

WITNESS® DIROFILARIA

Français	page	1
Español	página	5
Italiano	pagina	9
Português	página	13
English	page	17
Nederlands	bladzijde	21
Deutsch	Seite	25
Czech	strana	29
Slovak	strana	33
Hungarian	side	37
Bulgarian	страница	41

GÉNÉRALITÉS

La dirofilariose cardiaque du chien est une maladie de répartition mondiale dont l'agent est un nématode filariforme, dénommé *Dirofilaria immitis*. Les vers adultes se localisent dans le ventricule droit et les artères pulmonaires des chiens infestés. Les vers femelles libèrent dans la circulation sanguine des larves de stade 1 (microfilaires) qui sont retrouvées préférentiellement dans la circulation périphérique. Le cycle se poursuit lorsqu'un moustique, vecteur de la maladie, ingère une microfilarie qui se développe pour devenir une larve infestante de stade 3. Celle-ci peut alors être transmise à un autre chien chez qui elle poursuivra son développement jusqu'au stade d'adulte immature (70-80 jours). C'est à ce moment que les adultes immatures commencent à migrer, tout d'abord vers les artères pulmonaires distales, pour ensuite atteindre l'artère pulmonaire principale et le ventricule droit. Environ 6 à 8 mois après l'infestation par les larves de stade 3, les parasites ont achevé leur maturation et sécrètent un antigène circulant qui peut être détecté dans le sang périphérique.

INDICATIONS DU TEST

Un diagnostic précis de la dirofilariose permet, chez les chiens infestés, de mettre en place une thérapeutique appropriée avant que n'apparaissent de graves troubles cardio-vasculaires, tandis que les chiens non infestés pourront être protégés par des mesures prophylactiques efficaces.

WITNESS® DIROFILARIA, test de détection de l'antigène soluble de *D. immitis*, est particulièrement recommandé lorsque les commémoratifs et/ou les symptômes évoquent une Dirofilariose ou lorsqu'une vérification rapide du statut de l'animal s'avère nécessaire. Ce test ne reposant pas sur la détection des microfilaires, il est également utilisable pour la mise en évidence des infestations dites "occultes".

PRINCIPE DU TEST

Le test WITNESS® DIROFILARIA est un test de réalisation simple, fondé sur une technique d'Immuno Migration Rapide (Rapid Immuno Migration, RIM™). Il fait appel à des anticorps dirigés contre des épitopes d'un antigène soluble de *D. immitis*.

L'échantillon à tester contenant cet antigène (sang total, sérum ou plasma) est mis en contact avec des particules d'or colloïdal sensibilisées. Le complexe ainsi formé migre sur une membrane avant d'être capturé au niveau d'une zone réactive, au niveau de laquelle sa concentration provoque la formation d'une bande de couleur rose, clairement visible. Une bande de contrôle, située à l'extrémité de la membrane, permet de s'assurer que le test a été réalisé correctement.

ECHANTILLONS

- Le test peut être réalisé sur du sang total, du sérum ou du plasma. Pour le sang total, l'échantillon doit être prélevé sur anticoagulant (EDTA ou héparine).
- Les échantillons doivent toujours être prélevés avec une seringue et une aiguille stériles.
- L'hémolyse n'interfère pas significativement avec le test, bien qu'un échantillon fortement hémolysé puisse être à l'origine d'un bruit de fond (hémoglobine) pouvant gêner la lecture en cas de réaction faiblement positive.

Conservation des échantillons

Les échantillons doivent être testés de préférence immédiatement après le prélèvement, et pas plus de 4 heures après s'ils sont conservés à température ambiante. Si l'analyse est repoussée (jusqu'à 2 jours), l'échantillon devra être conservé réfrigéré entre +2°C et 8°C. Pour une conservation prolongée, il sera conseillé de congeler l'échantillon (plasma ou sérum seulement) à -20°C.

CONTENU DU KIT

- A. 10 sachets, contenant chacun une plaquette test et un sachet déshydratant.
- B. Un flacon compte-gouttes de solution tampon (de 2,8 ml).
- C. Une notice d'emploi.
- D. 10 pipettes.

PRÉCAUTIONS

1. Ne pas utiliser de réactifs après la date de péremption.
2. Conserver le kit entre +2°C et 25°C. Ne pas congeler.
3. Utiliser le test rapidement après ouverture (dans les 10 minutes après ouverture du sachet).
4. Éviter de toucher ou d'endommager les membranes réactives (puits échantillon (1) et fenêtres de lecture (2), (3)).
5. Placer la plaquette WITNESS® sur une surface plane et horizontale pour permettre une migration correcte de l'échantillon.
6. Utiliser une pipette différente pour chaque échantillon.
7. Tenir la pipette et le flacon de solution tampon verticalement lors de la distribution respective de l'échantillon et de la solution tampon.
8. Manipuler réactifs et échantillons comme des produits à risques.
9. Pour usage vétérinaire seulement.

REALISATION DU TEST ET RESULTATS

Important : Laisser tomber les gouttes d'échantillon et de solution tampon sur la membrane dans le puits échantillon, fenêtre (1). Ne pas mettre l'extrémité de la pipette ou celle du compte-gouttes, ni les gouttes d'échantillon ou de solution tampon, directement en contact avec la membrane.

1. Dépôt de l'échantillon

- Ouvrir un sachet, en retirer la plaquette test et placer celle-ci sur une surface plane.
- Prélever l'échantillon grâce à la pipette fournie et, tout en tenant celle-ci bien verticalement, en répartir une goutte dans le puits échantillon, fenêtre (1).

2. Addition de la solution tampon

- S'assurer que l'échantillon ait bien pénétré dans la membrane.
- Oter le bouchon du flacon de solution tampon et, tout en tenant celui-ci bien verticalement, ajouter trois gouttes de la solution dans le puits échantillon, fenêtre (1).
- Laisser ensuite la plaquette test bien à plat durant tout le temps de la migration du complexe échantillon / réactif sur la bandelette.

3. Lecture du test

- Attendre 10 minutes, puis regarder si des bandes de couleur rose à rose violacée apparaissent ou non dans les fenêtres (2) et (3).
- Lire le résultat du test de l'échantillon au niveau de la fenêtre (2). La bande témoin se trouve au niveau de la fenêtre (3).

Remarques :

- *Il est possible de conclure la lecture du test avant 10 minutes si deux bandes de couleur rose (correspondant respectivement à la bande test (2) et à la bande témoin en (3)) sont nettement apparues ;*
- *En revanche, la présence d'une bande uniquement au niveau de la fenêtre (3) ne permet pas de conclure le test tant que les 10 minutes nécessaires à son développement complet ne se sont pas écoulées. Il se peut qu'une bande rose à rose violacée mette plus de temps à se développer dans la fenêtre (2) que la bande témoin de la fenêtre (3).*

RÉSULTATS

1. Validation

- Le test est validé lorsque l'on voit une bande rose à rose violacée dans la fenêtre (3).

2. Interprétation

- Absence de l'antigène *D. immitis* : Absence d'une bande de couleur rose au niveau de la fenêtre (2) et apparition d'une bande au niveau de la fenêtre (3).
- Présence de l'antigène *D. immitis* : Présence de bandes de couleur rose à rose violacée à la fois dans les fenêtres (2) et (3).

Attention :

- L'absence d'une bande de couleur rose à rose violacée au niveau de la fenêtre (3) rend le test invalide.
- L'interprétation de tout test de diagnostic doit se faire en fonction du contexte clinique et épidémiologique de l'animal testé.

GENERALIDADES

La dirofilariosis cardíaca del perro es una enfermedad que tiene una distribución mundial y es causada por un nemátodo filariforme, denominado *Dirofilaria immitis*. Los gusanos adultos se localizan en el ventrículo derecho y en las arterias pulmonares de los perros infestados. Las hembras adultas liberan a la circulación sanguínea las larvas de estado 1 (microfilarias) que se encuentran preferentemente en la circulación periférica. El ciclo empieza cuando un mosquito, vector de la enfermedad, ingiere una microfilaria que se desarrolla para pasar a una fase de larva infestante de estado 3. Cuando estas larvas son transferidas a otros perros durante la alimentación de los mosquitos infestados, sufren una transformación total hasta el estado de adulto inmaduro (70-80 días). En ese momento los adultos inmaduros empiezan a migrar, hacia las arterias pulmonares distales, para alcanzar rápidamente la arteria pulmonar principal y el ventrículo derecho. Alrededor de 6 a 8 meses después de la infestación por larvas de estado 3, los parásitos habrán madurado y secretarán un antígeno circulante que puede ser detectado, al igual que las microfilarias, en la sangre periférica.

INDICACIONES DEL TEST

Un buen diagnóstico de la dirofilariosis permite, en los perros infestados, iniciar una terapéutica apropiada antes de que aparezcan graves problemas cardiovasculares. Los perros no infestados podrán ser protegidos gracias a las medidas profilácticas necesarias.

WITNESS® DIROFILARIA, test de detección del antígeno soluble de *D. immitis*, se recomienda cuando la historia clínica y/o los síntomas clínicos sugieren una dirofilariosis o cuando se requiere una verificación rápida del status del animal. El resultado de WITNESS® DIROFILARIA es independiente de las microfilarias circulantes y por tanto detecta también las dirofilarias ocultas.

PRINCIPIO DEL TEST

El test WITNESS® DIROFILARIA es un test de manejo fácil, basado en una técnica de inmunomigración rápida (Rapid Immuno Migration, RIM™). Utiliza anticuerpos dirigidos contra epítomos específicos de un antígeno soluble de *D. immitis*. Se pone en contacto la muestra (sangre entera, suero o plasma) conteniendo el antígeno con partículas de oro coloidal sensibilizadas. El complejo formado migra por una membrana de nitrocelulosa hasta ser capturado en una zona reactiva, acumulándose hasta provocar la formación de una banda de color rosa claramente visible. Una banda de control, situada en el extremo de la membrana, confirma que el test se ha realizado correctamente.

MUESTRAS

- El test se realiza sobre muestras de sangre entera con anticoagulante (EDTA o heparina), suero o plasma.
- Las muestras deben extraerse siempre con una jeringuilla y una aguja estériles.
- La hemólisis no interfiere de una manera significativa con el test, aunque una muestra muy hemolizada puede crear un ruido de fondo (hemoglobina) que podría perturbar la lectura en caso de reacción débilmente positiva.

Conservación de las muestras

Las muestras deben ser analizadas preferiblemente justo después de la extracción, no más tarde de 4 horas tras la extracción si se conservan a temperatura ambiente. Si se retrasa el análisis, las muestras deberán refrigerarse entre +2°C y 8°C durante 48 horas. Para una conservación prolongada, se recomienda congelar la muestra (suero o plasma solamente) a -20°C.

CONTENIDO DEL KIT

- A. 10 sobres, cada uno con una placa-test individual y un desecante.
- B. 1 frasco cuenta gota de solución tampón (de 2,8 ml).
- C. Instrucciones de uso.
- D. 10 pipetas.

PRECAUCIONES

1. No utilizar reactivos después de la fecha de caducidad.
2. Conservar el kit entre +2°C y 25°C. No congelar.
3. Utilizar el test rápidamente después de abrir el sobre (hasta 10 minutos después de la apertura del mismo).
4. No tocar, ni dañar las membranas de la placa-test (pocillo de la muestra (1), y ventanas de lectura (2) y (3)).
5. Disponer la placa-test sobre una superficie plana y horizontal para permitir una buena migración de la muestra y del tampón.
6. Utilizar una pipeta diferente para cada muestra.
7. Mantener la pipeta y el frasco de solución tampón en posición vertical durante la distribución de la muestra y del tampón.
8. Maneje todos los reactivos y muestras como si fuesen materiales bio-peligrosos.
9. Para uso veterinario exclusivamente.

MODO DE EMPLEO - RESULTADOS

Importante : dejar caer las gotas de muestra y de solución tampón en el pocillo sobre la membrana, ventana (1). No dejar que el extremo de la pipeta o del cuenta-gotas, ni las gotas de muestra o de solución tampón, estén en contacto directo con la membrana.

1. Distribución de la muestra

- Abrir el sobre, retirar la placa-test y disponerla sobre una superficie plana y horizontal para la realización del test.
- Utilizar la pipeta para recoger la muestra y sujetarla verticalmente para depositar una gota de muestra en el pocillo, ventana (1).

2. Distribución de la solución tampón

- Asegurarse que la muestra ha penetrado en la membrana.
- Distribuir tres gotas de solución tampón, manteniendo el frasco en posición vertical, en el pocillo de la muestra (1).
- Mantener la placa-test sobre una superficie plana durante todo el tiempo de migración del complejo muestra/reactivo por la membrana.

3. Lectura del test

- Esperar 10 minutos para observar la presencia o no, de bandas de color rosa en las ventanas (2) y (3).
- La banda del resultado aparece en la ventana (2). La banda de control aparece en la ventana (3).

Nota :

- *La lectura del test puede realizarse en menos de 10 minutos si 2 bandas de color rosa aparecen claramente en las ventanas (2) y (3).*
- *Sin embargo, la aparición de una única banda rosa en la ventana (3), no permite dar el test por concluido antes de los 10 minutos necesarios a una migración completa. Puede que la banda del resultado en la ventana (2) aparezca más lentamente que la banda del control en la ventana (3).*

RESULTADOS

1. Validación

- El test es válido si aparece una banda control en la ventana (3).

2. Interpretación

- Ausencia de antígeno *D. immitis* : Ausencia de banda rosa en la ventana (2), y aparición de una banda rosa en la ventana (3).
- Presencia de antígeno *D. immitis* : Aparición de banda rosa en la ventana (2), y aparición de una banda rosa en la ventana (3).

Cuidado :

- La ausencia de una banda rosa en la ventana (3) invalida el test.
- El resultado de cualquier test biológico debe interpretarse en función del contexto clínico y epidemiológico del animal.

WITNESS® DIROFILARIA

INFORMAZIONI GENERALI

La dirofilariosi cardiaca del cane è una malattia a diffusione mondiale ed è causata da un nematode filarioforme denominato *Dirofilaria immitis*. Il parassita adulto di *D. immitis* si localizza preferibilmente all'interno del ventricolo destro e dell'arteria polmonare dei cani infetti. Le femmine adulte del parassita liberano nel sangue periferico delle larve al primo stadio dette microfilarie. Il ciclo di maturazione prosegue quando una zanzara, vettore della malattia, ingerisce una microfilaria che si sviluppa per divenire a breve una larva infestante di stadio 3. Quando queste larve vengono trasferite in altri cani dal vettore infestante proseguono il loro ciclo di sviluppo sino allo stadio di adulti immaturi (70-80 giorni). Dopo questo periodo gli adulti immaturi cominciano a migrare verso l'arteria polmonare distale sino ad occupare tutta l'arteria polmonare principale ed il ventricolo destro.

Circa 6-8 mesi dopo l'infestazione le larve di stadio 3 hanno raggiunto la completa maturazione. A questo punto nel sangue periferico possono essere trovate sia le microfilarie che gli antigeni di dirofilaria secreti dal parassita adulto.

INDICAZIONI DEL TEST

Una accurata diagnosi di dirofilariosi in un cane infestato permetterà di eseguire un appropriato trattamento terapeutico prima che intervengano gravi problemi cardiovascolari. Tutti i cani non infestati dovrebbero essere protetti dall'infezione attraverso un appropriato trattamento profilattico.

Il WITNESS® DIROFILARIA, test per l'individuazione dell'antigene solubile di *Dirofilaria immitis* è particolarmente raccomandato quando la storia clinica e/o i segni clinici evocano un sospetto di dirofilariosi o quando è necessario effettuare una rapida verifica dello stato di infezione in corso. Le performance del WITNESS® DIROFILARIA sono indipendenti dal numero di microfilarie circolanti ed il test può essere tranquillamente utilizzato per evidenziare uno stato di infezione occulta.

PRINCIPIO DEL TEST

Il WITNESS® DIROFILARIA è un test di semplice realizzazione basato su di una tecnica ad immuno-migrazione rapida (Rapid Immuno Migration, RIM™) che si avvale di un anticorpo diretto contro lo specifico epitopo dell'antigene solubile di *Dirofilaria immitis*.

Le particelle d'oro colloidale sono sensibilizzate con gli antigeni di *Dirofilaria immitis* presenti all'interno del campione da testare (siero, plasma o sangue intero con anticoagulante) e consentono la migrazione del complesso formatosi lungo la striscia di nitrocellulosa.

Il complesso migra sulla membrana prima di venire catturato in una zona sensibile di reazione dove l'aumento di concentrazione determina la comparsa di una banda di colore rosa chiaramente visibile. La comparsa di una banda di controllo posta all'estremità della membrana di lettura assicura che il test sia stato correttamente eseguito.

INFORMAZIONI SUL CAMPIONE

- Il test può essere effettuato su campioni di siero, plasma o sangue intero con anticoagulante (EDTA o eparina).
- Il campione dovrebbe essere sempre prelevato con una siringa sterile.
- L'eventuale emolisi del campione non interferisce in modo significativo con il risultato del test, tuttavia un campione fortemente emolizzato può (per la presenza di emoglobina) parzialmente oscurare la presenza della banda rosa prodotta da un campione debolmente positivo.

Conservazione del campione

E' preferibile testare il campione immediatamente dopo il prelievo e comunque mai dopo 4 ore dal prelievo se mantenuto a temperatura ambiente.

Il campione può essere testato sino a due giorni (48 ore) dal prelievo se refrigerato (+2°C e 8°C).

Per una conservazione prolungata (siero o plasma solamente) il campione dovrà essere congelato a -20°C.

CONTENUTO DEL KIT

- A. 10 sacchetti contenenti ognuno 1 piastra di lettura e gel di silice disidratante.
- B. 1 flacone contenente le gocce di soluzione tampone (di 2,8 ml).
- C. Istruzioni per l'uso.
- D. 10 puntali di pipetta.

PRECAUZIONI

1. Non utilizzare i componenti del kit dopo la data di scadenza.
2. Conservare il kit tra +2°C - 25°C. Non congelare.
3. Una volta aperto utilizzare il test rapidamente (entro 10 min circa).
4. Evitare di toccare o danneggiare la membrana di reazione, e le finestre del campione (1), e di lettura (2), (3).
5. Utilizzare il WITNESS® DIROFILARIA su una superficie piana ed orizzontale mentre si effettua il test.
6. Utilizzare un puntale di pipetta diverso per ogni singolo campione.
7. Tenere la pipetta e il flacone di soluzione tampone verticalmente rispettivamente mentre si dispensa il campione e la soluzione tampone.
8. Manipolare reagente e campioni come materiale pericoloso di origine biologica.
9. Esclusivamente per uso veterinario.

REALIZZAZIONE DEL TEST - RISULTATI

Importante : Lasciar cadere le gocce di campione e di soluzione tampone sulla membrana attraverso la finestra campione (1). Non toccare la membrana né con il puntale di pipetta del campione né con la soluzione tampone.

1. Dispensazione del campione

- Aprire il sacchetto contenente la piastrina test e riportarla su una superficie orizzontale da mantenere per tutta la durata del test.
- Prelevare il campione con il puntale di pipetta fornito e ripartire una goccia di campione all'interno della finestra campione (Come da figura 1).

2. Dispensazione del tampone

- Assicurarsi che il campione sia realmente penetrato nella membrana.
- Rimuovere il tappo dal flacone di soluzione tampone, e mantenendolo verticalmente, aggiungere tre gocce di soluzione tampone all'interno della finestra campione (1) (Come da figura 2).
- Lasciare la piastrina test su una superficie piana durante la migrazione del complesso campione-reagente verso la finestra di lettura.

3. Lettura del test

- Dopo 10 minuti osservare la presenza o assenza della banda di colore rosa/viola presente nella finestra di lettura (2) e nella finestra di controllo (3).

N.B. : I risultati del campione vanno letti nella finestra (2). La presenza della banda di controllo deve essere letta nella finestra (3).

Note :

- *Il test può dirsi completo e può essere letto prima dei 10 minuti se le due bande rosa/viola sono chiaramente visibili in entrambe le finestre (2) e (3).*
- *La presenza di una banda rosa/viola posta solo all'interno della finestra (3) prima dei 10 minuti non significa che il test sia completo. La banda di colore rosa/viola nella finestra (2) può svilupparsi più lentamente della banda di controllo rosa/viola posta nella finestra (3).*

RISULTATI

1. Validazione

Test valido : Il test è valido se una banda di colore rosa/viola è presente all'interno della finestra di controllo (3).

2. Interpretazione

- Nessuna banda presente all'interno della finestra di lettura (2), con una banda di colore rosa/viola presente all'interno della finestra di controllo (3) : il campione è **negativo** per gli antigeni di *Dirofilaria immitis*.
- Presenza di una banda posta all'interno della finestra di lettura (2), con una banda di colore rosa/viola posta all'interno della finestra di controllo (3) : il campione è **positivo** per gli antigeni di *Dirofilaria immitis*.

Note :

- Assenza della banda di colore rosa/viola posta nella finestra di controllo (3) : **test non valido**.
- Il risultato del test deve essere sempre considerato dal veterinario come un supporto diagnostico nell'ambito di un più ampio contesto di informazioni cliniche attuali e antecedenti disponibili sull'animale testato.

WITNESS® DIROFILARIA

GENERALIDADES

A dirofilariose cardíaca do cão é uma doença de incidência mundial, cujo agente é um nemátodo filariforme, denominado *Dirofilaria immitis*. Os vermes adultos localizam-se no ventrículo direito e nas artérias pulmonares dos cães infestados. As filárias fêmeas libertam na circulação sanguínea larvas de 1º estadio (microfilárias) que se encontram preferencialmente na circulação periférica. O ciclo prossegue quando um mosquito, vector da doença, ingere as microfilárias que se desenvolvem, tornando-se larvas infestantes de 3º estadio. Estas podem então ser transmitidas a um outro cão onde prosseguirão o seu desenvolvimento até ao estadio de adultos imaturos (70-80 dias). É neste momento que os adultos imaturos começam a migrar, primeiro para as artérias pulmonares distais, para em seguida atingirem a artéria pulmonar principal e o ventrículo direito. Aproximadamente 6 a 8 meses após a infestação pelas larvas de 3º. estadio, os parasitas atingem a sua maturidade e excretam um antigénio circulante que pode ser detectado, assim como as microfilárias, no sangue periférico.

INDICAÇÕES DO TESTE

Um diagnóstico preciso da dirofilariose permite, nos cães infestados, efectuar uma terapêutica apropriada antes de aparecerem grandes problemas cardiovasculares, enquanto que os cães não infestados poderão ser protegidos por meios profilácticos eficazes.

WITNESS® DIROFILARIA, teste de detecção do antigénio solúvel da *D. immitis*, é particularmente recomendado sempre que a história progressa e/ou os sintomas evoquem uma dirofilariose, ou sempre que uma verificação rápida do estatuto do animal seja necessária. Este teste, como não se baseia na detecção das microfilárias, é igualmente utilizável para a detecção de infestações ditas “ocultas”.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste WITNESS® DIROFILARIA é um teste de realização simples, baseado numa técnica de imunomigração rápida (Rapid Immuno Migration, RIM™). Usa anticorpos dirigidos contra epitopos de um antigénio solúvel da *D. immitis*.

A amostra a testar contendo este antigénio (sangue total, soro ou plasma) é posta em contacto com partículas de ouro coloidal sensibilizadas.

O complexo assim formado migra sobre uma membrana antes de ser capturado sobre uma zona reactiva, ao nível da qual a sua concentração provoca a formação de uma banda de cor rosa claramente visível. Uma banda de controlo, situada na extremidade da membrana, permite assegurar que o teste foi realizado correctamente.

AMOSTRAS

- O teste pode ser realizado em sangue total, soro ou plasma. Para o sangue total, a amostra deve ser colhida com anticoagulante (EDTA ou heparina).
- As amostras devem ser sempre colhidas com seringa e agulha estéreis.
- A hemólise não interfere significativamente com o teste, se bem que uma amostra fortemente hemolizada possa estar na origem de uma interferência (hemoglobina), podendo prejudicar a leitura em casos de reacção fracamente positiva.

Conservação das amostras

As amostras devem ser testadas, de preferência imediatamente após a colheita, mas não mais de 4 horas depois, se forem conservadas à temperatura ambiente. Se a análise for adiada (até dois dias), a amostra deverá ser conservada refrigerada entre +2°C e 8°C. Para uma conservação mais prolongada, será aconselhável congelar a amostra (plasma ou soro somente) a -20°C.

CONTEÚDO DO KIT

- A. 10 saquetas, contendo cada uma, 1 placa teste e uma saqueta desidratante.
- B. Um frasco conta-gotas de solução tampão (de 2,8 ml).
- C. Uma literatura.
- D. 10 pipetas.

PRECAUÇÕES

1. Não utilizar reagentes após a data de validade.
2. Conservar o kit entre +2°C e 25°C. Não congelar.
3. Utilizar o teste após a abertura (nos 10 minutos após a abertura da saqueta), à temperatura ambiente.
4. Evitar tocar ou danificar as membranas reactivas (janela da amostra (1) e janela de leitura (2) e (3)).
5. Colocar a placa WITNESS® sobre uma superfície plana e horizontal para permitir uma migração correcta da amostra.
6. Utilizar uma pipeta diferente para cada amostra.
7. Segurar a pipeta e o frasco de solução tampão na vertical quando da distribuição das amostras e do reagente.
8. Manipule os reagentes e amostras como material com risco biológico.
9. Apenas para uso veterinário.

REALIZAÇÃO DO TESTE - RESULTADOS

Importante : Deixe cair as gotas da amostra e da solução tampão sobre a membrana da cúpula da amostra (janela 1). Não colocar a ponta da pipeta nem as gotas da amostra e da solução tampão directamente em contacto com a membrana.

1. Repartição da amostra

- Abrir uma saqueta, retirar a pipeta e a placa teste e colocá-la sobre uma superfície plana e horizontal.
- Colher a amostra com a pipeta fornecida e, mantendo-a bem vertical, colocar uma gota na janela da amostra (1).

2. Repartição da solução tampão

- Depois de ter a certeza de que a amostra penetrou bem na membrana ;
- Tirar a tampa do frasco de solução tampão e, segurando-o sempre na vertical, colocar três gotas de solução na janela da amostra (1).
- Deixar em seguida a placa teste, sempre na horizontal, durante todo o tempo da migração do complexo amostra/reagente sobre a banda reactiva.

3. Leitura do teste

- Observar ao fim de 10 minutos a presença ou não de faixas de cor rosa nas janelas (2) e (3).

Notas

- *É possível concluir a leitura do teste antes de 10 minutos, se as duas faixas de cor rosa (correspondendo respectivamente à faixa teste (2) e à faixa testemunha (3)) aparecerem nitidamente ;*
- *Pelo contrário, o aparecimento somente de uma faixa cor de rosa ao nível da faixa (3) não permite concluir o teste antes de decorrerem os 10 minutos necessários ao seu desenvolvimento completo.*
Com efeito, esta faixa de controlo (3) pode aparecer corada mais precocemente que a faixa teste (2), nomeadamente no caso de amostras fracamente positivas.

RESULTADOS

1. Validação

- O teste é validado se uma faixa cor de rosa aparecer na janela de leitura correspondente à testemunha (3).

2. Interpretação

- Ausência de uma faixa cor de rosa ao nível da janela (2) e aparecimento de uma faixa cor de rosa ao nível da janela (3) : negativo em antigénio *D. immitis*.
- Presença de uma faixa cor de rosa ao nível das janelas (2) e (3) : positivo em antigénio *D. immitis*.

Atenção:

- A ausência de uma faixa cor de rosa no nível da janela (3) torna o teste não válido.
- A interpretação de qualquer teste de diagnóstico deve ser feita em função do contexto clínico e epidemiológico do animal testado.

WITNESS® DIROFILARIA

GENERAL INFORMATION

Heartworm disease in dogs has a world wide distribution and is caused by the filarial nematode *Dirofilaria immitis*. Adult *D. immitis* worms are found in the right ventricle and pulmonary arteries of infected dogs. The adult female worm produces first stage larvae (microfilariae) which can circulate in the peripheral blood. When ingested by a suitable mosquito vector while taking a blood meal, these microfilariae undergo development to become infective third stage larvae. When these larvae are transferred to other dogs during feeding by these infected mosquitoes, they undergo further development for approximately 70 - 80 days.

After this time, immature adults begin to migrate to the distal pulmonary arteries and eventually grow to occupy the main pulmonary artery.

Some 6 - 8 months after infection by the third stage larvae, the parasites will have matured. Secreted adult heartworm antigen, as well as microfilariae, may then be found in the peripheral blood.

TEST INDICATION

An early and accurate heartworm diagnosis in an infected dog will allow treatment before the appearance of serious cardio-vascular troubles. Uninfected dogs can be protected from heartworm infection by using suitable prophylactic actions.

WITNESS® DIROFILARIA, test for the detection of the soluble antigen *D. immitis* is recommended for use when clinical history and/or clinical signs suggest heartworm disease or where a rapid verification of heartworm infection is required. The performance of the WITNESS® DIROFILARIA test is independent of circulating microfilariae and can be used to detect amicrofilaraemic or "occult" infections.

TEST PRINCIPLE

The WITNESS® DIROFILARIA test is a simple test, based on a Rapid Immuno Migration (RIM™) technology, using antibodies directed against specific epitopes of soluble adult *D. immitis* antigen.

Sensitized colloidal gold particles having bound to the antigen present within the sample (whole blood, serum or plasma) are allowed to migrate along a strip. The complex is then captured on a sensitized reaction zone where its accumulation causes the formation of a clearly visible pink/purple band. A control band, located at the end of the reading window, ensures that the test was performed correctly.

SPECIMEN INFORMATION

- The test can be performed on whole blood, serum or plasma. Whole blood samples must be anticoagulated with EDTA or heparin.
- Samples should always be collected with a sterile needle and syringe.
- Hemolysis does not significantly interfere with the test, but strongly hemolyzed samples may partly obscure (due to hemoglobin background) a weak positive result.

Storage

Sample should preferably be tested immediately after collection but not longer than 4 hours after collection, if stored at room temperature.

If testing is further delayed, samples should be refrigerated (+2°C - 8°C) for up to 2 days.

For prolonged storage, samples (serum and plasma only) should be kept frozen (-20°C).

KIT CONTENTS

- A. 10 pouches, each containing 1 test device and desiccant.
- B. 1 Buffer dropper bottle (2.8 ml).
- C. Instructions for use.
- D. 10 pipettes.

GENERAL PRECAUTIONS

1. Do not use components after expiration date.
2. Store the test kit at +2°C - 25°C. Do not freeze.
3. Use the test shortly after opening the sealed pouch (within 10 minutes).
4. Avoid touching or damaging membrane at windows (1), (2), (3).
5. The WITNESS[®] device should be placed on a flat, horizontal surface while performing the test.
6. Use a separate pipette for each sample.
7. Hold pipette and buffer bottle vertically when dispensing sample and buffer respectively.
8. Handle all reagents and samples as biohazardous material.
9. For veterinary use only.

TEST PROCEDURE AND RESULTS

Important : Allow samples and buffer drops to fall onto membrane at window (1). Do not touch pipette tip, sample or buffer drops, or buffer bottle tip directly to the membrane.

1. Sample application

- Tear open a pouch provided and place the test device on a flat horizontal surface for the duration of the test.
- Holding the provided pipette vertically, transfer one drop of sample to the sample well, window (1).

2. Buffer dispensing

- Check that the sample has truly absorbed into the membrane.
- Remove the cap from the buffer bottle, hold it vertically and add three drops of buffer to the sample well, window (1).
- Leave the test device flat during migration of sample/reagent complex through the reading window.

3. Reading test

- Wait 10 minutes, observe the presence or absence of pink/purple bands in reading windows (2) and (3).
- Sample results are read in window (2). The control band is read in window (3).

Note :

- *The test is complete and may be read before 10 minutes if two pink/purple bands are clearly visible in both windows (2) and (3).*
- *The presence of a pink/purple band only in window (3) before the 10 minutes does not mean that the test is complete. A pink/purple band in window (2) may develop slower than the control band in window (3).*

RESULTS

1. Validation

- Test is validated if a pink/purple band is present in the reading window (3).

2. Interpretation

- Negative for *D. immitis* antigen : No band in reading window (2), with one band in window (3).
- Positive for *D. immitis* antigen : One band in reading window (2), with one band in window (3).

Note :

- No band in control window (3) : invalid test.
- A test result should always be interpreted in the context of all available clinical information and history for the dog being tested.

WITNESS® DIROFILARIA

ALGEMENE INFORMATIE

Dirofilariose van de hond is een wereldwijd verspreide ziekte die wordt veroorzaakt door een filariforme nematode, *Dirofilaria immitis* genaamd. De adulte wormen komen voor in de rechter hartkamer en in de longarteriën van geïnfesteerde honden. De vrouwelijke wormen scheiden L1 larven (microfilaria) uit die hoofdzakelijk in de perifere bloedsomloop worden aangetroffen. De cyclus vervolgt wanneer een mug, tussengastheer van de ziekte, met bloed, microfilaria opneemt, die zich ontwikkelen tot infesterende L3 larven. Deze laatste kunnen dan worden overgedragen op een andere hond, waarna de ontwikkeling tot het nog onrijpe volwassen stadium plaatsvindt (70-80 dagen). Op dat moment beginnen de onrijpe volwassen wormen te migreren naar de distale longarteriën, om vervolgens de A. pulmonalis en de rechter hartkamer te bereiken. Ongeveer 6-8 maanden na de infestatie met de L3 larven, bereiken de parasieten hun maturiteit en scheiden ze een antigeen uit dat kan worden gedetecteerd in het perifere bloed.

TESTINDICATIES

Een nauwkeurige diagnose van dirofilariose maakt dat de juiste therapie bij geïnfesteerde honden kan worden ingesteld, voordat ernstige cardiovasculaire verschijnselen optreden. Bovendien kunnen niet geïnfesteerde honden beschermd worden door het nemen van de juiste profylactische maatregelen.

WITNESS® DIROFILARIA is een test waarmee het oplosbare antigeen van *D. immitis* kan worden gedetecteerd. De test wordt vooral aanbevolen wanneer het beeld en/of de symptomen in de richting van een dirofilariose wijzen of wanneer een snel onderzoek van de status van het dier noodzakelijk is.

Aangezien de test niet berust op de detectie van microfilaria, is hij eveneens bruikbaar om zogenaamde "occulte" infestaties aan te tonen.

TESTPRINCIPE

WITNESS® DIROFILARIA is een eenvoudige test, gebaseerd op de snelle immunomigratie (Rapid Immuno Migration, RIM™) technologie, waarbij antilichamen worden gebruikt die gericht zijn tegen epitopen van een oplosbaar antigeen van *D. immitis*.

Het te testen monster (volbloed, serum of plasma) dat dit antigeen bevat, wordt in contact gebracht met gesensibiliseerde colloïdale gouddeeltjes. Het gevormde complex migreert langs een membraan en wordt gebonden ter hoogte van een gesensibiliseerde reactiezone, waar de opeenstapeling van het complex een duidelijk zichtbare roze band vormt. Een controleband aan het einde van het membraan toont aan dat de test correct is uitgevoerd.

MONSTERS

- De test kan worden uitgevoerd op volbloed, serum of plasma. Voor het volbloed moet het monster worden afgenomen op een anticoagulans (EDTA of heparine).
- De monsters dienen altijd te worden afgenomen met een steriele spuit en naald.
- Hemolyse beïnvloedt de test niet significant, hoewel een sterk gehemolyseerd bloedmonster een achtergrondkleuring (hemoglobine) kan veroorzaken en zo het aflezen van een zwak positief resultaat kan bemoeilijken.

Bewaren van de monsters

Monsters dienen bij voorkeur onmiddellijk na afname getest te worden en niet later dan 4 uur na afname indien ze bij kamertemperatuur worden bewaard. Indien de uitvoering van de test wordt uitgesteld (tot 2 dagen), moet het monster gekoeld worden bewaard bij +2°C en 8°C. Voor langere bewaring mogen de monsters (enkel serum of plasma) worden ingevroren bij -20°C.

INHOUD VAN DE KIT

- A. 10 zakjes, elk bevattend 1 testplaatje en een droogmiddel.
- B. 1 druppelflacon met bufferoplossing (van 2,8 ml).
- C. Gebruiksaanwijzing.
- D. 10 pipetten.

WAARSCHUWINGEN

- 1 Gebruik geen testbestanddelen na hun verloopdatum.
- 2 Bewaar de kit bij +2°C - 25°C. Niet invriezen.
- 3 Gebruik de test binnen 10 minuten na het openen van het zakje.
- 4 Vermijd aanraken of beschadigen van het membraan in testcupje (1) en afleesramen (2) en (3).
- 5 Om een correcte migratie van het monster te bekomen, dient het WITNESS® testplaatje, tijdens het uitvoeren van de test, op een horizontale vlakke ondergrond geplaatst te worden.
- 6 Gebruik voor ieder monster een nieuwe pipet.
- 7 Houd bij het opbrengen van het monster en de bufferoplossing, respectievelijk de pipet en de flacon met bufferoplossing goed verticaal.
- 8 Reagentia en monsters behandelen als risicostoffen.
- 9 Uitsluitend voor diergeneeskundig gebruik.

TESTPROCEDURE - RESULTATEN

Belangrijk: Laat de druppels monster en bufferoplossing op het membraan van het testcupje (1) vallen. Breng de pipetpunt, noch de druppels van het monster en de bufferoplossing, noch het uiteinde van de bufferflacon, rechtstreeks in contact met het membraan.

1. Opbrengen van het monster

- Open het zakje en plaats het testplaatje op een vlakke horizontale ondergrond.
- Breng met verticaal gehouden pipet, een druppel van het monster in het testcupje (1).

2. Toevoegen van de bufferoplossing

- Kijk na of het monster goed in het membraan gedrongen is.
- Verwijder de dop van de flacon bufferoplossing en voeg, met verticaal gehouden flacon, drie druppels van de buffer toe aan het testcupje (1).
- Laat het testplaatje gedurende de migratie van het monster / reagens complex op een vlakke ondergrond staan.

3. Aflezen van de test

- Neem na 10 minuten de aan- of afwezigheid van roze/paarse banden waar in de afleesramen (2) en (3).
- Lees het testresultaat af in het afleesraam (2). De controleband bevindt zich in het afleesraam (3).

Opmerkingen:

- *Het is mogelijk om de test binnen 10 minuten af te lezen indien roze/paarse banden duidelijk zichtbaar zijn in beide afleesramen (2) en (3) ;*
- *Daarentegen, mag bij het verschijnen van slechts een roze/paarse band in raam (3), de test niet worden geïnterpreteerd voor de 10 minuten, nodig voor zijn voltooiing, verstreken zijn. Het is mogelijk dat een roze/paarse band in raam (2) later verschijnt dan de controleband in raam (3).*

RESULTATEN

1. Validatie

- De test is gevalideerd als een roze/paarse band in het afleesraam (3) zichtbaar is.

2. Interpretatie

- Afwezigheid van het *D. immitis* antigeen: in afleesraam (2) verschijnt geen band terwijl in afleesraam (3) een roze/paarse band zichtbaar is.
- Aanwezigheid van *D. immitis* antigeen: er verschijnt een roze/paarse band zowel in raam (2) als in raam (3).

Opmerking:

- De test is niet gevalideerd als geen roze/paarse band verschijnt in afleesraam (3).
- Een testresultaat dient altijd te worden geïnterpreteerd in functie van de klinische en epidemiologische context van de geteste hond.

GEBRAUCHSINFORMATION

ALLGEMEINE INFORMATION

Der Herzwurmbefall der Hunde hat eine weltweite Verbreitung und wird durch *Dirofilaria immitis* verursacht. Die adulten Würmer von *D. immitis* befinden sich im rechten Herzen und in den Pulmonalarterien infizierter Hunde. Die adulten Weibchen produzieren Mikrofilarien, die im peripheren Blutstrom zirkulieren. Bei einer Blutmahlzeit an mikrofilariämischen Wirten nehmen die Weibchen der Stechmücken Mikrofilarien auf. In den Mücken entwickeln sie sich dann zur sogenannten Larve III. Während eines erneuten Blutmahls an einem Wirt verlassen infektiöse Larven die Mücke und entwickeln sich im Wirt 70-80 Tage lang weiter.

Danach wandern die Larven zu den distalen Lungenarterien und besiedeln manchmal die großen Lungenarterien.

6 bis 8 Monate nach Infektion mit der Larve III ist der Parasit adult.

Im peripheren Blut kann dann Antigen vom adulten Herzwurm und auch Mikrofilarien nachgewiesen werden.

ANWENDUNGSGEBIETE

Früher Nachweis von caninem Herzwurm. Die frühe und gesicherte Diagnose des Herzwurms ermöglicht eine Behandlung vor dem Auftreten ernsthafter kardiovaskulärer Symptome.

Nichtinfizierte Hunde können durch eine Präventivmedikation vor der Infektion mit dem caninen Herzwurm geschützt werden.

WITNESS® DIROFILARIA, ein Test zum Nachweis des löslichen Antigens von *D. immitis*, empfiehlt sich bei anamnestischem Verdacht, bei klinischen Anzeichen, die auf eine Herzwurmerkrankung hinweisen, oder zur schnellen Bestätigung der Herzwurminfektion. WITNESS® DIROFILARIA funktioniert unabhängig davon (ohne Mikrofilarien) ob Mikrofilarien zirkulieren, und er eignet sich zum Nachweis der "okkulten" Infektion.

TESTPRINZIP

Der WITNESS® DIROFILARIA-Test ist ein schneller Immunmigrationstest (Rapid Immuno Migration, RIM™). Bei diesem Test wird ein Antikörper gegen ein spezifisches, lösliches Antigen des adulten *D. immitis* verwendet.

Mit kolloidalem Gold markierte Partikel, die sich an das Antigen der Probe (Vollblut, Serum oder Plasma) gebunden haben, können entlang des Teststreifens diffundieren. Dieser Komplex wird dann an einer sensibilisierten Reaktionslinie gebunden. Die Akkumulation der Komplexe stellt sich in einer deutlich rosafarbenen Bande dar. Die Kontrollbande am Ende des Kontrollfensters zeigt die korrekte Ausführung des Tests an.

HINWEISE

- Als Blutprobe kann Vollblut mit EDTA oder Heparin, Blutserum oder -plasma eingesetzt werden.
- Die Blutentnahme sollte immer mit einer sterilen Spritze und einer sterilen Nadel erfolgen.
- Hämolyse stört den Test nicht wesentlich, jedoch kann starke Färbung durch Hämolyse das Erkennen einer schwach positiven Reaktionsbande erschweren.

Lagerung

Die Blutproben sollten kurz nach Entnahme (maximal 4 Stunden) getestet werden, falls sie bei Raumtemperatur gelagert werden. Proben, die nicht sofort getestet werden, sollten bei +2°C bis 8°C maximal 2 Tage aufbewahrt werden. Wenn Serum oder Plasma länger aufbewahrt werden, so ist es bei -20°C zu lagern.

ZUSAMMENSETZUNG

Packung enthält:

- A. 10 einzeln verpackte Testplatten und Trocknungsmittel
- B. 1 Tropfflasche mit 2,8 ml Pufferlösung
- C. Gebrauchsinformation
- D. 10 Pipetten

ANWENDUNGSHINWEISE

1. Nach Ablauf des Verfalldatums nicht mehr verwenden.
2. Bei +2°C bis 25°C lagern. Nicht gefrieren lassen.
3. Den Test möglichst schnell nach dem Öffnen der eingeschweißten Testplatte verwenden (innerhalb 10 Minuten).
4. Die Fenster (1), (2) und (3) der Membran nicht berühren oder beschädigen.
5. Während der Testdurchführung soll die Testplatte der WITNESS®-Tests horizontal auf einer ebenen Fläche liegen.
6. Für jede Probe muß eine separate Pipette verwendet werden.
7. Pipette und Pufferlösungsflasche beim Auftragen der Proben senkrecht halten.
8. Alle Reagenzien und Proben wie infektiöses Material behandeln.
9. Nur bij Tieren verwenden.

ANWENDUNG DES TESTS – AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

1. Auftragen der Proben

- Öffnen Sie einen Beutel und legen Sie die Testplatte auf eine horizontale Unterlage.
- Mit der gelieferten Pipette wird ein Tropfen der Probe senkrecht in die Probenvertiefung pipettiert (1).

2. Auftragen der Pufferlösung

- Überprüfen Sie, ob die Probe in die Membran eingedrungen ist.
- Entfernen Sie den Deckel der Pufferlösungsflasche, halten Sie sie senkrecht und pipettieren Sie drei Tropfen in die Probenvertiefung (1).
- Lassen Sie die Testplatte flach liegen bis zur Diffusion des Proben/ Reagenzienkomplexes durch das Auswertefenster.

3. Ablesen der Reaktion

- Nach 10 Minuten stellt man fest, ob in dem Auswertefenster (2) und dem Kontrollfenster (3) rosafarbene Banden vorhanden sind.

Hinweis:

- Falls schon vor Ablauf der 10 minütigen Inkubationszeit eine rosafarbene Bande sowohl in dem Auswertefenster (2) als auch im Kontrollfenster (3) deutlich zu sehen ist, kann der Test vorzeitig beendet werden.
- Eine deutlich rosafarbene Bande im Kontrollfenster (3) vor 10 Minuten heißt jedoch nicht, dass der Test schon fertig ist, denn schwach positive Proben können später als die Kontrolle zur Ausbildung einer Bande im Auswertefenster führen.

AUSWERTUNG DER ERGEBNISSE

1. Validierung des Tests

- Der Test ist gültig, sofern eine rosafarbene Bande im Kontrollfenster (3) zu sehen ist.

2. Testinterpretation

- Keine Bande im Auswertefenster (2) und eine Bande im Kontrollfenster (3) : Die Probe enthält kein *D. immitis*-Antigen.
- Eine Bande im Auswertefenster (2) und eine Bande im Kontrollfenster (3) : Die Probe enthält *D. immitis*-Antigen.

Hinweis:

- Keine Bande im Kontrollfenster (3) : Der Test ist ungültig.
- Das Testergebnis sollte stets im Zusammenhang mit dem anamnestischen und klinischen Kontext beurteilt werden.

OBECNÉ INFORMACE

Onemocnění způsobené vlasovcem se u psů vyskytuje po celém světě a je způsobeno háďátkem *Dirofilaria immitis*. Dospělé háďátko *Dirofilaria immitis* lze nalézt u infikovaných psů v pravé srdeční komoře a plicní tepně. Dospělá samička *Dirofilaria immitis* produkuje v první fázi larvy (mikrofilárie), které mohou kolovat v periferní krvi. Pokud jsou tyto mikrofilárie požitý bodavým hmyzem při příjmu krve jako potravy, vyvíjí se v infekční třetí stádium larvy. Pokud jsou tyto larvy následně přeneseny na jiné psy prostřednictvím infikovaného bodavého hmyzu, prochází vývojem po dobu dalších 70 - 80 dnů.

Po této době, nezralí dospělí jedinci migrují do distální plicní tepny a nakonec rostou a obsadí hlavní plicní tepnu. 6 – 8 měsíců po infekci larvou v třetím stádiu parazité dospívají. Sekretovaný antigen dospělého jedince *Dirofilaria immitis*, stejně jako mikrofilárie, se následně mohou vyskytovat v periferní krvi.

INDIKACE TESTU

Včasná a přesná diagnóza vlasovce u infikovaných psů umožní léčbu ještě předtím, než se vyskytnou vážné kardiovaskulární potíže. Ochrana neinfikovaných psů před vlasovcem je možná využitím vhodných preventivních opatření.

WITNESS® DIROFILARIA test pro detekci rozpustného antigenu proti *D. immitis* je doporučen, pokud klinická historie a/nebo klinické příznaky naznačují napadení vlasovcem, nebo pro rychlé ověření infekce vlasovcem. Provedení WITNESS® DIROFILARIA testu nezávisí na cirkulujících mikrofiláriích a test může být využit i pro detekci amikrofilaremií či skrytých infekcí.

PRINCIP TESTU

WITNESS® DIROFILARIA je jednoduchý test založený na metodě RIM™ (Rapid Immuno Migration), která využívá protilátek proti specifickým epitopům rozpustného antigenu dospělců *D. Immitis*.

Citlivé koloidní částice zlata, které se vážou na antigen ve vzorku (krev, sérum nebo plazma), mohou migrovat po membráně. Komplex je následně zachycen na citlivé reakční zóně, kde jeho akumulace způsobuje vznik jasně viditelného růžového/fialového proužku. Kontrolní proužek, lokalizovaný na konci čtecího okénka slouží pro ujištění, že test byl proveden správně.

INFORMACE O VZORKU

- Test může být prováděn v nesražené krvi, která je antikoagulovaná pomocí EDTA nebo heparinu, dále v séru nebo plazmě.
- Vzorky musí být vždy odebírány pomocí sterilní jehly a stříkačky.
- Hemolýza s testem výrazně neinterferuje, nicméně vzorky silně hemolyzované mohou částečně zakrýt slabě pozitivní výsledek.

SKLADOVÁNÍ

Pokud je to možné, vzorek (nesražená krev) by měl být testován okamžitě po odběru, nejdéle však po 4 hodinách skladování při pokojové teplotě.

Pokud by test měl proběhnout po delší době (do 2 dnů), vzorky by měly být chlazeny (+2°C až +8°C).

Pro delší skladování udržujte vzorky (pouze sérum nebo plazmu) zmražené (-20°C).

OBSAH SADY

- A. 10 sáčků, každý obsahuje 1 testovací zařízení a vysoušedlo.
- B. Lahvička s kapátkem s pufrovým roztokem (2,8 ml).
- C. Návod k použití.
- D. 10 pipet.

VŠEOBECNÁ OPATŘENÍ

1. Nepoužívejte komponenty sady po datu expirace.
2. Skladujte testovací sadu při teplotě +2°C až +25°C. Nezmrazujte.
3. Použijte testovací zařízení krátce po otevření obalu (do 10 minut).
4. Vyvarujte se dotyku nebo poničení membrány v okénku (1), (2), (3).
5. Při provádění testu umístěte WITNESS® testovací zařízení na plochý, horizontální povrch.
6. Pro každý vzorek použijte novou pipetu.
7. Při dávkování vzorků a pufru držte pipetu respektive lahvičku s pufrem vertikálně.
8. Se všemi reagenty a vzorky pracujte jako s biologicky nebezpečným materiálem.
9. Pouze pro veterinární použití.

PROVEDENÍ TESTU A VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ

Důležité: Nechte kapky vzorku a pufru kapat na membránu v okénku (1). Nepokládejte špičku pipety, kapky vzorku nebo pufru, ani okraje lahvičky přímo na membránu.

1. Nanesení vzorku

- Otevřete sáček a umístěte testovací zařízení na plochý, vodorovný povrch.
- Pipetu držte ve vertikální poloze a naneste jednu kapku vzorku do jamky pro vzorek v okénku (1).

2. Dávkování pufru

- Zkontrolujte, že se vzorek skutečně absorboval do membrány.
- Odstraňte víčko z lahvičky s pufrém, držte ji ve vertikální poloze a přidejte tři kapky pufru do jamky pro vzorek (1).
- Během migrace komplexu vzorku/činidla skrz okénko nechte testovací zařízení na rovném povrchu.

3. Odečítání výsledků

- Vyčkejte 10 minut a pak pozorujte přítomnost nebo absenci růžových/fialových proužků ve čtecích okénkách (2) a (3).
- Výsledky vzorku se odečítají v okénku (2), kontrolní proužek se odečítá v okénku (3).

Poznámka:

- *Výsledky mohou být interpretovány i dříve než po 10 minutách, a to za předpokladu, že v okénkách (2) a (3) je přítomen jasně viditelný růžový/fialový proužek.*
- *Přítomnost růžového/fialového proužku pouze v okénku (3) dříve než po 10 minutách neznamena, že je test hotov. Růžový/fialový proužek v okénku (2) může vzniknout později než proužek kontrolní.*

VÝSLEDKY

1. Validace

- Test je platný, pokud je ve čtecím okénku (3) přítomný růžový proužek.

2. Interpretace

- Chybí proužek ve čtecím okénku (2) a je přítomen proužek je v okénku (3): vzorek je negativní pro *D. Immitis* protilátky.
- Proužek je přítomen ve čtecím okénku (2), stejně tak i v okénku (3): vzorek je pozitivní pro *D. Immitis* protilátky.

Poznámky:

- Pokud v kontrolním okénku (3) nevznikne proužek, znamená to, že je test neplatný.
- Výsledky testu by vždy měly být interpretovány v kontextu všech dostupných klinických informací a historie testovaného zvířete.

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Ochorenie spôsobené srdcovými červami sa u psov vyskytuje po celom svete a je spôsobené červami *Dirofilaria immitis*. Dospelé červy *Dirofilaria immitis* možno nájsť u infikovaných psov v pravej srdcovej komore a pľúcnej tepne. Dospelá samička *Dirofilaria immitis* produkuje v prvej fáze larvy (mikrofilárie), ktoré môžu kolovať v periférnej krvi. Ak sú tieto mikrofilárie skonzumované bodavým hmyzom pri príjme krvi ako potravy, vyvíjajú sa do infekčnej larvy tretieho štádia. Ak sú tieto larvy následne prenesené na iné psy prostredníctvom infikovaného bodavého hmyzu, prechádzajú vývojom po dobu ďalších 70 - 80 dní.

Po tejto dobe, nezrelí dospelí jedinci migrujú do distálnej pľúcnej tepny a nakoniec rastú a obsadia hlavnú pľúcna tepnu. 6 - 8 mesiacov po infekcii larvou v treťom štádiu paraziti dospievajú. Sekretovaný antigén dospelého jedinca *Dirofilaria immitis*, rovnako ako mikrofilárie, sa následne môžu vyskytovať v periférnej krvi.

INDIKÁCIA TESTU

Včasná a presná diagnóza srdcových červov u infikovaných psov umožní liečbu ešte predtým, než sa vyskytnú vážne kardiovaskulárne problémy. Ochrana neinfikovaných psov pred srdcovými červami je možná využitím vhodných preventívnych opatrení.

WITNESS® DIROFILARIA test pre detekciu rozpustného antigénu proti *D. immitis* je odporúčaný, ak klinická história a/alebo klinické príznaky naznačujú napadnutie srdcovými červami, alebo na rýchle overenie infekcie srdcovými červami. Prevedenie WITNESS® DIROFILARIA testu nezávisí na cirkulujúcich mikrofiláriách a test môže byť využitý aj na detekciu amikrofilaremičných či skrytých infekcií.

PRINCÍP TESTU

WITNESS® DIROFILARIA je jednoduchý test založený na metóde RIM™ (Rapid Immuno Migration), ktorá využíva protilátky proti špecifickým epitomom rozpustného antigénu dospelých *D. immitis*.

Citlivé koloidné častice zlata, ktoré sa viažu na antigén vo vzorke (krv, sérum alebo plazma), môžu migrovať po membráne. Komplex je následne zachytený na citlivej reakčnej zóne, kde jeho akumulácia spôsobuje vznik jasne viditeľného ružového/fialového prúžku. Kontrolný prúžok lokalizovaný na konci čítacieho okienka slúži na uistenie, že test bol vykonaný správne.

INFORMÁCIE O VZORKE

- Test môže byť vykonávaný v nezrazenej krvi, ktorá je antikoagulovaná pomocou EDTA alebo heparínu, ďalej v sére alebo plazme.
- Vzorky musia byť vždy odoberané pomocou sterilnej ihly a striekačky.
- Hemolýza s testom výrazne neinterferuje, avšak vzorky silne hemolyzované môžu čiastočne zakryť slabó pozitívny výsledok.

SKLADOVANIE

Vzorka (nezrazená krv) by mala byť ak je to možné, testovaná okamžite po odbere, najdlhšie však po 4 hodinách skladovania pri izbovej teplote.

Ak by test mal prebehnúť po dlhšej dobe (do 2 dní), vzorky by mali byť chladené (+2°C až +8°C).

Pre dlhšie skladovanie udržiajte vzorky (len sérum alebo plazmu) zmrazené (-20°C).

OBSAH SÚPRAVY

- A. 10 vrecúšok, každé obsahuje 1 testovacie zariadenia a vysúšadlo.
- B. Liekovka s kvapkadlom s tlmiacim roztokom (2,8 ml).
- C. Návod na použitie.
- D. 10 pipiet.

VŠEOBECNÉ OPATRENIA

1. Nepoužívajte komponenty súpravy po dátume expirácie.
2. Skladujte testovaciu súpravu pri teplote +2°C až +25°C. Nezmrazujte.
3. Použite testovacie zariadenie krátko po otvorení obalu (do 10tich minút).
4. Vyvarujte sa dotyku alebo poškodenia membrány v okienku (1), (2), (3).
5. Pri vykonávaní testu umiestnite WITNESS® testovacie zariadenia na plochý, horizontálny povrch.
6. Pre každú vzorku použite novú pipetu.
7. Pri dávkovaní vzoriek a tlmiaceho roztoku držte pipetu respektíve liekovku s roztokom vertikálne.
8. So všetkými činidlami a vzorkami pracujte ako s biologicky nebezpečným materiálom.
9. Len na veterinárne použitie.

VYKONANIE TESTU A VYHODNOTENIE VÝSLEDKOV

Dôležité: Nechajte kvapky vzorky a roztoku dopadnúť na membránu v okienku (1). Nekladzte špičku pipety, kvapky vzorky alebo roztoku, ani okraje liekovky priamo na membránu.

1. Naniesenie vzorky

- Otvorte vrecúško a umiestnite testovacie zariadenia na plochý, vodorovný povrch.
- Pipetu držte vo vertikálnej polohe a naneste jednu kvapku vzorky do jamky pre vzorku v okienku (1).

2. Dávkovanie tlmiaceho roztoku

- Skontrolujte, že sa vzorka skutočne absorbovala do membrány.
- Odstráňte viečko z liekovky s tlmiacim roztokom, držte ju vo vertikálnej polohe a pridajte tri kvapky roztoku do jamky pre vzorku (1).
- Počas migrácie komplexu vzorky/čínidla cez okienko nechajte testovacie zariadenia na rovnom povrchu.

3. Odčítanie výsledkov

- Počkajte 10 minút a potom pozorujte prítomnosť alebo absenciu ružových prúžkov v čítacích okienkach (2) a (3).
- Výsledky vzorky sa pozorujú v okienku (2), kontrolný prúžok sa pozoruje v okienku (3).

Poznámky:

- *Výsledky môžu byť interpretované aj skôr ako po 10tich minútach, a to za predpokladu, že v okienkach (2) a (3) je prítomný jasne viditeľný ružový/fialový prúžok.*
- *Prítomnosť ružového/fialového prúžku iba v okienku (3) skôr ako po 10tich minútach neznamená, že je test hotový. Ružový/fialový prúžok v okienku (2) môže vzniknúť neskôr ako prúžok kontrolný.*

VÝSLEDKY

1. Validácia

- Test je platný, ak je v čítacom okienku (3) prítomný ružový prúžok.

2. Interpretácia

- Chýba prúžok v čítacom okienku (2) a je prítomný v okienku (3): vzorka je negatívna pre *D. immitis* protilátky.
- Prúžok je prítomný v čítacom okienku (2), rovnako tak ako v okienku (3): vzorka je pozitívna pre *D. immitis* protilátky.

Poznámka:

- Ak v kontrolnom okienku (3) nevznikne prúžok: test je neplatný.
- Výsledky testu by vždy mali byť interpretované v kontexte všetkých dostupných klinických informácií a histórie testovaného zvierťa.

A KÉSZÍTMÉNYRŐL ÁLTALÁBAN

A kutya szívférgessége világszerte elterjedt, a fertőzöttséget a *Dirofilaria immitis* fonálféreg okozza. A kifejlett *D. immitis* a fertőzött kutya jobb szívkamrájában és a tüdőartériákban található. A kifejlett nőivarú féreg első stádiumú lárvákat (mikrofiláriákat) termel, amelyek a perifériás vérben keringenek. Amikor egy megfelelő vektor szúnyog a vérszívás során felveszi a mikrofiláriákat, azok fertőzőképes harmadik stádiumú lárvákká alakulnak. Ha a fertőzött szúnyogok vérszívása során ezek a lárvák egy másik kutyaiba átjutnak, akkor abban, hozzávetőleg 70 – 80 nap alatt, további fejlődésen mennek keresztül. Ennek befejeztével, a még éretlen adultus férgek a disztális tüdő artériákba kezdenek vándorolni, végül addig növekednek, amíg elfoglalják a fő tüdőartériát.

A harmadik stádiumú lárvákkal történt fertőzést követő 6-8 hónap elteltével a paraziták elérik érettségüket. Mind az érett stádiumú férgek, mind a mikrofiláriák által kiválasztott antigének megtalálhatók a perifériás vérben.

JAVALLAT

A fertőzött kutya korai és pontos szívférgesség diagnózisa még a súlyos szív és érrendszeri tünetek megjelenése előtt teszi lehetővé a gyógykezelést. A fertőzésmentes kutyákat a megfelelő profilaktikus intézkedésekkel meg lehet védeni a szívféreg fertőzéstől.

A WITNESS® DIROFILARIA a *D. immitis* oldható antigénjének kimutatására szolgáló teszt használata azokban az esetekben ajánlott, amikor az anamnézis és/vagy a klinikai tünetek szívféreg fertőzöttség gyanúját vetik fel, vagy amikor a szívféreg fertőzöttség gyors kimutatására van szükség. A WITNESS® DIROFILARIA teszt megbízhatósága független a keringő mikrofiláriák számától és az amikrofiláriás vagy „rejtett” fertőzések kimutatására is alkalmas.

A TESZT MŰKÖDÉSI ELVE

A WITNESS® DIROFILARIA teszt egyszerűen kivitelezhető, gyors immunomigrációs technikán (Rapid Immuno Migration, RIM™) alapuló vizsgálat, amely a kifejlett *D. immitis* oldódó antigénjének specifikus epitopjával szemben képződött ellananyagot alkalmazza.

A vizsgálati mintában (teljes vér, savó vagy plazma) jelenlévő antigénhez kötődött érzékenyített arany kolloid részecskék lehetővé teszik a teszt lemezen történő vándorlást.

A komplex az érzékenyített zónában megkötődik, ahol a feldúsulása következtében világosan látható, piros/bíbor színű sávot képez. A próba megfelelő elvégzése a leolvasó ablak végén lévő kontroll sáv alapján ellenőrizhető.

VIZSGÁLATI MINTÁK

- A vizsgálatot alvadásban (EDTA-val vagy heparinnal) gátolt teljes vérrel, savóval vagy plazmával lehet elvégezni.
- A mintákat steril tűvel és fecskendővel kell venni.
- A hemolízis nem befolyásolja jelentősen a tesztet, ugyanakkor az erősen hemolizált minta (a haemoglobin háttér miatt) zavarhatja a gyengén pozitív eredmény leolvasását.

A MINTÁK TÁROLÁSA

A mintákat lehetőség szerint a mintavétel után azonnal meg kell vizsgálni, környezeti hőmérsékleten legfőljebb 4 órán át lehet tárolni.

Amennyiben a vizsgálatot csak később lehet elvégezni, a mintákat addig hűtve, +2°C - 8°C közötti hőmérsékleten kell tárolni, legfőljebb 2 napig.

Hosszabb tárolás céljára a mintát -20°C-on (csak savó vagy plazma lehet) le kell fagyasztani.

A KÉSZLET TARTALMA

- A. 10 db. zacskó, zacskónként egy teszt lemezt és nedvszívót tartalmaz.
- B. 1 db. puffer, cseppentős flakonban (2,8 ml).
- C. Használati utasítás.
- D. 10 db. pipetta.

FIGYELMEZTETÉS

1. A reagensek a lejáratí időn túl nem használhatók.
2. A készletet +2°C és 25°C között kell tárolni. Nem fagyasztható.
3. A felnyitás után a tesztet azonnal végre kell hajtani (a zacskó kinyitását követő 10 percen belül).
4. Ne érintse vagy sértse meg a reaktív membránt a minta(1) és a leolvasó ablakoknál (2), (3).
5. A vizsgálat elvégzése idejére helyezze a WITNESS® lemezeket sima, vízszintes felületre.
6. Minden mintához külön pipettát használjon.
7. A minta és a puffer oldat kimérésekor tartsa függőlegesen a pipettát és a pufferes flakont.
8. Mind a reagenseket, mind a mintákat biológiailag veszélyes anyagoknak kell tekinteni.
9. Kizárólag állatgyógyászati alkalmazásra.

A VIZSGÁLAT ELVÉGZÉSE ÉS EREDMÉNYEK

Fontos: A minta és a pufferoldat cseppjeit hagyja lecsöppenni a lemezen lévő minta ablakba (1). Ne érintse se a pipetta, se a cseppentő végét, sem pedig a minta vagy a puffer oldat cseppjét közvetlenül a membránhoz.

1. A minta fölvitele

- Nyisson ki egy zacskót, vegye ki a teszt lemezt és helyezze sík felületre.
- A mellékelt pipettával vegyen a mintából ügyelve arra, hogy azt mindvégig függőlegesen tartsa, cseppentsen egy cseppnyi mintát a minta mélyedésbe, (1) ablak.

2. A puffer oldat hozzáadása

- Győződjön meg arról, hogy a minta jól a membránba szívódott.
- Vegye le a pufferes flakon kupakját és ügyelve arra, hogy a flakont függőlegesen tartsa, adjon három csepp puffer oldatot a minta mélyedésbe (1) ablak.
- Hagyja a teszt lemezt a sík felületen a minta/reagens komplexnek a leolvasó sávba történő migrációjának teljes tartamára.

3. Az eredmény leolvasása

- Várjon 10 percet, majd ellenőrizze, hogy piros/bíbor sávok megjelennek-e a leolvasó ablakokban (2) és (3) vagy sem.
- A minta eredményét a (2) ablakban kell leolvasni. A kontroll sáv a (3) ablakban olvasható le.

Megjegyzés:

- *A teszt eredményét 10 percnél hamarabb is meg lehet állapítani abban az esetben, ha a két piros/bíbor sáv (a teszt (2) és a kontroll (3) sávok) egyértelműen megjelent.*
- *Ezzel szemben, a csupán egy, a (3) sáv megjelenése esetén a teszt eredményét nem szabad a teszt teljes kifejlődéséhez szükséges 10 perc letelte előtt lezárni. Előfordulhat, hogy a piros/bíbor sáv kialakulása (2) ablakban hosszabb időt igényel, mint a kontroll sáv (3) kialakulása.*

EREDMÉNYEK

1. Validálás

- A teszt validáltnak tekinthető, ha a (3) ablakban piros/bíbor sáv látható.

2. Elbírálás

- *D. immitis* antigénre negatív: Nem látható sáv a (2) ablakban, de egy sáv látható a (3) ablakban.
- *D. immitis* antigénre pozitív: Egy sáv látható a (2) ablakban és egy sáv látható a (3) ablakban.

Figyelem:

- A sáv hiánya a (3) ablakban érvénytelen próbát jelent.
- A tesztet mindig a vizsgált kutyáról rendelkezésre álló valamennyi klinikai és kórelőzményi adat figyelembe vételével kell elbírálni.

ОБЩА ИНФОРМАЦИЯ

Заболяването червей в сърцето при кучетата е разпространено по цял свят и се причинява от нишковидния кръгъл червей *Diroflaria immitis*. Възрастни индивиди *Diroflaria immitis* се откриват в дясната камера и пулмоналните артерии на заразените кучета. Възрастният женски червей произвежда ларви първи стадий (микрофилярии), които могат да циркулират в периферното кръвообращение. Когато биват погълнати от подходящ комар-преносител, докато той се храни с кръв, тези микрофилярии претърпяват развитие до заразни ларви трети стадий. Когато тези ларви се прехвърлят в други кучета по време на хранене на заразените комари, те преминават през по-нататъшно развитие за приблизително 70-80 дни.

След този период незрелите възрастни индивиди започват да мигрират до крайните пулмонални артерии и най-накрая нарастват и заемат главната пулмонална артерия.

От 6 до 8 месеца след заразяване с ларви трети стадий паразитите достигат зрелост. Тогава в периферното кръвообращение може да се открие антиген, секретирани от възрастните индивиди на червей в сърцето, както и микрофилярии.

ПОКАЗАНИЯ НА ТЕСТА

Ранното и точно диагностициране на червей в сърцето при заразено куче позволява лечение преди появата на сериозни сърдечносъдови проблеми. Незаразените кучета могат да бъдат защитени от заразяване с червей в сърцето чрез прилагането на подходящи профилактични действия.

WITNESS® DIROFILARIA, тестът за откриване на разтворим антиген на *D. immitis*, се препоръчва за употреба, когато клиничната история и клиничните белези предполагат заболяването червей в сърцето или когато се налага бързо потвърждение на заразяване с червей в сърцето. Действието на теста WITNESS® DIROFILARIA не зависи от циркулиращите микрофилярии и може да се използва за откриване на амикрофилярно или „прикрито“ заразяване.

ПРИНЦИП НА ТЕСТА

Тестът WITNESS® DIROFILARIA е прост тест въз основа на технологията за Бърза имунна миграция (RIM™), която използва антитела насочени срещу специфични епитопи на разтворимия антиген на възрастни индивиди *D. immitis*. Чувствителни колоидни златни частици, които са се свързали с антигена, намиращ се в пробата (пълна кръв, серум или плазма) се оставят да мигрират по протежение на лента. След това този комплекс се прехвърля върху чувствителна зона за реакция, където неговата акумулация води до формирането на ясно видима розова/виолетова черта. Контролната черта, разположена в края на прозореца за отчитане, гарантира, че тестът е направен коректно.

ИНФОРМАЦИЯ ЗА ПРОБИТЕ

- Тестът може да бъде извършен с пълна кръв, серум или плазма. Пробите пълна кръв трябва да се антикоагулират с ЕДТА или хепарин.
- Пробите винаги се взимат със стерилни игла и спринцовка.
- Хемолизата не оказва съществено влияние върху теста, но силно хемолизираните проби може частично да прикрият (поради хемоглибиновата среда) слаб положителен резултат.

СЪХРАНЕНИЕ

За предпочитане е пробите да бъдат тествани веднага след взимането им, но не по-късно от 4 часа след него, ако се съхраняват на стайна температура.

Ако се налага тестването да се отложи, пробите трябва да се съхраняват в хладилник (+2°C - 8°C) за не повече от 2 дни. За по-продължително съхранение на пробите (единствено серум или кръвна плазма) те трябва да се замразят (-20°C).

СЪДЪРЖАНИЕ НА КОМПЛЕКТА

- A. 10 пликчета, като всяко съдържа 1 тест касета и изсушител.
- B. 1 контейнер неутрализатор (буфер) с капкомер (2,8 ml).
- C. Инструкции за употреба.
- D. 10 пипети.

ОБЩИ ПРЕДПАЗНИ МЕРКИ

1. Не използвайте компонентите след изтичане на срока на годност.
2. Съхранявайте теста при температура +2°C - 25°C. Не замразявайте.
3. Използвайте теста веднага след отваряне на запечатаното пликче (в рамките на 10 минути).
4. Избягвайте да пипате или да наранявате мембраната на прозорците (1), (2), (3).
5. Касетата WITNESS® трябва да бъде поставена на равна, хоризонтална повърхност по време на провеждане на теста.
6. Използвайте отделна пипета за всяка проба.
7. Дръжте пипетата и контейнера с капкомер вертикално, когато сипвате пробата или съответно неутрализатора.
8. Третирайте всички реактивни агенти и проби като биологично опасни материали.
9. Само за ветеринарна употреба.

ПРОЦЕДУРА НА ТЕСТА И РЕЗУЛТАТИ

Важно: Оставете капките от пробите и неутрализатора да капнат върху прозореца (1). Не опирайте пряко върху мембраната върха на пипетата, пробата, капките неутрализатор или върха на контейнера.

1. Прилагане на пробата

- Отворете пликчето, като го скъсате, и поставете тест касетата на равна хоризонтална повърхност за извършване на теста.
- Като държите вертикално предоставената пипета, прехвърлете една капка от пробата до сектора за проба върху касетата, прозорец (1).

2. Поставяне на неутрализатор

- Проверете дали пробата действително се е абсорбирала в мембраната.
- Отстранете капачката на контейнера с неутрализатор, дръжте го вертикално и капнете три капки неутрализатор върху сектора за проба върху касетата, прозорец (1).
- Оставете тест касетата на равно, докато комплексът от проба/реактивен агент се придвижи към прозорецът за отчитане.

3. Отчитане на теста

- Изчакайте 10 минути, вижте наличието или отсъствието на розова/виолетова черта в прозорците за отчитане (2) и (3).
- Резултатите от пробата се отчитат в прозорец (2). Контролната черта се отчита в прозорец (3).

Забележка:

- *Тестът е завършен и може да се отчете резултат преди да изтекат 10-те минути, ако в двата прозореца (2) и (3) ясно се виждат две розови/виолетови черти.*
- *Наличието на една розова/виолетова черта само в прозорец (3) преди да изтекат 10-те минути не означава, че тестът е завършен. Розова/виолетова черта в прозорец (2) може да се появи по-бавно от контролната черта в прозорец (3).*

РЕЗУЛТАТИ

1. Потвърждение

- Тестът е валиден, ако се появи розова/виолетова черта в прозореца за отчитане (3).

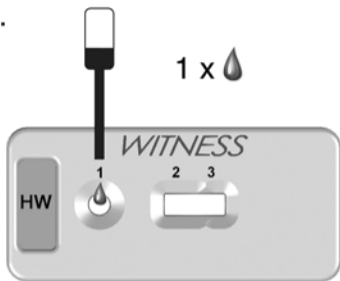
2. Разчитане

- Отрицателен резултат за антиген на *D. immitis*: няма черта в прозорец за отчитане (2), и една черта в прозорец (3).
- Положителен резултат за антиген на *D. immitis*: една черта в прозорец за отчитане (2), и една черта в прозорец (3).

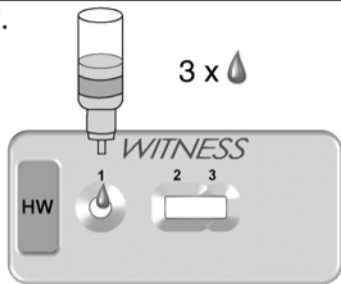
Забележка:

- няма черта в контролен прозорец (3) – невалиден тест.
- Резултатът от теста винаги трябва да се разчита в контекста на цялата налична клинична информация и история на кучето, което ще бъде тествано.

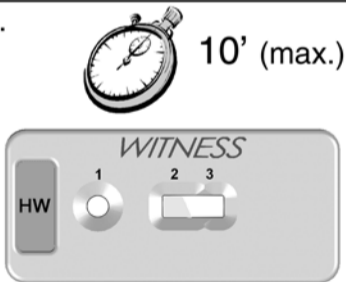
1.



2.



3.



4.

