

FASTest® EHRlichIA canis

ad us. vet.



In vitro Diagnostikum

Testkit zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis* im Vollblut, Plasma oder Serum des Hundes

GEBRAUCHSINFORMATION



1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

TESTKITKOMPONENTEN

1 Testkit FASTest® EHRlichIA canis enthält:

- 2*, 10** oder 50*** Testkassetten, beschichtet mit rekombinanten *Ehrlichia canis*-Antigenen
- 1 Tropfflasche A mit *1,0 ml, **1,5 ml oder ***7,5 ml Pufferlösung
- 2, 10 oder 50 Einmal-Kunststoffpipetten
- 1 Gebrauchsinformation

HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Lagerung
15–25°C
15–25°C

Verwendbar bis
– siehe Etikett

ANWENDUNG UND ABKÜRZUNGEN

Für den tierärztlichen Gebrauch

LOT Chargen-Bezeichnung

In vitro Diagnostikum

Keine Reagenzien verschiedener Testkits, Chargennummern oder mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.

Gebrauchsinformation genau beachten

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 canine monozytäre Ehrlichiose (CME) wird durch Rickettsien der Gattung *Ehrlichia canis* verursacht, die v.a. durch die Braune Hundezecke (*Rhipicephalus sanguineus*), übertragen werden. Hauptgebiete der CME sind der gesamte Mittelmeerraum, aber auch die Schweiz und z.T. Deutschland. Die Ehrlichiose kommt v.a. beim Hund, selten beim Menschen vor.

Nach 2–3 Wochen post infectionem kommt es zu einem Anstieg von spezifischen Antikörpern. Ein 4-facher Titeranstieg im Abstand von 2 Wochen (Serokonversion) ist hinweisend auf eine akute Infektion. Akut treten Apathie, Anorexie, Fieber und Lymphknotenvergrößerung auf. In der subklinischen Ehrlichiose fehlen klinische, nicht aber die für Ehrlichiose typischen labor diagnostischen Befunde, wie z.B. Hyperglobulinämie und Thrombozytopenie. Chronisch an Ehrlichiose erkrankte Tiere zeigen leichte bis lebensbedrohliche Symptome: spontane Blutungen, neurologische Symptome, Anämie, starker Gewichtsverlust sowie Hepato- und Splenomegalie. Der Nachweis der CME mittels indirektem Antikörpernachweis zählt neben der klinischen Symptomatik, dem Vorbericht (Auslandsaufenthalt) und dem direkten Erregernachweis zu den wichtigsten Diagnostikbausteinen der CME.

FASTest® EHRlichIA canis basiert auf rekombinanten, hoch-spezifischen Peptid-Antigenen für den schnellen und zuverlässigen Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis* in Vollblut, Plasma oder Serum infizierter Hunde.

3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Für den Test werden 10 µl (aus der beigefügten Einmalpipette) 15–25°C warmes Vollblut (VB, mit Gerinnungshemmer), Plasma (P) oder Serum (S) benötigt. Nativblut ohne Zusatz von Gerinnungshemmern sollte auf Grund potentieller Mikroagglutinationen (z.B. Migrationsverzögerung auf der Membran, unspezifische Reaktionen etc.) 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.

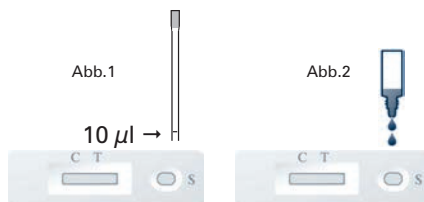
Endogene und exogene Störsubstanzen einer Probe (z.B. Albumin, Fibrinogen, Lipide, CRP, heterophile Antikörper, v.a. IgA-Typ, aber auch Viskosität, pH-Wert sowie EDTA-Überschuss) sowie Nativblut können Störeffekte (Matrixeffekte) verursachen, die die Messung des Targets beeinflussen können. Diese können 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

1. Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.
2. Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die Probe bis zur Markierung (≙ 10 µl Probenvolumen!) auf und geben das gesamte Probenvolumen (10 µl) in das Probenfenster S der Testkassette (Pipette dabei senkrecht halten, Abb.1).
3. Halten Sie die Tropfflasche A senkrecht und tropfen Sie 2 Tropfen Pufferlösung (ca. 80–100 µl) in das Probenfenster S (Abb.2).
4. Sollte 1 Minute nach Auftropfen der Pufferlösung kein beginnender m.o.w. pinkfarbener LF sichtbar werden, geben Sie sofort 1 Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S.



6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von 20 Minuten nach Zugabe der zwei Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S abzulesen.

POSITIVES TESTERGEBNIS (Abb.3)

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

NEGATIVES TESTERGEBNIS (Abb.4)

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.3
POSITIVES TESTERGEBNIS



Abb.4
NEGATIVES TESTERGEBNIS



7. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Beschriften Sie Probenmaterial und zugehörige Testkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe 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 angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

8. TESTPRINZIP

Der FASTest® EHRlichIA canis basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“.

Die im Probenmaterial enthaltenen Antikörper gegen *Ehrlichia canis* reagieren im Konjugatkissen mit mobilen, an Goldpartikel konjugierten, monoklonalen Antikörpern. Diese Antikörper-Komplexe wandern entlang der Nitrozellulosemembran („lateral flow“, LF) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen TESTlinie (T) an membranfixierte rekombinante *Ehrlichia canis*-Antigene.

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

Die verwendeten mobilen monoklonalen Antikörper garantieren ein hohes Maß an Spezifität zum ätiologischen Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis*.

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) bzw. nach mehr als 25 Minuten sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollbluts und/oder stark hämolysierten Probenmaterials kann T aufgrund des m.o.w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.

Positives Testergebnis

- Hund hatte Kontakt mit *Ehrlichia canis* (Antikörperbildung!).
- Antikörper können trotz Therapie über Monate bis Jahre persistieren (potentielle chronische Trägertiere).

Negatives Testergebnis

- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Kontakt mit *Ehrlichia canis*.
- Frühes Stadium einer Ehrlichieninfektion (< 2–3 Wochen post infectionem!). Hund hat noch keine Antikörper in nachweisbarer Konzentration gebildet.

Die Diagnose kann nur im Zusammenhang mit der Anamnese (Auslandsaufenthalt, Zeckenbefall) und den klinischen Befunden gestellt werden. Der Nachweis von Antikörpern gegen *Ehrlichia canis* durch den FASTest® EHRlichIA canis stellt nur einen zusätzlichen, aber wichtigen diagnostischen Baustein zur Absicherung der Diagnose CME dar.

FASTest® EHRlichia canis

ad us. vet.

In vitro diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of antibodies against *Ehrlichia canis* 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® EHRlichia canis** contains:

- 2*, 10** or 50*** test cassettes coated with recombinant *Ehrlichia canis* antigens
- 1 dropper bottle **A** with *1.0 ml, **1.5 ml or ***7.5 ml buffer diluent
- 2, 10 or 50 disposable plastic pipettes
- 1 instructions for use

STABILITY AND STORAGEStore 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

Canine monocytic ehrlichiosis (CME) is caused by the rickettsia *Ehrlichia canis*, which are mainly transmitted by the brown dog tick (*Rhipicephalus sanguineus*). *Ehrlichia canis* is found in many parts of the world, especially in the Mediterranean area, but also in Switzerland and partly Germany. Ehrlichiosis is common in the dog, but seldom in humans.

The concentration of specific antibodies increases sharply 2–3 weeks post infection. A fourfold titre increase of antibodies in an interval of two weeks (seroconversion) is indicative for an acute infection. In the acute stage, the dog shows apathy, anorexia, fever and lymphadenitis. In the subclinical phase, clinical symptoms are missing, but not the typical ehrlichiosis laboratory results like hyperglobulinaemia and thrombocytopenia. Chronic phase animals show slight up to life-threatening symptoms: spontaneous bleedings, neurological disorders, anaemia, severe loss of weight as well as spleno- and hepatomegaly. Indirect antibody detection is known to be an important diagnostic tool diagnosing CME beside clinical symptoms, case history (travel abroad) and direct antigen detection.

FASTest® EHRlichia canis is based on recombinant, highly specific peptide antigens for a fast and reliable detection of antibodies against *Ehrlichia canis* in whole blood, plasma or serum of infected dogs.

3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL

10 µl (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 should not be used due to potential micro agglutination (e.g. migration delay on the membrane, unspecific reaction)!

Mix 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. Plasma and/or serum 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.

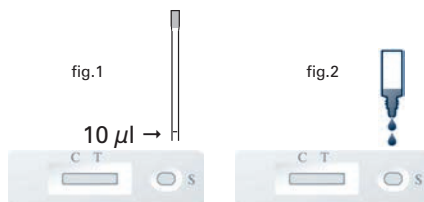
Endogeneous and exogeneous interfering substances of the sample (e.g. albumin, fibrinogen, lipids, CRP, heterophilic antibodies, especially type IgA, as well as viscosity, pH-value and excess EDTA) as well as native blood can cause interferences (matrix effects) that can influence the target measurement. These can lead to an impaired LF and/or unspecific reactions on B 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 test cassette from its foil pouch shortly before use. Place it on a flat surface.
2. Draw sample up to the mark (\approx 10 µl sample volume) using the disposable plastic pipette. Place the whole sample volume (10 µl) into the sample window S of the test cassette (hold pipette vertically, fig.1).
3. Hold the buffer dropper bottle **A** vertically and express 2 drops of buffer diluent (ca. 80–100 µl) into the sample window S of the test cassette (fig.2).
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 20 minutes after the two drops of buffer diluent have been added into the sample window S.

POSITIVE TEST RESULT (fig.3)

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.4)

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.3
POSITIVE TEST RESULTfig.4
NEGATIVE TEST RESULT**7. PRECAUTIONS FOR USERS**

- Label sample material and associated test cassette to ensure a precise assignment.
- Use a new pipette 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.

8. TEST PRINCIPLE

The **FASTest® EHRlichia canis** is based on an immunochromatographic "sandwich principle".

The antibodies against *Ehrlichia canis* in the sample will react in the conjugate pad with mobile monoclonal antibodies, which are conjugated to colloidal gold particles. These antibody complexes are migrating along the nitrocellulose membrane ("lateral flow", **LF**) and bind to fixed recombinant *Ehrlichia canis* antigens, forming a pink-purple TEST line (**T**).

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

The used mobile monoclonal antibodies guarantee a high level of specificity for the aetiological detection of antibodies against *Ehrlichia canis* in the sample.

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) or after more than 25 minutes has to be considered as unspecific reaction and therefore as negative test result.
- Due to anticoagulated whole blood and/or red hemoglobin background of the test membrane, caused by hemolytic blood samples, the visibility of T, especially in case of weak positive samples, could be from bad to not visible.

Positive test result

- Dog had contact with *Ehrlichia canis* (antibody formation)!
- Antibodies can persist over months to years inspite of therapy (potential chronic carrier animals).

Negative test result

- With high likelihood, dog had no contact with *Ehrlichia canis*.
- Early infection stage of ehrlichiosis (< 2–3 weeks post infection!). Dog has not yet produced antibodies in a detectable concentration.

The diagnosis can only be based on anamnesis (stay in endemic areas, tick bites) and clinical signs. The detection of antibodies against *Ehrlichia canis* using **FASTest® EHRlichia canis** is only one but an important diagnostic tool to ensure the diagnosis CME.