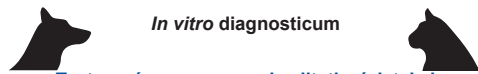


FASTest® HW Antigen



In vitro diagnosticum

Testovací souprava pro kvalitativní detekci specifických antigenů *Dirofilaria immitis* v plné krvi, plazmě nebo séru psů a koček

NÁVOD K POUŽITÍ

Držitel rozhodnutí o schválení:

dot diagnostics®

DOT diagnostics, s.r.o.

Korytná 47, 100 00 Praha 10 – Strašnice

www.dotdiag.cz

dotdiag@dotdiag.cz

Výrobce:



Lochauer Str. 2

6912 Hörbranz – AUSTRIA

www.megacor.com

1. INFORMACE O TESTOVACÍ SOUPRAVĚ

SLOŽENÍ TESTOVACÍ SOUPRAVY

1 testovací souprava **FASTest® HW** Antigen obsahuje:

- 2*, 10**, 25*** nebo 50**** testovacích kazet potažených monoklonálními protilátkami
- 1 lahvička **A** s kapátkem s *1.0 ml, **1.5 ml, ***3.0 ml pufru nebo ****2 lahvičky **A** s kapátkem s 3.0 ml pufru
- 2, 10, 25 nebo 50 jednorázových plastových pipet
- 1 návod k použití

STABILITA A SKLADOVÁNÍ

Skladujte při teplotě 15–25°C

Datum expirace – viz štítek

POUŽITÍ A ZKRATKY

Pouze pro veterinární použití

Šarže

Diagnostika in vitro

Nepoužívejte součásti z různých testovacích sad či šarží nebo po uplynutí uvedeného data expirace.

Dodržujte návod k použití

DALŠÍ INFORMACE

Veterinární přípravek

S – testovací linie, **C** – kontrolní linie, **LT** – laterální tok

ODPOVĚDNOST

Veškerá rizika vyplývající z použití tohoto výrobku na sebe přejímá kupující. Výrobce neodpovídá za nepřímé, zvláště nebo následné škody jakéhokoliv druhu vyplývající z používání tohoto výrobku.

10. VÝDOL

Dirofilaria psů, koček, fretek i jiných masožravců je způsobena tzv. „srdečním červem“, hlísticí *Dirofilaria immitis* z čeledi filárií. Infekce člověka (koncový hostitel) je možná (zoonóza). Filárie se vyskytují zejména v plicích a spojivkové tkáni, jen zřídka jsou však diagnostikovány.

K přenosu dochází prostřednictvím infikovaných hematofágních druhů komárů (Culicidae), které bodnutím uvolňují infekční larvy *D. immitis* (3. larvální stádium) do krve hostitele. V podkoží hostitele se vyvíjí 4. larvální stádium (asi 8 dní po infekci), tyto larvy následně migrují do krevního oběhu. K migraci dospělých jedinců (makrofilárie: až 1 mm tlusté, 20–30 cm dlouhé) do cílového orgánu, zejména plicnice a pravé srdeční komory, dochází nejdříve 80 dní po infekci. Dospělé samice parazitují bisexuálních makrofilárií produkují nové larvy (mikrofilárie, 1. larvální stádium) nejdříve po 6 (u psů) či 7 (u koček) měsících. Tyto mikrofilárie se společně s antigeny samičího reprodukčního systému uvolňují do periferní krve (mikrofilárie), z krve hostitele jsou přeneseny při sání krve komárem. V komárech dochází k vývoji a z 1. larválního stádia postupně vzniká infekční 3. larvální stádium.

Závažnost onemocnění závisí na množství dospělých jedinců („parazitární zátěž“), lokalizaci, délce infekce a imunologické reakci hostitele. Parazitární zátěž se u psů a koček výrazně liší, běžná parazitární zátěž koček je méně než 5 jedinců, pro psy je obvyklá parazitární zátěž vyšší než 30 jedinců.

Dirofilaria je v první řadě kardiopulmonální onemocnění, které zpočátku probíhá bezpříznakově. V pokročilém stádiu dochází k pravostrannému srdečnímu selhání a cor pulmonale, což se projevuje kašlem, dušností, srdečními a plicními šelesty, edémem či rychlou únavou. Zejména u malých psů se při velké parazitární zátěži objevuje syndrom dolní duté žíly (obturační stenóza v důsledku masivního shluku parazitů) v dolní duté žíle či pravé srdeční síně) a vede tak k intravaskulární hemolyze, šoku, selhání ledvin a náhlé smrti.

U koček je pravděpodobnější postižení plic, příznaky nejsou vždy specifické pro tuto infekci. I jediný jedinec *D. immitis* však může být smrtelný.

Vzhledem k poměrně obtížné klinické diagnóze a zároveň krátkému přechodnému průběhu mikrofilariémie je doporučeno opakovaně testování pomocí **FASTest® HW** Antigen.

Rychlý a spolehlivý **FASTest® HW** Antigen detekuje skupinově specifické antigeny aktivního reprodukčního traktu dospělých samic *D. immitis*. Vzhledem k dlouhé inkubační době 6 měsíců (u psů), resp. 7 měsíců (u koček) po infekci (po pobytu v oblastech s výskytem dirofilariozy) by mělo být zvíře testováno pomocí **FASTest® HW** Antigen nejdříve 6 až 7 měsíců po pobytu v oblasti se zvýšeným rizikem dirofilariozy.

3. INFORMACE O VZORKU

Je zapotřebí **25 µl (1 kapka z přiložené jednorázové plastové pipety) čerstvé plné krve** (s antikoagulantem jako je heparin či EDTA, nebo bez nich), **plazmy nebo séra o teplotě 15–25°C**. **Nativní krev bez antikoagulantu by neměla být použita kvůli možné tvorbě mikrokráseňin.** Vzorek před použitím dobře promíchejte!

Nezchladená (15–25°C) plná krev, plazma a sérum by měly být testovány do 4 hodin! Při 2–8°C mohou být plná krev s antikoagulantem, plazma a sérum uloženy až 3 dny. **Vzorky séra a/nebo plazmy lze dlouhodobě uchovávat při teplotě minimálně –20°C.**

Mějte na paměti, že materiál vzorku, stejně jako všechny použité komponenty testovací soupravy, by měly být v době aplikace vytemperované na pokojovou teplotu.

Endogenní a exogenní interferující látky ve vzorku (např. albumin, fibrinogen, lipidy, CRP, heterofilní protilátky, zejména typ IgA, stejně jako viskozita, hodnota pH a přebytek EDTA) a **nativní krev mohou způsobit interference** (matricové jevy), které mohou ovlivnit cílové měření. Mohou vést k poškození laterálního toku a/nebo nespecifickým reakcím na testovací a kontrolní linii.

4. PŘÍPRAVA VZORKU

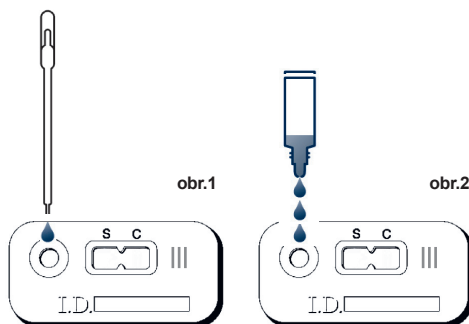
Běžně nevyžaduje přípravu vzorku!

Při přítomnosti klinických příznaků dirofilariozy a podezření na falešně negativní výsledek (více viz Oddíl 9 Informace pro interpretaci výsledku) je doporučeno před testováním tepelně ošetřit vzorek plazmy/séra pro zvýšení senzitivity detekce antigenů.

Plazmu/sérum zahřívejte v termostatu až na teplotu 103°C po dobu 10 minut. Vzniklý koagulát ihned centrifugujte po dobu 5 minut při 16 000×g (v optimálním případě, alternativně lze centrifugovat při 8–12 000×g). Supernatant získaný centrifugací je možné použít jako vzorek pro testování.

5. PROVEDENÍ TESTU

1. Krátce před použitím opatrně vyjměte testovací kazetu z fólie a umístěte ji na rovný povrch.
2. Pomocí jednorázové plastové pipety kápněte do kulatého okénka na testovací kazetě (obr.1) **1 kapku (cca 25 µl) vzorku plné krve, plazmy nebo séra**. Pipetu držte svisle!
3. Lahvičku **A** s kapátkem držte svisle a kápněte 3 kapky pufru (cca 100–120 µl) do okénka pro vzorek na testovací kazetě (obr.2).
4. Pokud po 2 minutách od přidání pufru není viditelný růžovo-fialový laterální tok, kápněte 1 další kapku pufru do okénka pro vzorek.



6. VYHODNOCENÍ TESTU

Výsledek testu odečtete **15 minut** po přidání 3 kapek pufru do okénka pro vzorek.

POZITIVNÍ VÝSLEDEK TESTU (obr.3)

Objeví se **fialovorůžová testovací linie (S) jakékoli intenzity (od velmi slabé až po velmi intenzivní) a fialovorůžová kontrolní linie (C)**.

NEGATIVNÍ VÝSLEDEK TESTU (obr.4)

Objeví se pouze **fialovorůžová kontrolní linie (C)**. Tato linie ukazuje bez ohledu na intenzitu, že test byl proveden správně.

NEPLATNÝ VÝSLEDEK TESTU

Neobjeví se kontrolní linie (C). Test zopakujte s novou testovací kazetou.

obr.3 POZITIVNÍ VÝSLEDEK TESTU



obr.4 NEGATIVNÍ VÝSLEDEK TESTU



7. UPOZORNĚNÍ PRO UŽIVATELE

- Je třeba dodržovat pokyny pro práci ve zdravotnické laboratoři. Je doporučeno používat jednorázové rukavice a další osobní ochranné prostředky (ochranný oděv, případně obličejovou masku). Po dokončení testu si umyjte a vydezinfikujte ruce.
- Abyste zajistili správné přiřazení, označte materiál vzorku a příslušnou testovací kazetu.
- Pro každý vzorek použijte novou pipetu a novou testovací kazetu.
- Pufr obsahuje nízké koncentrace toxického azidu sodného jako konzervační látky, proto se vyhněte styku s kůží/očima a/nebo požití.
- Vzorek je nutné považovat za potenciálně infekční a spolu s použitými součástmi testovací soupravy musí být odpovídajícím způsobem zlikvidován.
- Papírový obal a návod vyhodte do recyklační nádoby na papír, plastové obaly a fólie do recyklační nádoby na plast. Nepoužité testy lze vyhodit do smíšeného odpadu.
- Použité testy, pipety a další jednorázový materiál, který přišel do kontaktu s potenciálně infekčním materiálem, by měly být před vyhozením do smíšeného odpadu sterilizovány v autoklávu.
- Uchovávat mimo dohled a dosah dětí.

8. PRINCIP TESTU

Test **FASTest® HW** Antigen je založen na imunochromatografickém „sandvičovém principu“ detekujícím skupinově specifické antigeny reprodukčních orgánů dospělých samic *Dirofilaria immitis*.

Antigeny *Dirofilaria immitis* přítomné ve vzorku reagují s volnými monoklonálními anti-*Dirofilaria immitis* protilátkami konjugovanými s částicemi koloidního zlata. Tyto komplexy antigen-protilátka migrují po nitrocelulózové membráně („laterální tok“, **LT**), kde se váží k imobilizovaným protilátkám a vytváří tak fialovorůžovou TESTOVACÍ linii (**S**). Intenzita a šířka TESTOVACÍ linie (**S**) závisí na koncentraci antigenů *Dirofilaria immitis* v testovaném vzorku.

Správný postup provedení testu bude indikován druhou fialovorůžovou KONTROLNÍ linií (**C**).

9. INFORMACE PRO INTERPRETACI VÝSLEDKU

- Interpretace výsledku testu by měla být vždy založena na anamnestických a klinických údajích, jakož i na možnosti terapie a prevence.
- Jakákoliv výše nepopsaná barva nebo obrys na kontrolní (C) nebo testovací (S) linii (např. našedlé stínové linie), musí být považována za nespecifickou reakci, a tudíž negativní výsledek.
- Pozitivní výsledek testu je možné pozorovat již za 1 minutu od začátku testu v závislosti na závažnosti infekce.
- Z důvodu antikoagulované plné krve a/nebo červeného hemoglobinového pozadí testovací membrány, způsobeného hemolyzovanými vzorky krve, může být testovací linie (S), zvláště v případě slabě pozitivních vzorků, špatně viditelná až neviditelná.

Možné důvody pro falešně pozitivní výsledek testu

- Zvíře s již mrtvými dospělci dirofilarii vykazuje pozitivní výsledek testu na zjištění přítomnosti antigenů po dobu cca 3–4 měsíců → po 4 měsících je doporučeno provést druhý test!

Možné důvody pro falešně negativní výsledek testu

- Pes (nebo kočka) je infikován kratší dobu než 6 (7) měsíců.
- Velmi nízká parazitární zátěž, zejména u koček.
- Infekce pouze samičími jedinci dirofilarii, infekce negravidními samicemi dirofilarii („jednopohlavní infekce“).
- Maskování antigenu imunitními komplexy (dlouhodobá preventivní léčba makrocyclickými laktomy [„slow-kill medikace“], zánět). Doporučení: tepelná inaktivace plazmy/séra (více viz Oddíl 4 Příprava vzorku).

FASTest® HW Antigen nevykazuje žádnou zkříženou reaktivitu s *Angiostrongylus vasorum* (interní studie Institutu parazitologie Veterinární fakulty Univerzity v Curychu, březen 2020)