stage of the tick, number of blood meals and on seasonal and geographical influences. Studies showed prevalence rates up to 50% in endemic areas. Reservoirs for *Borrelia* are small rodents, birds, roes and deer. Here, even larval and nymph-stage ticks get infected when sucking blood.

Borrelia live in the intestinal tract of ticks and are passed on to animals and humans via tick stings. About 12h after the sting, *Borrelia* located in the tick intestine are transferred via the salivary glands of the tick into the sting wound. The peak of *Borrelia* transmission is about 72h after sting.

Due to the long incubation time, symptoms like fever, varying lameness, lymphadenopathy, inflammation of muscles and joints appear not before weeks or months after the tick sting. The first and characteristic symptom for borreliosis in humans, a circular flush (Erythema migrans), is scarce in animals. Furthermore, it is often overlooked due to the fur.

The diagnosis and therapy of borreliosis in animals is often very difficult based on long incubation times, prolonged laboratory tests as well as the often unfavourable healing process. Thus, early diagnostics of the sucking tick is very important. So far, the direct detection of *Borrelia* in the tick only was possible with a time-consuming and costly test via PCR in a laboratory.

Using FASTest® BOR in TICK, potential *Borrelia* antigens in ticks can be detected fast, simple and reliable on-site. In case of a positive test result, diagnostic, therapeutic and prophylactic measures can be initiated immediately.

3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL

To remove the tick completely, including the head, the use of the attached tick remover is recommended! Special care must be taken that the tick is completely removed. Treat the wound!

Homogenise the sample material well before use!

The test procedure should be done immediately or maximum 48 hours after tick removal (risk of desiccation!). The tick can be stored in the sample tube until the test procedure starts.

Keep in mind that the sample material, as well as all used test-kit components, should have reached room temperature at the time of application.

4. SPECIMEN PREPARATION (Small and large tick)

- Open the sample tube and place the tick in the middle of the sample tube (fig.1).
- Squeeze the tick by closing the blue cap with the attached squeezer tightly onto the sample tube (fig.2).

Small tick (Ø below 5 mm)

- Open the sample tube again. Hold the dropper bottle A vertically and add 4 drops of buffer diluent (ca. 160–200 µl). In case of any tick remnants on the squeezer, let the 4 drops flow over the squeezer into the sample tube (fig.3a).

- Mix the squeezed tick material homogeneously with the buffer diluent by twisting and untwisting the blue cap for several times (see fig.2).

Large tick (Ø above 5 mm)

- No addition of buffer diluent!

5. TEST PROCEDURE

- Remove the test cassette from its foil pouch shortly before use. Place it on a flat surface.

Small tick (Ø below 5 mm)

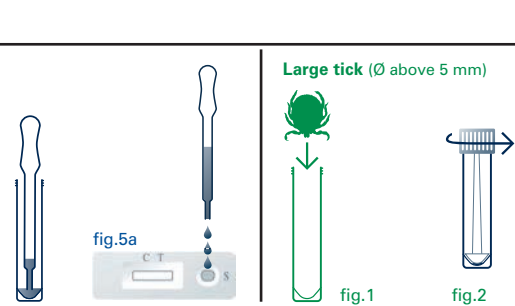
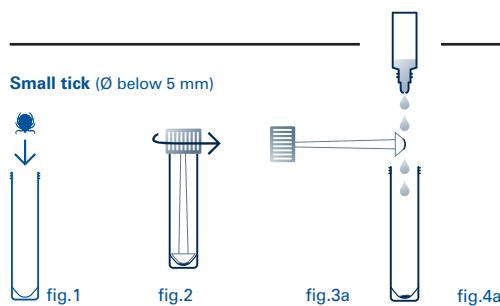
- Suck up the whole tick-buffer mixture (TBM, avoid tick particles if possible) using the disposable plastic pipette (fig.4a). Add 3 drops (120–150 µl) slowly (without air bubbles, one drop after the other) into the sample window S of the test cassette (hold pipette vertically, fig.5a). Rest volume, see chapter 9.

Large tick (Ø above 5 mm)

- Suck up the whole tick mixture (TM, avoid tick particles if possible) using the disposable plastic pipette (fig.4b). Add 1 drop (40–50 µl) into the sample window S of the test cassette (hold pipette vertically, fig.5b). Rest volume, see chapter 9.
- Add 2 drops (80–100 µl) buffer diluent into the sample window S of the test cassette (fig.6).

If there is no beginning LF visible within 1 minute after adding the TBM (5.2) or the buffer (5.3), mix the TBM/the buffer in the sample window S with light pressure of the used pipette tip onto the membrane or add 1 drop of buffer diluent.

Tick check:



6. READING OF THE TEST RESULT



Read the test result 10 minutes after the three drops have been added into the sample window S. Beyond this time, test results should not be interpreted!

POSITIVE TEST RESULT (fig.7)

A pink-purple TEST line of any intensity (varying from very weak to strongly intensive) and a pink-purple CONTROL line appear.

NEGATIVE TEST RESULT (fig.8)

Only a pink-purple CONTROL line appears. This line indicates, irrespective of its intensity, that the test has been performed properly.

INVALID TEST RESULT

No CONTROL line visible. The test should be repeated using a new test cassette.

fig.7
POSITIVE TEST RESULT



fig.8
NEGATIVE TEST RESULT



7. PRECAUTIONS FOR USERS

- The guidelines for working in medical laboratories must be observed. It is recommended to wear disposable gloves and other personal protective equipment (protective clothing, possibly a face mask). Wash and disinfect hands after completing the test.
- Label sample material and associated test cassette to ensure a precise assignment.
- Use a new sample tube, a new pipette and a new test cassette for each sample.
- The buffer diluent contains low concentrations of toxic sodium azide as a preservative, therefore avoid skin/eye contact and/or ingestion.
- The sample material must be seen as potentially infectious for humans and disposed of accordingly, together with the used test-kit components.

8. TEST PRINCIPLE

The FASTest® BOR in TICK is based on an immunochromatographic "sandwich principle".

After dropping the tick-buffer mixture (TBM) into the sample window S, the *Borrelia* antigens present in the tick are bound to specific mobile antibodies, which are conjugated to colloidal gold particles. These antigen-antibody complexes are migrating along the nitrocellulose membrane ("lateral flow", LF) and bind to fixed monoclonal anti-*Borrelia* antibodies forming a pink-purple TEST line (T).

A correct test procedure will be indicated by a second pink-purple CONTROL line (C).

9. INFORMATION FOR THE INTERPRETATION

- The interpretation of the test result should always be based on anamnestic and clinical data as well as the therapy and prophylaxis possibilities.
- Any non-described colour or contour variation of T and C (e.g. greyish, shadow-like lines) has to be considered as unspecific reaction and therefore as negative test result.
- Positive test results may be observed earlier, depending on the concentration of antigen in the sample.
- Due to red hemoglobin background of the test membrane, caused by bloody sample material (large totally soaked up ticks), the visibility of T, especially in case of weak positive samples, could be from worse to not visible.
- T can vary both in intensity (from weak to strong pink-purple) and in width. Therefore, any pink-purple line which appears within the required incubation time has to be interpreted as a positive test result.
- Rest volume (TBM or TM) can be used for PCR confirmation.