

# NADAL<sup>®</sup> Borreliosis Ag Test (test cassette)

REF 870004N-01/870004N-05



<b>DE</b> Gebrauchsanweisung	2	<b>CZ</b> Návod k použití	22
<b>EN</b> Instructions for use	5	<b>FI</b> Käyttöohje	24
<b>FR</b> Instructions d'utilisation	7	Symbols	27
<b>ES</b> Instrucciones de uso	10	Our Teams	28
<b>IT</b> Istruzioni per l'uso	13		
<b>PL</b> Sposób użycia	16		
<b>PT</b> Instruções de Utilização	19		

### 1. Verwendungszweck und Anwendungsbereich

Der NADAL® Borreliosis Ag Test ist ein membranbasierter Immunoassay zum schnellen und direkten Nachweis von Borrelien-Antigenen (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* und *B. spielmanii*) in der Zecke. Der Test ist ausschließlich für die Untersuchung kleiner bis mittelgroßer Zecken ( $\leq 8$  mm) entwickelt worden. Ein positives Ergebnis mit diesem Test zeigt die Anwesenheit von Borrelien in der Zecke an.

### 2. Einleitung und Diagnostische Bedeutung

Weltweit sind über 800 Zeckenarten bekannt, die sich hauptsächlich in zwei Familien einteilen lassen: die Schildzecken und die Lederzecken. Lederzecken kommen meistens in den Tropen und Subtropen vor. Schildzecken hingegen, wozu auch der Gemeine Holzbock zählt, sind weltweit verbreitet und sind Überträger der Lyme-Borreliose und Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME). Während sich FSME-Viren in den Speicheldrüsen der Zecken befinden und durch den Zeckenstich auf das Opfer direkt übertragen werden können, befinden sich Borrelien zunächst im Mitteldarm der Zecke. Erst während des Saugaktes gelangen sie in die Speicheldrüse und werden erst nach einigen Stunden auf das Opfer übertragen. Innerhalb der ersten Stunden nach dem Zeitpunkt des Stiches besteht somit noch kein großes Risiko einer Borrelioseinfektion. Die Ausscheidung von pathogenen Erregern beginnt frühestens zwei Stunden nach dem Blutansaugen der Zecke und erreicht ihren Höhepunkt erst nach 72 Stunden.

**Symptome der Lyme-Borreliose beim Menschen lassen sich in drei Stadien unterteilen:**

- **Einige Tage bis Wochen nach der Infektion:** Charakteristische Hautrötung, die so genannte Wanderröte, tritt um den Zeckenstich auf und breitet sich ringförmig aus. Sie tritt in ungefähr 70 Prozent der Fälle auf. Darauf folgen allgemeine grippeähnliche Symptome wie Schweißausbrüche, Fieber, Kopf-, Muskel- und Gelenkschmerzen.
- **Einige Wochen bis Monate später:** Entzündungen der Nerven und der Hirnhaut sind möglich. Starke, brennende Schmerzen und Rötungen, die über den ganzen Körper verteilt sein können, entstehen häufig um die ursprüngliche Stichstelle der Zecke. Es können Schwellungen der Gelenke sowie Beeinträchtigungen des Bewegungsapparates, der Psyche und der kognitiven Fähigkeiten auftreten. In einigen Fällen werden Lähmungen beispielsweise der Gesichtsmuskeln, selten auch Entzündungen des Herzens und Störungen des Herzrhythmus beobachtet.
- **Monate bis Jahre nach der Infektion:** Fälle von chronischer oder schubweise verlaufender Gelenkentzündung, zumeist der Knie- und Sprunggelenke (Lyme-Arthritis) oder Hautveränderungen, die so genannte Acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer, treten auf.

### 3. Testprinzip

Der NADAL® Borreliosis Ag Test ist ein membranbasierter Immunoassay zum schnellen und direkten Nachweis von Borrelien-Antigenen in der Zecke.

Das Testprinzip basiert auf polyklonalen Antikörpern, welche als Capture-Antikörper zusammen mit konjugierten Borrelien-Antikörpern auf dem internen Teststreifen eingesetzt werden, um die Borrelien-Antigene in der Probe nachzuweisen.

Zunächst wird das extrahierte Zeckenmaterial in die Probenvertiefung der Testkassette gegeben. Die Probe wandert dann durch Kapillarkraft den internen Teststreifen entlang. Sind Borrelien-Antigene in der Probe vorhanden, so bildet sich im Testlinienbereich ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex und als Folge davon, erscheint eine farbige Linie. Das Erscheinen einer Testlinie zeigt ein positives Ergebnis an. Wenn die Probe keine Borrelien-Antigene enthält, wird kein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex entstehen und es erscheint keine farbige Linie im Testlinienbereich. Das Testergebnis ist dann als negativ zu bewerten.

Das Erscheinen der farbigen Linie im Kontrolllinienbereich (C) dient als Verfahrenskontrolle und weist darauf hin, dass genügend Probenvolumen hinzugegeben wurde und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

### 4. Bestandteile der Testpackung

- 1/5 NADAL® Borreliosis Ag Testkassette(n) (inkl. Pipette(n) und Trocknungsmittel)
- 1/5 Zeckenröhrchen mit Puffer (0,2 ml)
- 1/5 Stäbchen
- 1 Zeckenzange
- 1 Gebrauchsanweisung

### 5. Zusätzlich benötigte Materialien

- Timer

### 6. Haltbarkeit und Lagerung der Reagenzien

Das Test-Kit sollte bei 2-30°C bis zum auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum gelagert werden. Die Testkassette muss bis zum Gebrauch im verschlossenen Folienbeutel verbleiben. Frieren Sie das Test-Kit nicht ein.

### 7. Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

- Lesen Sie die komplette Gebrauchsanweisung vor der Testdurchführung sorgfältig durch. Die Nichteinhaltung der Gebrauchsanweisung führt zu ungenauen Testergebnissen.
- Den Test nicht nach dem auf der Verpackung angegebenen Verfallsdatum verwenden.
- Test nicht verwenden, wenn der Folienbeutel beschädigt ist.
- Tests nicht wiederverwenden.
- Proben nicht in das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) geben.
- Das Reaktionsfeld (Ergebnisfeld) nicht berühren, um Kontamination zu vermeiden.
- Zur Vermeidung von Kreuzkontaminationen sollte für jede Probe ein eigenes Zeckenröhrchen verwendet werden.
- Keine Bestandteile aus unterschiedlichen Test-Kits austauschen oder mischen.
- Essen, trinken oder rauchen Sie nicht in dem Bereich, in dem mit Proben und Test-Kits umgegangen wird.
- Tragen Sie beim Umgang mit Proben Schutzkleidung wie Laborkittel, Einmalhandschuhe und Schutzbrille.
- Behandeln Sie alle Proben so, als ob sie infektiöse Reagenzien enthielten. Beachten Sie bestehende Vorsichtsmaßnahmen für mikrobiologische Risiken während aller

Verfahren sowie Standardrichtlinien für die korrekte Probenentsorgung.

- Dieser Test enthält Erzeugnisse tierischen Ursprungs. Zertifizierte Kenntnisse der Herkunft und/oder des Sanitärzustands der Tiere gewährleisten nicht völlig die Abwesenheit übertragbarer Pathogene. Es wird daher empfohlen, diese Produkte als potentiell infektiös zu betrachten und sie gemäß den üblichen Sicherheitsvorkehrungen zu behandeln (z. B. Verschlucken oder Einatmen vermeiden).
- Feuchtigkeit und Temperaturen können Testergebnisse beeinträchtigen.
- Benutzte Testmaterialien sollten gemäß lokalen Vorgaben entsorgt werden.
- Zerkleinern Sie die Zecke sorgfältig, da sich die nachzuweisenden Borrelien in dem Darm der Zecke befinden.
- Halten Sie die Probenvertiefung der Testkassette frei von jeglichen Zeckenteilen.
- Verwenden Sie das Stäbchen nur für den in der Gebrauchsanweisung beschriebenen Gebrauch.
- Entnehmen Sie das Stäbchen dem Reagenzgemisch unmittelbar nach der Zerkleinerung der Zecke.

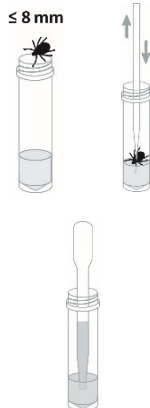
#### 8. Probennahme, -vorbereitung und -lagerung

Entfernen Sie die Zecke vorsichtig und achten Sie darauf, dass der Kopf mit entfernt wird. Hierfür ist der Gebrauch einer Zeckenzange zu empfehlen. Nach dem Entfernen der Zecke und bis zur Testdurchführung kann die Zecke in dem beiliegenden Zeckenröhrchen aufbewahrt werden. Die besten Ergebnisse liefert die Testung der Zecke unmittelbar nach dem Entfernen. Eine gründliche Zerkleinerung der Zecke ist von entscheidender Bedeutung für ein optimales Testergebnis, da sich die nachzuweisenden Borrelien in dem Darm der Zecke befinden.

#### 9. Testdurchführung

Eine optimale Testdurchführung ist von der Zeckengröße abhängig. Der Test ist ausschließlich für die Untersuchung kleiner bis mittelgroßer Zecken ( $\leq 8$  mm) entwickelt worden.

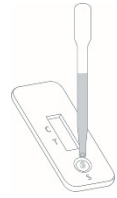
1. Geben Sie die Zecke in das Zeckenröhrchen mit Puffer.
2. Zerkleinern Sie die Zecke mit Hilfe des mitgelieferten Stäbchens, so dass auch der Darm zerkleinert wird und die Flüssigkeit sich färbt. Benutzen Sie hierfür die Spitze und die stumpfe Seite des Stäbchens. Danach entfernen Sie das Stäbchen.
3. Öffnen Sie den Folienbeutel und entnehmen Sie die Testkassette. Legen Sie die Testkassette auf eine saubere und ebene Oberfläche.
4. Füllen Sie die Pipette mit dem Zecken-Puffergemisch. Achten Sie darauf, dass Sie keine Zeckenteile mit aufnehmen.



5. Geben Sie das gesamte Zecken-Puffergemisch in die Probenvertiefung der Testkassette. Achten Sie darauf, dass Sie keine Zeckenteile in die Probenvertiefung geben, da diese die Probenvertiefung verstopfen können.

Die Flüssigkeit beginnt den internen Teststreifen entlang zu laufen.

6. Werten Sie das Testergebnis nach 10 Minuten aus. Nach mehr als 20 Minuten keine Ergebnisse mehr auswerten.



10 min

#### 10. Testauswertung

##### Positiv

Zwei farbige Linien erscheinen auf der Membran. Eine farbige Linie erscheint im Kontrolllinienbereich (C), die andere farbige Linie erscheint im Testlinienbereich (T). Die Linie im Testlinienbereich (T) zeigt an, dass Borrelien-Antigene in der Zecke nachgewiesen wurden.



Je weniger Borrelien-Antigene in der Zecke vorhanden sind, desto schwächer ist die Testlinie (T). Sogar eine schwache Testlinie sollte als ein positives Testergebnis ausgewertet werden. Die Kontrolllinie ist keine Referenzlinie und kann eine andere Farbsintensität als die Testlinie aufweisen.

##### Negativ

Es erscheint eine farbige Linie im Kontrolllinienbereich (C). Im Testlinienbereich (T) erscheint keine farbige Linie. Borrelien-Antigene sind nicht in der Probe nachweisbar.



##### Ungültig

Die Kontrolllinie erscheint nicht. Ergebnisse von den Tests, die nach der festgelegten Auswertzeit keine Kontrolllinie gebildet haben, müssen verworfen werden.

Überprüfen Sie den Verfahrensablauf und wiederholen Sie die Testung mit einer neuen Testkassette. Falls das Problem weiterbesteht, verwenden Sie das Test-Kit bitte nicht weiter und setzen Sie sich mit Ihrem Distributor in Verbindung.



**Hinweis:** Ungenügendes Probenvolumen, abgelaufene Tests oder fehlerhafte Vorgehensweise sind die wahrscheinlichsten Ursachen dafür, dass die Kontrolllinie nicht erscheint.

#### 11. Qualitätskontrolle

Eine im Kontrolllinienbereich (C) erscheinende farbige Linie wird als interne Verfahrenskontrolle betrachtet. Sie bestätigt ausreichendes Probenvolumen, eine korrekte Verfahrenstechnik und dass die Membran ausreichend durchnässt ist.

#### 12. Grenzen des Tests

- Der Test ist ausschließlich für die Untersuchung kleiner bis mittelgroßer Zecken ( $\leq 8$  mm) entwickelt worden.

- Ein positives Ergebnis mit diesem Test deutet auf die Anwesenheit von Borrelien in der Zecke hin.

### 13. Leistungsmerkmale des Tests

In einer Vergleichsstudie wurde untersucht, welche Borrelienspezies in gespikten Zecken mit dem NADAL® Borreliosis Ag Test im Vergleich zu einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) erkannt werden. Die folgenden Borrelienspezies: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* und *B. spielmanii* wurden mit beiden Testsystemen erkannt (Vergleichsstudie 2012/2013).

NADAL® Borreliosis Ag Test

Sensitivität: 92,86%

Spezifität: 95,83%

Positiver prädiktiver Wert: 86,67%

Negativer prädiktiver Wert: 97,87%

Gesamte Testleistung: 95,16%

### 14. Referenzen

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 OM/UJ

### 1. Intended Use

The NADAL® Borreliosis Ag Test is a membrane-based immunoassay for the rapid, direct detection of *Borrelia* antigens (*B. garinii*, *B. afzelii* and *B. burgdorferi sensu stricto* and *B. spielmanii*) in ticks. The test is developed for the examination of small to medium-sized ticks (≤8 mm) only. A positive result with this test indicates the presence of *Borrelia* in the tick.

### 2. Introduction and Clinical Significance

Over 800 species of ticks are known worldwide, which can be divided into two main families: the hard ticks and soft ticks. Soft ticks are usually to be found in the tropics and subtropics. Hard ticks, however, including the castor bean tick, are spread around the world and are carriers of Lyme borreliosis disease and tick-borne encephalitis (TBE). While TBE viruses are in the salivary glands of ticks and can be transmitted directly to the victim through the tick bite, *Borrelia* are initially located in the midgut of the tick. *Borrelia* reach the salivary glands while the tick is sucking blood and are transmitted to the victim only after a few hours. Thus, there is no great risk of a *Borrelia* infection within the first few hours after being bitten by the tick. The excretion of pathogens begins as early as two hours after being bitten by the tick and reaches its peak only after 72 hours.

**Symptoms of Lyme borreliosis disease in humans can be divided into three stages.**

- **Several days to weeks after infection:** characteristic skin redness, so-called erythema chronicum migrans, appears around the tick bite and spreads into a ring shape. It occurs in about 70 percent of cases and is followed by general flu-like symptoms, such as profuse sweating, fever, headaches, and muscular and joint pain.
- **A few weeks to months later:** Inflammation of the nerves and meninges are possible. A strong, burning pain around the original site of the tick bite and redness, which can spread over the whole body, frequently occur. Swelling of joints, as well as impairments of the locomotor system, the psyche and the cognitive abilities may appear. In some cases, paralysis of, for instance, facial muscles and less often inflammation of the heart and heart rhythm disorder occur.
- **Months to years after the infection:** Cases of chronic or recurring inflammation of joints, mostly in the knees and ankles (lyme arthritis) or skin changes, known as acrodermatitis chronica atrophicans herxheimer occur.

### 3. Test Principle

The NADAL® Borreliosis Ag Test is a membrane-based immunoassay for the rapid, direct detection of *Borrelia* antigens in ticks.

The test principle involves polyclonal antibodies, which are used as capture antibodies, along with conjugated *Borrelia* antibodies on the internal test strip to detect *Borrelia* antigens in the sample.

First, the extracted tick material is added to the sample well of the test cassette. The sample migrates along the internal test strip by capillary action. If *Borrelia* antigens are present in the sample, an antibody-antigen-antibody complex is formed in

the test line region and as a result, a coloured line appears. The appearance of a test line indicates a positive result. If the sample does not contain *Borrelia* antigens, no antibody-antigen-antibody complex is produced and no coloured line develops in the test line region. The test result should be considered negative.

The appearance of a coloured line in the control line region serves as a procedural control, indicating that the proper volume of specimen has been added and membrane wicking has occurred.

### 4. Reagents and Materials Supplied

- 1/5 NADAL® Borreliosis Ag test cassette(s) (incl. pipette(s) and desiccant)
- 1/5 tick tube(s) containing buffer (0.2 ml)
- 1/5 stick(s)
- 1 tick removal device
- 1 package insert

### 5. Additional Materials Required

- Timer

### 6. Storage & Stability

The test kit should be stored at 2-30°C until the expiry date printed on the packaging. The test cassette should remain in the sealed foil pouch until use. Do not freeze the test kit.

### 7. Warnings and Precautions

- Carefully read through the test procedure prior to testing. Failure to follow the instructions will lead to inaccurate test results.
- Do not use the test beyond the expiration date indicated on the package.
- Do not use the test if the foil pouch is damaged.
- Do not reuse tests.
- Do not add samples to the reaction area (result area).
- In order to avoid contamination, do not touch the reaction area (result area).
- Avoid cross-contamination of specimens by using a new tick tube for each specimen obtained.
- Do not substitute or mix components from different test kits.
- Do not eat, drink or smoke in the area where specimens and test kits are handled.
- Wear protective clothing such as laboratory coats, disposable gloves and eye protection when specimens are being assayed.
- Handle all specimens as if they contain infectious agents. Observe established precautions for microbiological risks throughout all procedures and standard guidelines for the appropriate disposal of specimens.
- The test kit contains products of animal origin. Certified knowledge of the origin and/or sanitary state of the animals does not completely guarantee the absence of transmissible pathogenic agents. It is therefore recommended that these products be treated as potentially infectious, and handled in accordance with usual safety precautions (e.g., do not ingest or inhale).
- Humidity and temperature can adversely affect test results.

- Used testing materials should be discarded according to local regulations.
- The tick must be crushed thoroughly, as *Borrelia* are located in the tick's colon.
- Keep the sample well of the test cassette clear of any tick particles.
- Only use the stick for the purpose described in the package insert.
- Immediately remove the stick from the reagent mixture after crushing the tick.

### 8. Specimen Collection and Preparation

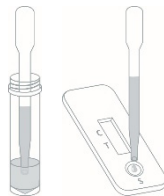
Remove the tick carefully and ensure that the head is also removed. The use of the tick removal device is recommended. After removing the tick and before starting the test, you can store the tick in the supplied specimen collection tube. Testing of the tick directly after the removal yields the best results. A thorough crushing of the tick is crucial for optimal testing results, as *Borrelia* to be verified are located in the tick's colon.

### 9. Test Procedure

The optimal test procedure depends on the size of a tick. The test is developed for the examination of small to medium-sized ticks (≤8 mm) only.

1. Place the tick into the tick tube containing buffer.
2. Crush the tick with the supplied stick until the tick's colon is crushed and the liquid takes on colour. Use the sharp and the dull sides of the stick for this purpose. Then remove the stick.
3. When ready to perform the test, open the foil pouch and remove the test cassette. Place it on a clean, flat surface.
4. Fill the pipette with the tick-buffer mixture. Ensure that you do not take up any tick particles.
5. Add the tick-buffer mixture to the sample well of the test cassette. Ensure that you do not add any tick particles to the sample well, as they may obstruct it. The liquid will start to migrate along the internal test strip.
6. Read the test result after 10 minutes. Do not interpret the result after more than 20 minutes.

≤ 8 mm



10 min

### 10. Result Interpretation

#### Positive:

Two coloured lines appear on the membrane. One line appears in the control line region (C) and the other line appears in the test line region (T). The line in the test line region (T) indicates that *Borrelia* antigens have been detected in the tick.



The less *Borrelia* antigens are present in the tick, the weaker the test line is (T). Even a weak test line should be interpreted as a positive test result. The control line is not a reference line and may have a different colour intensity as the test line.

#### Negative:

Only one coloured line appears in the control line region (C). No apparent coloured line appears in the test line region (T). No *Borrelia* antigens have been detected in the tick.



#### Invalid:

The control line fails to appear. Results from any test which has not produced a control line at the specified reading time must be discarded.

Please review the procedure and repeat the test with a new test cassette. If the problem persists, discontinue using the test kit immediately and contact your local distributor.



**Note:** Insufficient specimen volume, incorrect operating procedure or expired tests are the most likely reasons for the control line failure.

### 11. Quality Control

A coloured line appearing in the control line region (C) is considered an internal procedural control. It confirms sufficient specimen volume, adequate membrane wicking and correct procedural technique.

### 12. Limitations

- The test is developed for the examination of small to medium-sized ticks (≤8 mm) only.
- A positive result with this test indicates the presence of *Borrelia* in the tick.

### 13. Performance Characteristics

A comparative study has investigated which *Borrelia* species in spiked ticks can be detected with the help of the NADAL® Borreliosis Ag Test in comparison with the polymerase chain reaction (PCR). The following *Borrelia* species: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* and *B. spielmanii* were detected with both test systems (comparison study 2012/2013).

The NADAL® Borreliosis Ag Test

Sensitivity: 92.86%

Specificity: 95.83%

Positive predictive value: 86.67%

Negative predictive value: 97.87%

Total Test Performance: 95.16%

### 14. References

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 OM/UJ

### 1. Domaine d'application

Le test NADAL® Borreliosis Ag est un immunodosage sur membrane pour la détection rapide et directe des antigènes d'espèces *Borrelia* (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* et *B. spielmanii*) directement sur la tique. Le test est destiné à l'analyse de tiques de petites à moyennes tailles ( $\leq 8$  mm). Un résultat positif indique la présence de *Borrelia* dans la tique.

### 2. Introduction et signification clinique

Plus de 800 sortes de tiques sont recensées dans le monde. La plupart appartient à deux familles : Les Argasidae et les Ixodidae. Les tiques de type Ixodidae se retrouvent principalement dans les régions tropicales et subtropicales. Les tiques de type Argasidae, comprenant Ixodes ricinus, sont recensées partout dans le monde et sont porteuses de la maladie de Lyme ou de la méningoencéphalite à tique (VTBE). Le virus TBE se trouve dans la glande salivaire de la tique et est directement transmis à l'individu mordu par la tique. *Borrelia*, au contraire, se trouve dans l'abdomen de la tique. *Borrelia* ne se déplace vers les glandes salivaires qu'à travers le phénomène de succion et n'est transmis à la personne mordue que quelques heures après la morsure. Il n'existe pas de dangers spécifiques d'infection à *Borrelia* dans les premières heures suivant la morsure. L'excrétion des agents pathogènes commence au plus tôt 2 heures après le début de la succion du sang par la tique et atteint son paroxysme après 72h.

Les symptômes de la maladie de Lyme chez les humains incluent :

- **Quelques jours à quelques semaines après l'infection :** Apparition de rougeurs caractéristiques, également appelées érythème migrant (EM). Cette manifestation externe est une tâche rougeâtre autour du point de morsure de la tique. Elle prend ensuite la forme d'un anneau et grandit. Elle apparaît dans environ 70% des cas. Des symptômes semblables à ceux de la grippe apparaissent tels que la fièvre, les maux de tête, douleurs musculaires et articulaires et sueurs.
- **Quelques semaines à quelques mois après l'infection :** Possible inflammation des nerfs et du cerveau. Fortes douleurs, brûlures et rougeurs pouvant s'étendre sur tout le corps mais présentes principalement à l'endroit originel de la morsure. Sont observables : gonflement des articulations, dommages sur l'appareil locomoteur et les compétences cognitives, troubles psychologiques. Dans de rares cas, des paralysies sont observables, la plupart au niveau du visage. De plus, des infections au niveau du cœur et des dysfonctionnements du rythme cardiaque peuvent survenir.
- **Quelques mois à quelques années après l'infection :** Des cas d'inflammations chroniques ou récurrentes des articulations, habituellement autour des genoux et des chevilles, se produisent. Une arthrite de Lyme ou des lésions cutanées, également connues sous le nom de Acrodermatite chronique atrophique sont aussi possibles.

### 3. Principe du test

Le test NADAL® Borreliosis Ag est un immunodosage sur membrane pour la détection rapide et directe des antigènes *Borrelia* sur la tique.

Le principe du test repose sur des anticorps polyclonaux qui vont faire fonction de capteurs et être utilisés avec des anticorps conjugués anti-*Borrelia*, pour permettre une détection des antigènes *Borrelia* dans l'échantillon.

Dans un premier temps, le matériel extrait de la tique est déposé dans le puits de dépôt de la cassette. L'échantillon migre par capillarité le long de la membrane. Si des antigènes *Borrelia* sont présents dans l'échantillon, un complexe anticorps-antigènes-anticorps se forme et génère une ligne de couleur. L'apparition d'une ligne indique un résultat positif. Si l'échantillon est exempt d'antigènes *Borrelia*, aucun complexe anticorps-antigènes-anticorps ne se forme et aucune ligne de couleur n'apparaît. Le résultat du test est interprété comme négatif.

La ligne de contrôle (C) qui apparaît est une procédure de contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant et que la membrane a été suffisamment imbibée.

### 4. Matériel fourni

- 1/5 cassette(s) NADAL® Borreliosis Ag (avec pipette et sachet déshydratant)
- 1/5 tube(s) à tique avec solution tampon (0,2 mL)
- 1/5 bâtonnet(s)
- 1 pince à tique
- 1 notice d'utilisation

### 5. Matériel supplémentaire nécessaire

- Chronomètre

### 6. Péréemption et conservation des réactifs

Conservé le test à une température comprise entre 2 et 30°C dans son emballage d'origine jusqu'à la date de péréemption. Conserver la cassette dans son emballage fermé jusqu'à son utilisation. Ne pas congeler le kit.

### 7. Précautions et mesures de sécurité

- Veiller à lire attentivement la notice d'utilisation avant de réaliser le test. Le non-respect de la notice d'utilisation provoque des résultats faussés.
- Ne pas utiliser le test après la date de péréemption indiquée sur l'emballage.
- Ne pas utiliser le test si l'emballage est endommagé.
- Test à usage unique.
- Ne pas déposer de prélèvement sur la zone réactive (fenêtre de résultats).
- Ne pas toucher la zone réactive afin d'éviter toute contamination.
- Pour chaque prélèvement, utiliser un tube différent afin d'éviter tout risque de contaminations croisées.
- Ne pas interchanger ou mélanger le matériel de différents kits.
- Ne pas manger, boire ou fumer à proximité de la zone de manipulation des tests.
- Utiliser des vêtements de protection tels qu'une blouse de laboratoire, des gants à usage unique et des lunettes de protection.
- Manipuler les échantillons en les considérant comme de potentiels réactifs infectieux. Respecter les précautions relatives aux risques microbiologiques pendant les

manipulations ainsi que les directives locales en vigueur concernant l'élimination des déchets.

- Ce test contient des produits d'origine animale. La certification concernant l'origine et l'état sanitaire des animaux ne certifie pas l'absence totale d'agents pathogènes transmissibles. Tous les prélèvements et matériaux utilisés pour ce test doivent être considérés comme des matières infectieuses. Il est recommandé d'appliquer les mesures de précaution nécessaire (ne pas avaler ou inhaler).
- L'humidité et les fortes températures peuvent altérer les résultats du test.
- Les composants du test doivent être éliminés selon les directives locales en vigueur.
- Ecraser correctement la tique, les particules *Borrelia* détectées se trouvent dans l'abdomen de la tique.
- S'assurer que le puits de dépôt de la cassette ne soit pas obstrué par des morceaux de la tique.
- Le bâtonnet est réservé à l'usage énoncé dans la notice d'utilisation.
- Retirer le bâtonnet du mélange de réactifs immédiatement après avoir écrasé la tique.

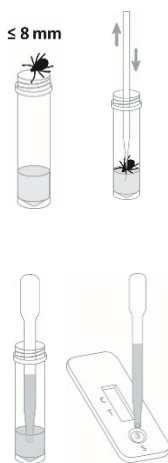
### 8. Recueil, préparation et conservation des échantillons

Extraire la tique en s'assurant que la tête de la tique a également bien été retirée. Il est conseillé d'utiliser une pince à tique. Juste après son extraction, la tique peut être placée dans le tube à tique fournie avec ce test. Les meilleurs résultats seront obtenus si le test est réalisé juste après l'extraction de la tique. Il est primordial de bien écraser la tique afin de garantir des résultats d'une qualité optimale. Les *Borrelia* à détecter se trouvent en effet dans l'abdomen de la tique.

### 9. Exécution du test

Le déroulement de la procédure dépend de la taille de la tique. Le test est destiné à l'analyse de tiques de petites à moyennes tailles ( $\leq 8$  mm).

1. Déposer la tique dans le tube à tique contenant la solution tampon.
2. Ecraser la tique à l'aide du bâtonnet fourni avec le test, de manière à écraser l'abdomen de la tique. Le liquide se colore. Pour cela, utiliser l'extrémité pointue et la partie plate du bâtonnet. Puis, retirer le bâtonnet.
3. Ouvrir l'emballage et retirer la cassette. Déposer la cassette sur une surface plane et propre.
4. Remplir la pipette du mélange tique-solution. S'assurer qu'aucun morceau de la tique ne soit présent dans la pipette.
5. Déposer le mélange tique-solution dans le puits de dépôt de la cassette. S'assurer que des morceaux de la tique n'obstruent pas le puits de dépôt (S) de la tique.



Le liquide migre par capillarité le long de la membrane.

6. Interpréter le test après 10 minutes. Ne plus interpréter les résultats après 20 minutes.



10 min

### 10. Interprétation des résultats

#### Positif

Deux lignes colorées apparaissent sur la membrane. Une ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de contrôle (C) et une autre ligne colorée apparaît à hauteur de la zone de test (T). La ligne apparaissant à hauteur de la zone de test (T) indique que les antigènes *Borrelia* ont été détectés dans la tique.



Plus la concentration en antigènes *Borrelia* dans la tique est faible, moins la couleur de la ligne de test est intense. Une ligne de test, même faible, doit être interprétée comme un résultat positif. La ligne de contrôle n'est pas une ligne de référence. Il est possible que la ligne de test et la ligne de contrôle n'aient pas la même couleur.

#### Négatif

Une ligne colorée apparaît au niveau de la zone de contrôle (C). Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de test (T). L'échantillon ne contient pas d'antigènes *Borrelia*.



#### Non-valide

Aucune ligne n'apparaît à hauteur de la zone de contrôle. Les tests sur lesquels aucune ligne de contrôle n'est apparue dans le temps d'évaluation fixée doivent être jetés.



Contrôler la procédure d'exécution du test et répéter le test avec une nouvelle cassette. Dans le cas où le problème persiste, ne plus utiliser le kit du test et contacter le distributeur.

**Remarque :** Un volume d'échantillon insuffisant, une mauvaise manipulation ou des tests périmés sont les principales causes d'absence de ligne de contrôle.

### 11. Contrôle qualité

La ligne colorée apparaissant au niveau de la zone de contrôle (C) est considérée comme un contrôle interne. Cette ligne confirme que le volume d'échantillon était suffisant, que la manipulation a été correctement effectuée et que la membrane a été suffisamment imbibée.

### 12. Limites du test

- Le test est destiné à l'analyse de tiques de petites à moyennes tailles ( $\leq 8$  mm)
- Un résultat positif indique que la tique est porteuse de *Borrelia*.

### 13. Performance du test

Une étude comparative a été menée entre le test NADAL® Borreliosis Ag et la méthode d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) afin de détecter quelles espèces de *Borrelia*



sont reconnues sur des tiques de laboratoire. Les espèces de *Borrelia* suivantes ont été reconnues par les deux méthodes (étude comparative 2012/2013) : *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* et *B. spielmanii*.

Test NADAL® Borreliosis Ag:

Sensibilité : 92,86%

Spécificité: 95,83%

Valeur prédictive positive : 86,67%

Valeur prédictive négative : 97,87%

Performance générale : 95,16%

#### 14. Bibliographie

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 PF

### 1. Uso previsto

El test NADAL® Borreliosis Ag es un inmunoensayo basado en una membrana para la detección rápida y directa de antígenos de *Borrelia* (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* y *B. spielmanii*) en garrapatas. Este test solo está diseñado para la detección de garrapatas de pequeño a mediano tamaño ( $\leq 8$  mm). Un resultado positivo con este test indica la presencia de *Borrelia* en la garrapata.

### 2. Introducción y significado clínico

Se conocen alrededor de 800 especies de garrapatas a nivel mundial, que se pueden dividir en dos familias principales: garrapatas duras y blandas. Las garrapatas blandas suelen encontrarse en las zonas tropicales y subtropicales. Las garrapatas duras, sin embargo, incluida la de la semilla de ricino, se distribuyen por todo el mundo y son portadoras de la enfermedad de Lyme y de la encefalitis transmitida por garrapatas (TBE). Mientras los virus de TBE se encuentran en las glándulas salivales de las garrapatas y se pueden transmitir a la víctima directamente a través de una picadura, la *Borrelia* se localiza inicialmente en el intestino medio de la garrapata y alcanza las glándulas salivales mientras la garrapata succiona sangre. Se transmite a la víctima después de unas horas, por lo que, no hay un gran riesgo de infección por *Borrelia* en las primeras horas después de haber sufrido una picadura. La excreción de los patógenos comienza dos horas después de la picadura de la garrapata y alcanza su punto más alto después de 72 horas.

**Los síntomas de la enfermedad de Lyme en humanos se pueden dividir en tres etapas:**

- **Unos días o semanas después de la infección**

Aparece una coloración rojiza característica en la piel, llamada eritema crónico migratorio, alrededor de la picadura de la garrapata, y se extiende en forma circular. Esto sucede en alrededor del 70% de los casos, apareciendo a continuación los síntomas generales de la gripe, como abundante sudoración, fiebre, cefalea, dolor muscular y articular.

- **De unas semanas a unos meses después**

Es posible la inflamación de los nervios y meninges. Alrededor del área de la picadura de la garrapata aparece con frecuencia un enrojecimiento, así como un dolor intenso y ardiente, que se puede extender al resto del cuerpo. Puede aparecer hinchazón en las articulaciones, así como disfunción del aparato locomotor y de las habilidades psíquicas y cognitivas. En algunos casos, se puede producir, por ejemplo, parálisis de los músculos faciales y, menos frecuentemente, inflamación del corazón y alteración del ritmo cardíaco.

- **De meses a años después de la infección**

Pueden ocurrir casos de inflamación recurrente de las articulaciones, principalmente en las rodillas y tobillos (artritis de Lyme) o cambios en la piel, conocidos como acrodermatitis crónica atrófica de Herxheimer.

### 3. Principio del test

El test NADAL® Borreliosis Ag es un inmunoensayo basado en una membrana para la detección rápida y directa de antígenos de *Borrelia* en garrapatas.

El principio del test se basa en la acción de anticuerpos policlonales, que actúan como anticuerpos de captura, junto con los anticuerpos de *Borrelia* conjugados en la tira de test interna, para detectar antígenos de *Borrelia* en la muestra.

En primer lugar, se deposita el material de garrapata extraído en el pocillo para la muestra del casete de test. La mezcla migra a lo largo de la tira interna por acción capilar. Si los antígenos de *Borrelia* están presentes en la muestra, se forma un complejo de anticuerpos-antígenos-anticuerpos en el área de la línea de test y como resultado, aparece una línea coloreada. La apariencia de la línea de test indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene antígenos de *Borrelia*, no se produce un complejo anticuerpo-antígeno-anticuerpo, y por lo tanto, no aparecerá la línea coloreada en el área de test. El resultado del test debe considerarse negativo.

La aparición de una línea coloreada en la región de control (C) sirve como control del procedimiento, indicando que el volumen de muestra añadido ha sido adecuado y que la membrana se ha empapado suficientemente.

### 4. Reactivos y materiales provistos

- 1/5 test NADAL® Borreliosis Ag en formato casete (incluye pipeta(s) y desecante(s))
- 1/5 tubo(s) con búfer para la recolección de la garrapata (0,2 ml)
- 1/5 bastoncillo(s)
- 1 pinza para retirar la garrapata
- 1 manual de instrucciones

### 5. Materiales adicionales

- Cronómetro

### 6. Almacenamiento y conservación

Almacene el dispositivo de test a 2-30°C hasta la fecha de caducidad impresa en el envase. Mantenga el casete en su envase sellado hasta su uso. No congele el kit de test.

### 7. Advertencias y precauciones

- Lea atentamente todo el procedimiento del test antes de comenzar la prueba. En caso contrario, se pueden producir resultados erróneos.
- No utilice el test después de la fecha de caducidad indicada en el envase.
- No debe utilizar el dispositivo si el envase está dañado.
- No reutilice los test.
- No añada la muestra al área de reacción (región de resultados).
- Evite tocar el área de reacción (región de resultados), a fin de evitar posibles contaminaciones.
- Para la recolección de cada muestra, utilice un nuevo tubo recolector, a fin de evitar la contaminación cruzada de las muestras.
- No intercambie ni mezcle componentes de diferentes kits de test.
- No coma, beba o fume durante la manipulación de las muestras y la realización del test.
- Use ropa protectora, como bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección, mientras manipule las muestras.
- Manipule las muestras como si contuviesen agentes infecciosos. Siga durante todo el procedimiento las



10 min

precauciones establecidas para riesgos microbiológicos, y las directrices estándar para la eliminación de las muestras.

- Este test contiene productos de origen animal. El conocimiento certificado del origen y/o estado sanitario de los animales no garantiza completamente la ausencia de agentes patogénicos transmisibles. Por eso, se recomienda tratar este producto como potencialmente infeccioso y seguir las precauciones habituales durante su manipulación (p.ej. no ingerir ni inhalar).
- La humedad y la temperatura pueden afectar negativamente a los resultados del test.
- La eliminación de los materiales utilizados debe realizarse de acuerdo con las regulaciones locales.
- Aplaste minuciosamente la garrapata, ya que la *Borrelia* se encuentra en su colon.
- Mantenga el pocillo para la muestra del casete libre de cualquier partícula de garrapata.
- Utilice el bastoncillo suministrado solamente para el uso descrito en el manual de instrucciones.
- Retire inmediatamente el bastoncillo de la mezcla reactiva, una vez desmenuzada la garrapata.

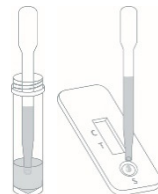
### 8. Recolección de muestras y preparación

Retire la garrapata con cuidado y asegúrese de retirar también la cabeza. Se recomienda utilizar la pinza suministrada para este fin. Una vez retirada la garrapata, y antes de comenzar el test, puede almacenarla en el tubo recolector suministrado. Para unos mejores resultados, realice el test inmediatamente después de la recolección de la garrapata. Es muy importante aplastar la garrapata de forma minuciosa, ya que la *Borrelia* se localiza en su colon.

### 9. Procedimiento del test

Un procedimiento óptimo depende del tamaño de la garrapata. Este test solo está diseñado para la detección de garrapatas de pequeño a mediano tamaño ( $\leq 8$  mm).

1. Deposite la garrapata en el tubo recolector con búfer.
2. Con el bastoncillo suministrado, aplaste la garrapata hasta que se aplaste también su colon y se coloree el líquido. Utilice para este propósito la punta y el lado romo del bastoncillo. A continuación, deseche el bastoncillo.
3. Cuando esté todo listo para la prueba, abra la bolsa sellada y extraiga el casete de test. Sitúelo sobre una superficie limpia y plana.
4. Llene la pipeta con la mezcla formada por la garrapata y el diluyente. Asegúrese de no coger ninguna partícula de garrapata.
5. Añada la mezcla formada por la garrapata y el diluyente al pocillo para la muestra del casete de test. Asegúrese de no añadir ninguna partícula de garrapata al pocillo para la muestra, ya que lo podría obstruir.

 $\leq 8$  mm

El líquido comenzará a migrar a lo largo de la tira de test interna.

6. Lea los resultados del test a los 10 minutos. No interprete los resultados después de 20 minutos.

### 10. Interpretación del resultado

#### Positivo

Aparecen dos líneas coloreadas en la membrana: una en el área de control (C) y la otra en el área de test (T). La línea del área de test (T) indica que se han detectado antígenos de *Borrelia* en la garrapata.



Cuanta menor sea la cantidad de antígenos de *Borrelia* presentes en la garrapata, más débil será la línea de test (T). Aunque la línea sea débil, se debe interpretar igualmente como resultado positivo. La intensidad de la línea de control no sirve de referencia, ya que puede ser de diferente intensidad a la línea de test.

#### Negativo

Aparece una línea coloreada en la región de control (C). No aparece la línea coloreada en el área de test (T). Esto significa que no se han detectado antígenos de *Borrelia* en la garrapata.



#### No válido

No aparece la línea de control. Si no aparece la línea de control dentro del tiempo de lectura especificado, los resultados del test no son válidos y se deben descartar. En ese caso, revise el procedimiento y repita la prueba con un nuevo casete de test. Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor local.



**Nota:** las causas más frecuentes de que no aparezca la línea de control son un volumen de muestra insuficiente, un procedimiento incorrecto o que el dispositivo esté caducado.

### 11. Control de calidad

Se trata de la línea coloreada que aparece en la región de control (C), actuando como control interno del procedimiento. Esta línea confirma que el volumen de muestra ha sido adecuado, que la membrana se ha empapado suficientemente y que la técnica del procedimiento ha sido correcta.

### 12. Limitaciones

- Este test solo está diseñado para la detección de garrapatas de pequeño a mediano tamaño ( $\leq 8$  mm).
- Un resultado positivo del test indica la presencia de *Borrelia* en la garrapata.

### 13. Características del rendimiento

Mediante un estudio comparativo, se ha investigado cuales de las especies de *Borrelia* se pueden detectar en las garrapatas con el test NADAL® Borreliosis Ag, en comparación con la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). Con ambos sistemas de test se detectaron las siguientes especies de

*Borrelia* (estudio comparativo del 2012/2013): *B. garinii*,  
*B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* y *B. spielmanii*.

Test NADAL® Borreliosis Ag

Sensibilidad: 92,86%

Especificidad: 95,83%

Valor predictivo positivo: 86,67%

Valor predictivo negativo: 97,87%

Rendimiento total del test: 95,16%

#### 14. Referencias

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 MP

### 1. Scopo del test

Il test NADAL® Borreliosis Ag è un immunodosaggio rapido su membrana per l'individuazione rapida degli antigeni della *Borrelia* (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. spielmanii*) nelle zecche. Il test è concepito esclusivamente per l'esame delle zecche di piccolo-medie dimensioni solamente ( $\leq 8$  mm). Un risultato positivo di questo test indica la presenza di *Borrelia* nella zecca.

### 2. Introduzione e Significato Clinico

Oltre 800 specie di zecche sono riconosciute nel mondo. Queste possono essere divise in due famiglie principali: le zecche dure e le zecche morbide. Le zecche morbide sono solitamente tipiche delle zone tropicali e subtropicali. Le zecche dure invece, inclusa la cosiddetta zecca dei boschi (*Ixodes ricinus*), sono presenti un po' in tutto il mondo e sono portatrici della malattia di Lyme (borreliosi) e della meningoencefalite da zecca (TBE). Mentre i virus della TBE sono nelle ghiandole salivari della zecca e possono essere trasmessi direttamente alla vittima attraverso la puntura della zecca, i batteri della *Borrelia* invece si trovano inizialmente nell'intestino della zecca. I batteri della *Borrelia* raggiungono le ghiandole salivari mentre la zecca è in procinto di succhiare il sangue e si trasmettono alla vittima solo dopo qualche ora. Pertanto, non c'è un grosso rischio di contrarre la Borreliosi durante le prime ore dopo la puntura della zecca. La secrezione dei patogeni comincia solo dopo circa due ore dalla puntura e raggiunge il picco dopo 72 ore.

**I sintomi della malattia di Lyme negli uomini, possono essere divisi in tre momenti.**

- **Da molti giorni a qualche settimana dopo la puntura:** il caratteristico rossore della pelle, il cosiddetto eritema migrante, compare intorno alla zona della puntura e si espande nella forma di un anello. Si verifica in circa il 70% dei casi ed è seguito da sintomi tipici dell'influenza, quali ad esempio sudore accentuato, febbre, mal di testa e dolori muscolari e delle articolazioni.
- **Da qualche settimana a mesi dopo:** possono verificarsi infiammazioni dei nervi e meningite. Frequentemente si manifestano anche un forte bruciore e rossore intorno alla zona della puntura che si espandono poi a tutto il corpo. Talvolta possono verificarsi anche gonfiore delle articolazioni e difficoltà motorie nonché deficit delle attività cognitive e psichiche. In alcuni casi potrebbero verificarsi paralisi dei muscoli facciali e, anche se meno frequentemente, addirittura infiammazione del muscolo cardiaco e disordini del ritmo cardiaco.
- **Da mesi ad anni dopo l'infezione:** si verificano infiammazioni croniche o ricorrenti delle giunture, soprattutto ginocchia e caviglie (artrite di Lyme) oppure alterazioni cutanee, conosciute come acrodermatite cronica atrofica.

### 3. Principio del Test

Il test NADAL® Borreliosis Ag è un immunodosaggio basato su membrana per la rilevazione rapida, diretta degli antigeni della *Borrelia* nelle zecche.

Il principio del test utilizza anticorpi policlonali come anticorpi di cattura insieme con anticorpi coniugati della *Borrelia*

presenti sulla membrana interna del test per individuare gli antigeni della *Borrelia* nel campione.

Il materiale estratto dalla zecca viene aggiunto al pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta. Il campione migra lungo la membrana interna del test per azione capillare. Nel caso in cui gli antigeni della *Borrelia* sono presenti nel campione, si formerà un complesso anticorpo-antigene-anticorpo in corrispondenza della regione della linea del test e, come risultato di ciò, si svilupperà una linea colorata. La comparsa della linea del test indica un risultato positivo. Se invece il campione non contiene gli antigeni della *Borrelia*, non si formerà alcun complesso anticorpo-antigene-anticorpo e non si svilupperà alcuna linea colorata nella regione della linea del test. In questo caso, il risultato del test è da considerarsi negativo.

La presenza di una linea colorata nella regione della linea di controllo funge da controllo procedurale interno indicando che è stato utilizzato il giusto volume di campione e che la migrazione sulla membrana è avvenuta correttamente.

### 4. Reagenti e Materiali Forniti

- 1/5 test a cassetta NADAL® Borreliosis Ag (incl. pipetta/pipette e dissecante)
- 1/5 tubo/tubi per la raccolta della zecca contenente il buffer (0,2 ml)
- 1/5 bastoncino/bastoncini
- 1 dispositivo per la rimozione della zecca
- 1 istruzioni per l'uso

### 5. Altri materiali richiesti

- Timer

### 6. Conservazione e Stabilità

Il kit va conservato a 2-30°C fino alla data di scadenza riportata sulla confezione. Il test a cassetta va conservato nella sua confezione fino all'utilizzo. Non congelare i test.

### 7. Avvertenze e Precauzioni

- Leggere attentamente la procedura prima di eseguire il test. Non seguire le istruzioni potrebbe portare a risultati inaccurati del test.
- Non utilizzare i test oltre la data di scadenza indicata sulla confezione.
- Non utilizzare il test se la confezione dovesse risultare danneggiata.
- Non riutilizzare i test.
- Non aggiungere i campioni all'area di risultato (result area).
- Non toccare la zona di reazione (result area) al fine di evitare il verificarsi di episodi di contaminazione.
- Evitare il rischio di contaminazione incrociata dei campioni utilizzando sempre una nuova provetta per ogni zecca.
- Non sostituire o mescolare i componenti provenienti da kit differenti.
- Non mangiare, bere o fumare nei luoghi in cui vengono trattati i campioni ed i test.
- Indossare abiti protettivi quali camici da laboratorio, guanti monouso ed occhiali protettivi quando vengono trattati i campioni.
- Considerare tutti i campioni come potenzialmente infettivi. Osservare le normali precauzioni contro rischi micro-

biologici e seguire le procedure standard per il corretto smaltimento dei campioni.

- Il kit fornito contiene prodotti di origine animale. La conoscenza certificata della provenienza e/o condizione sanitaria degli animali non esclude del tutto l'assenza di agenti patogeni trasmissibili. Si raccomanda, pertanto, che questi prodotti vengano trattati come potenzialmente infettivi ed utilizzati nel rispetto delle normali pratiche di sicurezza (ad esempio, non ingerire o inalare).
- Umidità o sbalzi di temperatura possono influenzare in maniera negativa i risultati del test.
- I materiali utilizzati nello svolgimento del test vanno smaltiti nel rispetto delle regolamentazioni locali.
- Una volta esaminate, le zecche vanno schiacciate ripetutamente in quanto i patogeni della *Borrelia* sono situati nel colon della zecca.
- Mantenere il pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta, libero da qualsiasi residuo della zecca.
- Utilizzare il bastoncino fornito, solo per lo scopo descritto nelle istruzioni per l'uso.
- Rimuovere immediatamente il bastoncino dalla miscela di reagenti dopo aver schiacciato la zecca.

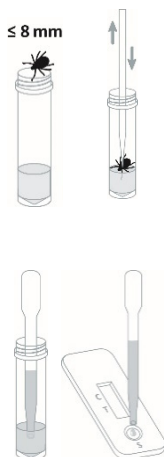
### 8. Preparazione e Raccolta del Campione

Rimuovere la zecca facendo molta attenzione ed assicurarsi che anche la testa sia stata rimossa. Si raccomanda di utilizzare l'apposito dispositivo per la rimozione della zecca. Una volta rimossa la zecca e prima di eseguire il test, potete conservare la zecca nell'apposito tubo di raccolta fornito. Eseguire il test subito dopo aver rimosso la zecca porta all'ottenimento dei risultati migliori. Schiacciare accuratamente la zecca è fondamentale per l'ottenimento di risultati accurati in quanto i *Borrelia* da verificare si trovano nel colon della zecca.

### 9. Procedura del Test

La procedura ottimale del test dipende dalla grandezza della zecca. Il test è concepito esclusivamente per l'esame delle zecche di piccolo-medie dimensioni solamente ( $\leq 8$  mm.)

1. Mettere la zecca nel tubo di raccolta contenente il buffer.
2. Schiacciare la zecca con l'apposito bastoncino fornito. Utilizzare il lato affilato e smussato del bastoncino. Rimuovere poi il bastoncino.
3. Una volta pronti ad eseguire il test, aprire la confezione ed estrarre il test a cassetta. Posizionare il test su una superficie piana pulita.
4. Riempire la pipetta fornita, con il composto di residui di zecca e diluente. Assicurarsi di non trasferire alcun residuo di zecca nella pipetta.
5. Aggiungere il composto nel pozzetto di raccolta del campione del test a cassetta. Assicurarsi di non trasferire alcun residuo di zecca nel pozzetto di raccolta del campione in quanto questi potrebbero comprometterne il funzionamento.



Il liquido inizia a migrare lungo la striscia interna del test.

6. Leggere il risultato del test entro 10 minuti. Non interpretare i risultati dopo più di 20 minuti.



10 min

### 10. Interpretazione dei risultati

#### Positivo:

Compaiono due linee colorate sulla membrana. Una linea colorata nella regione della linea di controllo (C) e una linea nella regione della linea del test (T). La linea nella regione del test (T) indica che nella zecca erano presenti gli antigeni della *Borrelia*.



Meno antigeni della *Borrelia* sono presenti nella zecca, più debole risulterà l'intensità di colore della linea del test (T). Anche una linea del test debole può essere interpretata come indicativa di un risultato positivo del test. La linea di controllo non è una linea di riferimento e può avere diverse intensità come la linea del test.

#### Negativo:

Si sviluppa solo una linea colorata nella regione della linea di controllo (C). Non compare alcuna linea colorata nella regione della linea del test (T). In questo caso, antigeni della *Borrelia* non sono stati rilevati nella zecca.



#### Non valido:

La linea di controllo non compare. I risultati di qualsiasi test che non abbia prodotto alcuna linea di controllo entro i tempi di lettura indicati, non vanno presi in considerazione. In tal caso si consiglia di rivedere la procedura e ripetere il test utilizzando un nuovo test a cassetta. Se il problema persiste, si consiglia di interrompere immediatamente l'utilizzo dello stesso lotto di test e contattare il proprio distributore.



**Nota bene:** Un volume insufficiente di campione, procedure operative scorrette o test scaduti sono tra le principali cause che potrebbero impedire la comparsa della linea di controllo.

### 11. Controllo Qualità

La linea colorata che compare in corrispondenza della regione della linea di controllo (C) è da considerarsi un controllo procedurale interno. Ciò conferma che è stato utilizzato un volume sufficiente di campione, che la migrazione lungo la membrana è avvenuta in maniera corretta e che sono state applicate le giuste tecniche procedurali.

### 12. Limiti del Test

- Il test è concepito esclusivamente per l'esame delle zecche di piccolo-medie dimensioni solamente ( $\leq 8$  mm).
- Un risultato positivo di questo test indica la presenza di *Borrelia* nella zecca.

### 13. Caratteristiche Tecniche

Uno studio comparativo ha investigato quale tipo di *Borrelia* può essere rilevato utilizzando il test NADAL® Borreliosis Ag in

zecche adulterate in rapporto alla reazione a catena della polimerasi (PCR). Le seguenti specie di *Borrelia*: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* e *B. spielmanii* sono state rilevate con entrambi i sistemi (studio comparativo 2012/2013).

Test NADAL® *Borreliosis Ag*

Sensibilità: 92,86%

Specificità: 95,83%

Valore predittivo positivo: 86,67%

Valore predittivo negativo: 97,87%

Totale Performance del Test: 95,16%

#### 14. Bibliografia

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 BN

### 1. Zastosowanie

Test NADAL® Borreliosis Ag jest membranowym testem immunologicznym do szybkiego i bezpośredniego wykrywania antygenów borellii (*B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* i *B. spielmanii*) w kleszcza. Test został przygotowany wyłącznie do badań małych oraz średnich rozmiarów kleszczy ( $\leq 8$  mm). Pozytywny wynik osiągnięty przy pomocy tego testu, wskazuje obecność borellii w kleszcza.

### 2. Wprowadzenie i znaczenie diagnostyczne

Na całym świecie znanych jest około 800 rodzajów kleszczy, które głównie można podzielić na dwie rodziny: kleszcze twarde i kleszcze miękkie. Kleszcze miękkie występują głównie w obszarach tropikalnych i subtropikalnych. Kleszcze twarde, do których zalicza się również kleszcz pospolity, występują na całym świecie i są nosicielami Boreliozy Lyme oraz kleszczowego zapalenia mózgu (KZM). Podczas gdy wirusy kleszczowego zapalenia mózgu znajdują się w gruczołach ślinowych kleszcza i mogą być przenoszone bezpośrednio przez ukąszenie, borellie znajdują się dopiero w jelicie środkowym kleszcza. Dopiero podczas ssania dostają się one do gruczołów ślinowych i przeniesione zostają na ofiarę dopiero po kilku godzinach. W przeciągu pierwszych godzin po ukąszeniu, nie istnieje duże ryzyko infekcji boreliozą. Wydzielanie czynników chorobotwórczych rozpoczyna się najwcześniej dwie godziny po zassaniu krwi przez kleszcza i osiąga swój najwyższy punkt dopiero po 72 godzinach.

**Objawy Boreliozy Lyme u człowieka można podzielić na trzy etapy:**

- **Kilka dni do kilku tygodni po infekcji:** Charakterystyczne zaczerwienienie, tzw. rumień wędrujący, pojawia się wokół ukąszenia kleszcza i rozprzestrzenia się w postaci pierścienia. Występuje on u około 70% przypadków. Następnie występują ogólne objawy grypopodobne takie jak pocenie się, gorączka, ból głowy, mięśni oraz stawów.
- **Kilka tygodni do kilku miesięcy później:** Możliwe zapalenie nerwów oraz kory mózgowej. Silny, palący ból oraz zaczerwienienia, które mogą być rozmieszczone po całym ciele, powstają początkowo wokół miejsca ukąszenia kleszcza. Może wystąpić obrzęk stawów jak również zaburzenia systemu mięśniowo-szkieletowego, psychiki oraz zdolności poznawczych. W niektórych przypadkach obserwuje się paraliż np. mięśni twarzy. Rzadziej występuje zapalenie serca oraz zaburzenie pracy serca.
- **Miesiące i lata po infekcji:** Występują przypadki przewlekłego lub nawracającego zapalenia stawów, takie jak zapalenie kolan i stawów skokowych (artretyzm Lyme) lub zmiany skórne, tzw. Acrodermatitis chronica atrophicans Herxheimer (zanikowe zapalenie skóry Herxheimera).

### 3. Zasada działania testu

Test NADAL® Borreliosis Ag jest membranowym testem immunologicznym do szybkiego i bezpośredniego wykrywania antygenów borellii w kleszcza.

Zasada działania testu oparta jest na poliklonalnych przeciwciałach, które stosowane są jako przeciwciała przechwytyjące, razem z koniugowanymi przeciwciałami

borellii na wewnętrzny pasku testowym, w celu oznaczenia antygenów borellii w próbce.

Najpierw wyodrębniony materiał z kleszcza zostaje nałożony do zagłębienia próbki kasety testowej. Próbka wędruje następnie przy pomocy sił kapilarnych wzdłuż wewnętrznego paska testowego. Jeżeli w próbce zawarte są antygeny borellii, to w obszarze linii testowej wytworzy się kompleks przeciwciała – antygen - przeciwciała, w wyniku czego, pojawi się kolorowa linia. Pojawienie się linii testowej wskazuje na wynik pozytywny. Jeżeli próbka nie zawiera antygenów borellii, nie powstanie kompleks przeciwciała – antygen - przeciwciała i w obszarze linii testowej nie pojawi się kolorowa linia. Wtedy wynik należy traktować jako negatywny.

Pojawienie się kolorowych linii w obszarze linii kontrolnych (C) służy jako kontrola procesowa i wskazuje na to, że dostarczona została wystarczająca ilość próbki, a membrana jest wystarczająco nasączona.

### 4. Materiały zawarte w zestawie

- 1/5 test kasetowy/testów kasetowych NADAL® Borreliosis Ag (wraz z pipetą i środkiem pochłaniającym wilgoć)
- 1/5 próbówka/probówek na kleszcza z buforem (0,2 ml)
- 1/5 szpatułka/szpatulek
- 1 szczytce do usuwania kleszczy
- 1 instrukcja obsługi

### 5. Dodatkowo potrzebne materiały

- Stoper

### 6. Data ważności i przechowywanie odczynników

Zestaw testowy przechowywać należy w temperaturze 2°C - 30°C do daty wskazanej na opakowaniu. Kaseta testowa musi zostać w zamkniętym opakowaniu foliowym aż do momentu jej użycia. Nie zamrażać zestawów testowych.

### 7. Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Przed przeprowadzeniem testu należy dokładnie przeczytać całą instrukcję obsługi. Nieprzestrzeganie instrukcji obsługi może prowadzić do niewłaściwych wyników testu.
- Nie używać testu po upływie daty użyteczności podanej na opakowaniu.
- Nie używać testu, jeżeli opakowanie foliowe jest uszkodzone.
- Nie używać ponownie tych samych testów.
- Nie należy pipetować próbek na pole reakcyjne (pole wyniku).
- Aby uniknąć zanieczyszczenia, nie należy dotykać pola reakcyjnego.
- W celu uniknięcia zanieczyszczenia krzyżowego należy używać każdorazowo nowej próbówki dla każdego kleszcza.
- Nie wymieniać lub mieszać elementów składowych z różnych zestawów testowych.
- Nie jeść, nie pić i nie palić papierosów w obszarze, w którym pracuje się z próbkami oraz zestawami testowymi.
- Podczas kontaktu z próbkami, stosować odzież ochronną, taką jak fartuch, jednorazowe rękawiczki oraz okulary ochronne.
- Traktować wszystkie próbki tak, jakby zawierały zakaźne odczynniki. Należy zwrócić uwagę na zaistniałe środki ostrożności dla mikrobiologicznego ryzyka, podczas



wszystkich procesów jak również standardowych dyrektywy dla odpowiedniej utylizacji próbek.

- Test ten zawiera produkty pochodzenia zwierzęcego. Certyfikowana wiedza o pochodzeniu i/lub o stanie sanitarnym zwierząt nie gwarantują braku przenoszących patogenów. Dlatego zaleca się, aby te produkty były traktowane, jako potencjalnie zakaźne. Postępując się nimi, należy przestrzegać standardowych środków ostrożności (np. unikać połknięcia lub wdychania).
- Wilgoć oraz wysokie temperatury mogą mieć wpływ na wyniki testu.
- Zużyte materiały testowe powinny być zutilizowane zgodnie z lokalnymi zaleceniami.
- Dokładnie rozdrobnić kleszcza, ponieważ borellie, które mają być oznaczone, znajdują się w jelicie kleszcza.
- Do zagłębienia próbki kasety testowej nie mogą dostać się jakiegokolwiek części kleszcza.
- Szpatułki używać wyłącznie do celów opisanych w instrukcji obsługi.
- Wyciągnąć szpatułkę bezpośrednio po rozdrobieniu kleszcza.

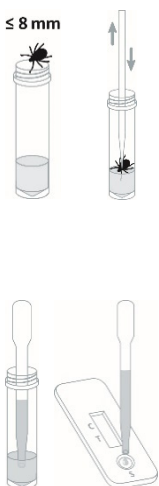
### 8. Pobieranie, przygotowywanie i przechowywanie próbek

Ostrożnie usunąć kleszcza i upewnić się, że głowa kleszcza została także usunięta. W tym celu należy użyć szczypec. Po usunięciu kleszcza do momentu przeprowadzenia testu, kleszcz może być przechowany w dołączonej probówce. Najlepsze wyniki dostarcza badanie kleszcza bezpośrednio po jego usunięciu. Dokładne rozdrobnienie kleszcza jest bardzo ważne dla właściwego wyniku testu, ponieważ borellie, które mają być oznaczone, znajdują się w jelicie kleszcza.

### 9. Przeprowadzanie testu

Optymalne przeprowadzenie testu zależy jest od wielkości kleszcza. Test został przygotowany wyłącznie do badań małych oraz średnich rozmiarów kleszczy (≤8 mm).

1. Włożyć kleszcza do probówki z buforem.
2. Rozdrobnić kleszcza przy pomocy dostarczonej szpatułki w taki sposób, żeby również jego jelito zostało rozdrobnione i ciecz zmieniła kolor. W tym celu użyć ostrej i tępej strony szpatułki. Później usunąć szpatułkę.
3. Otworzyć opakowanie foliowe i wyciągnąć kasetę testową. Kasetę testową położyć na czystą i równą powierzchnię.
4. Napełnić pipetę mieszaniną bufora i kleszcza. Zwrócić uwagę, aby nie nabrać części kleszcza.
5. Nałożyć mieszaninę bufora i kleszcza do zagłębienia próbki kasety testowej. Zwrócić uwagę, aby nie nałożyć części kleszcza do zagłębienia próbki, ponieważ te mogą zablokować zagłębienie próbki. Ciecz zaczyna migrować wzdłuż wewnętrznego paska testowego.



6. Wynik należy interpretować po upływie 10 minut. Po upływie więcej niż 20 minut nie interpretować wyniku testu.



10 min

### 10. Interpretacja wyników

#### Pozytywny

Na membranie pojawiają się w kolorowe linie. Jedna linia pojawi się w obszarze linii kontrolnej (C), druga kolorowa linia pojawi się w obszarze linii testowej (T). Linia w obszarze testowym (T) wskazuje, że u kleszcza zostały oznaczone antygeny borellii.



Im mniej antygenów borellii znajduje się w kleszczu, tym słabsza będzie linia testowa (T). Nawet słaba linia testowa powinna być interpretowana jako pozytywny wynik testu. Linia kontrolna nie jest linią referencyjną i może wykazywać inną intensywność niż linia testowa.

#### Negatywny

W obszarze linii kontrolnej (C) pojawia się kolorowa linia. W obszarze linii testowej (T) nie pojawia się kolorowa linia. Nie stwierdzono antygenów borellii w próbce.



#### Nieważny

Linia kontrolna nie pojawia się. Wyniki testów, które po ustalonym czasie odczytu nie wytworzyły linii kontrolnej, muszą zostać odrzucone.



Sprawdźcie przebieg procesu i powtórzcie badanie przy pomocy nowej kasety testowej. Jeżeli problem będzie występował nadal, nie używać więcej tego zestawu testowego i skontaktować się z dystrybutorem.

**Wskazówka:** Niewystarczająca objętość próbki, przeterminowane testy lub niewłaściwy sposób użytkowania testu, są najprawdopodobniejszymi przyczynami niepojawienia się linii kontrolnej.

### 11. Kontrola jakości

Pojawiająca się w obszarze linii kontrolnej (C) kolorowa linia, traktowana jest jako kontrola procesowa. Potwierdza ona dodanie wystarczającej ilości próbki, prawidłowe przeprowadzenie testu oraz wystarczające nasączenie membrany.

### 12. Ograniczenia testu

- Test został przygotowany wyłącznie do badań małych oraz średnich rozmiarów kleszczy (≤8 mm).
- Pozytywny wynik, osiągnięty przy pomocy tego testu, wskazuje na obecność borellii u kleszcza.

### 13. Charakterystyka testu.

W badaniu porównawczym sprawdzono, które gatunki borellii są rozpoznawane przy pomocy testu NADAL® Borreliosis Ag, u napitych krwią kleszczy, w porównaniu do polimerazycznej reakcji łańcuchowej (PCR). Następujące gatunki borellii: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* oraz

*B. spielmanii* zostały rozpoznane z obydwoma systemami testowymi (Badanie porównawcze 2012/2013).

Test NADAL® Borreliosis Ag

Czułość: 92,86%

Swoistość: 95,83%

Pozytywna wartość predykcyjna: 86,67%

Negatywna wartość predykcyjna: 97,87%

Całkowita wydajność testu: 95,16%

#### 14. Bibliografia

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 AM

### 1. Utilização prevista

O teste NADAL® Borreliosis Ag é um imunoensaio de membrana para a detecção rápida e directa de antígenos da Borreliose (*B. garinii*, *B. afzelii* e *B. burgdorferi sensu stricto* e *B. spielmanii*) em carraças. O teste foi desenvolvido apenas para a análise de pequenas e médias carraças (≤8mm). Um resultado positivo neste teste indica a presença da Borreliose na carraça.

### 2. Introdução e significado clínico

São conhecidas mais de 800 espécies de carraças, as quais podem ser divididas em duas grandes famílias principais: as carraças duras e as carraças moles. As carraças moles são normalmente encontradas em países tropicais e subtropicais. As carraças duras, contudo, incluindo a carraça da madeira, encontram-se por todo o mundo e são portadoras da Borreliose de Lyme e da Encefalite Transmitida por Carraça (ETC). Enquanto que os vírus da ETC se encontram nas glândulas salivares das carraças e podem ser transmitidas directamente para a vítima através de uma mordida, as *Borrelia* encontram-se inicialmente no intestino da carraça. *Borrelia* alcançam as glândulas salivares enquanto a carraça se encontra no processo de sucção de sangue e são apenas transmitidas à vítima após algumas horas. Assim sendo, não existe risco de uma infecção por *Borrelia* nas primeiras horas seguidas à mordida por uma carraça. A excreção de agentes patogénicos ocorre 2 horas após a mordida pela carraça e atinge o seu pico apenas após 72 horas.

**Sintomas de Borreliose de Lyme em seres humanos podem ser divididos em três etapas.**

- **Vários dias após a infecção:** Vermelhidão da pele característica, designada erythema chronicum migrans, surge em torno da zona mordida e alastra-se em forma anelar. Isto ocorre em aproximadamente 70% dos casos e é acompanhado de sintomas análogos a uma constipação, assim como suores, febre, dores de cabeça, músculos e articulações.
- **Algumas semanas até meses após a infecção:** Possível inflamação dos nervos e meninges. Frequentemente ocorre a sensação de queimadura em torno da área mordida, que poderá alastrar-se a todo o corpo. Pode surgir o inchaço das articulações assim como a descoordenação do sistema locomotor, das capacidades psíquicas e cognitivas. Em alguns casos, pode ocorrer a paralisia dos músculos faciais e, menos frequentemente, inflamação do coração e uma subsequente arritmia cardíaca.
- **Meses a anos após a infecção:** Casos de inflamação crónica ou recorrente das articulações, principalmente nos joelhos e ancas (artrite de Lyme), ou possíveis alterações da pele (acrodermatitis chronica atrophicans herxheimer), poderão ocorrer.

### 3. Princípio do teste

O teste NADAL® Borreliosis Ag é um imunoensaio de membrana para a detecção rápida e directa de antígenos *Borrelia* em carraças.

O princípio do teste envolve anticorpos policlonais que são utilizados como anticorpos de captura, assim como anticorpos *Borrelia* conjugados no teste tira interno, com vista à detecção de antígenos *Borrelia* na amostra.

Primeiro, a carraça extraída é colocada no orifício da amostra no teste cassete. A amostra migra ao longo da tira de teste interna por acção capilar. Se se encontrarem antígenos *Borrelia* na amostra, é formado um complexo anticorpo-antigene-anticorpo na linha de teste e, como resultado, surge uma linha vermelha. O surgimento de uma linha de teste indica um resultado positivo. Caso a amostra não contenha antígenos *Borrelia*, não é produzido qualquer complexo anticorpo-antigene-anticorpo e nenhuma linha aparecerá na região da linha de teste. O resultado do teste deverá ser considerado negativo.

A formação de uma linha na região da linha de controlo serve de controlo de procedimento, indicando que o volume indicado de amostra foi adicionado e que a membrana ficou correctamente embebida.

### 4. Reagentes e material fornecido

- 1/5 teste(s) cassete NADAL® Borreliosis Ag (incl. pipeta(s) e dissecante(s))
- 1/5 tubo(s) para carraça com solução tampão (0,2 ml)
- 1/5 pau(s)
- 1 equipamento para remoção da carraça
- 1 manual de utilização

### 5. Materiais adicionais necessários

- Cronómetro

### 6. Conservação e armazenamento

O teste deverá ser conservado entre 2-30°C até à data de validade impressa na embalagem. O teste cassete deve permanecer na embalagem selada até à sua utilização. Não congelar o kit de teste.

### 7. Advertências e precauções

- Ler atentamente o manual de utilização antes de realizar o teste. O desempenho incorrecto no seguimento das instruções levará a resultados pouco fiáveis.
- Não utilizar o teste após expirada a data de validade indicada na embalagem.
- Não utilizar caso a embalagem se encontre danificada.
- Não reutilizar os testes.
- Não adicionar amostras à área de reacção (área de resultados).
- De modo a evitar uma contaminação, não entrar em contacto com a área de reacção (área de resultados).
- Evitar contaminação cruzada utilizando um tubo para carraça novo para cada amostra obtida.
- Não substituir ou misturar componentes de kits de teste diferentes.
- Não comer, beber ou fumar na área de manuseamento de amostras e kits de testes.
- Utilizar vestuário de protecção como batas, luvas descartáveis e protecção ocular quando manuseando amostras.
- Manusear todas as amostras como potenciais agentes infecciosos. Observar as regulamentações estabelecidas respeitantes a riscos microbiológicos ao tratamento de resíduos durante todos os procedimentos.
- O kit de teste contém produtos de origem animal. O conhecimento da origem e do estado dos animais não garante completamente a ausência de agentes patogénicos

transmissíveis. Portanto, é recomendado que todos estes produtos sejam tratados como potencialmente infecciosos e manuseados de acordo com as precauções de segurança habituais (e.g. não ingerir ou inalar).

- Humidade e temperatura podem afectar negativamente os resultados do teste.
- Materiais de testes usados devem ser tratados de acordo com as regulamentações de tratamento residual locais.
- A carraça deverá ser bem esmagada, uma vez que a *Borrelia* se encontra no seu cólon.
- Manter o orifício de amostra da cassette de teste livre de quaisquer partículas da carraça.
- Utilizar o pau apenas para o fim considerado no manual de utilização.
- Remover imediatamente o pau da mistura reagente após esmagar a carraça.

### 8. Preparação e colheita da amostra

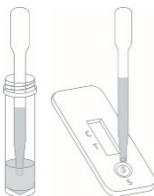
Remover a carraça cuidadosamente, assegurando que a cabeça tenha igualmente sido removida. Aconselha-se a utilização do equipamento fornecido para a remoção da carraça. Entre a remoção e a realização do teste, a carraça poderá ser armazenada no tubo fornecido adequado. Melhores resultados são obtidos quando o teste é realizado logo após a remoção da carraça. O esmagar da carraça é crucial para resultados óptimos no teste, uma vez que as *Borrelia* a serem analisadas se encontram no cólon da carraça.

### 9. Procedimento do teste

Um procedimento óptimo depende da dimensão da carraça. O teste foi desenvolvido apenas para a análise de pequenas e médias carraças ( $\leq 8\text{mm}$ ).

1. Colocar a carraça no tubo apropriado com solução tampão.
2. Esmagar a carraça vigorosamente com o pau fornecido, até que o cólon seja esmagado e o líquido começar a adquirir alguma coloração. Utilizar o lado chato ou o lado afiado para este propósito. Remover o pau.
3. Aquando da realização do teste, remover o teste cassette da embalagem. Colocar a cassette numa superfície limpa e plana.
4. Preencher a pipeta com a solução carraça-diluyente. Garantir que não são pipetadas partículas sólidas da carraça.
5. Adicionar a solução carraça-diluyente ao orifício de amostra na cassette de teste. Garantir que não são acrescentadas partículas sólidas da carraça ao orifício, uma vez que este poderá ficar obstruído.

$\leq 8\text{ mm}$



10 min

6. Ler o resultados passados 10 minutos. Não interpretar os resultados após decorridos mais de 20 minutos.

### 10. Interpretação dos resultados

#### Positivo:

Surgem duas linhas coloridas na membrana. Uma linha surge na região da linha de controlo (C), outra linha surge na região da linha de teste (T). A linha na região de teste (T) indica que foram detectados antígenos da *Borrelia* na carraça.



Quanto menos antígenos *Borrelia* se encontrarem na carraça, menos intensa será a coloração da linha de teste (T). Mesmo uma linha ténue deverá ser considerada como resultado positivo. A linha de controlo não é uma referência, pelo que poderá apresentar uma coloração de intensidade diferente da linha de teste.

#### Negativo:

Uma linha colorida surge na região da linha de controlo (C). Nenhuma linha visível surge da região da linha de teste (T). Não foram detectados antígenos *Borrelia* na carraça.



#### Inválido:

Não surge qualquer linha de controlo. Resultados de qualquer teste no qual não tenha surgido uma linha de controlo deverão ser desconsiderados. Por favor rever o procedimento e repetir o teste com uma nova cassette. Se o problema persistir, interromper a utilização do kit e contactar o distribuidor.



**Aviso:** As razões mais prováveis para um resultado inválido são o volume da amostra, erros procedurais ou testes expirados.

### 11. Controlo de qualidade

A linha colorida que surge na região da linha de controlo (C), é considerada um controlo interno de procedimento. Isto confirma um volume de amostra suficiente, uma saturação de membrana adequada e o procedimento técnico correcto.

### 12. Limitações do teste

- O teste foi desenvolvido apenas para a análise de pequenas e médias carraças ( $\leq 8\text{mm}$ ).
- Um resultado de teste positivo indica a presença de *Borrelia* na carraça.

### 13. Características de desempenho

Foi realizado um estudo comparativo que investigou quais as espécies de *Borrelia* que poderão ser detectadas em carraças utilizando o teste NADAL® Borreliosis Ag em comparação com a técnica PCR. As seguintes espécies de *Borrelia*: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* e *B. spielmanii* foram detectadas com ambos as técnicas de teste (estudo comparativo 2012/2013).

O teste NADAL® Borreliosis Ag

Sensibilidade: 92.86%

Especificidade: 95.83%

Valor preditivo positivo: 86.67%

Valor preditivo negativo: 97.87%

Desempenho total do teste: 95.16%

#### 14. Referências

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 ML

### 1. Použití

Test NADAL® Borreliosis Ag je membránový immunoassay pro přímou, rychlou detekci antigenů *borélii* (*B. garinii*, *B. afzelii* a *B. burgdorferi sensu stricto* a *B. spielmanii*) v klišťatech. Test byl vyvinut výhradně pro testování malých až středně velkých (≤8 mm) klišťat. Test je vyvinut pouze pro testování klišťat. Pozitivní výsledek získaný pomocí tohoto testu indikuje přítomnost *borélii* v klišťeti.

### 2. Úvod

Celosvětově je známo 800 druhů klišťat, které mohou být rozděleny do dvou hlavních čeledí: klišťatovití a klišťákovití. Klišťákovití se obvykle nacházejí v tropech a subtropích. Klišťatovití, včetně klišťete obecného, jsou rozšířeni po celém světě a jsou přenašeči lymfské boreliózy a klišťové encefalitidy (TBE). Zatímco se viry TBE nacházejí ve slinných žlázách klišťat a mohou být přeneseny na oběť přímo přísátím klišťete, *borélie* se primárně nacházejí ve středním střevě klišťete. *Borélie* se dostanou do slinných žláz klišťete až tehdy, když klišťe saje krev a na oběť jsou přeneseny až po několika hodinách. Riziko infekce boréliemi proto během několika prvních hodin pro přísátí klišťete není příliš vysoké. Vylučování patogenů začíná nejdříve dvě hodiny po přísátí klišťete a vrcholí až po 72 hodinách.

**Symptomy lymfské boreliózy u lidí mohou být rozděleny do tří stádií.**

- **Několik dní až týdnů po nákaze:** charakteristicky zarudlá pokožka, tzv. erythema chronicum migrans se objeví okolo místa přísátí a rozšiřuje se v kruhovém tvaru. Objevuje se přibližně v 70 procentech případů a je doprovázena symptomy jako v případě chřipky, např. nadměrné pocení, horečka, bolest hlavy, bolest svalů a kloubů.
- **O několik týdnů až měsíců později:** možné zánecení nervů a mozkových blan. Často se objevuje silná pálivá bolest a zarudnutí v oblasti přísátí klišťete a může se rozšířit po celém těle. Může dojít k opuchnutí kloubů, omezení pohybového aparátu, psyché a kognitivních schopností. V některých případech se může vyskytnout ochrnutí například mimických svalů, méně častěji pak zánět srdce a poruchy srdečního rytmu.
- **Několik měsíců až let po infekci:** Objevují se případy chronického nebo opakujícího se zánětu kloubů, většinou kolen nebo kotníků (lymská artritida) nebo změn na pokožce známých jako acrodermatitis chronica atrophicans herxheimer.

### 3. Princip testu

Test NADAL® Borreliosis Ag je membránový immunoassay pro přímou, rychlou detekci antigenů *borélii* v klišťatech.

Princip testu je založen na polyklonálních protilátkách, které jsou použity jako capture-protilátka spolu s konjugovanými protilátkami proti *boréliím* na testovacím proužku uvnitř testu a slouží k detekci antigenů *borélii* ve vzorku.

Nejdříve je materiál extrahovaný z klišťete nanesen do otvoru pro vzorek na testovací kazetě. Působením kapilárních sil vzorek putuje testovacím proužkem uvnitř testu. Jsou-li antigeny *borélii* přítomny ve vzorku, vytvoří se v oblasti testovací linie komplex protilátka-antigen-protilátka důsledkem čehož se objeví barevná linie. Přítomnost testovací linie indikuje pozitivní výsledek. Pokud vzorek neobsahuje

antigeny *borélii*, neutvoří se komplex protilátka-antigen-protilátka a neutvoří se ani barevná linie v oblasti testovací linie. Výsledek testu by měl být považován za negativní.

Zobrazení barevné linie v oblasti kontrolní linie slouží jako procedurální kontrola a znamená, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku a potvrzuje správnou funkci membrány.

### 4. Reagencie a poskytovaný materiál:

- 1/5 NADAL® Borreliosis Ag testovací kazeta/testovacích kazet (vč. kapátka a vysoušedla)
- 1/5 zkumavka/zkumavek na klišťe s puřem (0,2 ml)
- 1/5 tyčinka/tyčinek
- 1 pinzeta na klišťe
- 1 návod k použití

### 5. Další potřebný materiál

- Stopky

### 6. Skladování a trvanlivost

Testovací sada by měla být skladována při 2-30°C do data expirace, které je vytištěno na obalu. Testovací kazeta by měla zůstat v uzavřené ochranné fólii až do použití. Testovací sadu nezmrazujte.

### 7. Bezpečnostní opatření

- Pozorně si přečtěte provedení testu před zahájením testování. Nedodržení instrukcí pro provedení testu vede k nepřesným výsledkům testu.
- Test nepoužívejte po uplynutí data, které je vytištěno na obalu.
- Test nepoužívejte, je-li ochranná fólie testu poškozená.
- Jen k jednorázovému použití.
- Nenanašejte vzorek do reakční oblasti (výsledková oblast).
- Nedotýkejte se reakční zóny (výsledková oblast), aby nedošlo ke kontaminaci.
- Zamezte křížové kontaminaci vzorků používáním nové zkumavky na klišťe pro každý získaný vzorek.
- Nezaměňujte a nemichejte komponenty z různých testovacích kitů.
- V místě provádění testu nejzte, nepijte ani nekurte.
- Používejte ochranný oděv jako laboratorní plášť, jednorázové rukavice a ochranné brýle v průběhu testování vzorků.
- Se všemi vzorky zacházejte tak, jako by byly infekční. Dodržujte zavedená opatření pro prevenci mikrobiologických rizik v průběhu všech kroků testování a předpisy pro likvidaci vzorků.
- Testovací kit obsahuje produkty živočišného původu. Znalost původu a/nebo sanitárního stavu zvířat doložená certifikátem zcela nezaručuje absenci přenosných patogenů. Je proto doporučováno s těmito produkty zacházet jako s potenčně infekčními a dodržovat obvyklá bezpečnostní opatření (např. nepolykat, nevedehovat).
- Vlhkost a teplota může ovlivnit výsledky testu.
- Použité testovací materiály by měly být zlikvidovány v souladu s místními předpisy.
- Klišťe rozdrťte opatřně, protože *borélie* se nacházejí ve střevě klišťete.
- Zabraňte zanesení jakýchkoliv částí klišťete do otvoru pro vzorek na testovací kazetě.

- Tyčinku použijte pouze k účelu popsanému v příbalovém letáku.
- Tyčinku vyjměte ze směsi reagentů ihned po rozdrčení klišťete.

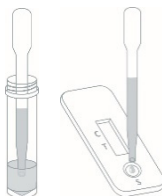
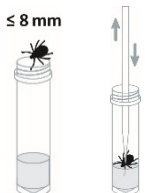
### 8. Odběr vzorku a příprava

Opatrně vyjměte klišťe a ujistěte se, že bylo vyjmuto i s hlavou. Doporučujeme použití pinzety na klišťata. Po vyjmutí klišťete a před započítáním testu můžete klišťe umístit do dodávané zkumavky na klišťata. Otestování klišťete ihned po jeho vyjmutí umožňuje nejspolehlivější výsledky. Důkladné rozdrčení klišťete je velmi důležité pro optimální výsledky testu, protože *borélie* se nacházejí ve střevě klišťete.

### 9. Provedení testu

Optimální testovací postup závisí na velikosti klišťete. Test byl vyvinut výhradně pro testování malých až středně velkých ( $\leq 8$  mm) klišťat.

1. Vložte klišťe do zkumavky na klišťe s pufrům a přidejte 3 kapky pufru (Diluent).
2. Rozdrťte klišťe pomocí dodávané tyčinky tak, aby bylo rozdrčeno i střevo a tekutina se zbarvila. Pro tento účel použijte ostrou i tupou stranu tyčinky. Tyčinku poté odstraňte.
3. Jste-li připraveni k provedení testu, otevřete ochrannou fólii a vyjměte z ní testovací kazetu. Položte testovací kazetu na čistou, rovnou plochu.
4. Napiňte kapátko směsí z klišťete a pufru. Ujistěte se, že jste nenásali žádné části klišťete.
5. Naneste směs klišťete a pufru do otvoru pro vzorek na testovací kazetě. Ujistěte se, že jste nenanesli žádné části klišťete do otvoru pro vzorek, mohou způsobit jeho ucpaní. Tekutina začne vzlihat vnitřním testovacím proužkem.
6. Výsledek testu odečtete po 10 minutách. Po 20 minutách již žádné výsledky neodečtete.



### Negativní:

Zobrazí se pouze jedna barevná linie oblasti kontrolní linie (C). Nezobrazí se žádná barevná linie v oblasti testovací linie (T). Žádné antigeny *Borreliie* nebyly v klišťeti nalezeny.



### Neplatný:

Kontrolní linie se neobjeví. Výsledky z jakéhokoliv testu, na kterém se neutvořila kontrolní linie v určeném čase, musí být znehodnoceny. Zrevidujte postup a testování opakujte s novou testovací kazetou. Pokud problém přetrvává, přestaňte používat testovací sadu a kontaktujte svého distributora.



**Poznámka:** Nedostatečné množství vzorku, nesprávná manipulace nebo uplynutí data expirace jsou nejčastější příčiny pro neobjevení kontrolní linie.

### 11. Kontrola kvality

Barevná linie, která se objeví v oblasti kontrolní linie (C) je považována za interní, procedurální kontrolu. Potvrzuje, že bylo přidáno dostatečné množství vzorku, že membrána funguje správně a že byl dodržen správný postup při testování.

### 12. Omezení

- Test byl vyvinut výhradně pro testování malých až středně velkých ( $\leq 8$  mm) klišťat.
- Pozitivní výsledek testu indikuje přítomnost *borélie* v klišťeti.

### 13. Výkonnostní charakteristiky

Srovnávací studie zkoumala, které druhy *borélie* mohou být v klišťetech detekovány testem NADAL® Borreliosis Ag ve srovnání s polymerázovou řetězovou reakcí (PCR). Následující druhy *borélie*: *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* a *B. spielmanii* byly detekovány oběma metodami (srovnávací studie 2012/2013).

Test NADAL® Borreliosis Ag

Senzitivita: 92,86%

Specifita: 95,83%

Pozitivní prediktivní hodnota: 86,67%

Negativní prediktivní hodnota: 97,87%

Celková výkonnost testu. 95,16%

### 14. Reference

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

### 10. Vyhodnocení výsledků

#### Pozitivní:

Dvě barevné linie se zobrazí na membráně. Jedna linie se zobrazí v oblasti kontrolní linie (C) a druhá linie se zobrazí v oblasti testovací linie (T). Linie v oblasti testovací linie (T) indikuje, že byly detekovány antigeny *borélie* v klišťeti.



Čím méně antigenů *borélie* je přítomno v klišťeti, tím slabší je testovací linie (T). I slabá testovací linie by měla být interpretována jako pozitivní výsledek testu. Kontrolní linie není referenční linií a může mít jinou barevnou intenzitu než testovací linie.

Rev. 2, 2019-05-29 TF

### 1. Käyttötarkoitukset

NADAL® Borreliosis Ag Test on kalvoperusteinen immunomääritys nopeaan ja suoraan borrelioosiantigeenien havaitsemiseen (*B. garinii*, *B. afzelii* ja *B. burgdorferi sensu stricto* ja *B. spielmanii*) punkeista. Tämä testi on kehitetty käytettäväksi vain pienten ja keskikokoisten punkkien (≤8 mm) testaukseen. Positiivinen testituloso osoittaa *Borreliolan* läsnäolon punkissa.

### 2. Johdanto

Maailmanlaajuisesti tunnetaan yli 800 punkkilajia, jotka voidaan jakaa kahteen pääperheeseen: koviin punkeihin ja pehmeisiin punkeihin. Pehmeitä punkkeja tavataan tavallisesti trooppisissa ja subtrooppisissa. Kovat punkit sen sijaan ovat leviittäytyneet ympäri maailmaa ja ne kantavat Lymen borrelioosia ja puutiaisaivokuumetta (TBE). Siinä missä TBE virukset sijaitsevat punkkien sylkirauhasissa ja voivat siirtyä suoraan uhrille punkin puremisen kautta, *Borrelia* sijaitsee punkin paksumoossa. *Borrelia* kulkeutuu uhuriin vasta muutaman tunnin kuluttua punkin puremasta ja näin ollen *Borrelia*-infektion vaara ei ole kovin suuri muutaman ensimmäisen tunnin aikana punkin pureman jälkeen. Taudinaiheuttajaa alkaa tosin erittyä jo kahden tunnin kuluttua punkin puremasta mutta se saavuttaa huippunsa vasta 72 tunnin kuluttua.

**Lymen borrelioosin oireet ihmisillä voidaan jakaa kolmeen vaiheeseen.**

- **Useista päivistä viikkoihin tartunnan jälkeen:** iholle ominainen punoitus, niin kutsuttu erythema chronicum migrans, ilmestyy punkin pureman ympärille ja leviää ympäröivään ihoon muodostaen ympyrän muotoisen alueen. Tätä esiintyy noin 70 prosentissa tapauksista ja punoitusta seuraavat yleiset flunssan kaltaiset oireet, kuten hikoilu, kuume, päänsärky ja lihas- sekä nivelkivut.
- **Muutamista viikoista kuukausiin tartunnan jälkeen:** Hermojen ja aivojen tulehdus on mahdollinen. Vahva, polttava kipua esiintyy alkuperäisen punkin pureman kohdalla ja usein esiintyy myös punoitusta, joka saattaa levitä koko kehoon. Nivelten turvotusta, liikuntaelimestön toimintahäiriöitä, psyykkisiä ja kognitiivisia häiriöitä saattaa myös esiintyä. Joissakin tapauksissa voi myös esiintyä kasvolihassten halvausta. Sydämen rytmihäiriöt ovat harvinaisia, mutta mahdollisia.
- **Kuukausien tai vuosien kuluttua tartunnan jälkeen:** Krooninen tai toistuva niveltulehdus on tavallista ja sitä esiintyy useimmiten polvissa tai nilkoissa (Lymen niveltulehdus). Ihomuutokset, kuten acrodermatitis chronica atrophicans herxheimer ovat myös mahdollisia.

### 3. Testiperiaate

NADAL® Borreliosis Ag Test on kalvoperusteinen immunomääritys nopeaan ja suoraan borrelioosiantigeenien havaitsemiseen punkista.

Testiperiaate sisältää polyklonaalisia vasta-aineita, jotka toimivat sieppaajina yhdessä sisäisen testiliuskan konjugoituneiden *Borrelia* vasta-aineiden kanssa, joita käytetään havaitsemaan *Borrelia* antigeenejä näytteessä. Ensimmäisenä punkki lisätään testikasetin näytekaivoon. Näyte imeytyy pitkin sisäistä testiliuskaa kapillaarivoimalla. Jos *Borrelia* antigeenejä on läsnä näytteessä, vasta-aine-antigeeni-

vasta-aine kompleksi muodostuu testiviiva-alueelle ja lopputuloksena värillinen testiviiva ilmestyy näkyviin. Testiviivan ilmestyminen indikoi positiivista tulosta. Jos näyte ei sisällä *Borrelia* antigeenejä, vasta-aine-antigeeni-vasta-aine kompleksia ei muodostu eikä täten myöskään värillistä testiviivaa kehity testiviiva-alueelle. Testitulosta voidaan siis pitää negatiivisena.

Väriällisen viivan ilmestyminen kontrolliviiva-alueelle toimii testin sisäisenä kontrollina osoittaen mm. riittävän näytteen määrän ja näytteen onnistuneen imeytymisen.

### 4. Reagenssit ja mukana tulevat tarvikkeet

- 1/5 NADAL® Borreliosis Ag –testikasetti(a) (sis. pipetin ja kuivaustynny)
- 1/5 punkkiputki/putkea, jossa on puskuriiuosta (0,2 ml)
- 1/5 tikku(a)
- 1 punkinpoistaja
- 1 käyttöohje

### 5. Tarvittavat lisämateriaalit

- Ajastin

### 6. Säilytys & Säilyvyys

Testi tulee säilyttää 2-30°C lämpötilassa ja se säilyy pakkauksessa merkittyn eräpäivään saakka. Testikasetti tulee pitää sinetöitynä paketissaan käyttöön asti. Älä jäädytä testiä.

### 7. Varoitukset ja varoitoimenpiteet

- Lue käyttöohje huolellisesti ennen testin tekemistä. Ohjeiden noudattamatta jättäminen johtaa epätarkkoihin testituloksiin.
- Älä käytä testiä pakkauksessa merkittyn eräpäivän jälkeen.
- Älä käytä testiä mikäli suojaopkaus on vahingoittunut.
- Älä uudelleenkäytä testiä.
- Älä lisää näytettä reaktioalueelle (tulosalueelle).
- Tartuntariskin välttämiseksi älä koske reaktioaluetta (tulosaluetta).
- Näytteiden sekoittumisen välttämiseksi käytä uutta punkkiputkea jokaisen kerätyn näytteen kanssa.
- Älä vaihda tai sekoita keskenään testikomponentteja eri testipakkauksista.
- Älä syö, juo tai tupakoi alueella, jossa käsitellään testipakkauksia ja testinäytteitä.
- Testinäytettä analysoitaessa käytä suojaavaa vaatetusta kuten laboratoriotakkia, kertakäyttöhanakoja ja silmäsuojusta.
- Käsittele jokaista näytettä olettaen, että ne sisältävät taudinaiheuttajia. Huomioi varoitimet mikrobiologisten riskien varalle käymällä läpi kaikki standardiohjeet ja suuntaviivat näytteiden asianmukaiseen hävittämiseen.
- Testipakkaus sisältää eläinperäisiä ainesosia. Eläimen alkuperän ja/tai terveydentilan tunteminen ei täysin takaa tarttuvien taudinaiheuttajien puuttumista. Siksi on suositeltavaa, että eläinperäisiä ainesosia kohdellaan mahdollisesti tartuttavina, ja niitä käsitellään tavanomaisten varoitoimenpiteiden mukaisesti (esim. älä niele tai hengitä).
- Kosteus ja lämpötila voivat vaikuttaa testituloksiin.
- Käytetyt testimateriaalit tulee hävittää noudattaen paikallista lainsäädäntöä.



- Punkki täytyy murskata perusteellisesti, koska *Borrelia* sijaitsee punkin paksusuolessa.
- Pidä testikasetin näytekaivo puhtaana punkkipartikkeleista.
- Käytä tikkuja vain pakkausselosteessa mainittuun tarkoitukseen.
- Poista tikku välittömästi reagenssiliuoksesta sen jälkeen, kun olet murskannut punkin.

### 8. Näytteen keräys ja valmistelu

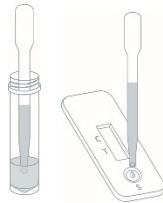
Poista punkki varovasti ja varmista, että myös pää on poistettu. Suosittelemme käytettäväksi punkin poistajaa. Punkin poistamisen jälkeen, ennen kuin aloitat testin tekemisen, voit varastoida punkin keräysputkessa. Paras lopputulos saavutetaan mikäli testaus suoritetaan heti. Parhaan mahdollisen testituloksen varmistamiseksi punkki tulee murskata huolellisesti, sillä *Borrelia* sijaitsee punkin paksusuolessa.

### 9. Testin suorittaminen

Testin suorittaminen riippuu punkin koosta. Tämä testi on kehitetty käytettäväksi vain pienten ja keskikokoisten punkkien (≤8 mm) testaukseen.

1. Aseta punkki testiputkeen, jossa on puskuriliuosta.
2. Murskaa punkki mukana tulevalla tikulla, kunnes paksusuoli on kunnolla murskaantunut. Poista sitten tikku.
3. Kun olet valmis aloittamaan testin, avaa suoja pakkaus ja ota testikasetti ulos. Aseta testikasetti puhtaalle ja tasaiselle alustalle.
4. Täytä pipetti puskuriliuoksella. Varmista, että et poimi mukaan punkin jäänteitä.
5. Lisää puskuriliuosta testikasetin näytekaivoon. Varmista, että punkin jäänteitä ei joutu mukaan näytekaivoon. Neste alkaa imeytyä testiliuskaa pitkin.
6. Lue testitulokset 10 minuutin kuluttua. Älä lue tuloksia enää 20 minuutin jälkeen.

≤ 8 mm



10 min

### 10. Tulosten tulkinta

#### Positiivinen:

Kaksi värillistä viivaa ilmestyy näkyviin. Yksi viiva ilmestyy kontrollialueelle (C) ja toinen viiva ilmestyy testiiviiva-alueelle (T). Testiviiva (T) indikoi *Borrelia* antigeenien läsnäoloa punkissa.



Mitä vähemmän *Borrelia* antigeenejä on läsnä punkissa, sitä heikompi testiviiva (T) on. Silti heikkokin testiviiva tulee tulkita positiiviseksi tulokseksi. Kontrolliviiva ei ole verrannollinen testiivaan ja siksi se saattaa olla voimakkuudeltaan eritasoinen kuin testiviiva.

#### Negatiivinen:

Vain yksi värillinen viiva ilmestyy näkyviin kontrollialueelle (C). Testiviiva-alueelle (T) ei ilmestyy näkyviin viivaa. *Borrelia* antigeenejä ei havaittu punkissa.



#### Pätemätön:

Kontrolliviivaa ei ilmestyy näkyviin. Tulokset testistä, jossa kontrolliviivaa ei ilmestyy tulostenlukuajan sisällä, tulee jättää huomiotta. Tutustu uudestaan käyttöohjeisiin ja toista testi käyttäen toista testikasettia. Mikäli ongelma jatkuu, lopeta testien käyttäminen ja ota yhteyttä toimittajaan.



**Huomio:** Riittämätön näytteen määrä, ohjeiden noudattamattomuus tai vanhentunut testikasetti ovat todennäköisimpiä syitä kontrolliviivan ilmestymättömyyteen.

### 11. Laadunvalvonta

Kontrolliviivan ilmestyminen kontrolliviiva-alueelle (C) toimii testin sisäisenä laatukontrollina. Kontrolliviiva varmistaa riittävän näytteen määrän, oikeaoppisen imeytymisen ja oikeanlaisen testin suoritustekniikan.

### 12. Rajoitukset

- Tämä testi on kehitetty käytettäväksi vain pienten ja keskikokoisten punkkien (≤8 mm) testaukseen.
- Positiivinen testitulos indikoi *Borrelia* läsnäoloa punkissa.

### 13. Suorituskyky ja ominaisuudet

Vertailevan tutkimuksen avulla on selvitetty, mitä *Borrelia* lajikkeita voidaan havaita NADAL® Borreliosis Ag Test avulla verrattuna polymeraasiketjureaktiolla (PCR) suoritettuun testiin. Seuraavat *Borrelia* lajit havaittiin molemmilla testausjärjestelmissä (vertailututkimus 2012-2013): *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto* ja *B. spielmanii*.

NADAL® Borreliosis Ag Test

Sensitiivisyys: 92,86 %

Spesifisyys: 95,83 %

Positiivinen odotusarvo: 86,67 %

Negatiivinen odotusarvo: 97,87 %

Testin kokonaissuorituskyky: 95,16 %

### 14. Lähteet

1. J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: „Lehrbuch Der Parasitologie für die Tiermedizin“, Enke Verlag, 2.vollst. überarb. Aufl. 2008 W.
2. Luttmann, K., Bratke, M., Küpper, D. Myrtek: „Der Experimentator Immunologie“, Spektrum Akademischer Verlag, S.110 f., 3. Auflage 2009.

Rev. 2, 2019-05-29 AS



Symbol	Deutsch	English	Français	Español	Italiano	Polski
	Gebrauchsanweisung beachten	Consult instructions for use	Consulter la notice d'utilisation	Consultense las instrucciones de uso	Consultare le istruzioni per l'uso	Przestrzegać instrukcji obsługi
	Temperaturbegrenzung	Temperature limitation	Limites de température	Límite de temperatura	Limiti di temperatura	Temperatura przechowywania
<b>LOT</b>	Chargenbezeichnung	Batch code	Code du lot	Código de lote	Codice lotto	Numer serii
	Nicht zur Wiederverwendung	Do not reuse	Ne pas réutiliser	No reutilizar	Non riutilizzare	Tylko do jednorazowego użytku
	Verwendbar bis	Use by	Utiliser jusqu'au	Fecha de caducidad	Utilizzare entro	Data ważności
<b>REF</b>	Bestellnummer	Catalogue Number	Référence du catalogue	Número de catálogo	Riferimento di Catalogo	Numer katalogowy
	Hersteller	Manufacturer	Fabricant	Fabricante	Fabbricante	Producent
	Ausreichend für <n> Ansätze	Sufficient for <n> tests	Suffisant pour "n" tests	Suficiente para <n> utilizations	Sufficiente per "n" saggi	Wystarczający na <n> Powtórzeń

Symbol	Português	Český	Suomi	Svenskt	Nederlands	Dansk
	Consultar as instruções de utilização	Viz návod k použití	Katso käyttöohjetta	Läs bruksanvisningen	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	Se brugsanvisningen
	Limites de temperatura	Teplotní omezení	Lämpötilarajat	Temperaturbegränsning	Temperatuurlimiet	Temperaturbegrænsning
<b>LOT</b>	Código do lote	Kód šarže	Eräkoodi	Satsnummer	Code van de partij	Batchkode
	Não reutilizar	Pro jednorázové použití	Kertakäyttöinen	Får inte återanvändas	Niet opnieuw gebruiken	Må ikke genbruges
	Prazo de validade	Spotřebujte do	Käytettävä viimeistään	Används före	Houdbaar tot	Udløbsdato
<b>REF</b>	Número de catálogo	Katalogov číslo	Luettelonumero	Listnummer	Catalogus nummer	Best il l ingsnummer
	Fabricante	Výrobce	Valmistaja	Tillverkare	Fabrikant	Fabrikant
	Suficiente para <n> test	Dostačuje pro <n> testů	Lukumäärä <n> test	Räcker till <n> test	Voldoende voor <n> test	Tilstrækkeligt til <n> test

## Our Teams

### Germany:

#### Regensburg

Tel: +49 941 290 10-0  
 Fax: +49 941 290 10-50

#### Moers

Tel: +49 2841 99820-0  
 Fax: +49 2841 99820-1

#### Austria:

Tel: +49 941 290 10-29  
 Free Tel: 0800 291 565  
 Fax: +49 290 10-50  
 Free Fax: 0800 298 197

#### UK & Ireland:

Tel: +49 941 290 10-18  
 Free Tel –UK: 0808 234 1237  
 Free Tel – IRE: 1800 555 080  
 Fax: +49 290 10-50

#### France:

France Tel: 0800 915 240  
 France Fax: 0800 909 493

### Switzerland

Swiss Tel: 0800 564 720  
 Swiss Fax: 0800 837 476

### Belgium

Belgium Tel: 0800 718 82  
 Belgium Fax: 0800 747 07

### Luxembourg

Lux. Tel: 800 211 16  
 Lux. Fax: 800 261 79

### Spain:

Tel: +49 941 290 10-759  
 Free Tel: 900 938 315  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Free Fax: 900 984 992

### Italy:

Tel: +49 941 290 10-34  
 Fax: +49 941 290 10-50

### Poland:

Tel: +49 941 290 10-44  
 Free Tel: 00 800 491 15 95  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Free Fax: 00 800 491 15 94

### Portugal:

Tel: +49 941 290 10-735  
 Tel. Verde: 800 849 230  
 Fax: +49 941 290 10-50  
 Fax Verde: 800 849 229

### Netherlands:

Tel: +31 30 75 600  
 Free Tel: 0800 0222 890  
 Fax: +31 70 30 30 775  
 Free Fax: 0800 024 9519

### Denmark:

Tel: +31 703075 603  
 Free Tel: +45 80 88 87 53  
 Tax: +31 703030 775

### Laboratory Diagnostics Team:

Tel: +49 941 290 10-40  
 Fax: +49 941 290 10-50



nal von minden GmbH

Carl-Zeiss-Strasse 12 • 47445 Moers • Germany

[www.nal-vonminden.com](http://www.nal-vonminden.com) • [info@nal-vonminden.com](mailto:info@nal-vonminden.com)

Fon: +49 2841 99820-0 • Fax: +49 2841 99820-1