

# Fassisi® BoTick

Szybki test do wykrywania bakterii boreliozy w kleszczach

## Instrukcja obsługi

Test Fassisi BoTick jest szybkim testem immunologicznym do jakościowego wykrywania *Borrelia* (*Borrelia* (B.) *garinii*, *Borrelia* *afzelii* i *Borrelia* *burgdorferi* sensu stricto) bezpośrednio u kleszczy.

### Borelioza (Choroba z Lyme)

Na całym świecie jest ponad 800 gatunków kleszczy, które można podzielić na dwie rodziny: kleszcze twarde i kleszcze miękkie. Kleszcze miękkie żyją z reguły w regionach tropikalnych oraz subtropikalnych. Kleszcze twarde, występują na całym świecie i mogą być nosicielami Boreliozy lub wywoływać Odkleszczowe Zapalenie Opon Mózgowych (ESME).

Wirus ESME znajduje się w gruczołach ślinowych kleszcza i zostaje wprowadzony do organizmu ofiary w momencie ugryzienia, natomiast bakterie wywołujące Boreliozę początkowo pozostają w organizmie kleszcza. Podczas procesu ssania krwi bakterie są przenoszone do ciała żywiciela również przez gruczoł ślinowy kleszcza. Generalnie uważa się, że w ciągu pierwszych godzin od ugryzienia ryzyko zachorowania na Boreliozę jest niewielkie. Rozprzestrzenianie się patogenów rozpoczyna się nie wcześniej niż po 2 godzinach od ugryzienia i jest najbardziej intensywne po 72 godzinach. Objawy chorobowe Boreliozy u zwierząt są bardzo zróżnicowane w porównaniu do objawów obserwowanych u ludzi. Na przykład typowymi pierwszymi symptomami choroby u zwierząt są zmęczenie i gorączka, utrudnione poruszanie się, ból oraz inne zaburzenia funkcji życiowych. U ludzi może pojawić się tzw. rumień wędrujący. Obecnie nie jest możliwe określenie jednoznacznego wzorca objawów Boreliozy u ludzi i zwierząt. Jeżeli kleszcz jest napity krwią, powinien być traktowany jako potencjalne źródło infekcji Boreliozą i dlatego powinien zostać zbadany.

Jeżeli test dał wynik pozytywny, ugryziona osoba lub zwierzę powinno zostać poddane bliższej obserwacji i w przypadku zaobserwowania nietypowych objawów powinno trafić jak najszybciej pod opiekę lekarza.

### Budowa testu

Wewnątrz plastikowej obudowy znajduje się pasek testowy. Na ilustracji poniżej, po prawej stronie kasetki znajduje się oczko absorpcyjne, a po środku okienko reakcyjne. W okienku reakcyjnym paska testowego występują dwa obszary – kontrolny (C) oraz testowy (T).



Test BoTick jest oparty na reakcji immunologicznej, mającej na celu bezpośrednio wykrycie antygenów boreliozy u kleszcza. Poliklonalne przeciwciała zostały użyte jako chwytacze w połączeniu ze skoniugowanymi przeciwciałami boreliozy na obszarze linii testowej (T).

Przygotowaną próbkę kleszcza umieszcza się w oczku absorpcyjnym. Następnie, materiał próbki, za pomocą sił kapilarnych przemieszcza się wzdłuż testu. Jeżeli bakterie boreliozy są obecne w próbce, wówczas w obszarze testowym (T) tworzy się kompleks antygen-przeciwciała boreliozy - pojawia się czerwona linia. Pojawienie się linii testowej (T) oznacza **wynik pozytywny**.

Jeżeli bakterie Boreliozy nie są obecne w próbce, nie tworzy się kompleks antygen-przeciwciała boreliozy – nie pojawia się czerwona linia w obszarze testowym (T) – oznacza to **wynik negatywny**.

Natomiast zawsze powinna pojawić się kolorowa linia w obszarze kontrolnym (C). Obszar kontrolny (C) służy do określania, czy test został prawidłowo przeprowadzony - wskazuje, czy roztwór migrował właściwie i penetrował całą membranę.

### ZAWARTOŚĆ OPAKOWANIA

- 5 kasetek testowych z pipetami i osuszaczem
- 5 próbek testowych
- 1 buteleczka z buforem – 4 ml
- 5 drewnianych szpatulek
- 1 instrukcja obsługi

### OBZAR ZASTOSOWANIA

Test został opracowany wyłącznie do badania kleszczy. Dodatni wynik testu wskazuje na obecność bakterii Boreliozy w kleszczach.

### UWAGA

- Test służy wyłącznie do badania kleszczy.
- Kleszcz musi być dokładnie zmiażdżony – bakterie Boreliozy znajdują się w okrzężnicy kleszcza.
- Proszę stosować się do ilości płynu określonej w instrukcji - nie wstrzyknąć za dużo odczynnika, gdyż może to prowadzić do błędnych wyników badań.
- Należy uważać, aby okno reakcyjne było wolne od jakichkolwiek pozostałości kleszcza.
- Używaj tylko drewniany szpatulek dołączonych do zestawu.
- Po zmiażdżeniu kleszcza szybko usuń szpatułki z próbki testowej, ponieważ mogą chłonać płyn.
- Nie należy otwierać saszetki dopóki nie jest się przygotowanym do przeprowadzenia testu.
- Należy przestrzegać czasu w jakim należy przeprowadzić ocenę.
- Nie umieszczać próbki w okienku reakcyjnym tylko w oczku absorpcyjnym.
- Nie dotykać okienka reakcyjnego.
- Test jest przeznaczony do jednorazowego użytku.
- Nie należy używać po terminie ważności.
- Nie należy korzystać z zestawu testowego, jeśli opakowanie zostało uszkodzone.
- Przechowywać i transportować test w temperaturach podanych w instrukcji.

### POBIERANIE PRÓBEK

Ostrożnie wyjmij kleszcza i upewnij się, że głowa oraz inne pozostałości zostały dokładnie usunięte.

Zalecane jest użycie szpiciec. Po usunięciu kleszcza i przed rozpoczęciem testu, kleszcza można przechowywać w dołączonej próbówce.

Badanie kleszcza bezpośrednio po usunięciu daje najlepsze rezultaty, ale można również przeprowadzić test w późniejszym czasie. Jednak test powinien być przeprowadzany w ciągu 2 dni od momentu wyciągnięcia kleszcza ze skóry.



**Wskazówka:** Jeśli kleszcz jest bardzo mały lub nieco wysuszony, zalecane jest dodanie 2 kropli płynu odczynnika do kleszcza w próbówce i pozostawić go w roztworze przez co najmniej 30 minut. Zapewnia to prawidłowe i dokładne rozgniatanie w dalszej fazie wykonywania testu, co opisano poniżej.

## WYKONANIE TESTU

Właściwe przeprowadzenie testu zależy od wielkości kleszcza.

W przypadku gdy badane będą małe lub średnie kleszcze (ciało kleszcza nie wykazuje znaczącego wzrostu wielkości; to znaczy nie zassał jeszcze dużo krwi), należy stosować się do zasad opisanych w procedurze I.

Jeśli kleszcz do badania jest duży (ciało kleszcza pokazuje znaczny wzrost wielkości; co oznacza, że ssał już krew przez kilka godzin/dni), tylko jedna kropla z ze zmiażdżonego kleszcza jest brana do testu i należy go wykonać wg procedury II.

### I. WYKONANIE TESTU DLA KLESZCZY MAŁEJ I ŚREDNIEJ WIELKOŚCI – PROCEDURA I (patrz schemat 1)

- (1) Umieść kleszcza w próbówce testowej i dodaj 2 krople buforu,

**Wskazówka:** Moczenie kleszcza przez co najmniej 30 minut sprawia, że jego rozgniatanie jest łatwiejsze

- (2) Rozgnieć kleszcza drewnianą szpatułką. Po dokładnym rozgnieceniu kleszcza roztwór powinien zmienić zabarwienie.

**Uwaga:** Dokładne rozgniecenie kleszcza jest bardzo istotne dla prawidłowego wyniku badania. Bakterie Boreliozy znajdują się w okrzężnicy kleszcza.

Jeśli to konieczne, dodaj kolejne krople cieczy odczynnikowej, jeśli uzyskany, w wyniku rozgniatania kleszcza, roztwór ma zbyt dużą lepkość.

- (3) Po dokładnym rozgnieceniu kleszcza, należy dokładnie wymieszać zawartość próbki, a następnie usunąć drewnianą szpatułkę.

- (4) Użyj pipety (znajduje się w aluminiowej saszetce) i pobierz z próbki płyn uzyskany w wyniku rozgniatania kleszcza z buforem.

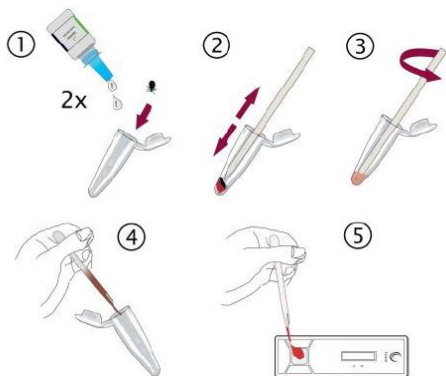
# Fassisi® BoTick

Szybki test do wykrywania bakterii boreliozy w kleszczach

(5) Nanieś 2-3 krople roztworu na oczko absorpcyjne (upewniając się, że pobrany roztwór nie zawiera żadnych cząstek kleszcza, które mogłyby zapchać oczko absorpcyjne).

Płyn rozpocznie migrację w okienku reakcyjnym.

**Uwaga: jeżeli badany roztwór nie migruje równomiernie w okienku reakcyjnym:**  
 - dodaj jedną kroplę buforu do oczka absorpcyjnego,  
 - jeśli cząstki kleszcza znajdują się w oczku absorpcyjnym i blokują przepływ, można końcówką pipety nacisnąć na oczko absorpcyjne, co powinno pozwolić na dalszą migrację badanego płynu.



Schemat 1 wykonania testu wg Procedury I

## II. WYKONANIE TESTU DLA KLESZCZY DUŻYCH – PROCEDURA II (patrz schemat 2)

(1) Umieść opitego kleszcza w próbówce testowej.

(2) Rozgnieć dokładnie kleszcza używając drewnianej szpatułki tak aby wydobyć z niego jak najwięcej płynu i mieć pewność, że uszkodzona została jego okrężnica.

**Uwaga: Dokładne rozgniecenie kleszcza jest bardzo istotne dla prawidłowego wyniku badania. Bakterie Boreliozy znajdują się w okrężnicy kleszcza.**

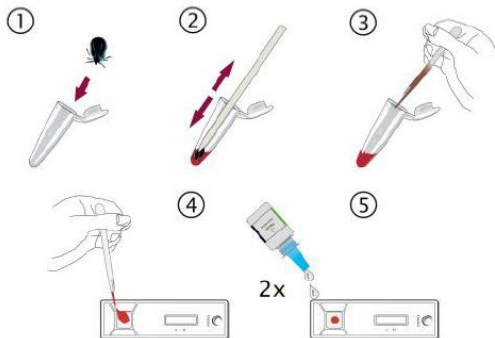
3. Pobierz uzyskany płyn za pomocą pipety (pipeta jest zapakowana razem z kasetką w saszetce). Upewnij się, że pobrany płyn nie zawiera żadnych cząstek kleszcza.

**Uwaga: Im więcej płynu uzyskanego z kleszcza uda się wprowadzić do testu tym lepiej. Jeśli lepkość płynu uzyskanego z kleszcza jest zbyt wysoka jego migracja przez membranę testu będzie wolna.**

4. Nanieś do oczka absorpcyjnego 1 kroplę płynu uzyskanego z kleszcza i odczekaj kilka sekund, aby płyn się wchłoniął.

5. Następnie dodaj 2 krople buforu również do oczka absorpcyjnego. Płyn zacznie wolno migrować w okienku reakcyjnym.

**Uwaga: jeżeli badany roztwór nie migruje równomiernie w okienku reakcyjnym po 30 sekundach:**  
 - dodaj jedną kroplę buforu do oczka absorpcyjnego.  
 - końcówką pipety nacisnąć na oczko absorpcyjne, co powinno pozwolić na dalszą migrację badanego płynu.



Schemat 2 wykonania testu wg Procedury II

## OCENA WYNIKÓW TESTU

Gdy badany roztwór migruje równomiernie w okienku reakcyjnym, po kilku minutach, pojawi się linia w obszarze kontrolnym (C). Następnie należy odczekać co najmniej 10 minut, a następnie przystąpić do oceny wyniku testu.

## POZYTYWNY WYNIK TESTU

Jeżeli w ciągu 30 minut od rozpoczęcia wykonywania testu w oknie reakcyjnym pojawiły się 2 linie: w obszarach kontrolnym (C) oraz testowym (T), oznacza to, że wynik testu jest pozytywny - w próbce badanej znajdują się bakterie Boreliozy. Intensywność koloru linii w obszarze testowym (T) może być różna, nie mniej bez względu na jej intensywność, samo jej pojawienie należy interpretować jako wynik pozytywny.



**Wskazówka:** Ocenę wyniku testu wykonuj w jasnym świetle. Obserwuj pole reakcji pod różnymi kątami tak, aby nawet słabe linie testowe mogły być widoczne.

Należy pamiętać, że linia w obszarze kontrolnym (C) nie jest odpowiednikiem linii w obszarze testowym (T).

## NEGATYWNY WYNIK TESTU

Jeżeli w ciągu 30 minut od rozpoczęcia wykonywania testu w oknie reakcyjnym pojawiła się tylko 1 linia w obszarze kontrolnym (C) oznacza to, że wynik testu jest negatywny. Całkowity brak obecności linii w obszarze testowym (T) wskazuje, że w badanej próbce nie wykryto bakterii Boreliozy.



## WYNIK NIEWAŻNY

Jeżeli w oknie reakcyjnym nie pojawi się linia w obszarze kontrolnym (C), test należy uznać za nieważny i należy go powtórzyć. Oznacza to, że najprawdopodobniej roztwór badany nie migrował równomiernie.

**Uwaga: Ocena wyniku testu powinna nastąpić w ciągu 30 minut od momentu rozpoczęcia wykonywania testu. Nie należy brać pod uwagę wyniku odczytanego po 30 minutach. Wszystkie wyniki odczytane po 30 minutach traktuje się jako nieważne.**

## PRZECHOWYWANIE I OKRES TRWAŁOŚCI

Originalnie zapakowany test może być przechowywany w zakresie temperatur od 2°C do 30°C. Nie należy zamrażać testu. Maksymalny okres trwałości testu został podany na opakowaniu zewnętrznym oraz na aluminiowej saszetce zestawu testowego.

## CZUŁOŚĆ I SPECYFICZNOŚĆ

Badania porównawcze rok 2011

Borrelia burgdorferi	Polymerase Chain Reaction (PCR)			Total
	Positive	Negative	Total	
Fassisi BoTick	Positive	28	1	29
	Negative	2	19	21
	Total	30	20	50

Badano 50 z 250 zebranych kleszczy. Pozostałe 200 kleszczy zostały zdefiniowane wcześniej jako negatywne.

CZUŁOŚĆ: 93,3%, SPECYFICZNOŚĆ: 95,0%

## KONTROLA JAKOŚCI

Materiały kontrolne wymagane dla właściwego badania laboratoryjnego są dostępne komercyjnie; ich użycie jest zalecane, aby sprawdzić prawidłowe funkcjonowanie testu.

## LITERATURA

- 1) J. Eckert, K.T. Friedhoff, H. Zahner, P. Deplazes: "Lehrbuch der Parasitologie für die Tiermedizin" [Parasitology Textbook for Veterinary Medicine], Enke Publishing House, 2<sup>nd</sup> fully revised edition 2008
- 2) W. Luttmann, K. Bratke, M. Küpper, D. Myrtek: "Der Experimentator Immunologie" [Immunology, the Experimentalist], Spektrum Academic Publishing House, p.110 et seq., 3<sup>rd</sup> edition 2009

## SYMBOLE

	Używać tylko jeden raz		Instrukcja obsługi
	Zawartość		Temperatura przechowywania
	Numer seryjny		Okres trwałości

Rev.: 2013-09-02