

# FASTest® LEISH

ad us. vet.



In vitro Diagnostikum

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

## GEBRAUCHSINFORMATION



## 1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

### TESTKITKOMPONENTEN

1 Testkit **FASTest® LEISH** enthält:

- 2, 10, 25 oder 50 Testkassetten, beschichtet mit *Leishmania infantum*-Antigenen
- 1 Tropfflasche **A** mit 1,0 ml, 3,0 ml, 7,5 ml oder 2x7,5 ml Pufferlösung
- 2, 10, 25 oder 50 Einmal-Kunststoffpipetten
- 1 Gebrauchsinformation

### HALTBARKEIT UND LAGERUNG

Lagerung  
15–25°C  
15–25°C

Verwendbar bis  
– siehe Etikett

### ANWENDUNG UND ABKÜRZUNGEN



Für den tierärztlichen Gebrauch



Chargen-Bezeichnung



In vitro Diagnostikum



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



Gebrauchsinformation genau beachten

**B** – TESTLinie, **C** – KONTROLLlinie, **LF** – Lateral flow

### HAFTUNG

Das gesamte Haftungsrisiko im Zusammenhang mit der Verwendung dieses Produktes liegt beim Käufer. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für indirekte, spezielle oder daraus folgende Schäden jeglicher Art, die aus der Benutzung, Testdurchführung und -auswertung dieses Produktes resultieren.

## 2. EINLEITUNG

Die viszerale Leishmaniose des Hundes wird weltweit durch das Protozoon *Leishmania infantum* verursacht. Der Hund und andere Caniden gelten dabei als Erregereservoir für die Leishmaniose des Menschen (Zoonose).

Bis dato galt die Leishmaniose in Leishmaniose-freien Gebieten als reine Reise- bzw. Importerkrankung. Neueste Untersuchungen zeigen zunehmend sporadisch auftretende, autochthone Leishmaniosefälle in bisher Leishmaniose-freien Gebieten. Die Überträger, Sandmücken (Phlebotominae), benötigen generell ein subtropisch-tropisches Klima, das aber nicht geographisch an derartige Klimazonen gebunden sein muss. So gibt es erste wissenschaftlich bestätigte Funde von Sandmücken in gemäßigten Klimazonen. Darüber hinaus wird eine Infektion durch Deckart (Urin/Sperma), durch diaplazentare Übertragung sowie durch Bluttransfusionen diskutiert.

Die durch den Stich der Mücke übertragenen Leishmanien befallen und vermehren sich in Makrophagen und Zellen des retikuloendothelialen Systems (u. a. in Leber, Milz, Knochenmark, Lymphknoten). Je nach Leishmanienzytomem bzw. Immunstatus des Hundes kommt es zu variablen klinischen Bildern mit mehr oder weniger dermatologischer (Haut- und Krallenveränderungen aller Art) bzw. viszeraler (Apathie, Fieber, Nasenbluten, Lahmheiten, Nierenversagen) Form.

Bedingt durch individuell extrem variable Inkubationszeiten von wenigen Monaten bis zu mehreren Jahren können erkrankte Tiere innerhalb dieser Zeit symptomfrei sein. Der Nachweis von Leishmanien-Antikörpern kann hier hinweisend sein für eine sich anbahnende oder bestehende Infektion. Daher sollten klinisch verdächtige Tiere bzw. Tiere, die in endemischen Leishmaniosegebieten waren bzw. aus ihnen importiert wurden, mehrmals im Abstand von 2–4 Wochen serologisch auf Antikörper getestet werden.

Tiere aus endemischen Gebieten bzw. asymptomatische Tiere können konstant grenzwertige bis schwache Antikörperkonzentrationen („Seroprävalenz“) zeigen. Dagegen weisen klinisch erkrankte Tiere einem deutlichen Titeranstieg zwischen 2 Testungen („Krankheitsprävalenz“) auf. Daher kommt dem indirekten Nachweis von Antikörpern mittels **FASTest® LEISH** eine hohe diagnostische Bedeutung zu.

## 3. INFORMATIONEN ZUM PROBENMATERIAL

Für den Test werden ca. **40–50 µl (1 Tropfen aus der beigefügten Einmalpipette) 15–25°C warmes Vollblut (VB, mit Gerinnungshemmer) bzw. Plasma (P) oder Serum (S)** benötigt. **Nativblut ohne Zusatz von Gerinnungshemmern sollte auf Grund potentieller Mikroagglutinationen** (z. B. Migrationsverzögerung auf der Membran, unspezifische Reaktionen etc.) **nicht verwendet werden!**

Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren! Ungekühlt (**15–25°C**) sollten VB, P und S innerhalb von 4 Stunden getestet werden! Bei **2–8°C** können VB, P und S bis max. 4 Tage gelagert werden. **Serum- und/oder Plasmaproben** können dauerhaft **bei mindestens –20°C** aufbewahrt werden. Beachten Sie, dass das Probenmaterial, ebenso wie alle verwendeten Testkitkomponenten, zum Zeitpunkt der Anwendung **Raumtemperatur** haben sollte.

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

## 4. PROBENVORBEREITUNG

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

## 5. TESTDURCHFÜHRUNG

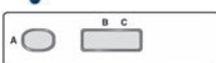
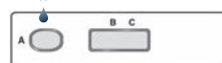
1. Entnehmen Sie die Testkassette erst kurz vor Gebrauch der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.
2. Geben Sie **1 Tropfen (ca. 40–50 µl) Vollblut, Plasma oder Serum mit der beigefügten Einmalpipette (nicht direkt aus der Nadel!) in das Probenfenster A der Testkassette** (Pipette dabei senkrecht halten, Abb.1).
3. Halten Sie die Tropfflasche **A** senkrecht und tropfen Sie **5 Tropfen Pufferlösung (ca. 200–250 µl)** in das Probenfenster **A** (Abb.2).
4. Sollte 1 Minute nach Auftropfen der Pufferlösung kein beginnender m.o.w. pinkfarbener LF sichtbar werden, geben Sie sofort 1 Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster **A**.



Abb.1



Abb.2



## 6. ABLESEN DES TESTERGEBNISSES



Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von **15 Minuten** nach Zugabe der fünf Tropfen in das Probenfenster **A** abzulesen.

### POSITIVES TESTERGEBNIS (Abb.3)

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

### NEGATIVES TESTERGEBNIS (Abb.4)

Nur eine **pink-purpurfarbene KONTROLLlinie** erscheint. Diese Linie zeigt, unabhängig von ihrer Intensität, die korrekte Testdurchführung an.

### UNGÜLTIGES TESTERGEBNIS

Keine KONTROLLlinie sichtbar. Der Test muss unter Verwendung einer neuen Testkassette wiederholt werden.

Abb.3  
POSITIVES TESTERGEBNIS

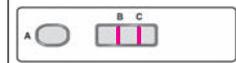
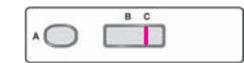


Abb.4  
NEGATIVES TESTERGEBNIS



## 7. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Beschriften Sie Probenmaterial und zugehörige Testkassette, damit die exakte Zuordnung gewährleistet ist.
- Für jede Probe eine neue Pipette verwenden.
- Die Pufferlösung enthält geringgradige Konzentrationen an toxischem Natriumazid als Konservierungsmittel. Haut-/Augenkontakt und/oder Ingestion sind unbedingt zu vermeiden!
- Das Probenmaterial muss als potentiell infektiös angesehen werden und ist mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

## 8. TESTPRINZIP

Der **FASTest® LEISH** basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“ für den Nachweis von *Leishmania infantum*-Antikörpern in Vollblut, Plasma oder Serum infizierter Hunde.

Die im Probenmaterial enthaltenen Leishmania-Antikörper reagieren im Konjugatkissen mit mobilen, an Goldpartikel konjugierten, monoklonalen Antikörpern. Diese Antikörper-Komplexe wandern entlang der Membran („lateral flow“, **LF**) und binden unter Ausbildung einer pink-purpurfarbenen TESTLinie (**B**) an membranfixierte *Leishmania*-Antigene. Die verwendeten Antikörper garantieren ein hohes Maß an Spezifität, um *Leishmania infantum*-Antikörper zu detektieren.

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

Der **FASTest® LEISH** basiert auf rekombinanten, hochspezifischen Peptiden für den schnellen und zuverlässigen Nachweis von *Leishmania infantum*-Antikörpern in Vollblut, Plasma oder Serum infizierter Hunde.

## 9. INFORMATIONEN ZUR TESTAUSWERTUNG

- Die Interpretation des abgelesenen Testergebnisses sollte im Rahmen der Anamnese, Klinik, Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten betrachtet werden.
- Jegliche nicht beschriebenen Farb- und Konturabweichungen von **B** und **C** (z. B. gräuliche, schattenartige Linien) sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollbluts und/oder stark hämolysierten Probenmaterials kann **B** aufgrund des m. o. w. stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.
- Auf Grund der Neueinführung eines Leishmaniose-Impfstoffes sollte der individuelle Antikörpertiter-Status des Hundes **vor der Impfung** bestimmt werden, um eine Entscheidung „Impfung oder Nicht-Impfung“ entsprechend den Richtlinien des Impfstoffherstellers treffen zu können.
- Bei der Antikörperbestimmung gilt die Zwei-Stufen-Diagnostik als Mittel der Wahl. In einer ersten Stufe wird ein IgG-Antikörper-Screening-Test, der **FASTest® LEISH**, in der Praxis eingesetzt. Da Hunde aus endemischen Leishmaniengebieten grundsätzlich Leishmanien-Antikörper ohne klinische Symptomatik aufweisen können, belegt ein positiver **FASTest® LEISH** lediglich den Kontakt mit Leishmanien. Der Verdacht auf eine aktive Leishmaniose wird durch die Kombination eines **FASTest® LEISH** mit entsprechender Symptomatik erhärtet. Darüber hinaus sollte im Abstand von 2–4 Wochen ein Serumpaar zur quantitativen Antikörpertiterbestimmung mittels indirekter Immunfluoreszenz (**MegaFLUO® LEISH**) durchgeführt werden, um einen Endtiter bzw. einen Titeranstieg zu bestimmen.

# FASTest® LEISH

ad us. vet.



In vitro diagnosticum

Test-kit for the qualitative detection of antibodies against *Leishmania infantum* in whole blood, plasma or serum of the dog

## INSTRUCTIONS FOR USE



## 1. INFORMATION ON THE TEST-KIT

### TEST-KIT COMPONENTS

1 test-kit **FASTest® LEISH** contains:

- 2, 10, 25 or 50 test cassettes coated with *Leishmania infantum* antigens
- 1 dropper bottle **A** with 1.0 ml, 3.0 ml, 7.5 ml or 2x7.5 ml buffer diluent
- 2, 10, 25 or 50 disposable plastic pipettes
- 1 instructions for use

### STABILITY AND STORAGE



Store at  
15–25°C



Expiry date  
– see label

### APPLICATION AND ABBREVIATIONS



For veterinary use only



Lot number



In vitro diagnosticum



Do not use test-kit components from different kits, lot numbers or beyond stated expiry date.



Follow instructions for use precisely

**B** – TEST line, **C** – CONTROL line, **LF** – Lateral flow

### LIABILITY

The entire risk due to the performance of this product is assumed by the purchaser. The manufacturer shall not be liable for indirect, special or consequential damages of any kind resulting from the use of this product.

## 2. INTRODUCTION

The visceral leishmaniasis of the dog is caused by the protozoan *Leishmania infantum* world-wide. Dogs and other canines are considered to be the reservoir for leishmaniasis in humans (zoonosis). To date leishmaniasis was known in Leishmania free regions as a pure travel or import disease. New investigations show increased sporadic occurring autochthonous cases of leishmaniasis in so far Leishmania free regions. The vectors, sandflies (Phlebotominae), admittedly need a subtropical to tropical climate, which however is not geographically dependent on such climatic zones. There are first scientific verified discoveries of sandflies in temperate zones. Furthermore, an infection via mating (urine/sperm), via diaplacental transmission and via blood transfusion are discussed.

Leishmania are transferred by sand-flies via stings. They infest and reproduce in macrophages and cells of the reticuloendothelial system (among others liver, spleen, bone marrow, lymph nodes). Dependent on the Leishmania zymodem and the immune status of the dog, there are variable clinical symptoms with more or less dermatological (different skin and claw alterations) and visceral (apathy, fever, nose bleeding, lameness, kidney failure) manifestations.

Due to the individual extremely variable incubation times, from a few months to several years, infested animals can be free of symptoms during that time. The detection of Leishmania antibodies can be pointing at an initiating or an existing infection. Thus, suspected animals and animals from endemic leishmaniasis regions (travel or import) should be tested serologically for antibodies repeatedly in an interval of 2–4 weeks.

Animals from endemic areas and asymptomatic animals can show borderline to weak antibody titre ("seroprevalence"), whereas clinical diseased animals show a clear increase of titre between two tests ("disease prevalence"). Therefore the indirect detection of antibodies with **FASTest® LEISH** gets a greater diagnostic importance.

## 3. INFORMATION ON THE SPECIMEN MATERIAL

Approximately 40–50 µl (1 drop of attached plastic pipette) 15–25°C warm whole blood (WB, with anticoagulant), plasma (P) or serum (S) are needed. Native blood without anticoagulant should not be used due to potential micro agglutination (e.g. migration delay on the membrane, un-specific reaction)!

Mix the sample material well before use!

Non-cooled (15–25°C), WB, P and S should be tested within 4 hours! At 2–8°C, WB, P and S can be stored up to 4 days. Serum and/or plasma samples can be permanently stored at minimum –20°C.

Keep in mind that the sample material, as well as all used test-kit components, should have reached room temperature at the time of application.

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

## 4. SPECIMEN COLLECTION AND PREPARATION

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

## 5. TEST PROCEDURE

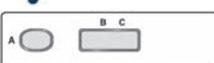
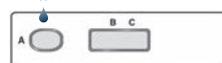
1. Remove the test cassette from its foil pouch shortly before use. Place it on a flat surface.
2. Take the disposable plastic pipette (not directly from the needle!) and express 1 drop (40–50 µl) of whole blood, plasma or serum into the sample window A of the test cassette. Hold the pipette vertically (fig.1).
3. Hold the dropper bottle A vertically and express 5 drops of buffer diluent (ca. 200–250 µl) into the sample window A (fig.2).
4. Add 1 additional drop of buffer diluent into the sample window A if there is no beginning LF visible within 1 minute after adding the buffer diluent.



fig.1



fig.2



## 6. READING OF THE TEST RESULT

Read the test result 15 minutes after the five drops have been added into the sample window A.

### POSITIVE TEST RESULT (fig.3)

A pink-purple TEST line of any intensity (varying from very weak to strongly intensive) and a pink-purple CONTROL line appear.

### NEGATIVE TEST RESULT (fig.4)

Only a pink-purple CONTROL line appears. This line indicates, irrespective of its intensity, that the test has been performed properly.

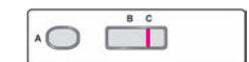
### INVALID TEST RESULT

No CONTROL line visible. The test should be repeated using a new test cassette.

fig.3  
POSITIVE TEST RESULT



fig.4  
NEGATIVE TEST RESULT



## 7. PRECAUTIONS FOR USERS

- Label sample material and associated test cassette to ensure a precise assignment.
- Use a new pipette for each sample.
- The buffer diluent contains low concentrations of toxic sodium azide as a preservative, therefore avoid skin/eye contact and/or ingestion.
- The sample material must be seen as potentially infectious and disposed of accordingly, together with the used test-kit components.

## 8. TEST PRINCIPLE

The **FASTest® LEISH** is based on an immunochromatographic "sandwich principle" detecting specific antibodies against *Leishmania infantum* in the whole blood, plasma or serum of infected dogs.

The antibodies against Leishmania present in the sample will react in the conjugate pad with mobile monoclonal antibodies, which are conjugated to colloidal gold particles. These antibody complexes are migrating ("lateral flow", **LF**) along the nitrocellulose membrane and bind to fixed *Leishmania* antigens forming a pink-purple TEST line (**B**). These monoclonal antibodies guarantee a high level of specificity for the aetiologic detection of antibodies against *Leishmania infantum* in the sample.

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

**FASTest® LEISH** is based on highly specific recombinant peptides for the fast and reliable detection of antibodies against *Leishmania infantum* in whole blood, plasma or serum of infected dogs.

## 9. INFORMATION FOR THE INTERPRETATION

- The interpretation of the test result should always be based on anamnestic and clinical data as well as the therapy and prophylaxis possibilities.
- Any non-described colour or contour variation of B and C (e.g. greyish, shadow-like lines) has to be considered as unspecific reaction and therefore as negative test result.
- Due to anticoagulated whole blood and/or red hemoglobin background of the test membrane, caused by hemolytic blood samples, the visibility of B, especially in case of weak positive samples, could be from worse to not visible.
- Due to the innovation of a Leishmania vaccine, it is required to determine the antibody titre status of the dog before vaccination to get a decision "vaccination or no vaccination" adequate to the guidelines of the vaccine manufacturer.
- For the detection of antibodies, a two-step diagnostics is known to be standard. The first step starts with in-clinic IgG antibody screening test like **FASTest® LEISH**. Due to the fact that dogs from endemic areas show antibodies against Leishmania on principle without clinic, a positive **FASTest® LEISH** only means contact with Leishmania in the past. The suspicion about an active leishmaniasis is substantiated by combination of **FASTest® LEISH** and according clinic. Furthermore, two serum samples at intervals of 2–4 weeks should be taken for quantitative antibody titre determination via indirect immunofluorescence test (**MegaFLUO® LEISH**) to determine the end titre or a titre increase.