

Testkit zum qualitativen Nachweis von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* sensu lato und/oder *Anaplasma* spp. (*A. phagocytophilum*, *A. platys*) im Vollblut, Plasma oder Serum des Hundes. In-vitro-Diagnostikum.



Klinische Bedeutung

Die Borreliose und die granulozytäre Anaplasmosose (**gA**) zählen zu den zeckenübertragenen Infektionskrankheiten v. a. der nördlichen Hemisphäre.

Zeckenreiche Regionen (endemische Gebiete) gelten als potentielle Ansteckungsgebiete. In Europa sind ca. 2–4,5% der Zecken (v. a. *Ixodes* spp.; *Dermacentor* spp.) mit *A. phagocytophilum* bzw. bis zu 30% mit *Borrelia burgdorferi* sensu lato (*B. b. s. l.* Genospezies *B. b. sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*) infiziert. Die Antikörper (Ak)-prävalenz (z. T. bis zu 95%) korreliert in endemischen Gebieten mit der Haltung, der Zeit im Freien sowie der Saugdauer der Zecken. Der Erreger der thrombozytären Anaplasmosose (**tA**), *A. platys*, kommt weltweit, v. a. in der südlichen Hemisphäre, vor.

Die Diagnose Borreliose und/oder Anaplasmosose gestaltet sich aufgrund sehr ähnlicher klinischer Symptomatik schwierig und ist nur durch eine analytische Betrachtung der Krankheitsgeschichte, des Zeitpunkts des Auftretens der klinischen Symptome sowie durch gezielte Labordiagnostik sicherzustellen. Koinfektionen sind häufig und verschlimmern i. d. R. den klinischen Verlauf.

Im Falle einer **gA** treten i. d. R. 2–3 Wochen p. inf. Fieber, Apathie, neuromuskuläre Störungen, Polyarthritiden mit Gelenkschmerz und -Schwellung/Lahmheit sowie Gewichtsverlust, Thrombozytopenie, Anämie, Petechien und ein deutlicher Ak-Titeranstieg und erhöhte Entzündungswerte (v. a. CRP) auf. Dagegen treten bei einer Borreliose die Symptome i. d. R. 2 Monate p. inf. in Form von Lethargie, Abgeschlagenheit, Fieber, geschwollenen Lymphknoten, wechselnder Lahmheit, Arthritis und neurologischen Ausfallserscheinungen auf. Die **tA** verläuft zumeist asymptomatisch mit mildem Fieber, Uveitis, Petechien und Ekchymosen sowie Thrombozytopenie.

Bei der Ak-Bestimmung gilt die Zwei-Stufen-Diagnostik als Mittel der Wahl. In einer ersten Stufe wird ein Screening-Test mittels Primagnost® Anaplasma-Borrelia H in der Praxis durchgeführt. Da Hunde aus endemischen Anaplasmen- und Borreliengebieten grundsätzlich Ak gegen Anaplasmen bzw. *B. b. s. l.* aufweisen können, belegt ein positiver Primagnost® Anaplasma-Borrelia H lediglich den Kontakt, nicht in jedem Fall eine aktive Infektion. Ob der Borrelien-Ak-Titer impf- oder feldinfektionsbedingt ist, können nur wiederholte Westernblot-Untersuchungen (zweite Diagnostikstufe) unterscheiden. Im Falle eines Anaplasmaverdachts sollte ein positiver Primagnost® Anaplasma-Borrelia H durch eine quantitative Ak-Bestimmung etwa mittels Anaplasma-IFAT/ELISA, flankiert von einem direkten Erregernachweis (PCR/Blutausstrich), bestätigt werden.

Aufgrund ähnlicher Symptomatik beider Erkrankungen kann der Tierarzt mittels Primagnost® Anaplasma-Borrelia H schnell, einfach, vor Ort den *A. phagocytophilum*- und *A. platys*- bzw. den *B. b. s. l.*-Ak-Status des Tieres ermitteln und somit unverzüglich weitere diagnostische (IFAT, großes Blutbild, PCR etc.) und therapeutische sowie prophylaktische Maßnahmen einleiten.

Testprinzip

Der Primagnost® Anaplasma-Borrelia H basiert auf einem immunochromatographischen „Sandwich-Prinzip“ mit rekombinanten, hoch-

spezifischen Peptiden für den schnellen und zuverlässigen Nachweis von Antikörpern gegen *A. phagocytophilum* und *A. platys* bzw. *B. b. s. l.* im Vollblut, Plasma oder Serum infizierter Hunde.

Die im Probenmaterial enthaltenen Antikörper binden im Bereich des Konjugatkissens an mobile, mit Goldpartikeln konjugierte Antikörper und wandern entlang der Membran („Lateral Flow“) und binden unter Ausbildung einer violett-purpurfarbenen Testlinie (T) an membranfixierte, rekombinante Anaplasmen- bzw. Borrelienantigene.

Die korrekte Testdurchführung wird durch die Ausbildung einer zweiten violett-purpurfarbenen Kontrollinie (C) angezeigt.

Informationen zum Probenmaterial

Für den Test werden je 20 µl (aus der beigefügten Einmalpipette!) +15 bis +25 °C warmes Vollblut (VB, mit Gerinnungshemmer) bzw. Plasma (P) oder Serum (S) benötigt. Das Probenmaterial vor der Verwendung gut homogenisieren!

Ungekühlt (+15 bis +25 °C) sollten VB, P und S innerhalb von 4 Stunden getestet werden! Bei +2 bis +8 °C können VB, P und S bis max. 4 Tage gelagert werden. Plasma- und/oder Serumproben 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 Lateral Flow und/oder unspezifischen Reaktionen auf Test- und Kontrollinie führen.

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.

Testdurchführung

1. Entnehmen Sie die Doppeltestkassette erst kurz vor Gebrauch aus der Verpackung. Legen Sie sie auf eine glatte Oberfläche.

2. Saugen Sie mit der beigefügten Einmalpipette die Probe bis zur Markierung (± 20 µl Probenvolumen!) auf und geben das gesamte Probenvolumen (20 µl) in das Probenfenster S der ANAPLASMA-Testkassette (Pipette dabei senkrecht halten, Abb. 1). Wiederholen Sie den gesamten Vorgang für die BORRELIA-Testkassette.

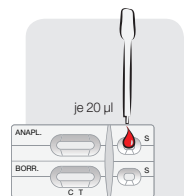
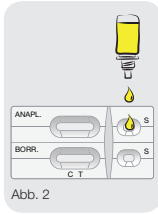


Abb. 1

3. Halten Sie die Tropfflasche senkrecht und tropfen Sie je 2 Tropfen (ca. 80–100 µl) der Pufferlösung in das Probenfenster S der ANAPLASMA- bzw. BORRELIA-Testkassette (Abb. 2).



4. Sollte 1 Minute nach Auftropfen der Pufferlösung kein beginnender mehr oder weniger violett-purpurfarbener Lateral Flow sichtbar werden, geben Sie sofort 1 weiteren Tropfen Pufferlösung in das Probenfenster S.

Ablesen des Testergebnisses

Das Testergebnis ist nach einer Inkubationszeit von 15 Minuten nach Zugabe der Pufferlösung in das Probenfenster S abzulesen.



Positives ANAPLASMA-BORRELIA-Testergebnis (Abb. 3–5)

Eine schwach bis stark intensiv violett-purpurfarbene Testlinie (T) und Kontrolllinie (C) erscheinen.

Abb. 3: ANAPLASMA positiv, BORRELIA positiv

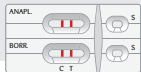


Abb. 4: ANAPLASMA negativ, BORRELIA positiv

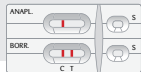


Abb. 5: ANAPLASMA positiv, BORRELIA negativ

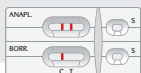


Abb. 6: ANAPLASMA negativ, BORRELIA negativ



Negatives Testergebnis (Abb. 4–6)

Nur eine violett-purpurfarbene Kontrolllinie (C) erscheint. Diese Linie zeigt, unabhängig von ihrer Intensität, die korrekte Testdurchführung an.

Ungültiges Testergebnis

Nur die schwach bis stark intensiv violett-purpurfarbene Testlinie oder keine der beiden Linien erscheint. Der Test muss unter Verwendung einer neuen Testkassette wiederholt werden.

Informationen zur Testauswertung / Warnhinweise

- Die Interpretation des abgelesenen Testergebnisses sollte im Rahmen der Anamnese, Klinik, Therapie- und Prophylaxemöglichkeiten betrachtet werden.
- Jegliche nicht beschriebenen Farb- und Konturabweichungen von Testlinie und Kontrolllinie (z. B. gräuliche, schattenartige Linien) sind als unspezifische Reaktionen und somit als negatives Testergebnis zu werten.
- Im Falle gerinnungsgehemmten Vollblut- und/oder stark hämolytierten Probenmaterials kann die Testlinie aufgrund des mehr oder weniger stark rötlichen Hintergrundes nur schwach oder nicht sichtbar sein.
- Positive Testresultate können in Abhängigkeit von der Antikörperkonzentration bereits vor Ende der 15-minütigen Inkubationszeit auftreten. Darüber hinaus abgelesene Testresultate sind nicht interpretierbar!

- Die Testlinie kann sowohl in Intensität (von schwach bis stark violett-purpurfarben) als auch in der Breite variieren und ist daher im Falle eines Erscheinens innerhalb der angegebenen Inkubationszeit als positiv zu interpretieren.

Positives Testergebnis

- Hund hatte Kontakt mit *B. b. s. l.* bzw. mit *A. phagocytophilum* / *A. platys*.
- Asymptomatische Hunde aus endemischen Borreliose- und/oder Anaplasmosen-Gebieten sind als potentielle Träger anzusehen. Subklinische Tiere können später eine klinische Erkrankung entwickeln, v. a. bei zusätzlicher Koinfektion mit einem zweiten vektorübertragenen Erreger.
- Zur Klärung „Immunantwort auf eine akute oder chronische Borreliose (B) bzw. Anaplasmosen (A)“ sollte ein Serumpaar im Abstand von 2 bis 4 Wochen gezogen werden und mittels IFAT und/oder Westernblot (nur *B. b. s. l.*) untersucht werden. Ein 2- bis 4-facher Titeranstieg (B/A) bzw. bei Borreliose ein borrelientypisches Bandenmuster im Blot und jeweils dazu passende Anamnese/Klinik (B/A) ist hinweisend auf das Vorliegen einer akuten B bzw. A.
- Hund ist gegen Borreliose geimpft worden. Antikörpertiter können noch Monate bis Jahre nach der Impfung nachweisbar sein.

Negatives Testergebnis

- Hund hatte keinen Kontakt mit *B. b. s. l.* bzw. mit *A. phagocytophilum* / *A. platys*.
- Tiere können zum Zeitpunkt der akuten Erkrankung noch seronegativ sein (Ak-Anstieg ca. ab 14 Tage p. inf.) und daher ein negatives Testergebnis aufweisen.

Haftung

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

Besondere Hinweise

- Nur für den tierärztlichen Gebrauch.
- Keine Testkits mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.

Vorsichtsmaßnahmen

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

Lagerung und Haltbarkeit

Bei Raumtemperatur +15 bis +25 °C lagern. Bei sachgemäßer Lagerung haltbar bis zum angegebenen Verfallsdatum.

Handelsform

- 1 Packung Primagnost® Anaplasma-Borreliose H enthält:
- 6 Doppeltestkassetten, beschichtet mit rekombinanten Anaplasmen- bzw. *Borrelia b. s. l.*-Antigenen
 - 1 Tropfflasche mit 2,0 ml Pufferlösung
 - 6 Einmal-Kunststoffpipetten
 - 1 Gebrauchsinformation