



GAS **S** **TEST**® **FOUR VECT**

Ref. GT010204
Ref. GT010205
Ref. GT010210
Ref. GT010220



Sólo para uso veterinario / For veterinary use only.

ES Instrucciones de uso 2
EN Instructions for use 11

1. Uso previsto

El test GaSS-Test FOUr VECt sirve para la detección de enfermedades vectoriales como son la Leishmania, Ehrlichia, Anaplasma detectando anticuerpos y la Dirofilaria detectando antígenos, en muestras obtenidas de sangre de perros. Este test está diseñado para ayudar al diagnóstico de las cuatro enfermedades ya que con una sensibilidad media del 97% y especificidad del 99,99% son muy probables las detecciones de Leishmania infantum (Ac), Ehrlichia canis (Ac), Anaplasma phagocytophilum (Ac) y Dirofilaria Immitis (Ag).

2. Introducción y significado clínico

Las enfermedades transmitidas por vectores en los perros son cada vez cada vez más importantes debido a diversos factores. Su aparición ya no se limita a unos pocos países, sino que es un problema cada vez más global (Consejo Científico Europeo para Parásitos de Animales de Compañía (ESCCAP).

Debido al cambio climático los artrópodos (garrapatas, dípteros, flebótomos etc.) se están adaptando al cambio de las temperaturas, de modo que las garrapatas, por ejemplo, ya no son sólo un problema en verano, sino que también son activas en invierno.

Además, la movilidad está aumentando en todo el mundo: los perros se llevan de viaje a otros países y también

cada vez más perros encuentran un nuevo hogar en otros países o en otro continente (Self et al., 2019).

Las enfermedades transmitidas por vectores como son la Leishmania, Ehrlichia, Anaplasma y la Dirofilaria pueden dañar gravemente el organismo e incluso provocar la muerte. Por ello en los casos sospechosos deben utilizarse métodos de detección fiables y siempre contrastar los resultados con un laboratorio de referencia veterinario.

El test GaSS-Test FOUr VECt se ha desarrollado con este propósito: es una prueba rápida basada en el principio del sistema de flujo lateral. La prueba detecta los siguientes patógenos relevantes en la sangre, suero o plasma de los perros: Leishmania infantum (Ab), Ehrlichia canis (Ab), Anaplasma phagocytophilum (Ab) y Dirofilaria Immitis (Ag).

Todos los patógenos se conocen como enfermedades mediterráneas, pero por ahora los vectores - mosquitos (incluyendo Culex, Aedes, Anopheles y garrapatas incluyendo Ixodes ricinus) - también son habituales de otras zonas (Maggi et al., 2014).

2.1 Patógenos

Leishmania: causada por *Leishmania infantum* es un grave problema veterinario en toda la cuenca mediterránea, donde los perros son los reservorios más importantes del parásito. Se conocen más de 500 especies de flebótomos, pero se ha comprobado que sólo unos 30 transmiten la leishmaniosis. De ellas, sólo las hembras de los flebótomos transmiten el parásito. Dichas hembras necesitan sangre para desarrollar sus huevos y se infectan con los parásitos de la *Leishmania* cuando chupan sangre de una persona o animal infectado. Los perros infectados pueden desarrollar ellos mismos la leishmaniosis y son una fuente potencial de contaminación para otros perros y humanos. Los parásitos se desarrollan durante un periodo de 4 a 25 días en el flebótomo. Cuando la hembra infecciosa del flebótomo se alimenta de sangre fresca inocula el parásito a la persona o al animal y el ciclo de transmisión se completa.

Durante la leishmaniosis canina (LC) debida a *Leishmania infantum*, se asocian unos niveles altos de producción de anticuerpos a la presencia de diversos signos clínicos, debido a la deposición de complejos inmunes solubles en órganos y tejidos. Normalmente se pueden detectar los anticuerpos en estos animales clínicamente afectados. Se pueden detectar anticuerpos de *Leishmania* con éxito hasta semanas o meses después de la infección. La detección de anticuerpos específicos en muestras

de suero se utiliza ampliamente para el diagnóstico de la leishmaniosis canina. Los animales infectados asintóticamente suelen tener títulos de anticuerpos marginales o muy bajos y son difíciles de detectar.

Ehrlichia canis: los perros infectados por *Ehrlichia* desarrollan una ehrlichiosis monocítica canina. La aparición de infecciones está relacionada con la propagación del vector *R. sanguineus*. Para el diagnóstico de las infecciones por *Ehrlichia*, se dispone de una combinación de anamnesis, para evaluar una posible infestación por garrapatas, la evaluación de los síntomas clínicos, serología y/o PCR. Desde el punto de vista serológico, los anticuerpos pueden detectarse con el test FOuR VECt gracias a antígenos específicos de *E. canis*.

Anaplasma phagocytophilum: en Europa, las infecciones por *A. phagocytophilum* y *A. platys* se producen en perros. Para la detección se aplica una mezcla de antígenos de *A. phagocytophilum* y *A. platys* de péptidos sintéticos de la proteína de superficie p44 inmunodominante a la tira reactiva. El uso de péptidos sintéticos purificados permite la reactividad cruzada de los patógenos *A. platys* y *A. phagocytophilum*. A efectos de diagnóstico, es importante señalar que algunos estudios han indicado que las cepas de *A. phagocytophilum* son más virulentas en los Estados Unidos que las cepas que circulan en Europa. Por lo tanto, una infección sintomática en pacientes europeos

parece ser más rara y menos grave que en Norteamérica. Por lo tanto, la investigación clínica de los pacientes con detección positiva de anticuerpos es de gran importancia.

Dirofilaria immitis: la infección por *D. immitis* puede provocar una enfermedad grave y mortal en los perros. Los gusanos del corazón adultos pueden sobrevivir entre 5 y 7 años en los perros. La prueba del antígeno se utiliza para detectar los antígenos circulantes de *D. immitis* en la sangre; se detectan las hembras adultas de los gusanos del corazón.

3. Principio del test

El test GaSS-Test FOuR VECt es un inmunoensayo de tipo flujo lateral. El test utiliza antígenos en el caso de la *Leishmania*, *Ehrlichia* y *Anaplasma* y anticuerpos específicos en el caso de la *Dirofilaria*, que capturan anticuerpos o antígenos según la enfermedad a detectar permitiendo visualizar así el agente. El test GaSS-Test FOuR VECt es un inmunoensayo altamente sensible y está formado por 4 tiras reactivas alojadas en un práctico casete de test.

Las tiras reactivas en el GaSS-Test FOuR VECt contienen una almohadilla para la muestra, una almohadilla con conjugado, una membrana de reacción y una almohadilla de absorción. Tras la aplicación de la muestra en la tira reactiva, los anticuerpos de *leishmania*, *Ehrlichia* y *Anaplasma* presentes en el material de muestra reaccionan

con los antígenos fijados, formando un complejo en la almohadilla del conjugado. En el caso de la *Dirofilaria* el antígeno presente en el material de muestra reacciona con los anticuerpos específicos, formando un complejo en la almohadilla del conjugado. El líquido migra entonces a lo largo de la tira por acción capilar. En la región de la línea de test, los complejos formados son capturados por los anticuerpos inmovilizados, dando lugar a la formación de una línea roja en la región de test que indica un resultado positivo. Si la muestra no contiene anticuerpos, o antígenos en el caso de la *Dirofilaria*, no aparecerá la línea de la región del test. Además, debe formarse una línea roja en la región de control, independientemente de la presencia de anticuerpos, o antígenos en el caso de la *Dirofilaria*. Esta línea sirve como un control interno e indica que se ha añadido un volumen adecuado de líquido de muestra a la tira reactiva y que la membrana se empapado suficientemente.

4. Reactivos y materiales provistos

4.1 Kit de 4 test, ref. GT010204

- 4 test GaSS-Test FOuR VECt
- 4 tubos de 0,5 ml EDTA K3
- 4 pipetas Pasteur
- 2 búffer de 4 ml
- 1 manual de instrucciones

4.2 Kit de 5 test, ref. GT010205

- 5 test GaSS-Test FOuR VEcT
- 5 tubos de 0,5 ml EDTA K3
- 5 pipetas Pasteur
- 2 búffer de 4 ml
- 1 manual de instrucciones

4.3 Kit de 10 test, ref. GT010210

- 10 test GaSS-Test FOuR VEcT
- 10 tubos de 0,5 ml EDTA K3
- 10 pipetas Pasteur
- 2 búffer de 4 ml
- 1 manual de instrucciones

4.4 Kit de 20 test, ref. GT010220

- 20 test GaSS-Test FOuR VEcT
- 20 tubos de 0,5 ml EDTA K3
- 20 pipetas Pasteur
- 4 búffer de 4 ml
- 1 manual de instrucciones

5. Materiales adicionales

Cronómetro.

6. Almacenamiento y conservación

El test GaSS-Test FOuR VEcT debe almacenarse a temperatura ambiente (2-30 °C). El test se mantiene estable hasta la fecha de caducidad impresa en el envase.

Mantenga el casete en su envase hasta su uso. No congele los test ni los someta a temperatura por encima de 30 °C.

7. Precauciones

- Utilice un nuevo casete de test para cada análisis.
- Un solo uso, no reutilice el test.
- Únicamente para uso veterinario.
- Use solo los materiales provistos con el kit GaSS-Test.
- Utilice el test antes de 60 minutos una vez abierto el sobre.
- El casete de test debe estar en posición horizontal sobre una superficie lisa.
- Anote la cantidad de material de muestra utilizado. Un número incorrecto de gotas o gotas demasiado pequeñas puede derivar en resultados erróneos.
- Considere los resultados de la prueba como no válidos después del tiempo de lectura.
- No utilice la prueba después de la fecha de caducidad que figura en el sobre y tampoco si el sobre o el sellado están dañados.
- Deseche todos los materiales contaminados de forma adecuada siguiendo la normativa estándar para la manipulación de materiales potencialmente infecciosos y reactivos químicos durante la realización de la prueba. Se recomienda usar ropa protectora. Desinfecte el

área de trabajo después de realizar el test. Elimine los materiales de muestra siguiendo las regulaciones locales establecidas.

8. Procedimiento del test

Muestras de suero y plasma

El material de muestra recomendado es un suero o plasma recién recogido para lograr la máxima sensibilidad.


Separe el suero o plasma de la sangre total lo más rápidamente posible, la muestra debe ser clara y no hemolizada ni lipémica.

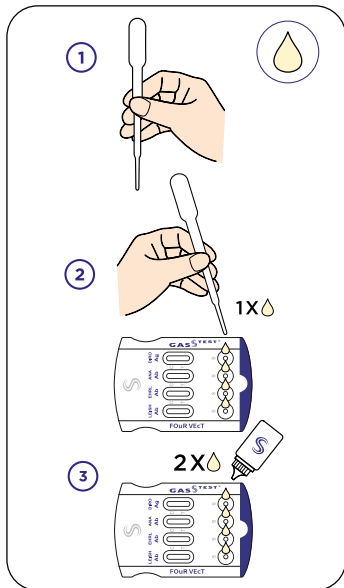
Procedimiento

Abra el sobre y extraiga el casete. Colóquelo en una superficie plana y abra la botella con el reactivo, dejándola al lado.

- 1 Coja con la pipeta una muestra del suero o plasma.
- 2 Cuidadosamente ponga 1 gota (20µl) de muestra en el pocillo.
- 3 Añada dos gotas del reactivo de la botella en el pocillo. Asegúrese que no se formen burbujas de aire.

El líquido empieza a desplazarse por la tira en un tiempo breve (menos de 60 segundos). Si el líquido no corre por la tira después de 60 segundos, añada una gota de buffer adicional en el pocillo y/o **presione con la punta de la pipeta en el pocillo para reactivar la realización del test.**

 El resultado se puede leer después de 15 minutos. **No interprete los resultados después de más de 15 minutos. Después de este tiempo, el test y sus resultados dejan de considerarse válidos.**



Sangre completa

Una muestra de sangre debe usarse lo más pronto posible. Se puede utilizar también sangre heparinizada o con EDTA.

La muestra debe estar a temperatura ambiente y debe agitarse bien antes de usarse. Las muestras hemolizadas o lipémicas no son recomendables.


El uso de muestras de sangre completa puede llevar a un nivel de sensibilidad menor. En caso de un resultado negativo con sangre completa, si existe sospecha de infección, debe repetirse el test con una muestra de suero o plasma de la sangre completa para obtener la máxima sensibilidad.

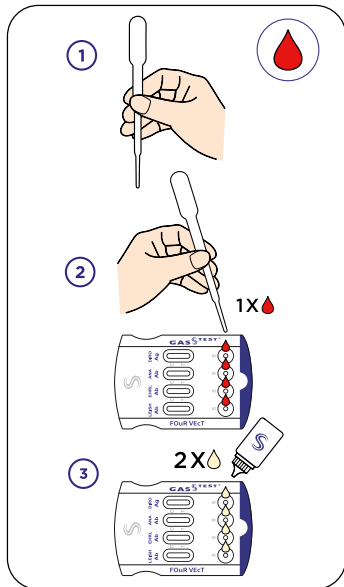
Procedimiento

Abra el sobre y extraiga el casete. Colóquelo en una superficie plana y abra la botella con el reactivo, dejándola al lado.

- 1 Coja con la pipeta muestra de sangre.
- 2 Cuidadosamente ponga 1 gota (20µl) de muestra en el pocillo.
- 3 Añada dos gotas del reactivo de la botella en el pocillo. Asegúrese que no se formen burbujas de aire.

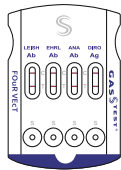
El líquido empieza a desplazarse por la tira en un tiempo breve (menos de 60 segundos). Si el líquido no corre por la tira después de 60 segundos, añada una gota de buffer adicional en el pocillo y/o **presione con la punta de la pipeta en el pocillo para reactivar la realización del test.**

 El resultado se puede leer después de 15 minutos. **No interprete los resultados después de más de 15 minutos. Después de éste tiempo, el test y sus resultados dejan de considerarse válidos.**



9. Interpretación del resultado

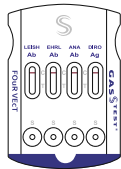
Resultado positivo



En el caso de un resultado positivo, aparecen dos líneas rojas en el campo de reacción del test. Una línea roja en la zona (T) indica un resultado positivo. La segunda línea en la zona (C) indica la línea de control, que muestra el funcionamiento correcto del test. La línea C no es una línea de referencia y puede tener una intensidad distinta que la línea T.

Nota: un resultado positivo no es concluyente, pero es un indicador en combinación con un informe preliminar correspondiente. Solo puede establecerse una diagnosis definitiva con la inclusión de exámenes clínicos adicionales.

Resultado negativo



El test es negativo cuando en el área de reacción solo aparece la línea de control (C) roja. Esto indica que no se han detectado anticuerpos de leishmania, ehrlichia o anaplasma o bien antígenos de dirofilaria en el material de la muestra, según la tira.

Nota: los resultados serológicos deben interpretarse siempre en combinación con resultados clínicos. Un resultado negativo

a partir de una muestra en suero no descarta una infección, porque estos resultados pueden obtenerse en cualquier estadio de la infección. Un resultado positivo en suero en áreas endémicas puede deberse a infecciones anteriores.

Resultado no válido

Si **no** aparece una línea de control en C después de realizar el test, la prueba no es válida. En este caso, es probable que la prueba no se haya realizado correctamente o que se haya superado la fecha de caducidad. En este caso, debe realizar un nuevo test.

Si el problema persiste, deje de usar el kit inmediatamente y contacte con su distribuidor o con nuestro departamento técnico de atención al cliente **0034 958 41 27 76**.

10. Control de calidad

En el casete de test se incluye un control interno. La línea roja que aparece en la región de control (C) se considera un 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.

11. Limitaciones

Los resultados deben juzgarse siempre en relación con el contexto anamnéstico y clínico. Todos los resultados obtenidos con muestras de sangre completa, que no se correspondan con el cuadro clínico, deben repetirse con una muestra de suero o plasma. Todos los resultados dudosos deben repetirse después de aproximadamente 1 semana o remitir al laboratorio para su certificación. Los resultados positivos detectados con los test rápidos de veterinaria GaSS-Test FOuR VEct deben confirmarse con un método analítico adicional.

Existe la posibilidad de que el resultado del test se vea distorsionado por errores técnicos, fallos en el procedimiento o por sustancias o factores no mencionadas aquí, pero que influyen en el test.

Para preguntas, comentarios o consultas técnicas contacte por favor con nuestro departamento de técnico de atención al cliente: **0034 9 58 41 27 76**.



Grupo DAV SALUD
 C/Tucumán nº6 Nave A-B,
 18200 Maracena (Granada), España.

12. Características del rendimiento

Test	Sensibilidad	Especificidad	Concordancia	Método Comparativo
Leishmania Ac	97,78 %	100,00 %	98,36 %	IFI
Ehrlichia Ac	95,58 %	99,99 %	98,00 %	IFI
Anaplasma Ac	96,49 %	99,99 %	98,88 %	IFI
Dirofiladía Ag	96,72 %	99,99 %	98,62 %	ELISA

13. Bibliografía

E Teske, F van Knapen, EGM Beijer, RJ Slappendel: " Risk of Infection with Leishmania spp. in the Canine Population in the Netherlands" in Acta Veterinaria Scandinavica 2002, 43:195-201.

Lindsay DS, Zajac AM, Barr SC: Leishmaniasis in American Foxhounds: An Emerging Zoonosis? Compend Cont Educ Pract Vet 24:304-312, 2002.

Torsten J. Naucke: „Leishmaniose, eine Tropenkrankheit und deren Vektoren (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Mitteleuropa“ in Denisia 0006, 2002 (163-178).

Al-Adhami B., Scandrett W.B., Lobanov V.A. & Gajadhar A.A. (2011): Serological cross-reactivity between Anaplasma marginale and an Ehrlichia species in naturally and

experimentally infected cattle. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 23, 1181-1188.

Alleman, A. R. and Wamsley, H. L. :An update on anaplasmosis in dogs. *Vet Med* 2008, April: 212-220.

CDC: Ehrlichiosis and Anaplasmosis: 2008 Case Definition. US Department and Health and Human Services, CDC, National Notifiable Diseases Surveillance System (NNDSS): Atlanta, GA.

Dujardin J-C, Campino L, Carmen C, Dedet, J-P, Gradoni L, Soteriadou K, Mazeris A, Ozbek Y and Boela M. 2008. spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerging Infectious Diseases*. *Emerging Infectious Diseases*. 14, no. 7.

Eckert, Johannes, Friedhoff, Karl Theodor, Zahner, Horst, Deplazes, Peter. Textbook of parasitology for veterinary medicine. 2nd, completely revised edition. Enke-Verlag, 2008 European Scientific Counsel Companion Animal Parasites: Control of vector-borne diseases in dogs and cats.

Maggi, R. G.; Birkenheuer, A. J.; Hegarty, B.C.; Bradley, J. M.; Levy, M. G.; Breitschwerdt, E. B. : Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasite Vectors*. 2014;7:127.

Pantchev, N.: Tick-borne travel infections in dogs: ehrlichiosis and babesiosis. In: *Veterinary Review*. Vol. 4, 2012, pp. 162-170.

Ranjbar-Bahadori, S. H.; Veshgini, A.; Shirani, D.; Eslami, A.; Mohieddin, H.; Shemshadi, B.; Masooleh, R. :Epidemiological aspects of canine dirofilariasis in the north of Iran. *Iran J Parasitol*. 2011 Mar;6(1):73-80.

Sainz, Á.; Roura, X.; Miró, G.; Estrada-Peña, A.; Kohn, B.; Harrus, S.; Solano-Gallego, L.: Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasite Vectors* 2015 Feb 4;8:75. doi: 10.1186/s13071-015-0649-0.

Self, S.; Liu, Y.; Nordone, S. K.; Yabsley, M. J.; Walden, H. S.; Lund, R. B.; Bowman, D. D.; Carpenter, C.; McMahan, C. S.; Gettings, J. R.: Canine vector-borne disease: mapping and the accuracy of forecasting using big data from the veterinary community. *Anim Health Res Rev*. 2019 Jun;20(1):47-60. doi: 10.1017/S1466252319000045.

Vieira, A. L.; João Vieira, M.; Oliveira, J. M.; Simões, A. R.; Diez-Baños, P.; Gestal, J. : Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. *Parasite*. 2014; 21:5. doi: 10.1051/parasite/2014003. epub 2014 Feb 19.

1. Intended Use

The GaSS-Test FOuR VECt test is used to detect vector diseases such as Leishmania, Ehrlichia, Anaplasma, detecting antibodies, and Dirofilaria, detecting antigens, in samples obtained from dog blood. This test is designed to aid in the diagnosis of the four diseases as with an average sensitivity of 97% and specificity of 99.99% it is highly likely to detect Leishmania infantum (Ac), Ehrlichia canis (Ac), Anaplasma phagocytophilum (Ac) and Dirofilaria immitis (Ag).

2. Introduction and clinical significance

Vector-borne diseases in dogs are becoming increasingly important due to various factors. Their occurrence is no longer limited to individual countries, but is an increasingly global problem (European Scientific Council for Companion Animal Parasites (ESCCAP).

Due to climate change arthropods (ticks, diptera, sandflies etc.) are adapting to changing temperatures, so that ticks, for example, are no longer only a problem in summer, but are also active in winter.

In addition, mobility is increasing worldwide: dogs are being taken on trips to other countries and also more and more dogs are finding a new home in another country or on another continent (Self et al., 2019).

Vector-borne diseases such as Leishmania, Ehrlichia, Anaplasma and Dirofilaria can severely damage the

body and even cause death. Therefore, reliable detection methods should be used in suspected cases and the results should always be checked with a veterinary reference laboratory.

The GaSS-Test FOuR VECt has been developed for this purpose, it is a rapid test based on the principle of the lateral flow system. The test detects the following relevant pathogens in the blood, serum or plasma of dogs: Leishmania infantum (Ab), Ehrlichia canis (Ab), Anaplasma phagocytophilum (Ab) and Dirofilaria immitis (Ag).

All pathogens are known as Mediterranean diseases, but by now the vectors - mosquitoes (including Culex, Aedes, Anopheles and ticks including Ixodes ricinus) - are also native to other areas (Maggi et al., 2014).

2.1 Pathogens

Leishmania: Leishmania infantum is a serious veterinary problem throughout the Mediterranean basin, where dogs are the most important reservoirs of the parasite. More than 500 species of sandflies are known, but only about 30 have been found to transmit leishmaniasis. Of these, only female sandflies transmit the parasite. These females need blood to develop their eggs and become infected with Leishmania parasites when they suck blood from an infected person or animal. Infected dogs can themselves develop leishmaniasis and are a potential source of contamination for other dogs

and humans. The parasites develop over a period of 4 to 25 days in the phlebotomine sandfly. When the infective female sandfly feeds on fresh blood, she inoculates the parasite into the person or animal and the transmission cycle is complete.

During canine leishmaniasis (CL) due to *Leishmania infantum*, high levels of antibody production are associated with the presence of various clinical signs, due to the deposition of soluble immune complexes in organs and tissues. Antibodies can usually be detected in these clinically affected animals. *Leishmania* antibodies can be successfully detected up to weeks or months after infection. Detection of specific antibodies in serum samples is widely used for the diagnosis of canine leishmaniasis. Asymptomatically infected animals often have marginal or very low antibody titers and are difficult to detect.

Ehrlichia canis: Dogs infected with *Ehrlichia* develop canine monocytic ehrlichiosis. The occurrence of infections is related to the spread of the vector *R. sanguineus*. For the diagnosis of *Ehrlichia* infections, a combination of anamnesis, to assess for possible tick infestation, evaluation of clinical signs, serology and/or PCR is available. Serologically, antibodies can be detected with the FOuR VECt test using *E. canis* specific antigens.

Anaplasma phagocytophilum: In Europe, *A. phagocytophilum* and *A. platys* infections occur in dogs. For detection, a mixture of *A. phagocytophilum* and *A. platys* antigens and synthetic

peptides of the immunodominant p44 surface protein are applied to the test strip. The use of purified synthetic peptides allows cross-reactivity of *A. platys* pathogens, and *A. phagocytophilum*. For diagnostic purposes, it is important to note that some studies have indicated that *A. phagocytophilum* strains are more virulent in the United States than strains circulating in Europe. Therefore, symptomatic infection in European patients appears to be rarer and less severe than in North America. Therefore, clinical investigation of patients with positive antibody detection is of great importance.

Dirofilaria immitis: *D. immitis* infection can cause severe and fatal disease in dogs. Adult heartworms can survive for 5-7 years in dogs. The antigen test is used to detect circulating *D. immitis* antigens in the blood; adult female heartworms are detected.

3. Principle of use

The GaSS-Test *Leishmania* is a lateral flow immunoassay. The test uses specific antigens that capture *Leishmania* antibodies from the sample allowing the agent to be visualized. The GaSS-Test *Leishmania* is a highly sensitive immunoassay and consists of a test strip housed in a convenient test cassette.

The GaSS-Test *Leishmania* test strips contain a sample pad, a conjugate pad, a reaction membrane and an absorption pad. After application of the sample to the test strip, the

Leishmania antibodies present in the sample material react with the labelled antigens, forming a complex on the conjugate pad. The liquid then migrates along the strip by capillary action. In the test line region, the complexes formed are captured by the immobilised antibodies, resulting in the formation of a red line in the test region indicating a positive result. If the sample does not contain Leishmania antibodies, the line in the test region will not appear. In addition, a red line should form in the control region, regardless of the presence of leishmania antibodies in the sample. This line serves as an internal control and indicates that an adequate volume of sample liquid has been added to the test strip and that the membrane is sufficiently soaked.

4. Materials provided

4.1 4 test kit, Art. Nr. GT010204

- 4 GaSS-Test FOuR VECt Tests
- 4 EDTA K3 tubes 0.5 ml
- 4 Disposable dropper for sample collection
- 2 Diluent (buffer) 4 ml
- 1 instructions for use

4.2 5 test kit, Art. Nr. GT010205

- 5 GaSS-Test FOuR VECt Tests
- 5 EDTA K3 tubes 0.5 ml
- 5 Disposable dropper for sample collection
- 2 Diluent (buffer) 4 ml
- 1 instructions for use

4.3 10 test kit, Art. Nr. GT010210

- 10 GaSS-Test FOuR VECt Tests
- 10 EDTA K3 tubes 0.5 ml
- 10 Disposable droppers for sample collection
- 2 Diluents (buffer) 4 ml
- 1 instructions for use

4.4 20 test kit, Art. Nr. GT010220

- 20 GaSS-Test FOuR VECt Tests
- 20 EDTA K3 tubes 0.5 ml
- 20 Disposable dropper for sample collection
- 4 Diluent (buffer) 4 ml
- 1 instructions for use

5. Materials required but not provided

Timer.

6. Storage and stability

The GaSS-Test FOuR VECt should be stored at room temperature (2-30 °C). The test remains stable until the expiry date printed on the package. Keep the cassette in its packaging until use. Do not freeze the tests or subject them to temperatures above 30 °C.

7. Precautions

- Use a new test cassette for each test.
- Single use only, do not reuse the test.
- For veterinary use only.

- Use only the materials provided with the GaSS-Test kit.
- Use the test within 60 minutes after opening the pouch.
- The test cassette must lie flat on a smooth surface.
- Note the amount of sample material used. Incorrect number of drops or drops that are too small may lead to false results.
- Consider the test results as invalid after the reading time.
- Do not use the kit when its pouch and the sealing are damaged or the expiration date has passed.
- Dispose of all contaminated materials properly according to standard regulations for handling potentially infectious materials and chemical reagents during testing. Protective clothing is recommended. Disinfect the work area after testing. Dispose of sample materials according to local regulations.

8. Test procedure

Serum and plasma samples

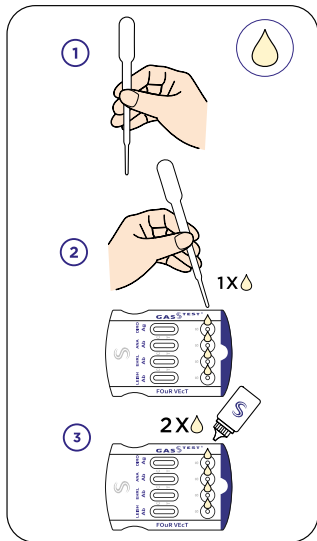
Recommended sample material is a freshly collected serum or plasma to achieve the highest detection sensitivity.

Separate serum or plasma from whole blood as quickly as possible, the sample should be clear and not haemolysed or lipaemic.


Test procedure

Open the pouch, remove the test cassette. Place the test cassette on a flat surface and unscrew the bottle of reagent and place it aside.

- 1 Take up the serum or plasma sample with the pipette.
- 2 Carefully put one (1) drop (20µl) of sample material into the sample well.
- 3 Add two (2) drops of the reagent from the bottle of reagent into the sample well. Ensure that no air bubbles are formed.



The liquid starts running up the test strip after a short time (< 90 seconds). If the fluid does not run up the test strips after 90 seconds, add an additional drop of the reagent into the sample well and/or **press with the tip of the pipette into the sample well to reactivate the run of the test.**

 After 15 minutes, the result can be read. **Do not read off results after 15 minutes! After this time, the test and its results are no longer considered valid.**

Whole blood

A blood sample should be used as soon as possible. Heparinised or EDTA blood may also be used.

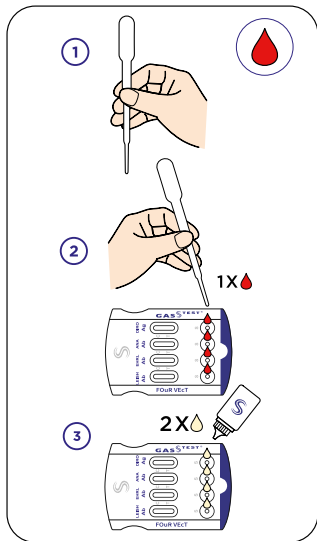
The sample should be at room temperature and shaken well before use. Haemolysed or lipaemic samples are not recommended.

The use of whole blood samples may lead to a lower level of sensitivity. In case of a negative result with whole blood, if infection is suspected, the test should be repeated with a whole blood serum or plasma sample to obtain maximum sensitivity.


Test procedure

Open the pouch, remove the test cassette. Place the test cassette on a flat surface and unscrew the bottle of reagent and place it aside.

- 1 Take up the serum or plasma sample with the pipette.
- 2 Carefully put one (1) drop (20µl) of sample material into the sample well.
- 3 Add two (2) drops of the reagent from the bottle of reagent into the sample well. Ensure that no air bubbles are formed.



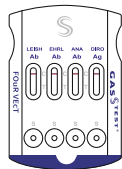
The liquid starts running up the test strip after a short time (< 90 seconds). If the fluid does not run up the test strips after 90 seconds, add an additional drop of the reagent into the sample well and/or **press with the tip of the pipette into the sample well to reactivate the run of the test.**

 After 15 minutes, the result can be read. **Do not read off results after 15 minutes! After this time, the test and its results are no longer considered valid.**

9. Test result

Positive result

The test results can be read after 15 minutes.



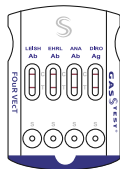
In case of a positive result, two red lines appear in the reaction field of the test cassette. A red line in the T-region (T) of the reaction field indicates a positive test result. Also a faint test line is considered as a positive test result. The second red line in the C-region (C) indicates the control line, which indicates the correct performance of the test.

The C-line is not a reference line and may have a different line intensity than the T-Line.

Note: a positive result is not conclusive but is an indicator in combination with a corresponding preliminary report. A

definitive diagnosis can only be established with the inclusion of additional clinical examinations.

Negative result



If only the Control Line C appears, it means a negative result. This indicates that no Leishmania, Ehrlichia or Anaplasma antibodies or dirofilaria antigens have been detected in the sample material, depending on the strip.

Note: Serological results must always be interpreted in combination with clinical results. Negative serum results do not rule out an infection because these results can be obtained at any stage of infection. Positive serum results in endemic areas may be due to a previous infection.

Invalid result

If **no** control line appears at C after the test has been performed, the test is invalid. In this case, it is likely that the test has not been performed correctly or that the expiry date has been exceeded. In this case, a new test must be performed.

If the problem persists, stop using the kit immediately and contact your dealer or our technical customer service department on **0034 958 41 27 76.**

10. Quality control

An internal control is included in the test cassette. The red line in the control region (C) is considered an internal control of the procedure. This line confirms that the sample volume was adequate, that the membrane was sufficiently soaked and that the procedure technique was correct.

11. Limitations

The test results should always be judged in connection with the anamnestic and clinical context. All test results obtained with whole blood samples, which do not correlate with the clinical picture should be repeated with a serum or plasma sample. All doubtful test results should be repeated after approximately 1 week or referred to the laboratory for certification. Positive results detected with the GaSS-Test FOuR VECt veterinary rapid tests must be confirmed with an additional analytical method.

There is a possibility that the test result may be distorted by technical errors, procedural faults or by substances or factors not mentioned here, but which influence the test. For questions, comments or technical queries, please contact our technical customer service department:

0034 958 41 27 76.



Grupo DAV SALUD
C/Tucumán nº6 Nave A-B,
18200 Maracena (Granada), Spain.

12. Performance characteristics

Test	Sensitivity	Specificity	Overall agreement	Comparative method
Leishmania Ac	97,78 %	100,00 %	98,36 %	IFI
Ehrlichia Ac	95,58 %	99,99 %	98,00 %	IFI
Anaplasma Ac	96,49 %	99,99 %	98,88 %	IFI
Dirofiladia Ag	96,72 %	99,99 %	98,62 %	ELISA

13. Literature

E Teske, F van Knapen, EGM Beijer, RJ Slappendel: " Risk of Infection with Leishmania spp. in the Canine Population in the Netherlands" in Acta Veterinaria Scandinavica 2002, 43:195-201.

Lindsay DS, Zajac AM, Barr SC: Leishmaniasis in American Foxhounds: An Emerging Zoonosis? Compend Cont Educ Pract Vet 24:304-312, 2002.

Torsten J. Naucke: „Leishmaniose, eine Tropenkrankheit und deren Vektoren (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) in Mitteleuropa“ in Denisia 0006, 2002 (163-178).

Al-Adhami B., Scandrett W.B., Lobanov V.A. & Gajadhar A.A. (2011): Serological cross-reactivity between Anaplasma marginale and an Ehrlichia species in naturally and experimentally infected cattle. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation 23, 1181-1188.

Alleman, A. R. and Wamsley, H. L. : An update on anaplasmosis in dogs. *Vet Med* 2008, April: 212-220.

CDC: Ehrlichiosis and Anaplasmosis: 2008 Case Definition. US Department and Health and Human Services, CDC, National Notifiable Diseases Surveillance System (NNDSS): Atlanta, GA.

Dujardin J-C, Campino L, Carmen C, Dedet, J-P, Gradoni L, Soteriadou K, Mazeris A, Ozbil Y and Boela M. 2008. spread of vector-borne diseases and neglect of leishmaniasis, Europe. *Emerging Infectious Diseases*. *Emerging Infectious Diseases*. 14, no. 7.

Eckert, Johannes, Friedhoff, Karl Theodor, Zahner, Horst, Deplazes, Peter. Textbook of parasitology for veterinary medicine. 2nd, completely revised edition. Enke-Verlag, 2008
European Scientific Counsel Companion Animal Parasites: Control of vector-borne diseases in dogs and cats.

Maggi, R. G.; Birkenheuer, A. J.; Hegarty, B.C.; Bradley, J. M.; Levy, M. G.; Breitschwerdt, E. B. : Comparison of serological and molecular panels for diagnosis of vector-borne diseases in dogs. *Parasite Vectors*. 2014;7:127.

Pantchev, N.: Tick-borne travel infections in dogs: ehrlichiosis and babesiosis. In: *Veterinary Review*. Vol. 4, 2012, pp. 162-170.

Ranjbar-Bahadori, S. H.; Veshgini, A.; Shirani, D.; Eslami, A.; Mohieddin, H.; Shemshadi, B.; Masooleh, R. : Epidemiological aspects of canine dirofilariasis in the north of Iran. *Iran J Parasitol*. 2011 Mar;6(1):73-80.

Sainz, Á.; Roura, X.; Miró, G.; Estrada-Peña, A.; Kohn, B.; Harrus, S.; Solano-Gallego, L.: Guideline for veterinary practitioners on canine ehrlichiosis and anaplasmosis in Europe. *Parasite Vectors* 2015 Feb 4;8:75. doi: 10.1186/s13071-015-0649-0.

Self, S.; Liu, Y.; Nordone, S. K.; Yabsley, M. J.; Walden, H. S.; Lund, R. B.; Bowman, D. D.; Carpenter, C.; McMahan, C. S.; Gettings, J. R.: Canine vector-borne disease: mapping and the accuracy of forecasting using big data from the veterinary community. *Anim Health Res Rev*. 2019 Jun;20(1):47-60. doi: 10.1017/S1466252319000045.

Vieira, A. L.; João Vieira, M.; Oliveira, J. M.; Simões, A. R.; Diez-Baños, P.; Gestal, J. : Prevalence of canine heartworm (*Dirofilaria immitis*) disease in dogs of central Portugal. *Parasite*. 2014; 21:5. doi: 10.1051/parasite/2014003. epub 2014 Feb 19.



GASSET[®]
laboratorios



Grupo DAV SALUD

C/Tucumán nº6 Nave A-B, 18200 Maracena (Granada), España/Spain.

Tlf. Asistencia Técnica 958 41 27 76