

FASTest® EHRlichIA-LEISH

ad us. vet.



In vitro Diagnostikum

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

GEBRAUCHSINFORMATION



1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

TESTKITKOMPONENTEN

- 1 Testkit **FASTest® EHRlichIA-LEISH** enthält:
- 2*, 6**, 15***, 25*** oder 50**** Doppeltestkassetten, beschichtet mit rekombinanten Antigenen
 - 1 Tropfflasche **A** mit *1,0 ml, **3,0 ml, ***7,5 ml oder ****2 Tropfflaschen **A** mit 7,5 ml Pufferlösung
 - 2, 6, 15, 25 oder 50 Einmal-Kunststoffpipetten
 - 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
- 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

Sowohl die canine Leishmaniose (*Leishmania infantum*) als auch die canine monozytäre Ehrlichiose (CME, *Ehrlichia canis*) zählen zu den wichtigsten vektorübertragenen Infektionskrankheiten/Reiseparasitosen des Hundes. Koinfektionen spielen dabei eine große Rolle, da solche Hunde häufiger erkranken. In der Literatur gibt es Hinweise, dass eine „vorgeschaltete“ Ehrlichien-Infektion möglicherweise für eine Leishmanien-Infektion sensibilisiert.

Die Seroprävalenzen für die Ehrlichiose bzw. Leishmaniose variieren je nach Land (endemisch oder nicht-endemisch) und Studie stark. Zudem werden in nicht-endemischen Gebieten (z. B. Deutschland) zunehmend autochthone Infektionen bei Hunden mit Symptomen einer caninen Leishmaniose, aber ohne Reisevorbericht beschrieben.

Die canine Ehrlichiose zeichnet sich durch eine sehr lange Inkubationszeit (Ø 4–5 bis hin zu 12–13 Jahren) sowie einer unspezifischen Klinik aus und wird daher auch als „silent killer“ bezeichnet!

Hunde mit klinischer Leishmaniose zeigen typische klinische Symptome und/oder klinisch-pathologische Befunde. Subklinisch infizierte Hunde (infiziert, aber klinisch gesund) zeigen keine Symptome bei der klinischen Untersuchung und keine klinisch-pathologischen Befunde.

Die Folgen einer solchen Koinfektion aus immunologischer, therapeutischer und diagnostischer Hinsicht sind den wenigsten Tierärzten bekannt. Daher eignet sich der **FASTest® EHRlichIA-LEISH** bei Verdacht des Vorliegens einer Leishmaniose, Ehrlichiose oder einer Koinfektion als schneller, qualitativer Antikörpernachweis.

3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Für den Test werden jeweils **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. 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.

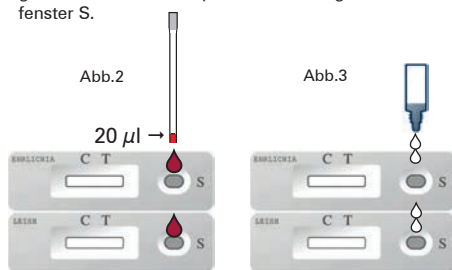
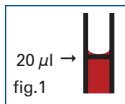
Endogene und exogene Störsubstanzen einer Probe (z. B. Albumin, Fibrinogen, Lipide, CRP, heterophile Antikörper, v. a. IgA-Typ, aber auch Viskosität, pH-Wert sowie EDTA-Überschuss) **sowie Nativblut können Störeffekte verursachen, die die Messung des Targets beeinflussen können. Diese können zu gestörtem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

4. PROBENVORBEREITUNG

- Keine Probenvorbereitung notwendig.
- CAVE:** Unvollständig gefüllte und/oder unzureichend durchgemischte 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 Doppeltestkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.
- Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die Probe 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** der Ehrlichia-Testkassette (Pipette dabei senkrecht halten, Abb.2). **Wiederholen Sie den gesamten Vorgang für die Leish-Testkassette.**
- Halten Sie die Tropfflasche **A** senkrecht und tropfen Sie **je 2 Tropfen (ca. 80–100 µl) der Pufferlösung** in das Probenfenster S der Ehrlichia- bzw. Leish-Testkassette (Abb.3).
- 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.



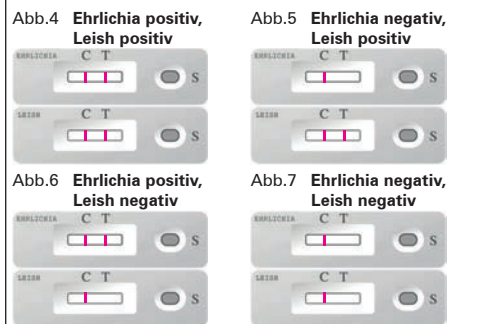
6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von **15 Minuten, maximal bis zu 20 Minuten** nach Zugabe der zwei Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S abzulesen.

POSITIVES Ehrlichia- und/oder Leish-TESTERGEBNIS (Abb.4–6) Eine **pink-purpurfarbene TESTlinie** **jedweder Intensität** (variabel von sehr schwach bis stark intensiv) und eine **pink-purpurfarbene KONTROLLlinie** erscheinen.

NEGATIVES TESTERGEBNIS (Abb.5–7) 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 Doppeltestkassette wiederholt werden.



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 Doppeltestkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe eine neue Pipette und eine neue Doppeltestkassette 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-LEISH** basiert auf einem immuno-chromatographischen „Sandwich-Prinzip“. Die im Probenmaterial enthaltenen Antikörper binden im Bereich des Konjugatklüssens der Nitrozellulosemembran an mit Goldpartikeln konjugierte rekombinante *Ehrlichia*- bzw. *Leishmania*-Antigene. Diese Antigen-Antikörper-Komplexe wandern entlang der Membran („lateral flow“, **LF**) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen **TESTlinie (T)** an membranfixierte Fängerantikörper. 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.
- Positive Testresultate können in Abhängigkeit von der Antikörperkonzentration bereits vor Ende der Inkubationszeit auftreten. Darüber hinaus abgelesene Testresultate sind nicht interpretierbar!
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollbluts und/oder stark hämolysierten Probenmaterialien kann T aufgrund des m.o.w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.
- T kann sowohl in Intensität (von schwach bis stark pink-purpurfarben) als auch in der Breite variieren und ist daher im Falle eines Erscheinens innerhalb der angegebenen Inkubationszeit als positiv zu interpretieren.
- Auf Grund der Neueinführung eines Leishmaniose-Impfstoffes sollte der individuelle Antikörpertiter-Status des Hundes **vor der Impfung** bestimmt werden, um eine Entscheidung „Impfung oder Nicht-Impfung“ entsprechend den Richtlinien des Impfstoffherstellers treffen zu können.
- Bei 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® EHRlichIA-LEISH** eingesetzt. In Kombination mit entsprechender Klinik erhärtet sich die Verdachtsdiagnose aktive Leishmaniose/Ehrlichiose. Zusätzlich ist eine quantitative Antikörper-Testung mittels IFAT (Serumpaar im Abstand von 2–4 Wochen) sinnvoll, um einen Endtiter bzw. einen Titeranstieg (Serokonversion) zu bestimmen.

FASTest® EHRlichIA-LEISH

- Positives Testergebnis**
- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit Kontakt mit *Ehrlichia canis* (Antikörperbildung)
 - Hund aus endemischem Ehrlichiosegebiet
- Negatives Testergebnis**
- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Kontakt mit *Ehrlichia canis*
 - Hund im Frühstadium (< 2–3 Wochen post infectionem!) der Infektion (Antikörpertiter < Cut off **FASTest®**)
- Positives Testergebnis**
- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit Kontakt mit *Leishmania infantum* (Antikörperbildung)
 - Hund aus endemischem Leishmaniosegebiet
 - Hund mit Impfanamnese (keine typische Leish-Klinik/Laborveränderungen sowie negative PCR)
- Negatives Testergebnis**
- Hund hatte mit hoher Wahrscheinlichkeit keinen Kontakt mit *Leishmania infantum*
 - Hund im Frühstadium (< 2–3 Wochen post infectionem!) der Infektion (Antikörpertiter < Cut off **FASTest®**). Die Inkubationszeit (Tier symptomfrei) kann Monate bis zu 8 Jahre dauern.
 - Hund mit Th1-vermittelte(r) Immunantwort – subklinisch infizierter Hund (Leish-Stadium I mit negativ bis geringgradigem positivem Antikörpertiter < Cut off **FASTest®**, leichter Klinik mit einzelner Lymphadenomegalie oder papulöser Dermatitis sowie unauffälligen Laborbefunden)
 - im Verdachtsfall Nachkontrolle mittels **FASTest® EHRlichIA-LEISH** alle 3–6 Monate

FASTest® EHRlichIA-LEISH

ad us. vet.



In vitro diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of antibodies against *Ehrlichia canis* and *Leishmania infantum* 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-LEISH** contains:
- 2*, 6**, 15***, 25*** or 50**** twin test cassettes, coated with recombinant antigens
 - 1 dropper bottle **A** with *1.0 ml, **3.0 ml or ***7.5 ml or ****2 dropper bottles **A** with 7.5 ml buffer diluent
 - 2, 6, 15, 25 or 50 disposable plastic pipettes
 - 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

Both the canine Leishmaniosis (*Leishmania infantum*) and the canine monocytic Ehrlichiosis (CME, *Ehrlichia canis*) count among the most important vector-transmitted infectious diseases/travel diseases of the dog. Coinfections play a major role, because these dogs are more likely to become ill. In the literature, there are hints that an upstream *Ehrlichia* infection possibly sensibilises for a *Leishmania* infection.

The seroprevalences for the Ehrlichiosis and Leishmaniosis vary strongly depending to country (endemic or non-endemic) and study. In addition, indigenous infections in dogs with symptoms of canine Leishmaniosis, but without a travel report, are increasingly being described in non-endemic areas (e.g. Germany).

The canine Ehrlichiosis is characterised by a very long incubation period (Ø 4–5 to 12–13 years) and a non-specific clinic and is therefore also referred to as “silent killer”!

Dogs with clinical Leishmaniosis show typical clinical symptoms and/or clinic-pathologic findings. Subclinically infected dogs (infected, but clinically healthy) do not show any symptoms during clinical examination and no clinical-pathologic findings.

The consequences of such coinfection from an immunological, therapeutic and diagnostic point of view are known to very few veterinarians. Therefore, **FASTest® EHRlichIA-LEISH** is useful as rapid qualitative antibody detection test in dogs suspected of having leishmaniosis, ehrlichiosis or a coinfection.

3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL

Exactly 20 µl (of attached plastic pipette) 15–25°C warm whole blood (WB, with anticoagulant), plasma (P) or serum (S) per test cassette are needed. **Native blood without any anticoagulant must not be used due to the potential risk of microclots** (e.g. migration delay on the membrane, un-specific 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. **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.

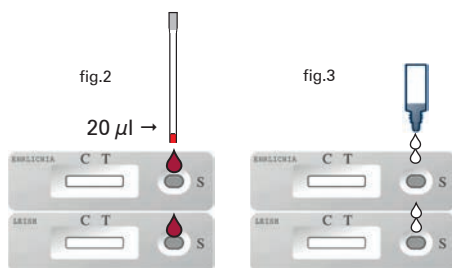
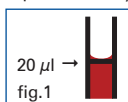
Endogeneous and exogeneous interfering substances of the sample (e.g. albumin, fibrinogen, lipids, CRP, heterophilic antibodies, especially type IgA, as well as viscosity, pH-value and excess EDTA) **as well as native blood can cause interferences** (matrix effects) **that can influence the target measurement. 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 insufficiently 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 twin 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) using the disposable plastic pipette. **The meniscus must be above the black line** (fig.1).
3. Place the whole sample volume (20 µl) into the sample window S of the Ehrlichia test cassette (hold pipette vertically, fig.2). **Repeat the whole procedure for the Leish test cassette.**
4. Hold the dropper bottle **A** vertically and place **2 drops (ca. 80–100 µl) of the buffer diluent** into the sample window S of the Ehrlichia and the Leish test cassette (fig.3).
5. 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 **15 minutes, maximum 20 minutes** after the 2 drops of buffer diluent have been added into the sample window S.

POSITIVE Ehrlichia and/or Leish TEST RESULT (fig.4–6)

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.5–7)

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 twin test cassette.

fig.4 Ehrlichia positive, Leish positive



fig.5 Ehrlichia negative, Leish positive



fig.6 Ehrlichia positive, Leish negative

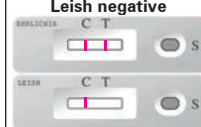


fig.7 Ehrlichia negative, Leish negative



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

8. TEST PRINCIPLE

The **FASTest® EHRlichIA-LEISH** is based on an immunochromatographic “sandwich principle” technique.

The antibodies in the sample bind in the area of the conjugate pad to recombinant *Ehrlichia* or *Leishmania* antigens, conjugated with gold particles. These antigen-antibody complexes are migrating along the nitrocellulose membrane (“lateral flow”, **LF**) and bind to membrane-bound capture 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 (stay in endemic areas, tick bites) 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 reactions and therefore as negative test result.
- Positive test results may be observed even before the end of incubation, depending on the antibody concentration of the sample. 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, 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.
- Due to the innovation of a Leishmania vaccine, it is required to determine the antibody titre status of the dog **before vaccination** to get a decision “vaccination or no vaccination” according to the guidelines of the vaccine manufacturer.
- 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® EHRlichIA-LEISH**. The suspicion about an active leishmaniosis/ehrlichiosis 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).

FASTest® EHRlichIA

Positive test result

- Dog was very likely in contact with *Ehrlichia canis* (antibody formation)
- Dog from endemic ehrlichiosis area

Negative test result

- With high likelihood, dog had no contact with *Ehrlichia canis*
- Dog in early (< 2–3 weeks post infection) stage of infection (antibody titre < cut off **FASTest®**)

FASTest® LEISH

Positive test result

- Dog was very likely in contact with *Leishmania infantum* (antibody formation)
- Dog from endemic leishmaniosis area
- Dog with vaccination anamnesis (no typical Leish clinics or laboratory changes, negative PCR)

Negative test result

- With high likelihood, dog had no contact with *Leishmania infantum*
- Dog in early (< 2–3 weeks post infection) stage of infection (antibody titre < cut off **FASTest®**). The incubation time (symptomless animal) can last months up to 8 years.
- Dog with Th1-mediated (cellular) immune response – subclinically infected dog (Leish stadium I with negative to low grade positive antibody titre < cut off **FASTest®**, mild clinic with single lymphadenomegaly or papular dermatitis and inconspicuous laboratory)
- In case of suspicion, follow-up with **FASTest® EHRlichIA-LEISH** every 3–6 months