

FASTest® CVBD 4T

ad us. vet.



In vitro Diagnostikum

Testkit zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen *Anaplasma* spp. (*A. phagocytophilum*, *A. platys*), *Ehrlichia canis* und *Leishmania infantum* sowie *Dirofilaria immitis*-Antigenen im Vollblut, Plasma oder Serum des Hundes

GEBRAUCHSINFORMATION



6912 Hörbranz – AUSTRIA
www.megacor.com

1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

TESTKITKOMPONENTEN

- 1 Testkit **FASTest® CVBD 4T** enthält:
- 2*, 6**, 15***, 25**** oder 50***** Vierertestkassetten, beschichtet mit synthetischen *A. spp.*, *Ehrlichia canis*- bzw. *Leishmania infantum*-Antigenen bzw. spezifischen Antikörpern gegen *D. immitis*
 - 1 Tropfflasche **A** mit *1,0 ml, **3,0 ml, ***7,5 ml, ****12,5 ml oder ***** 2 Tropfflaschen **A** mit 12,5 ml Pufferlösung
 - 2, 6, 15, 25 oder 50 Einmal-Kunststoffpipetten
 - 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

Vektorübertragene parasitäre Erkrankungen (z.B. Leishmaniose, Anaplasmose, Ehrlichiose und Dirofilariose) sind bei Hund und Katze durch klimatische, ökologische und kulturelle Veränderungen von zunehmender diagnostischer Bedeutung. Neben der vektoruellen Übertragung v.a. durch Arthropoden (v.a. Zecken) und Dipteren (v.a. Stechmücke und Sandmücke/Schmetterlingsmücke) können diese auch direkt über Blut (v.a. Transfusionen) übertragen werden. Die Ausbreitung dieser Vektoren und Erreger in bis dato nicht endemische Gebiete nimmt stets zu. Daher ist im Verdachtsfall (Routinecheck im Falle einer Reise/Importanamnese, Vorhandensein klinischer Symptome, persistierende Infektionen etc.) eine Testung auf diese Erreger (Antigennachweis und/oder Antikörpernachweis) zu empfehlen.

Weitere detaillierte Hintergrundinformationen zu diesen Erkrankungen finden Sie unter den einzelnen Erkrankungen bzw. unter den Überbegriffen „Vector-borne diseases“, „CVBD“ z.B. der ESCCAP, der ABCD-Guidelines, der WHO und anderen.

Koinfektionen sind bei vektorübertragenen Erkrankungen keine Seltenheit. Bei Verdacht des Vorliegens einer (Reise-) Parasitose eignet sich der **FASTest® CVBD 4T** daher als schneller, qualitativer Antigen- (Dirofilariose) bzw. Antikörper (Ak)-Nachweis (Leishmaniose, Anaplasmose, Ehrlichiose). Er ermöglicht somit unverzüglich weitere diagnostische, therapeutische und prophylaktische Maßnahmen.

3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Für den Test werden **je exakt 20 µl** (aus der beigefügten Einmalpipette) **15–25°C warmes Vollblut (VB)**, mit Gerinnungshemmer bzw. **Plasma (P)** oder **Serum (S)** benötigt. **Nativblut ohne Zusatz von Gerinnungshemmern darf aufgrund potentieller Mikroagglutinationen** (z.B. Migrationsverzögerungen auf der Membran, unspezifische Reaktionen) **nicht verwendet werden**.

Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren. Ungekühlt (**15–25°C**) sollten VB, P und S innerhalb von 4 Stunden getestet werden. Bei **2–8°C** können VB, P und S bis max. 4 Tage gelagert werden. **Serum- und/oder Plasmaproben** können dauerhaft bei **mindestens –20°C** aufbewahrt werden.

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

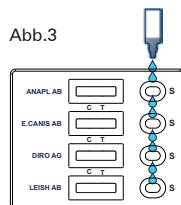
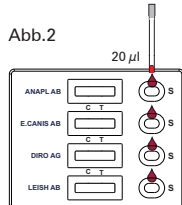
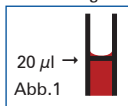
Endogene und exogene Störsubstanzen einer Probe (z.B. Albumin, Fibrinogen, Lipide, CRP, heterophile Antikörper, v.a. IgA-Typ, aber auch Viskosität, pH-Wert und/oder EDTA-Überschuss) **sowie Nativblut können Störeffekte** (Matrixeffekte) **verursachen, welche die Messung des Targets beeinflussen können. Diese können zu gestörtem LF und/oder unspezifischen Reaktionen auf T und C führen.**

4. PROBENVORBEREITUNG

- Keine Probenvorbereitung notwendig.
- CAVE:** Unvollständig gefüllte und/oder unzureichend durchmischte EDTA-, Citrat- oder Heparinröhrchen können nicht sichtbare Mikrogerinnsel verursachen, die ebenfalls zu Migrationsverzögerungen bzw. zu unspezifischen Reaktionen (z.B. gräuliche, schattenartige Linien) führen können.

5. TESTDURCHFÜHRUNG

- Entnehmen Sie die Vierertestkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.
- Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die Probe luftblasenfrei **bis zur Markierung (± 20 µl Probenvolumen)** auf. **Der Meniskus muss oberhalb der schwarzen Linie sein** (Abb.1). Geben das **gesamte Probenvolumen (20 µl)** in das **Probenfenster S** für Anaplasma (ANAPL AB, Pipette dabei senkrecht halten, Abb.2). **Wiederholen Sie den gesamten Vorgang für E. canis, Diro und Leish.**
- Halten Sie die Tropfflasche **A** senkrecht und tropfen Sie **je 2 Tropfen der Pufferlösung (ca. 80–100 µl)** in alle vier Probenfenster der Testkassette (Abb.3). Nach je 2 Tropfen für Druckausgleich sorgen (Luft einströmen durch 180°-Drehung der Flasche in die Ausgangsposition).
- Sollte 1 Minute nach Auftropfen der Pufferlösung kein beginnender m.o.w. pinkfarbener LF sichtbar werden, geben Sie sofort einen weiteren Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S.



6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von **10 Minuten** nach Zugabe der Pufferlösung in die Probenfenster S abzulesen.

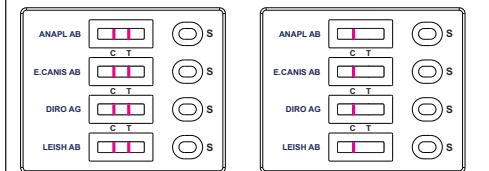
POSITIVES TESTERGEBNIS (Abb.4)
Eine **pink-purpurfarbene TESTlinie** **jedweder Intensität** (variabel von sehr schwach bis stark intensiv) und eine **pink-purpurfarbene KONTROLLlinie** erscheinen.

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 Vierertestkassette wiederholt werden.

Hinweis: Es können verschiedene Kombinationen von positiven und negativen Testergebnissen vorkommen.

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 zugehörige Vierertestkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe eine neue Pipette und eine neue Vierertestkassette 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.

8. TESTPRINZIP

Der **FASTest® CVBD 4T** basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“. Die im Probenmaterial enthaltenen Antikörper gegen *A. spp.*, *E. c.* bzw. *L. inf.* bzw. die *D. i.*-Antigene reagieren im Konjugatkissen mit mobilen, an Goldpartikel konjugierten Antigenen bzw. Antikörpern. Diese Antigen-Antikörper-Komplexe wandern entlang der Membran („lateral flow“, **LF**) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen **TESTlinie (T)** an membranfixierte *A. spp.*, *E. c.*- bzw. *L. inf.*-Antigene bzw. an monoklonale Antikörper gegen *D. i.*. 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 (Auslandsaufenthalt, Zeckenbefall), Klinik, Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten betrachtet werden.
- Jegliche nicht beschriebenen Farb- und Konturabweichungen von T und C (z.B. gräuliche, schattenartige Linien) sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- T kann sowohl in Intensität (von schwach bis stark pinkpurpurfarben) als auch in der Breite variieren und ist daher im Falle eines Erscheinens innerhalb der angegebenen Inkubationszeit als positiv zu interpretieren.
- Positive Testresultate können in Abhängigkeit von der Antikörper- bzw. Antigenkonzentration bereits vor Ende der Inkubationszeit auftreten. Darüber hinaus abgelesene Testresultate sind nicht interpretierbar.
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollbluts und/oder stark hämolytierten Probenmaterials kann T aufgrund des m.o.w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.

Antikörpernachweis (Anaplasma, Ehrlichia, Leish):

Bei der Antikörperbestimmung gilt die Zwei-Stufen-Diagnostik als Mittel der Wahl. In einer ersten Stufe wird i.d.R. ein Vor-Ort-IgG-Screening-Test wie der **FASTest® CVBD 4T** eingesetzt. In Kombination mit entsprechender Klinik erhärtet sich die Verdachtsdiagnose aktive Anaplasmose/Ehrlichiose/Leishmaniose. Zusätzlich ist ein quantitativer Antikörper-Test mittels IFAT (Serumpaare im Abstand von 2–4 Wochen) sinnvoll, um einen Endtiter bzw. einen Titeranstieg („Serokonversion“) zu bestimmen.

Positives Testergebnis

- Der Nachweis von Ak gegen *Anaplasma* spp./*Ehrlichia canis*/*Leishmania* mit **dazu passender Anamnese/Klinik** weist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine klinische Infektion hin.

Negatives Testergebnis

- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Kontakt mit *Anaplasma* spp./*Ehrlichia canis*/*Leishmania*.

Antigennachweis (Diro):

Positives Testergebnis

- Der Nachweis von *D. immitis*-Antigen weist mit hoher Wahrscheinlichkeit auf eine klinische Dirofilariose hin.
- Ausnahme:** Hund mit toten adulten Dirofilarien bleibt antigen-positiv für ca. 3–4 Monate → ein zweiter Test im Abstand von 4 Monaten wird empfohlen.

Negatives Testergebnis

- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Kontakt mit *D. immitis*.
- Ausnahmen:** Infektionsdauer kürzer als 6/7 Monate // sehr niedrige Wurmlast // Infektion mit nur männlichen Dirofilarien, Infektion mit nicht-graviden weiblichen Dirofilarien (single-Sex-Infektion).

FASTest® CVBD 4T

ad us. vet.


In vitro diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of antibodies against *Anaplasma* spp. (*A. phagocytophilum*, *A. platys*), *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* as well as *Dirofilaria immitis* antigens in whole blood, plasma or serum of the dog

INSTRUCTIONS FOR USE



1. INFORMATION ON THE TEST-KIT

TEST-KIT COMPONENTS

1 test-kit **FASTest® CVBD 4T** contains:

- 2*, 6**, 15***, 25**** or 50***** quadruple test cassettes coated with synthetic *A. spp.*, *Ehrlichia canis* or *Leishmania infantum* antigens or specific antibodies against *D. immitis*
- 1 dropper bottle **A** with *1.0 ml, **3.0 ml, ***7.5 ml, ****12.5 ml or *****2 dropper bottles **A** with 12.5 ml buffer diluent
- 2, 6, 15, 25 or 50 disposable plastic pipettes
- 1 instructions for use

STABILITY AND STORAGE



Store at
15–25°C
15–25°C



Expiry 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

Vector-borne parasitic diseases (e.g. leishmaniosis, anaplasmosis, ehrlichiosis and dirofilariosis) are of increasing diagnostic importance in dogs and cats due to climatic, ecological and cultural changes. In addition to vector-borne transmission, mainly by arthropods (especially ticks) and dipterans (especially mosquitoes and sandflies/butterflies), these can also be transmitted directly via blood (especially transfusions). The spread of these vectors and pathogens into previously non-endemic areas is constantly increasing. Therefore, testing for these pathogens (antigen detection and/or antibody detection) is recommended in suspected cases (routine check in case of travel/import history, presence of clinical symptoms, persistent infections, etc.).

Further detailed background information on these diseases can be found under the individual diseases or under the headings “Vector-borne diseases”, “CVBD”, e.g. the ESC-CAP, the ABCD guidelines, the WHO and others.

Co-infections are not uncommon in vector-borne diseases. In suspected cases of (travel) parasitosis, the **FASTest® CVBD 4T** is therefore suitable for the rapid, qualitative detection of antigens (dirofilariosis) or antibodies (leishmaniosis, anaplasmosis, ehrlichiosis). Therefore, it enables further diagnostic, therapeutic and prophylactic measures to be taken immediately.

3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL

Exactly 20 µl each (1 drop of attached plastic pipette) 15–25°C warm whole blood (WB, with anticoagulant), plasma (P) or serum (S) are needed. **Native blood without anticoagulant must not be used due to potential micro agglutination** (e.g. migration delay on the membrane, unspecific reaction).

Homogenise the sample material well before use.

Non-cooled (15–25°C), WB, P and S should be tested within 4 hours. At 2–8°C, WB, P and S can be stored up to 4 days. **Serum and/or plasma samples** can be permanently stored 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.

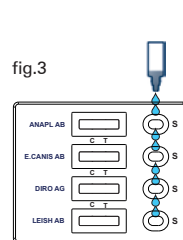
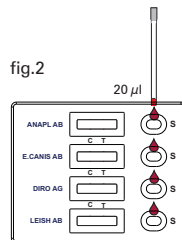
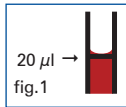
Endogeneous and exogeneous interfering substances of the sample (e.g. albumin, fibrinogen, lipids, CRP, heterophilic antibodies, especially type IgA, as well as viscosity, pH-value and excess EDTA) **as well as native blood can cause interferences (matrix effects) that can influence the target measurement. These can lead to an impaired LF and/or unspecific reactions on T and C.**

4. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

- No specimen preparation necessary.
- **ATTENTION:** Partially filled and/or insufficient mixed EDTA, Citrate or Heparin tubes could create invisible microclots resulting in lateral flow delay and/or unspecific reactions (e.g. greyish shadow like lines).

5. TEST PROCEDURE

1. Remove the quadruple test cassette from its foil pouch shortly before use. Place it on a flat surface.
2. Draw sample up to the mark (± 20 µl sample volume) without air bubbles, using the disposable plastic pipette. **The meniscus must be above the black line** (fig.1). Place the **whole sample volume (20 µl)** into the **sample window S** of the Anaplasma test cassette (ANAPL AB, hold pipette vertically, fig.2). **Repeat the whole procedure for E.canis, Diro and Leish.**
3. Hold the dropper bottle **A** vertically and place **2 drops (ca. 80–100 µl) of the buffer diluent** into each of the four sample windows **S** of the test cassette (fig.3). Ensure pressure equalisation after every 2 drops (air flow by turning the bottle 180° to the starting position).
4. Add 1 additional drop of buffer diluent into the sample window **S** if there is no beginning **LF** visible within 1 minute after adding the buffer diluent.



6. READING OF THE TEST RESULT



Read the test result **10 minutes** after the buffer solution has been added into the sample window S.

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 quadruple test cassette.

Note: Different combinations of positive and negative test results can occur.

fig.4 Positive test result

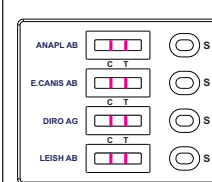
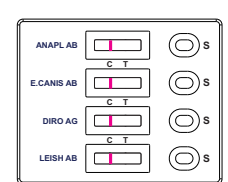


fig.5 Negative test result



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 quadruple test cassette to ensure a precise assignment.
- Use a new pipette and a new quadruple 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 and disposed accordingly, together with the used test-kit components.

8. TEST PRINCIPLE

The **FASTest® CVBD 4T** is based on an immunochromatographic “sandwich principle”.

The antibodies against *A. spp.*, *E. c.* or *L. inf.* resp. the *D. i.* antigens present in the sample react in the conjugate pad with mobile antigens or 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 recombinant *A. spp.*, *E. c.* or *L. inf.* antigens or to monoclonal antibodies against *D. i.*, 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 (stay abroad, tick infestation) and clinical data as well as 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.
- T can vary both in intensity (from weak to strong pink-purple) and in width. Therefore, any pink-purple line appearing within the required incubation time has to be interpreted as positive test result.
- Positive test results may be observed even before the end of incubation. Beyond this time, test results should not be interpreted.
- Due to anticoagulated whole blood and/or red hemoglobin background of the test membrane caused by hemolytic blood samples, the visibility of T could be from worse to not visible.

Antibody detection (Anaplasma, Ehrlichia, Leish):

For the detection of antibodies, a two-step diagnostics is known to be standard. The first step starts with in-clinic IgG antibody screening test like **FASTest® CVBD 4T**. The suspicion about an active anaplasmosis/ehrlichiosis/leishmaniosis is substantiated by combination with according clinic. Furthermore, a quantitative antibody testing via IFAT (coupled serum samples at intervals of 2–4 weeks) should be taken to determine the end titre or the titre increase (seroconversion).

Positive test result

- The detection of ab against *Anaplasma* spp./*Ehrlichia canis*/*Leishmania*, with a **matching anamnesis/clinic** indicates a high probability of a clinical infection.

Negative test result

- There is a high probability that the dog has had no contact with *Anaplasma* spp./*Ehrlichia*/*Leishmania*.

Antigen detection (Diro):

Positive test result

- The detection of *D. immitis* antigen indicates a high probability of clinical dirofilariosis.
- Exception: Dogs with dead adult dirofilariae remain antigen-positive for approx. 3–4 months → a second test every 4 months is recommended.

Negative test result

- Dog most probably had no contact with *D. immitis*.
- Exceptions: Infection duration shorter than 6/7 months // very low worm burden // infection with only male dirofilariae, infection with non-gravid female dirofilariae (single sex infection).