

pigtype[®] Trichinella Ab Gebrauchsinformation

Multispezies ELISA-Kit zum Nachweis von
Antikörpern gegen *Trichinella* spp.



1 Platte (Katalog-Nr. PT273501)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Deutschland

Inhalt

Kit-Inhalt	3
Verwendungszweck.....	4
Symbole	4
Qualitätskontrolle	5
Lagerung	5
Sicherheitshinweise	5
Einleitung.....	7
Testprinzip	7
Zusätzlich benötigte Materialien.....	8
Wichtige Hinweise	9
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	9
Protokoll: Durchführung des ELISA	10
Wichtige Hinweise vor Beginn	10
Vorbereitungen.....	10
Protokoll: ELISA.....	12
Auswertung.....	14
Validitätskriterien.....	14
Berechnung.....	14
Interpretation der Ergebnisse.....	15
Änderungsindex.....	19
Kurzanleitung für pigtype Trichinella Ab.....	20

Kit-Inhalt

pigtype Trichinella Ab	(1)
Katalog-Nr.	PT273501
Anzahl der Platten	1
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem <i>Trichinella</i> -E/S-Antigen	1
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml
Wash Buffer, 10x concentrate (Waschpuffer, 10x Konzentrat)	1 x 125 ml
Conjugate (Anti-IgG-HRP-Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 12 ml
TMB Substrate (TMB-[Tetramethylbenzidin]-Substratlösung), gebrauchsfertig	1 x 12 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 12 ml
Gebrauchsinformation	1

Verwendungszweck

pigtype Trichinella Ab ist ein indirekter Enzym-Immunoassay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen *Trichinella* spp. in Serum-, Plasma- und Fleischsaftproben von Schwein und Wildschwein.

Serum- und Plasmaproben vom Schwein können auch als Pools von bis zu 10 Einzelproben getestet werden.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben von Schwein und Wildschwein

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests pigtype Trichinella Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Lagerung

Die Komponenten des pigtype Trichinella Ab ELISA sind bei 2-8°C zu lagern - unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Waschpuffer (10x) und Stopplösung können bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, um die Bildung von Salzkristallen zu vermeiden. Falls der Kit Teststreifen enthält, sind nicht benutzte Teststreifen bis zur Verwendung im wieder verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel bei 2-8°C zu lagern. Nach erstmaliger Öffnung des Plattenbeutels sind die Teststreifen mindestens 6 Wochen haltbar.

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (safety data sheets, SDS). Diese erhalten sie von Ihrem lokalen Vertriebsmanager oder per Email von compliance@indical.com.



Vorsicht: Die Stopplösung enthält 0,5 mol/l Schwefelsäure.

Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu entsorgen bzw. zu dekontaminieren.

Einleitung

pigtype *Trichinella* Ab ist ein hochsensitives System zum Nachweis von Antikörpern gegen *Trichinella* spp. Die Trichinellose ist eine Zoonose, die durch Fadenwürmer der Gattung *Trichinella* verursacht wird und beim Menschen mild bis tödlich verlaufen kann. Die Infektion erfolgt bei Menschen durch den Verzehr von Fleisch, das *Trichinella*-Larven, sogenannte Trichinen, enthält. Beim Schwein verläuft die Infektion meist subklinisch. Mit Hilfe der Trichinenuntersuchung (künstliche Verdauung) wird verhindert, dass Fleisch infizierter Tiere in die Lebensmittelkette gelangt.

Gemäß der europäischen Verordnung (EG) Nr. 2075/2005 können Betriebe unter bestimmten Voraussetzungen als trichinenfrei anerkannt werden. Ein Überwachungsprogramm ist dafür die Voraussetzung. Damit ist für Mast Schweine in integrierten Produktionssystemen die alternative Überwachung über ein serologisches Monitoring auf *Trichinella*-Antikörper ohne kostenintensive Trichinenuntersuchung möglich. Der Testkit pigtype *Trichinella* Ab kann im Rahmen eines solchen Monitorings auf *Trichinella*-Infektionen eingesetzt werden.

Testprinzip

pigtype *Trichinella* Ab funktioniert nach dem Prinzip eines indirekten ELISA.

Die Mikrotiterplatte ist mit inaktiviertem *Trichinella*-Antigen (E/S-Antigen) beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden *Trichinella*-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nichtgebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Serumantikörper werden durch ein Multispezies-Meerrettichperoxidasekonjugat (HRP-Konjugat) detektiert, nicht

gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt wird. Sind *Trichinella*-spezifische Antikörper in der Probe vorhanden, bewirkt die Peroxidase eine blaue Farbentwicklung, die nach Abstoppen der Reaktion durch Zugabe der Stopplösung nach gelb umschlägt. Die optische Dichte (OD) wird im Photometer gemessen; sie ist proportional zur Konzentration der *Trichinella*-spezifischen Antikörper in der Probe.

Zusätzlich benötigte Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (safety data sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

- Bechergläser
- Messzylinder
- Pipetten (verstellbar)
- Mehrkanalpipetten (verstellbar)
- Alufolie oder Abklebefolie zum Abdecken der Testplatte
- Optional: Gerät zum Einfüllen und Absaugen von Waschpuffer
- Mikrotiterplatten-Photometer
- Reaktionsgefäße oder Vorverdünnungsplatten für die Verdünnung der Proben
- Destilliertes Wasser
- Fleischsaftbehälter (bei der Verwendung von Fleischsaftproben)

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Setzen Sie die TMB-Substratlösung während der Testdurchführung nicht starkem Lichteinfluss oder direktem Sonnenlicht aus.
- Die Komponenten des Testkits dürfen nicht verunreinigt und nicht mit Komponenten aus anderen Chargen vermischt werden.
- Benutzen Sie die Komponenten des Testkits nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Das für die Verdünnung des Waschpufferkonzentrates (10x) verwendete Wasser, insbesondere Wasser aus Ionenaustauscheranlagen, kann bei ungenügender Reinheit die Reaktion beeinträchtigen. Wasser mit der Qualität von bidestilliertem Wasser oder Reinstwasser (z. B. Milli-Q®) ist geeignet.
- Die Verwendung sorgfältig gereinigter Glasmaterialien, sorgfältiges Pipettieren und Waschen während der Testdurchführung und die genaue Einhaltung der angegebenen Inkubationszeiten sind unabdingbare Voraussetzungen, um die Genauigkeit der Messergebnisse zu gewährleisten.

Protokoll: Durchführung des ELISA

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 9, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Verdünnen Sie Serum- und Plasmaproben vor der Analyse.
- Optional: Poolbildung und Vorverdünnung
- Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

Vorbereitungen

- Reagenzien unmittelbar vor der Benutzung auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen und durch Schwenken mischen. Eventuell gebildete Salzkristalle im Waschpuffer (10x) müssen durch Schwenken und leichtes Erwärmen wieder aufgelöst werden.
- Waschpuffer (10x) 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen, z.B. für eine Testplatte 25 ml Waschpuffer (10x) in 225 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.
- Serum, Plasma: Serum- und Plasmaproben vor der Analyse **1:100** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z. B. 5 µl Probe in 495 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete Vorverdünnungsplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.
- Poolproben: Serum- und Plasmaproben können auch als Pools von bis zu 10 Einzelproben getestet werden (z.B. jeweils 10 µl von 10 Einzelproben vereinigen und mischen). Poolproben vor der Analyse **1:20** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z.B. 10 µl Poolprobe in 190 µl Verdünnungspuffer) und mischen.

- Fleischsaft: Fleischsaftproben vor der Analyse **1:10** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z. B. 25 µl Probe in 225 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen.

Alternativ können die Fleischsaftproben direkt in der Testplatte verdünnt werden. Hierzu 90 µl Verdünnungspuffer in jede Kavität vorlegen, jeweils 10 µl unverdünnte Fleischsaftprobe hinzupipettieren und anschließend gut mischen (siehe Durchführung, Schritt 1b).

Die Fleischsaftproben aus etwa 10 g fettfreiem und von Blutverunreinigungen freiem Muskelfleisch (z. B. vom Zwerchfellpfeiler) extrahieren.

Die Fleischproben in einem Fleischsaftbehälter einfrieren und wieder auftauen. Bei 2-8°C gelagerte Proben sollten innerhalb von 24 Stunden analysiert werden. Alternativ können die Proben bis zur Analyse bei -20°C über mehrere Monate gelagert werden.

Protokoll: ELISA

- Bitte lesen Sie den Abschnitt "Vorbereitungen" ab Seite 10.

Durchführung

1. Falls vorverdünnte Proben verwendet werden, bei Schritt 1a beginnen. Falls Proben verwendet werden, die erst in der Testplatte verdünnt werden, bei Schritt 1b beginnen.

- 1a. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der 1:10 verdünnten Fleischsaftproben, der 1:20 verdünnten Poolproben und/oder der 1:100 verdünnten Serum- oder Plasmaproben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. Mit Schritt 2 fortfahren.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Für den Probentransfer wird die Verwendung einer Mehrkanalpipette empfohlen. Die Testplatte abdecken.

- 1b. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. 90 µl Verdünnungspuffer in die restlichen Kavitäten pipettieren und je 10 µl der unverdünnten Fleischsaftproben hinzugeben. Gut mischen. Mit Schritt 2 fortfahren.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

2. Für 60 min bei Raumtemperatur (18-25°C) oder über Nacht (12-18 Stunden) bei 2-8°C inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.

4. Jede Kavität 3x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer (1x) waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-IgG-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 3x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer (1x) waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
8. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.
9. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Kavität.
10. Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
11. Messung der OD im Plattenphotometer bei 450 nm innerhalb von 20 min nach Abstoppen der Reaktion.

Optional kann zusätzlich bei 620-650 nm als Referenzwellenlänge gemessen werden.

Auswertung

Validitätskriterien

Die Ergebnisse sind gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt werden:

- Der Mittelwert (MW) der gemessenen OD-Werte der Positivkontrolle (PK) muss $\geq 0,7$ sein.
- Der MW der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss $\leq 0,2$ sein.

Bei ungültigen Testungen sollte der Test nach gründlichem Lesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

Berechnung

Berechnen Sie aus den OD-Werten der Negativkontrolle (NK) und der Positivkontrolle (PK) jeweils die Mittelwerte (MW).

Berechnen Sie das Verhältnis der OD der Proben zum OD-Mittelwert der Positivkontrolle („S/P-Quotient“) nach der folgenden Formel:

$$S/P = \frac{OD_{\text{Probe}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}{MW_{\text{OD}_{\text{PK}}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}$$

Interpretation der Ergebnisse

Kurzprotokoll (Probeninkubation 60 min bei RT)

- **Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,3$ werden als positiv befundet.**
Es wurden spezifische Antikörper gegen *Trichinella* spp. nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,3$ werden als negativ befundet.**
Es wurden keine spezifischen Antikörper gegen *Trichinella* spp. nachgewiesen.

Übernachtprotokoll (Probeninkubation 12-18 h bei 2-8°C)

- **Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,45$ werden als positiv befundet.**
Es wurden spezifische Antikörper gegen *Trichinella* spp. nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,45$ werden als negativ befundet.**
Es wurden keine spezifischen Antikörper gegen *Trichinella* spp. nachgewiesen.

INDICAL bietet zum Nachweis von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen eine Auswahl verschiedener ELISA-Kits sowie real-time PCR und real-time RT-PCR Kits an.

Weitere Informationen zu den Produktgruppen bactotype, cadof, cattletype, flocktype, pigtype und virotype finden Sie im Internet unter **www.indical.com**.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie in der jeweiligen INDICAL Kit-Gebrauchsinformation.

Notizen

Notizen

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den pigtype Trichinella Ab

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. INDICAL gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation sowie in zusätzlichen, unter www.indical.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von INDICAL nicht vollständig getestet und optimiert. INDICAL gewährt auf diese Protokolle keine Garantie und übernimmt auch keine Garantie dafür, dass sie die Rechte Dritter nicht verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt INDICAL keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. INDICAL lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. INDICAL kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihm bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines seiner geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können im Internet unter www.indical.com nachgelesen werden.

Warenzeichen/Markennamen: bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, pigtype®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1576-DE-003 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1576-DE-003	August 2018	INDICAL-Design

Kurzanleitung für pigtype Trichinella Ab

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:100, Fleischsaft 1:10; gut durchmischen

Schritt	Kurzprotokoll	Übernachtprotokoll
1. Probe		100 µl/ Kavität
2. Inkubation	60 min bei RT	über Nacht (12-18 h) bei 2-8°C
3. Waschen		3 x 300 µl
4. Konjugat		100 µl/ Kavität
5. Inkubation		30 min bei RT
6. Waschen		3 x 300 µl
7. TMB		100 µl/ Kavität
8. Inkubation		10 min bei RT
9. Stopp		100 µl/ Kavität
10. Messung		450 nm

Auswertung

Protokoll	Negativ	Positiv
Kurzprotokoll	S/P < 0,3	S/P ≥ 0,3
Übernachtprotokoll	S/P < 0,45	S/P ≥ 0,45