

WITNESS® EHRLICHIA

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

Synbiotics Europe 2, rue A.Fleming - 69367 Lyon cedex 07- France

Tel: 04.72.76.11.11 - Fax: 04.72.76.11.10

GÉNÉRALITÉS

L'ehrlichiose monocyttaire canine est devenue une des premières maladies émergentes transmises par morsure de tiques. Cette maladie est liée à une infection par une bactérie Gram négative (*Ehrlichia canis*), et comporte trois phases : aigue, subclinique puis évolution vers une maladie chronique chez des chiens immunodéficients. La prévalence réelle de l'infection chez le chien est peut-être sous estimée du fait soit de la résolution spontanée de la maladie aigue, soit de l'issue fatale de la maladie chronique liée aux surinfections secondaires. Dans tous les cas, la bactériémie peut persister pendant plusieurs années et des récurrences (manifestations cliniques) peuvent survenir.

INDICATIONS DU TEST

Si la bactérie persiste dans les monocytes de l'hôte, elle reste difficile à mettre en évidence sur frottis sanguin du fait de leur faible nombre. La recherche des anticorps spécifiques témoigne de l'infection, même si certaines réactions croisées ont été décrites avec certaines espèces bactériennes pathogènes des carnivores domestiques (*Ehrlichia ewingii*, voire *Ehrlichia risticii*).

Utilisée en conjonction avec d'autres tests (numération formule sanguine et recherche d'autres bactéries voisines sur frottis sanguin), la prise en compte des signes cliniques, l'évolution favorable sous traitement antibiotique approprié, la recherche des anticorps sera une aide précieuse pour le diagnostic d'ehrlichiose monocyttaire canine.

Le test WITNESS® EHRLICHIA de détection des anticorps anti-*Ehrlichia canis*, est particulièrement recommandé lorsque les commémoratifs et/ou les symptômes évoquent une Ehrlichiose canine.

PRINCIPE DU TEST

Le test WITNESS® EHRLICHIA est un test de réalisation simple, fondé sur une technique d'Immuno Migration Rapide (Rapid Immuno Migration, RIM™). Il fait appel à un antigène d' *Ehrlichia canis* qui permet l'identification rapide des anticorps spécifiques chez les chiens infectés d'ehrlichiose.

L'échantillon à tester contenant ces anticorps (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, héparine ou citrate).
- 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. 5 sachets, contenant chacun une plaquette test et un sachet déshydratant.
- B. Un flacon compte-gouttes de solution tampon (2 ml).
- C. Une notice d'emploi.
- D. 5 pipettes.

Remarque :

Pour des raisons de contrôle de qualité, la bandelette réactive présente deux bandes jaunes à l'ouverture du sachet. Celles-ci n'interfèrent pas avec le résultat du test et seront éliminées lors de la migration de l'échantillon.

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® EHRlichia sur une surface plane et horizontale pour permettre une migration correcte de l'échantillon et du tampon.
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 risque.
9. Pour usage vétérinaire seulement.

RÉALISATION DU TEST

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 une 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 3 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 bande de couleur rose au niveau de la fenêtre (2) et apparition d'une bande au niveau de la fenêtre (3) : échantillon négatif pour les anticorps anti-*Ehrlichia canis*.
- Présence de bandes de couleur rose à rose violacée à la fois dans les fenêtres (2) et (3) : échantillon positif pour les anticorps anti-*Ehrlichia canis*.

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.
- Pour tout résultat sur échantillon de sang en désaccord avec le contexte clinique, retester sur plasma ou sérum.
- Tout résultat douteux devrait être retesté 1 ou 2 semaines plus tard.

GENERALIDADES

La ehrlichiosis monocitaria canina se ha convertido en una de las primeras enfermedades emergentes transmitidas por picaduras de garrapatas. Esta patología es debida a la infección por una bacteria Gram negativa (*Ehrlichia canis*), y se compone de 3 fases : Aguda, subclínica y crónica en perros inmunodeficientes. La prevalencia real de la infección en el perro puede ser subestimada debido a la resolución espontánea de la enfermedad aguda o al carácter fatal de la forma crónica y de las infecciones secundarias que esta conlleva. En todo caso, puede persistir la bacteria varios años y pueden aparecer recaídas (manifestaciones clínicas).

INDICACIONES DEL TEST

Si la bacteria persiste en los monocitos del animal, su baja cantidad impide su detección en frotis sanguíneos. A pesar de algunas reacciones cruzadas descritas con ciertas especies bacterianas patógenas en los carnívoros domésticos (*Ehrlichia ewingii*, *Ehrlichia risticii*), la detección de anticuerpos es el diagnóstico de elección. La detección de anticuerpos representa una ayuda muy útil para el diagnóstico de la ehrlichiosis monocitaria canina, utilizado conjuntamente con otras pruebas (numeración de fórmula sanguínea y búsqueda de bacterias vecinas en frotis sanguíneo), con los signos clínicos y con la evolución favorable ligada al tratamiento antibiótico adecuado.

El test WITNESS® EHRLICHIA para la detección de anticuerpos anti-*Ehrlichia canis* se recomienda cuando el historial del animal y/o los signos clínicos evocan una ehrlichiosis canina.

PRINCIPIO DEL TEST

El kit WITNESS® EHRLICHIA es un test basado en la técnica de inmuno-migración rápida (Rapid Immuno Migration, RIM™), muy sencillo de utilizar. Usa un antígeno de *Ehrlichia canis* que permite identificar rápidamente los anticuerpos específicos en los perros infectados con ehrlichiosis. La muestra, conteniendo anticuerpos (sangre entera con anticoagulante, suero o plasma), se pone en contacto con partículas de oro coloidal sensibilizadas. El complejo así formado migra en una membrana antes de su captura por una zona reactiva en la cual, su concentración genera la formación de una banda de color rosa, claramente visible. Una banda de control, situada al final de la membrana, permite asegurarse de la correcta realización del test.

MUESTRAS

- Se utiliza el test con sangre entera, suero o plasma. En sangre entera se debe utilizar un anticoagulante (EDTA, heparina o citrato). Las muestras se extraen siempre con jeringas y agujas estériles.
- La hemólisis no interfiere significativamente con el test, sin embargo, una muestra muy hemolizada puede provocar un ruido de fondo (hemoglobinas) que, en caso de reacción débilmente positiva, complicaría la lectura.

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 al análisis, las muestras deberán refrigerarse entre + 2°C y 8°C por un período de 48 horas máximo. Para una conservación prolongada, se recomienda congelar la muestra (suero o plasma solamente) a -20 °C.

CONTENIDO DEL KIT

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

Aviso:

Por razones de control de calidad, la membrana reactiva presenta dos bandas de color amarillo en el momento de la apertura del sobre. Estas bandas no interfieren en el resultado del test y son eliminadas durante la migración de la muestra.

PRECAUCIONES GENERALES

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 sobre).
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

Importante: Dejar caer las gotas de muestra y de solución tampón en el pocillo sobre la membrana, ventana (1). Evitar que el extremo de la pipeta o del cuenta-gotas, las gotas de muestra o de la solución tampón, estén en contacto directo con la membrana.

<p>1. Distribución de la muestra</p> <ul style="list-style-type: none">• Abrir el sobre, retirar la placa-test y disponerla sobre una superficie plana y horizontal para la realización del test.• Dejar caer 1 gota de sangre entera, suero o plasma, en el pocillo de la muestra ventana (1), manteniendo la pipeta incluida en la caja bien verticalmente.	<p>2. Distribución de la solución tampón</p> <ul style="list-style-type: none">• Asegurarse que la muestra haya penetrado en la membrana.• Abrir el frasco de la solución tampón, sujetarlo verticalmente y dejar caer 3 gotas enteras en el pocillo de la muestra, ventana (1).• Mantener la placa test sobre una superficie plana durante todo el tiempo de migración del complejo muestra / partículas de oro coloidal.
<p>3. Lectura del test</p> <ul style="list-style-type: none">• Observar al cabo de 10 minutos 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). <p><i>Nota :</i></p> <ul style="list-style-type: none">• <i>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).</i>• <i>Sin embargo, la aparición de una única banda rosa en la ventana (3), no permite dar por concluido el test 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).</i>	<p>RESULTADOS</p> <p>1. Validación: El test es válido si aparece una banda de control en la ventana (3).</p> <p>2. Interpretación:</p> <ul style="list-style-type: none">• Ausencia de banda rosa en la ventana (2) y aparición de una banda rosa en la ventana (3) : <i>muestra negativa en anticuerpos anti-Ehrlichia canis.</i>• Aparición de una banda rosa en la ventana (2), y aparición de una banda rosa en la ventana (3) : <i>muestra positiva en anticuerpos anti-Ehrlichia canis.</i> <p>Atención:</p> <ul style="list-style-type: none">• 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.• En caso de que el resultado en muestra de sangre esté en desacuerdo con el examen clínico, repetir el test con suero o plasma.• Cualquier muestra dudosa debería ser testeada nuevamente pasadas 1 a 2 semanas.

INFORMAZIONI GENERALI

L'ehrlichiosi canina monocitica è diventata una delle più importanti malattie indotte da zecche.

È causata dal batterio Gram negativo "*Ehrlichia canis*", ed il corso dell'infezione si può suddividere in tre fasi distinte: fase acuta, fase sub-clinica, e fase cronica in soggetti immunodepressi.

La reale prevalenza dell'ehrlichiosi canina viene, di fatto, sottostimata, a causa sia della risoluzione spontanea della malattia acuta, sia dell'esito fatale della malattia cronica dovuto a superinfezioni secondarie.

In tutti i casi la batteriemia può rimanere latente anche per diversi anni e ripresentarsi con una nuova manifestazione clinica in qualsiasi momento.

INDICAZIONI DEL TEST

Se il batterio ospite persiste all'interno del monocita in debole concentrazione la diretta identificazione dell'infezione su striscio di sangue viene ostacolata e risulta di difficile identificazione.

L'infezione, invece, viene diagnosticata dalla presenza di uno specifico anticorpo, malgrado la presenza di reazioni crociate venga segnalata con altri batteri coinvolti nelle patologie dei piccoli animali (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*).

Quando utilizzato insieme ad altri test (conta dei WBC/RBC/PLT ed esame dello striscio di sangue per l'identificazione di altri batteri patogeni), unitamente alla valutazione dei segni clinici e alla guarigione in seguito ad un'appropriata terapia antibiotica, il test anticorpale è di significativo aiuto nel diagnosticare un'ehrlichiosi monocitica canina.

L'utilizzo del test anticorpale WITNESS® EHRLICHIA per l'individuazione degli anticorpi anti-*Ehrlichia canis* è raccomandato quando l'anamnesi e/o sintomi clinici possono suggerire la presenza di una ehrlichiosi canina.

PRINCIPIO DEL TEST

Il test WITNESS® EHRLICHIA è un semplice test basato su una tecnica di Immunomigrazione rapida (Rapid Immuno Migration, RIM™) che si avvale di un antigene altamente specifico di *E. canis* che permette una rapida identificazione degli specifici anticorpi anti-*Ehrlichia canis* presenti in cani infetti.

Il campione da analizzare contenente tali anticorpi (sangue intero con anticoagulante, siero, plasma) è messo in contatto con particelle d'oro colloidale sensibilizzate. Il complesso così formato migra su una membrana prima di essere catturato a livello di una zona reattiva, nella quale la sua concentrazione provoca la formazione 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 eseguito correttamente.

INFORMAZIONI SUL CAMPIONE

- Il test può essere effettuato su campioni non coagulati di siero, plasma o sangue intero con anticoagulante (EDTA, Citrato, Eparina)
- Il campione deve essere sempre prelevato con siringhe sterili.
- 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 - 8°C).

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

CONTENUTO DEL KIT

- A. 5 sacchetti contenenti ognuno 1 piastra di lettura e gel di silice disidratante
- B. 1 flacone contagocce di soluzione tampone (2 ml)
- C. Istruzioni per l'uso
- D. 5 pipette

N.B.:

Prima dell'uso, per ragioni di controllo qualità, le bande del test all'apertura della confezione appaiono colorate di giallo. Questo non interferisce con il risultato del test e le bande saranno eliminate durante la migrazione del campione.

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® su una superficie piana ed orizzontale mentre si effettua il test.
6. Utilizzare una pipetta diversa per ogni singolo campione
7. Tenere la pipetta e il flacone di soluzione tampone verticalmente 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.

PROCEDURA DEL TEST

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 della pipetta per campione né con la soluzione tampone.

1. Utilizzo 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 la pipetta fornita.
- Tenere la pipetta verticalmente, lasciar cadere una goccia di campione attraverso la finestra campione (1).

2. Dispensazione della soluzione 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).
- 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 dieci 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 anticorpi anti-*Ehrlichia canis*.
- 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 anticorpi anti-*Ehrlichia canis*.

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.
- Si raccomanda di eseguire un nuovo test su siero o su plasma per tutti quei risultati discrepanti dai sintomi clinici.
- Tutti i risultati dubbi dovrebbero essere rianalizzati dopo 1-2 settimane.

INFORMAÇÃO GERAL

A Ehrlichiose monocítica canina torna-se cada vez mais uma das doenças mais importantes transmitidas por carrças. Causada pela bactéria Gram negativa *Ehrlichia canis*, a infecção evolui em três fases: aguda, subclínica e crónica em cães imunodeprimidos. A verdadeira prevalência da ehrlichiose canina está talvez subestimada devido à tendência quer para a recuperação espontânea após a fase aguda, quer para a morte por infecções secundárias nos casos de doença crónica. Em todos os casos, a bacteriémia pode durar anos e podem surgir novas manifestações clínicas.

INDICAÇÕES DO TESTE

Se a bactéria persistir nos monócitos do hospedeiro, é difícil a sua identificação directa em esfregaços de sangue devido à fraca concentração destas células no sangue. A infecção pode ser diagnosticada pela presença de anticorpos específicos, apesar de terem sido descritas reacções cruzadas com outras bactérias envolvidas na patologia dos animais de companhia (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*).

Quando usado conjuntamente com outros testes (hemograma e exame de esfregaços de sangue para outras bactérias patogénicas), com a avaliação dos sinais clínicos e recuperação por antibioterapia adequada, o teste de anticorpos ajuda ao correcto diagnóstico da Ehrlichiose monocítica canina.

O teste de anticorpos WITNESS® EHRLICHIA para a identificação dos anticorpos anti-*Ehrlichia canis* é recomendado para uso quando a história clínica e/ou sinais clínicos sugerem uma Ehrlichiose canina.

PRINCÍPIO DO TESTE

O teste de anticorpos WITNESS® EHRLICHIA é um teste simples, baseado na tecnologia da Imuno Migração Rápida (Rapid Immuno Migration, RIM™), usando um antígeno da *E. canis* para identificar rapidamente anticorpos em cães infectados com *Ehrlichia*. As partículas de ouro coloidal sensibilizadas ligam-se a anticorpos anti-*E. canis* presentes na amostra (sangue total, soro ou plasma). O complexo assim formado migra ao longo de uma membrana antes de ser capturado ao nível de uma zona reactiva ao nível da qual a sua concentração provoca a formação de uma banda cor de rosa claramente visível. Uma banda de controlo, localizada no fim da janela de leitura, garante que o teste foi realizado correctamente.

INFORMAÇÃO SOBRE A AMOSTRA

- O teste pode ser realizado sobre sangue total, soro ou plasma. Para o sangue total, a amostra deve ser colhida com anticoagulante (EDTA, heparina ou citrato).
- As amostras devem ser sempre colhidas com seringas e agulhas esterilizadas.
- A hemólise não interfere significativamente com o teste, se bem que uma amostra fortemente hemolisada possa estar na origem de uma interferência (hemoglobina) podendo prejudicar a leitura em caso de reacção levemente positiva.

Conservação das amostras

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

CONTEÚDO DO KIT

- A. 5 carteiras, contendo cada uma, uma placa teste e uma saqueta desidratante.
- B. Um frasco conta-gotas de solução tampão (2 ml).
- C. Uma bula informativa.
- D. 5 pipetas.

Nota :

Por razões de controlo de qualidade, a membrana reactiva apresenta dois traços amarelos à abertura da carteira. Eles não interferem com o resultado do teste e serão eliminados quando da migração da amostra.

PRECAUÇÕES

- 1. Não utilizar os reagentes após a data de perempção.
- 2. Conservar o kit entre +2°C e 25°C. Não congelar
- 3. Utilizar o teste rapidamente após a abertura (nos 10 minutos após a abertura da carteira).
- 4. Evitar tocar ou danificar as membranas reactivas (poço da amostra [1] e janelas de leitura [2] e [3]).
- 5. Colocar a placa WITNESS® sobre uma superfície plana e horizontal para permitir uma migração correcta da amostra e da solução tampão.
- 6. Utilizar uma pipeta diferente para cada amostra.
- 7. Manter a pipeta e o frasco da solução tampão na posição vertical quando da deposição respectiva da amostra e da solução tampão.
- 8. Manipule os reagentes e amostras como material com risco biológico.
- 9. Apenas para uso Veterinário.

REALIZAÇÃO DO TESTE

Importante: Deixar cair as gotas da amostra e da solução tampão sobre a membrana no poço da amostra, janela (1). Não colocar a extremidade da pipeta nem a do conta-gotas, nem as gotas da amostra ou da solução tampão, directamente em contacto com a membrana.

1. Deposição da amostra

- Abrir uma carteira, retirar a pipeta e a placa teste e colocá-la sobre uma superfície plana.
- Segurando a pipeta fornecida na vertical, deposite uma gota da amostra na cúpula da amostra, a nível da janela (1).

2. Deposição da solução tampão

- Depois de ter verificado que a amostra penetrou bem na membrana,
- Retire a tampa do frasco de solução tampão, segure-o na vertical e deposite três gotas da solução tampão na cúpula da amostra, janela (1).
- Deixar então a placa num sítio plano durante todo o tempo de migração do complexo amostra/reagente sobre a membrana.

3. Leitura do teste

- Espere 10 minutos, depois veja se aparecem, ou não, traços de cor rosa a violeta nas janelas (2) e (3).
- Leia o resultado do teste da amostra ao nível da janela (2). O traço testemunha encontra-se ao nível da janela (3).

Notas:

- *É possível concluir a leitura do teste antes de 10 minutos se aparecerem nitidamente dois traços cor de rosa (correspondendo respectivamente à banda teste [2] e à banda testemunho [3]).*
- *Em contrapartida, a presença apenas de um traço cor de rosa ao nível da janela (3) não permite concluir o teste antes de passarem os 10 minutos necessários ao seu desenvolvimento completo. Pode acontecer que o traço cor de rosa demore mais tempo a desenvolver-se na janela (2) que o traço testemunho na janela (3).*

RESULTADOS

1. Validação

O teste é válido sempre que é visível um traço cor de rosa a violeta na janela (3).

2. Interpretação

- Ausência de banda colorida na janela de leitura (2), com uma banda colorida na janela (3): a amostra é negativa para anticorpos anti-*E. canis*.
- Presença de uma banda colorida na janela de leitura (2), com uma banda colorida na janela (3): a amostra é positiva para anticorpos anti-*E. canis*.

Atenção:

- A ausência de um traço cor de rosa a violeta ao nível da janela (3) torna o teste inválido.
- A interpretação de qualquer teste de diagnóstico deve ser feita em função do contexto clínico e epidemiológico do animal testado.
- Nos casos em que o resultado, sobre amostras de sangue total, estiver em desacordo com o exame clínico, devera efectuar novo teste, utilizando, desta vez, soro ou plasma
- Todos os animais com resultados duvidosos, deverão ser testados de novo, decorridas 1 a 2 semanas.

WITNESS® EHRLICHIA

GENERAL INFORMATION

Canine monocytic ehrlichiosis is becoming one of the most important tick-born diseases. Caused by Gram negative bacteria *Ehrlichia canis*, the infection course is divided into three phases: acute, subclinical and then chronic in immunodepressed dogs. A true prevalence of canine ehrlichiosis may be understated due to the tendency to either spontaneous recovery after the acute phase or death from superinfections in the chronic disease stage. In all cases, bacteraemia can last for years and new clinical manifestations may arise.

TEST INDICATION

If the bacteria duplicate and persist in the host's monocytes, direct identification on blood smears is hampered by the low number of these cells in blood. In general, the disease is diagnosed by the presence of specific antibodies; however some crossreactions with other pathogenic bacteria (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*) have been reported.

The use of an antibody test in combination with others tests (blood cells count and blood smear examination for others pathogenic bacteria) and the evaluation of clinical signs and recovery with an appropriate antibiotherapy, permits the correct diagnosis of canine monocytic ehrlichiosis .

The WITNESS® EHRLICHIA Antibody test for the detection of anti-*Ehrlichia canis* antibody is recommended for use when clinical history and/or clinical signs could suggest a canine ehrlichiosis.

TEST PRINCIPLE

The WITNESS® EHRLICHIA Antibody test is a simple test, based on Rapid Immuno Migration (RIM™) technology, using an antigen from *E. canis* to quickly identify antibodies in *Ehrlichia*-infected dogs. Sensitized colloidal gold particles bound to anti- *E. canis* antibodies 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 line where its accumulation causes the formation of a clearly visible pink 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 unclotted whole blood anticoagulated with EDTA, sodium citrate or heparin, serum or plasma.
- Samples should always be collected with a sterile needle and syringe.
- Haemolysis does not significantly interfere with the test, but strongly haemolyzed samples may partly obscure a weak positive line (due to haemoglobin background).

Storage

It is preferable to test samples immediately after collection and 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. 5 pouches, each containing 1 test device and desiccant.
- B. 1 Buffer dropper bottle (2ml).
- C. Instructions for use.
- D. 5 pipettes.

Note:

Prior to use, test and control bands appear yellow. The bands are dyed yellow for quality control purposes. The dye does not interfere with the test results and will wash away while the test is developing.

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

Important: Allow samples and buffer drops to fall onto membrane at window (1). Avoid touching the membrane while applying the sample or buffer drops. Do not touch the membrane with pipette or buffer bottle tips.

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 penetrated 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

- After 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).

Notes :

- *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

- No band in reading window (2), with one band in window (3): sample is negative for *E. canis* antibodies
- One band in reading window (2), with one band in window (3): sample is positive for *E. canis* antibodies

Notes:

- 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.
- It is recommended to re-test sample on serum or plasma in case of results that do not correlate with the clinical symptoms.
- In case of doubtful results, it is advised to renew testing 1 or 2 weeks later.

ALGEMENE INFORMATIE

Ehrlichiose is bij de hond een van de meest voorkomende ziekten die door teken worden overgebracht. De infectie wordt veroorzaakt door een Gram-negatieve bacterie, *Ehrlichia canis* en verloopt in drie fasen: acuut, subklinisch en chronisch bij immuundepressieve honden. Door een neiging tot spontane genezing na de acute fase of sterfte als gevolg van superinfecties in de chronische fase, wordt de werkelijke prevalentie van ehrlichiose vermoedelijk onderschat. In elk geval kan een bacteriemie gedurende jaren aanhouden en kunnen klinische symptomen later opnieuw optreden.

TESTINDICATIE

Bij bacteriële persistentie in de monocytën van de gastheer, wordt het direct aantonen ervan in bloedmonsters, bemoeilijkt door de lage concentratie van deze cellen in het bloed. Hoewel kruisreacties met andere pathogene bacteriën kunnen voorkomen (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*), wordt de infectie gediagnosticeerd door aanwezigheid van specifieke antilichamen.

Gebruikt in combinatie met andere testen (telling van bloedcellen en onderzoek van bloed op aanwezigheid van pathogene bacteriën) en met een evaluatie van de klinische symptomen en van de reactie op een aangepaste antibioticatherapie, helpt de antilichaamtest bij het diagnosticeren van ehrlichiose bij de hond.

De WITNESS® EHRLICHIA antilichaamtest voor detectie van anti-*Ehrlichia canis* antilichamen is aangewezen wanneer de ziektegeschiedenis en/of de klinische symptomen duiden op een ehrlichiose.

TESTPRINCIPE

De WITNESS® EHRLICHIA antilichaamtest is een eenvoudige test, gebaseerd op de Rapid Immuno Migration (Rapid Immuno Migration, RIM™) technologie die, door gebruik van een antigeen van *E. canis*, antilichamen detecteert bij met Ehrlichia geïnfecteerde honden. Gesensibiliseerde colloïdale gouddeeltjes, gebonden aan anti-*E. canis* antilichamen aanwezig in het monster (vol bloed, serum of plasma) migreren over een membraan. Het complex wordt dan gebonden ter hoogte van een gesensibiliseerde reactiezone waar de opeenstapeling van het complex zorgt voor de vorming van een duidelijk zichtbare roze band. Een controleband aan het einde van het afleesvenster, toont aan dat de test correct is uitgevoerd.

MONSTERS

- De test kan worden uitgevoerd op vol bloed onstolbaar gemaakt met EDTA, natriumcitraat of heparine, en serum of plasma.
- 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 - 8°C. Voor langere bewaring mogen de monsters (enkel serum of plasma) worden ingevroren bij -20°C.

INHOUD VAN DE KIT

- A. 5 zakjes, elk bevattend 1 testplaatje en een droogmiddel.
- B. 1 druppelflacon met bufferoplossing (2 ml).
- C. Gebruiksaanwijzing.
- D. 5 pipetten.

Opmerking:

Om redenen van kwaliteitscontrole, vertoont de teststrip bij het openen van het zakje twee gele banden. Deze kleuring beïnvloedt geenszins het testresultaat en verdwijnt tijdens de migratie van het monster.

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 afleesvensters (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

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.
- Houd de pipet verticaal en breng 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, houd de flacon verticaal en voeg drie druppels 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 afleesvensters (2) en (3).
- Lees het testresultaat af in het afleesvenster (2). De controleband bevindt zich in het afleesvenster (3).

Opmerkingen:

- *Het is mogelijk om de test binnen 10 minuten af te lezen indien roze/paarse banden duidelijk zichtbaar zijn in beide afleesvensters (2) en (3);*
- *Daarentegen, mag bij het verschijnen van slechts een roze/paarse band in venster (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 venster (2) later verschijnt dan de controleband in venster (3).*

RESULTATEN

1. Validatie

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

2. Interpretatie

- Geen band in afleesvenster (2), wel een band in afleesvenster (3): het monster is negatief voor *E. canis* antilichamen
- Zowel een band in afleesvensters (2) als in afleesvensters (3): het monster is positief voor *E. canis* antilichamen

Opmerking:

- De test is niet gevalideerd als geen roze/paarse band verschijnt in afleesvenster (3).
- Een testresultaat dient altijd te worden geïnterpreteerd in functie van de klinische en epidemiologische context van de geteste hond.
- Indien een resultaat afwijkt van het klinisch beeld, is het aanbevolen om opnieuw serum of plasma te testen.
- De test dient, bij een twijfelachtig resultaat, na 1 tot 2 weken herhaald te worden.

GEBRAUCHSINFORMATION - ALLGEMEINE INFORMATION

Die canine monozytäre Ehrlichiose entwickelt sich zu einer der bedeutendsten durch Zecken übertragbaren Erkrankung. Die durch das Gram-negative Bakterium *Ehrlichia canis* verursachte Infektion kann in drei Phasen eingeteilt werden: Akute, subklinische und chronische Phase bei immunsupprimierten Hunden.

Bedingt durch die Tendenz zur spontanen Genesung nach der akuten Phase oder aber dem Tod, verursacht durch eine Superinfektion in der chronischen Phase, wird die tatsächliche Prävalenz der caninen Ehrlichiose häufig als zu niedrig angegeben. In allen Fällen ist eine über Jahre anhaltende Bakteriämie möglich und eine erneute klinische Manifestation kann auftreten.

ANWENDUNGSGEBIETE

Bei Persistenz der Bakterien in den Monozyten des Wirtes wird eine direkte Identifikation in Blutaussstrichen durch die geringe Konzentration dieser Zellen erschwert. Die Diagnose erfolgt durch den Nachweis von spezifischen Antikörpern, es wurden aber auch Kreuzreaktionen mit anderen kleintierpathogenen Bakterien (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*) beschrieben.

In Verbindung mit anderen Tests (Zellzählung und Untersuchung von Blutaussstrichen auf andere pathogene Bakterien), der Bewertung des klinischen Bildes und der Genesung bei entsprechender Antibiotikatherapie, ist der Antikörpernachweis eine Hilfe bei der korrekten Diagnose der caninen monozytären Ehrlichiose.

Der WITNESS® EHRLICHIA Antikörper Test zum Nachweis von Anti-*Ehrlichia canis* Antikörpern wird zur Anwendung empfohlen, wenn der Vorbericht und/oder die klinischen Symptome den Verdacht einer caninen Ehrlichiose ergeben.

TESTPRINZIP

Der WITNESS® EHRLICHIA ist ein einfacher und schneller Immunmigrationstest (Rapid Immuno Migration, RIM™), der mithilfe eines Antigen von *E. canis* zum schnellen Nachweis von Antikörpern in *Ehrlichia* infizierten Hunden ermöglicht.

Die mit kolloidalem Gold markierten Partikel binden an die in der Probe (Vollblut, Serum oder Plasma) vorliegenden Antikörper und diffundieren nun entlang eines Nitrocellulosestreifens. Der Komplex wird an einer sensibilisierten Reaktionslinie gebunden. Die Akkumulation des Komplexes stellt sich als deutlich rosafarbene Bande dar. Die Band im Kontrollfenster zeigt die korrekte Ausführung des Tests an.

HINWEISE

- Als Blutprobe kann mit EDTA, Natrium Citrat oder Heparin behandeltes Vollblut, 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 die Erkennung einer schwach positiven Reaktionsbande erschweren.

Lagerung

Die Blutproben sollten kurz nach der 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 wird soll, so ist es bei -20°C zu lagern.

ZUSAMMENSETZUNG

Packung enthält:

- A. 5 einzeln verpackte Testplatten und Trocknungsmittel
- B. 1 Tropfflasche mit 2 ml Pufferlösung
- C. Gebrauchsinformation
- D. 5 Pipetten

Hinweis:

Zum Zwecke der Qualitätskontrolle sind die Reaktionslinien gelb gefärbt. Diese Färbung hat keinen Einfluss auf das Testergebnis

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 des WITNESS®-Tests horizontal auf einer ebenen Fläche liegen.
6. Für jede Probe muss eine separate Pipettenspitze verwendet werden.
7. Pipette und Pufferlösungsflasche beim Auftragen der Proben senkrecht halten.
8. Alle Reagenzien und Proben wie infektiöses Material behandeln.
9. Nur in der Veterinärmedizin einsetzen !

ANWENDUNG DES TESTS

Wichtig: Die Probe und den Puffer nur auftropfen lassen (Fenster 1). Die Membran nicht mit der Pipettenspitze oder der Pufferflasche berühren oder beschädigen.

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 (1) pipettiert.

2. Auftragen der Pufferlösung

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

3. Ablesen der Reaktion

- Nach zehn 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 ist negativ für *E. canis* Antikörper.
- Eine Bande im Auswertefenster (2) und eine Bande im Kontrollfenster (3): Die Probe ist positiv für *E. canis* Antikörper

Hinweis:

- Keine Bande im Kontrollfenster (3): Der Test ist ungültig.
- Das Testergebnis sollte stets im Zusammenhang mit dem anamnestischen und klinischen Kontext beurteilt werden.
- Alle Ergebnisse, die mit Vollblut erzielt wurden und nicht mit dem klinischen Bild übereinstimmen, sollten mit einer Plasma- oder Serumprobe wiederholt werden.
- Alle zweifelhaften Resultate sollten nach 1 bis 2 Wochen wiederholt werden.

OBECNÉ INFORMACE

Monocytární ehrlichioza psů je jedním z nejvýznamnějších klíšťových onemocnění. Je způsobena gramnegativní bakterií *Ehrlichia canis*. Infekce může mít tři fáze: akutní, subklinickou a následně chronickou u psů s poklesem imunity. Skutečný výskyt ehrlichiozy psů není jednoduché zjistit kvůli tendenci spontánního uzdravení po akutní fázi anebo smrti ze superinfekce při chronickém stupni nemoci. Ve všech případech, bakteriémie může trvat po dobu několika let a mohou se objevovat nové klinické projevy.

INDIKACE TESTU

Pokud se bakterie duplikuje a přetrvává v monocytech hostitele, přímá identifikace v krevních nátěrech je znemožněna kvůli malému počtu těchto buněk v krvi. Obecně je onemocnění diagnostikováno díky přítomnosti specifických protilátek, avšak byly pozorovány i některé křížové reakce s jinou patogenní bakterií (*Ehrlichia ewingii*, *E. risticii*).

Využití protilátek v kombinaci s dalšími testy (počítání krvinek, přezkoumání krevního nátěru pro jinou patogenní bakterií) a hodnocení klinických příznaků a léčby pomocí vhodného antibiotika umožňuje správnou diagnózu monocytární ehrlichiozy psů.

WITNESS® EHRLICHIA je test, který detekuje anti-*Ehrlichia canis* protilátky a je doporučen, pokud klinická historie a/ nebo klinické příznaky naznačují ehrlichiozu psů.

PRINCIP TESTU

WITNESS® EHRLICHIA je jednoduchý test na protilátky, založený na metodě RIM™ (Rapid Immuno Migration), která využívá antigen z *E. canis* pro rychlou identifikaci protilátek z infikovaných psů.

Citlivé koloidní částice zlata vázané na anti-*E. canis* protilátky ve vzorku (krev, sérum nebo plazma), mohou migrovat po membráně. Komplex je následně zachycen na citlivém reakčním pásku, kde jeho akumulace způsobuje vznik jasně viditelného růžového 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 byt 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. 5 sáčků, každý obsahuje 1 testovací zařízení a vysoušedlo.
- B. Lahvička s kapátkem s pufrovým roztokem (2 ml).
- C. Návod k použití.
- D. 5 pipet.

Poznámka:

Testovací a kontrolní proužky jsou barveny na žluto za účelem kontroly kvality. Barvivo s testem neinterferuje a v jeho průběhu bude odmyto.

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). Při nanášení vzorku nebo pufru se vyvarujte dotyku membrány. Nedotýkejte se membrány pipetou nebo okrajem láhve.

1. Nanesení vzorku

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

2. Dávkování pufru

- Zkontrolujte, že vzorek skutečně pronikl do membrány.
- Odstraňte víčko z lahvičky s pufrům, držte ji ve vertikální poloze a přidejte tři kapky pufru do jamky pro vzorek v okénku (1).
- Během migrace komplexu vzorku/čínidla 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).

Poznámky:

- *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 neznamená, 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/fialový proužek.

2. Interpretace

- Chybí proužek ve čtecím okénku (2) a je přítomen proužek v okénku (3): vzorek je negativní pro *E. canis* protilátky
- Proužek je přítomen ve čtecím okénku (2), stejně tak jako v okénku (3): vzorek je pozitivní pro *E. canis* 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 historii testovaného zvířete.*
- *Pokud výsledky ze vzorku plné krve neodpovídají klinickým symptomům, doporučuje se test opakovat se vzorkem séra nebo plazmy.*
- *V případě nejistých výsledků se doporučuje opakovat testování o 1 nebo 2 týdny později.*

VŠEOBECNÉ INFORMÁCIE

Monocytárna ehrlichioza psov je jedným z najvýznamnejších kliešťových ochorení. Je spôsobená gramnegatívnou baktériou Ehrlichia canis. Infekcia môže mať tri fázy: akútnu, subklinickú a následne chronickú u psov s poklesom imunity. Skutočný výskyt ehrlichiozy psov nie je jednoduché zistiť kvôli tendencii spontánneho uzdravenia po akútnej fáze alebo smrti zo superinfekcie pri chronickom stupni choroby. Vo všetkých prípadoch, bakterémia môže trvať po dobu niekoľkých rokov a môžu sa objavovať nové klinické prejavy.

INDIKÁCIA TESTU

Ak sa baktéria duplikuje a pretrváva v monocytoch hostiteľa, priama identifikácia v krvných náteroch je znemožnená kvôli malému počtu týchto buniek v krvi. Všeobecne je ochorenie diagnostikované vďaka prítomnosti špecifických protilátok, ale boli pozorované aj niektoré krížové reakcie s inou patogénnou baktériou (Ehrlichia ewingii, E. risticii).

Využitie protilátok v kombinácii s ďalšími testami (počítanie krviniek, preskúmanie krvného náteru pre inú patogénnu baktériu) a hodnotenie klinických príznakov a liečby pomocou vhodného antibiotika umožňuje správnu diagnózu monocytárnej ehrlichiozy psov.

WITNESS® EHRLICHIA je test, ktorý detekuje anti-Ehrlichia canis protilátky a je odporúčaný, ak klinická história a/alebo klinické príznaky naznačujú ehrlichiozu psov.

PRINCÍP TESTU

WITNESS® EHRLICHIA je jednoduchý test na protilátky, založený na metóde RIM™ (Rapid Immuno Migration), ktorá využíva antigén z E.canis pre rýchlu identifikáciu protilátok z infikovaných psov.

Citlivé koloidné častice zlata viazané na anti-E.canis protilátky vo vzorke (krv, sérum alebo plazma), môžu migrovať po membráne. Komplex je následne zachytený na citlivom reakčnom pásiku, kde jeho akumulácia spôsobuje vznik jasne viditeľného ružového 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 slabo 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 udrzte vzorky (len sérum alebo plazmu) zmrazené (-20°C).

OBSAH SÚPRAVY

- A. 5 vrecúšok, každé obsahuje 1 testovacie zariadenia a vysúšadlo.
- B. Liekovka s kvapkadlom s tlmiacim roztokom (2 ml)
- C. Návod na použitie.
- D. 5 pipiet.

Poznámka:

Testovacia a kontrolné prúžky sú zafarbené na žltu za účelom kontroly kvality. Farbivo s testom neinterferuje a v jeho priebehu bude vymyté.

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 tlmiaceho roztoku dopadnúť na membránu v okienku (1). Pri nanášaní vzorky alebo roztoku sa vyvarujte dotyku membrány. Nekladte špičku pipety ani okraj liekovky priamo na membránu.

1. Nanesenie 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/fialový prúžok.

2. Interpretácia

- Chýba prúžok v čítacom okienku (2) a je prítomný v okienku (3): vzorka je negatívna pre *E. canis* protilátky.
- Prúžok je prítomný v čítacom okienku (2), rovnako tak ako v okienku (3): vzorka je pozitívna pre *E. canis* 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.*
- *Ak výsledky zo vzorky krvi nezodpovedajú klinickým symptómom, odporúča sa test opakovať so vzorkou séra alebo plazmy.*
- *V prípade neistých výsledkov sa odporúča opakovať testovanie o 1 alebo 2 týždne.*

