

pigtype[®] Salmonella Ab Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Antikörpern gegen
Salmonella-Serovaren der Gruppen B, C, D
und E

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG
zugelassen. Zulassungs-Nr.: BFAV-B 380

REF 1 Platte (Katalog-Nr. PT273001)

REF 5 Platten (Katalog-Nr. PT273003)

REF 20 Platten (Katalog-Nr. PT273005)



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..... | 8 |
| Zusätzlich benötigte Materialien..... | 8 |
| Wichtige Hinweise..... | 9 |
| Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen..... | 9 |
| Protokoll: Durchführung des ELISA..... | 10 |
| Wichtige Hinweise vor Beginn..... | 10 |
| Vorbereitungen..... | 10 |
| Protokoll: ELISA..... | 11 |
| Auswertung..... | 13 |
| Validitätskriterien..... | 13 |
| Berechnung..... | 13 |
| Interpretation der Ergebnisse..... | 14 |
| Kurzprotokoll (60 min Inkubationszeit)..... | 14 |
| Übernachtprotokoll (Inkubation über Nacht)..... | 14 |
| Bestandskategorisierung in Monitoring-Programmen (geltend für beide Protokolle)..... | 15 |
| Änderungsindex..... | 19 |
| Kurzanleitung für den pigtype Salmonella Ab..... | 20 |

Kit-Inhalt

| pigtype Salmonella Ab | (1) | (5) | (20) |
|---|-----------------|-----------------|-----------------|
| Katalog-Nr. | PT273001 | PT273003 | PT273005 |
| Anzahl der Platten | 1 | 5 | 20 |
| Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem <i>Salmonella</i> - Antigen | 1 | 5 | 20 |
| Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig | 1 x 60 ml | 2 x 125 ml | 2 x 500 ml |
| Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig | 1 x 1,5 ml | 1 x 3,5 ml | 2 x 3,5 ml |
| Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig | 1 x 1,5 ml | 1 x 3,5 ml | 2 x 3,5 ml |
| Wash Buffer, 10x concentrate (Waschpuffer, 10x Konzentrat) | 1 x 125 ml | 2 x 125 ml | 2 x 500 ml |
| Conjugate (Anti-IgG-HRP- Konjugat), gebrauchsfertig | 1 x 12 ml | 1 x 60 ml | 1 x 240 ml |
| TMB Substrate (TMB- [Tetramethylbenzidin]- Substratlösung), gebrauchsfertig | 1 x 12 ml | 1 x 60 ml | 1 x 240 ml |
| Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig | 1 x 12 ml | 1 x 60 ml | 1 x 240 ml |
| Gebrauchsinformation | 1 | 1 | 1 |

Verwendungszweck

pigtype Salmonella Ab ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen Salmonellen in Serum-, Plasma- und Fleischsaftproben vom Schwein.

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer BFAV-B 380.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben vom Schwein

Qualitätskontrolle

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

Lagerung

Die Komponenten des pigtype Salmonella 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 Salmonella Ab ist ein hochempfindliches und spezifisches Produkt zum Nachweis von Antikörpern gegen die O-Antigene 1, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 sowie 12 und demzufolge von *Salmonella*-Serovaren der Gruppen B, C, D und E des Kauffmann-White-Schemas. Der Kit kann zur Untersuchung von Serum-, Plasma- und Fleischsaftproben vom Schwein verwendet werden.

Die Salmonellose ist eine durch Bakterien der Gattung *Salmonella* verursachte Zoonose. Menschen können durch den Verzehr von salmonellenverseuchtem rohem oder nicht vollständig durchgegartem Schweinefleisch infiziert werden. Die Infektion kann eine infektiöse Gastroenteritis auslösen. Mit dem pigtype Salmonella Ab lassen sich Antikörper gegen über 97% der am häufigsten auftretenden *Salmonella*-Serovare nachweisen.

Die EU-Richtlinie 2003/99/EG zur Überwachung von Zoonosen und Zoonoseerregern fordert effiziente Kontroll- und Bekämpfungsprogramme zum Zwecke der Prävention und des Verbraucherschutzes. Die Überwachung des Salmonellenstatus in Schweinebeständen kann durch Testung von Serum- oder Fleischsaftproben mittels ELISA verlässlich durchgeführt werden. In verschiedenen Ländern wurden Überwachungsprogramme nach dem Vorbild des dänischen Handlungsplanes gegen Salmonellen festgelegt, um eine hohe Qualität von Fleisch und Fleischprodukten zu gewährleisten. Gemäß der deutschen Schweine-Salmonellen-Verordnung (BGBl. Teil I Nr. 10 2007, S. 322) können die serologischen Ergebnisse als Grundlage für die Einteilung von Schweinebeständen in Belastungskategorien dienen.

Testprinzip

pigtype Salmonella Ab funktioniert nach dem Prinzip eines indirekten ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit *Salmonella*-Antigenen (LPS-Antigen) beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden *Salmonella*-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Serumantikörper werden durch das Anti-IgG-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 *Salmonella*-spezifische Antikörper in der Probe vorhanden, bewirkt die Peroxidase eine blaue Farbentwicklung, die nach Abstoppen der Reaktion nach gelb umschlägt. Die optische Dichte (OD) wird im Photometer gemessen. Die OD-Werte korrelieren mit der Konzentration der *Salmonella*-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

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.

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.
- 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 1a). 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.

- Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

Protokoll: ELISA

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

Durchführung

1. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der 1:10 verdünnten Fleischsaftproben und/oder der 1:100 verdünnten Serum- oder Plasmaproben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
- 1a. Alternativ 90 µl Verdünnungspuffer in jede Kavität pipettieren und je 10 µl der unverdünnten Fleischsaftproben hinzufügen. Gut mischen.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Für den Probentransfer wird die Verwendung einer Mehrkanalpipette empfohlen. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

2. 60 min bei Raumtemperatur (18-25°C) oder über Nacht (12-18h) 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 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 (18-25°C) inkubieren.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 3x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer 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 bei Verwendung des **Kurzprotokolls** $\leq 0,2$ sein.
- Der MW der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss bei Verwendung des **Übernachtprotokolls** $\leq 0,3$ 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:

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

Alternativ können OD%-Werte verwendet werden, die nach folgender Formel berechnet werden:

$$OD\% = \frac{S/P \times 100\%}{2}$$

Interpretation der Ergebnisse

Kurzprotokoll (60 min Inkubationszeit)

- **Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,3$ (15 OD%) werden als positiv befundet.**
Es wurden spezifische Antikörper gegen Salmonellen nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,3$ (15 OD%) werden als negativ befundet.**
Spezifische Antikörper gegen Salmonellen wurden nicht nachgewiesen.

Übernachtprotokoll (Inkubation über Nacht)

- **Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,4$ (20 OD%) werden als positiv befundet.**
Es wurden spezifische Antikörper gegen Salmonellen nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,4$ (20 OD%) werden als negativ befundet.**
Spezifische Antikörper gegen Salmonellen wurden nicht nachgewiesen.

Bestandskategorisierung in Monitoring-Programmen (geltend für beide Protokolle)

Im Rahmen von nationalen Salmonellen-Kontrollprogrammen werden unter Umständen zusätzlich zu den wissenschaftlichen Grenzwerten noch weitere Faktoren berücksichtigt (z. B. Salmonella-Prävalenz). Daher wurden in lokalen Programmen jeweils spezifische Grenzwerte für die Routinediagnostik festgesetzt.

Bei einer Bestandsüberwachung nach dem Vorbild des deutschen Monitoring-Programmes gelten folgende Grenzwerte:

- Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,8$ (40 OD%) werden als negativ befundet.
- Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,8$ (40 OD%) werden als positiv befundet.

In anderen regionalen Monitoringprogrammen können unter Umständen andere Grenzwerte verwendet werden. Es sollten immer die örtlich geltenden Vorschriften und Richtlinien befolgt werden

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 Salmonella 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-1590-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

| Gebrauchsinformation | Version | Änderung |
|----------------------|----------|----------------|
| HB-1590-002 | Mai 2018 | INDICAL-Design |

Kurzanleitung für den pigtype Salmonella 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 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

| | Negativ | Positiv |
|----------------------------------|--------------------|--------------------|
| Kurzprotokoll | S/P < 0,3 (15 OD%) | S/P ≥ 0,3 (15 OD%) |
| Übernachtprotokoll | S/P < 0,4 (20 OD%) | S/P ≥ 0,4 (20 OD%) |
| Monitoring (beide Protokolle) | S/P < 0,8 (40 OD%) | S/P ≥ 0,8 (40 OD%) |