

# FASTest® C. perfringens



## Toxin

ad us. vet.

In vitro Diagnostikum

Testkit zum qualitativen Nachweis von *Clostridium perfringens*-Enterotoxin (CPE) im Kot von Hund, Katze, Zicklein, Lamm, Kalb, Fohlen und Ferkel

### GEBRAUCHSINFORMATION



## 1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

### TESTKITKOMPONENTEN

- 1 Testkit **FASTest® C. perfringens Toxin** enthält:
- 2 oder 10 Teststreifen, beschichtet mit monoklonalen Antikörpern
  - 2 oder 10 Probenröhrchen mit je 2,0 ml Pufferlösung
  - 1 Gebrauchsinformation

### HALTBARKEIT UND LAGERUNG

- Lagerung 15–25°C  
Verwendbar bis 15–25°C – 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.

TL – TESTLinie, KL – 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

Das grampositive, anaerobe Bakterium *Clostridium perfringens* gehört zur physiologischen Darmflora vieler Säugetiere und ist fakultativ pathogen. Ungünstige endogene (andere Grunderkrankungen, Durchfallerreger, Antibiotikatherapien mit massiver Reduktion der Darmflora etc.) und exogene (Haltungsbedingungen, extreme Futterwechsel, Stress etc.) Faktoren können das Gleichgewicht der Darmflora stören und *C. perfringens* anregen, sich aktiv zu vermehren. Neben seiner Fähigkeit, extrem infektiöse und widerstandsfähige Sporen auszubilden, ist die Bildung letaler Toxine maßgebend für seine Pathogenität.

Die Taxonomie in die Typen A–E basiert auf den unterschiedlichen Toxinen, die gebildet werden. Diese Toxine können bei verschiedenen Tierarten, wie Ziege, Schaf (z. B. Lämmerdysenterie: Typ B; Breinierenkrankheit: Typ D), Rind (hämorrhagische Enteritis: Typ A–E), Fohlen (nekrotisierende Enterocolitis: Typ A & C) und Ferkel (z. B. serös-katarhalische Enteritis: Typ A; nekrotisierende Enteritis: Typ C) Störungen des intestinalen Wasser- und Elektrolythaushaltes auslösen, die extrem variabel sind (milde bis letale Verlaufsformen). Beim Hund kommt v. a. der Serotyp A vor, der zwei Haupttoxine (Toxin Alpha [α] und ein Clostridium-Enterotoxin [CPE]) produziert, seltener der Serotyp B (Toxin Beta [β]). Sowohl *C. perfringens* als auch dessen CPE können auch im Kot gesunder Hunde nachweisbar sein. Bei Katzen fehlen derzeit belastbare Literaturdaten bzgl. Prävalenz sowie klinischer Relevanz. Allein durch den Nachweis von *C. perfringens* im Kot ist eine Erkrankung aufgrund von Clostridien nicht diagnostizierbar, es sollten weitere Untersuchungen abgeschlossen werden.

In einer Studie aus der Schweiz zeigten 54% der *C. perfringens*-isolate eine reduzierte Empfindlichkeit gegenüber Metronidazol bzw. 18% gegenüber Tetracyklin. Da generell die Gefahr der Resistenzbildung besteht, empfiehlt es sich, bei Durchfallerkrankungen grundsätzlich den auslösenden Erreger zu identifizieren. Durch seine hohe Sensitivität und Spezifität ermöglicht der Einsatz des **FASTest® C. perfringens Toxin** dem Tierarzt die schnelle ätiologische Diagnose einer Clostridieninfektion, den sofortigen Therapiebeginn sowie die Einleitung notwendiger Quarantäne- und Prophylaxemaßnahmen.

## 3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Auf Grund der i. d. R. inhomogenen oder „nesterartigen“ Verteilung von Antigenen in der Kotprobe vor Probenentnahme muss diese mit Hilfe eines Spatels oder Vortex-Mixers homogen verrührt werden.

Für den Test wird, je nach Konsistenz, die unter Punkt 4b/Probenvorbereitung vorgeschriebene Menge (unter Verwendung des beigefügten Löffelchens) an Kot benötigt!

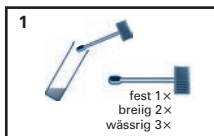
Ungekühlt (15–25°C) sollte der Kot innerhalb von 4 Stunden getestet werden! Bei 2–8°C kann die Probe bis max. 4 Tage, dauerhaft bei mindestens –20°C gelagert werden.

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

Endogene und exogene Störsubstanzen einer Probe (z. B. Proteasen, Mukosabestandteile, Blut, aber auch Viskosität, pH-Wert sowie Gräser und Katzenstreu) können Störeffekte (Matrixeffekte) verursachen, die die Messung des Targets beeinflussen können. Diese können zu gestörtem LF und/oder unspezifischen Reaktionen auf TL und KL führen.

## 4. PROBENVORBEREITUNG

- Öffnen Sie das Probenröhrchen mit der darin bereits enthaltenen Pufferlösung.
- Mischen Sie die Kotprobe mittels Spatel/Vortex-Mixer homogen und rühren Sie die Probenmenge (**fester Kot**:

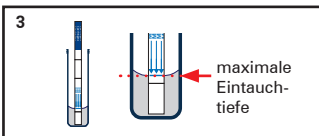


1 gestrichenes Löffelchen, breiiger Kot: 2 gestrichene Löffelchen, wässriger Kot: 3 gestrichene Löffelchen) gleichmäßig in die Pufferlösung ein (Abb.1).

- Probenröhrchen gut verschließen. Kotprobe durch leichtes, kreisförmiges Schwenken möglichst homogen mit der Pufferlösung vermischen (Abb.2).
- Zur Sedimentation grober Kotpartikel das Probenröhrchen für 1–5 Minuten auf eine ebene und horizontale Fläche stellen.

## 5. TESTDURCHFÜHRUNG

- Entnehmen Sie den Teststreifen erst kurz vor Gebrauch der Verpackung.
- Stellen Sie den Teststreifen mind. 1 Minute senkrecht und in Pfeilrichtung in das Probenröhrchen. Der Flüssigkeitsspiegel (Meniskus!) darf die blaue horizontale Linie unterhalb der blauen Pfeilspitzen nicht übersteigen (Abb.3).
- Entnehmen Sie den Teststreifen dem Probenröhrchen frühestens, wenn die Proben-Puffer-Mischung (PPM) die KL erreicht hat. Dies zeigt sich in der beginnenden Ausbildung der pink-purpurfarbenen KL (Abb.4/5). Bei fehlender Ausbildung der KL nach 5–10 Minuten muss eine neue PPM angesetzt und mind. 5 Minuten sedimentiert werden. Der Teststreifen ist dann nur in den Überstand zu halten, bis der LF die KL erreicht hat (siehe auch 7. Vorsichtsmaßnahmen\*).
- Legen Sie den Teststreifen zur Inkubation auf eine ebene und horizontale Fläche.



## 6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES



Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von **5 (max. 10) Minuten** abzulesen. Positive Testresultate können je nach CPE-Konzentration schon früher auftreten.

### POSITIVES TESTERGEBNIS (Abb.4)

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

### NEGATIVES TESTERGEBNIS (Abb.5)

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.4  
POSITIVES TESTERGEBNIS



Abb.5  
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 zugehöriges Probenröhrchen, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe einen neuen Teststreifen und ein neues Probenröhrchen 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 angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

\* Um einen Anwendungsfehler/Fremdeinfluss auszuschließen (z. B. zu viel Probenmaterial, zu kurze Sedimentationsdauer, Komponenten im Kot, welche die Poren des Saugpads verstopfen), kann der Test wiederholt werden. Dabei exakt die Anweisungen zur Probenvorbereitung beachten und einen neuen Teststreifen verwenden. Es ist ratsam, den Teststreifen bei der Testwiederholung nur in den Überstand zu halten, bis der LF die KL erreicht hat.

## 8. TESTPRINZIP

Der **FASTest® C. perfringens Toxin** basiert auf einem immuno-chromatographischen „Sandwich-Prinzip“.

Das im Probenmaterial Kot enthaltene *Clostridium perfringens*-Enterotoxin (CPE) reagiert im Bereich des Konjugat-kissens mit mobilen, an Goldpartikel gebundenen, monoklonalen Anti-CPE-Antikörpern (Anti-CPE-mAKs). Diese Ag-AK-Komplexe durchfließen die Membran („lateral flow“, LF) und werden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen TESTLinie (TL) an membranfixierte Anti-CPE-mAKs gebunden. Die verwendeten Anti-CPE-mAKs gewährleisten ein hohes Maß an Spezifität zum alleinigen Nachweis von *Clostridium perfringens*-Enterotoxin. Die Intensität der TL bzw. deren Breite hängt dabei von der Konzentration des *Clostridium perfringens*-Enterotoxins in der eingebrachten Probenmenge ab.

Die korrekte Testausführung wird durch die Ausbildung einer zweiten, pink-purpurfarbenen KONTROLLlinie (KL) 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 TL und KL innerhalb der angegebenen Inkubationszeit bzw. nach mehr als 10 Minuten (z. B. gräuliche, schattenartige Linien) sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Die TL kann sowohl in ihrer Intensität als auch in ihrer Breite variieren und ist daher im Falle eines Erscheinens innerhalb der angegebenen Inkubationszeit als positiv zu interpretieren.

**FASTest® C. perfringens****Toxin**  
ad us. vet.*In vitro* diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of *Clostridium perfringens* enterotoxin (CPE) in the feces of the dog, cat, goat and sheep lamb, calf, foal and piglet

**INSTRUCTIONS FOR USE****1. INFORMATION ON THE TEST-KIT****TEST-KIT COMPONENTS**

- 1 test-kit **FASTest® C. perfringens Toxin** contains:
- 2 or 10 dipsticks coated with monoclonal antibodies
  - 2 or 10 sample tubes with 2.0 ml buffer diluent each
  - 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

**TL** – TEST line, **CL** – 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**

The gram positive anaerobic bacterium *Clostridium perfringens* belongs to the intestinal flora of many pets and farm animals and is facultative pathogenic. Inconvenient endogenous (other basic diseases, diarrhoea pathogens, antibiotic therapies with massive reduction of intestinal flora etc.) and exogenous (farming conditions, extreme changes of the food, stress etc.) factors can disturb the floral balance within the gut enabling *C. perfringens* to reproduce actively. Next to its ability to form extremely infectious and stable spores, the formation of lethal toxins is crucial for its pathogenicity.

The classification into types A–E is based on the different toxins that are produced. These toxins can cause extremely variable (mild to lethal progression forms) failures of the intestinal water and electrolyte balance in the different species like goat, sheep (e.g. dysentery of lambs: type B; pulpy kidney disease: type D), cattle (haemorrhagic enteritis: type A–E), foal (haemorrhagic necrotising enteritis: type A & C) and piglet (e.g. serous-catarhal enteritis: type A, necrotising enteritis: type C). In the dog, especially serotype A occurs, producing two main toxins (toxin Alpha [α] and a Clostridia enterotoxin [CPE]), rarer serotype B (toxin Beta [β]). Both *C. perfringens* and its CPE can be detected also in healthy dog's feces. The CPE can be detected more often in dogs with diarrhoea compared to healthy dogs. For cats, to date reliable literature data concerning prevalence and clinical relevance are missing. Only by detection of *C. perfringens* in the feces, a disease caused by Clostridia is not diagnosable. Further investigation is necessary.

In a study in Switzerland, 54% of the *C. perfringens* isolates showed a reduced sensitivity towards metronidazole or 18% towards tetracycline. Because there is a general risk of resistance formation, it is recommended to identify the triggering pathogen in principle. By its high sensitivity and specificity, the use of **FASTest® C. perfringens Toxin** allows the veterinarian a rapid aetiological on-site diagnosis of a *C. perfringens* infection and subsequently the initiation of therapy as well as of necessary quarantine and prophylaxis measures.

**3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL**

Due to the normally inhomogeneous or nest-like dissemination of antigens in the feces, the specimen material has to be mixed up homogeneously (spatula, vortex-mixer) before sampling.

For the test, the required amount of feces as described in issue 4b/Specimen collection and preparation, is needed. The amount depends on the consistency of the sample. Use the attached spoon.

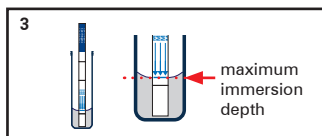
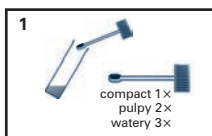
Non-cooled (15–25°C), the sample should be tested within 4 hours! At 2–8°C, the sample can be stored up to 4 days, permanently at minimum –20°C.

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.

**Endogeneous and exogeneous interfering substances of the sample** (e.g. proteases, mucosa components, blood, but also viscosity, pH-value as well as grass and cat litter) **can cause interferences** (matrix effects) **that can influence the target measurement.** These can lead to an impaired LF and/or unspecific reactions on TL and CL.

**4. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION**

- Open the sample tube with the buffer diluent.
- Mix the feces sample homogeneously (applicator, vortex-



er). Then mix the required sample volume (**compact: 1 level spoon, pulpy: 2 level spoons, fluid-watery: 3 level spoons of feces**) steadily into the buffer diluent (fig.1).

- Close sample tube tightly and rotate it easily to get the mixture as homogeneous as possible (fig.2).
- For sedimentation of gross feces particles place the sample tube on a flat and horizontal surface for 1–5 minutes.

**5. TEST PROCEDURE**

- Remove the dipstick from its foil pouch shortly before use.
- Introduce the dipstick vertically and with the arrows pointing downwards into the sample tube for at least 1 minute. The liquid level (meniscus!) must not exceed the blue horizontal line below the blue arrowheads (fig.3).
- Remove the dipstick from sample tube soonest the sample-buffer mixture (SBM) has reached the CL. If so, the pink-purple CL will appear slowly but surely (fig.4/5). If the CL will not appear after 5–10 minutes, a new SBM must be prepared and sedimented for at least 5 minutes. The dipstick must be held only in the supernatant until the LF has reached the CL (see also 7. Precautions for users\*).
- Place the dipstick on a flat and horizontal surface for incubation.

**6. READING OF THE TEST RESULT**

Read the test result **5 (max. 10) minutes**. Positive test results may be observed earlier, depending on the concentration of CPE in the sample.

**POSITIVE TEST RESULT** (fig.4)

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.5)

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 dipstick\*.

fig.4

**POSITIVE TEST RESULT**

fig.5

**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 sample tube to ensure a precise assignment.
- Use a new sample tube and a new dipstick 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 and disposed of accordingly, together with the used test-kit components.

\* To avoid an application error/external influence (e.g. too much sample material, too short sedimentation time, components in the faeces that clog the pores of the suction pad), the test can be repeated. Use a new dipstick and carefully observe the sample preparation. It is advisable to only hold the dipstick in the supernatant when repeating the test until the LF has reached the CL.

**8. TEST PRINCIPLE**

The **FASTest® C. perfringens Toxin** is based on latest rapid immunochromatographic technique.

The *Clostridium perfringens* enterotoxin (CPE) in the feces sample will react in the conjugate pad area with mobile monoclonal anti-CPE antibodies (anti-CPE mAbs), which are bound to gold particles. Migrating ("lateral flow", **LF**) along the nitrocellulose membrane, these specific antigen-antibody complexes are bound by fixed anti-CPE mAbs producing a pink-purple TEST line (**TL**). These anti-CPE mAbs guarantee a high level of specificity for the aetiological detection of *Clostridium perfringens* enterotoxin. The intensity or width of TL depends on the concentration of *Clostridium perfringens* enterotoxin in the tested sample.

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

**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 TL and CL within the indicated incubation time or after more than 10 minutes (e.g. greyish, shadow-like lines) has to be considered as unspecific reaction and therefore as negative test result.
- TL can vary both in intensity (from weak to intense pink-purple) and width. Therefore, any pink-purple line appearing within the required incubation time is to be interpreted as a positive test result.