

cattletype[®] Milk Prep Kit

Gebrauchsinformation

Zur Anreicherung und Aufreinigung von
Antikörpern aus Milchproben



50 Proben (Katalog-Nr. SP271906)



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

Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	3
Symbole	4
Qualitätskontrolle	4
Lagerung.....	4
Sicherheitshinweise	5
Testprinzip	5
Zusätzlich benötigte Materialien	6
Wichtige Hinweise	6
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	6
Protokoll.....	8
Wichtige Hinweise vor Beginn	8
Durchführung für Pool- und Tankmilchproben.....	8
Durchführung für Einzelmilchproben	11
Änderungsindex.....	15

Kit-Inhalt

cattletype Milk Prep Kit	(50)
Katalog-Nr.	SP271906
Anzahl an Ansätzen	50

Precipitation Reagent (Fällungsreagenz), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Neutralization Buffer (Neutralisierungspuffer), gebrauchsfertig	3 x 60 ml
Matrix, gebrauchsfertig	2 x 20 ml
Elution Buffer (Elutionspuffer), gebrauchsfertig	1 x 20 ml
Spin Columns	50
Gebrauchsinformation	1

Verwendungszweck

Der cattletype Milk Prep Kit dient zur Anreicherung von Antikörpern aus Pool- und Tankmilchproben, sowie zur Aufbereitung von Einzelmilchproben. Durch die Anreicherung von Antikörpern kann die Sensitivität immunologischer Nachweisverfahren (z. B. ELISA) bei der Untersuchung von Milchproben erhöht werden. Zudem können dank der Aufreinigung mittels cattletype Milk Prep Kit unspezifische Reaktion im ELISA bei der Verwendung von Einzelmilchproben minimiert werden. Empfohlen wird die Verwendung von Pools aus bis zu 50 Einzelmilchproben bzw. Tankmilchen aus max. 50 Einzelgemelken.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des cattletype Milk Prep Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Lagerung

Die Komponenten des cattletype Milk Prep Kits sind bei 2-8°C zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Die Spin Columns können bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden. Bei

mehrfacher Verwendung des Kits ist darauf zu achten, dass die Reagenzienflaschen, insbesondere die der Matrix, stets fest verschlossen sind, da es sonst zu Flüssigkeitsverlusten durch Verdunstung kommen kann.

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**.

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

Testprinzip

Nach Abtrennung des Caseins binden die Antikörper (IgG) aus der Molke an die Spezialmatrix des cattletype Milk Prep Kit. Nicht gebundene Milchbestandteile werden durch Zentrifugations- und Waschschriffe entfernt. Mit dem folgenden Elutionsschritt werden die Antikörper von der Matrix in konzentrierter Form eluiert und können anschließend im ELISA nachgewiesen werden.

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.

- Zentrifuge für 2 ml-, 15 ml- und 50 ml-Reaktionsgefäße
- Pipetten (verstellbar)
- Taumler/ Schüttler o. ä.
- Wasserstrahlpumpe (optional)
- 50 ml Reaktionsgefäße mit Deckel (Poolmilchanreicherung)
- 15 ml Reaktionsgefäße mit Deckel (Einzelmilchanreicherung)
- 1,5 ml oder 2 ml Reaktionsgefäße

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- 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.
- 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

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 6, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.

Durchführung für Pool- und Tankmilchproben

1. 50 ml Pool- oder Tankmilchprobe in ein verschließbares 50 ml-Reaktionsgefäß geben (z. B. 50 ml Blue Cap Tube).

Hinweis: Poolproben werden aus bis zu 50 Einzelmilchproben durch Vereinigen von je 1 ml jeder Probe hergestellt. Tank- oder Poolmilchproben sollten ein Volumen von 45-50 ml besitzen.

2. 1 ml Fällungsreagenz (grüne Lösung) zugeben. Das Reaktionsgefäß verschließen und den Inhalt durch 10-maliges Invertieren mischen.

Hinweis: Das Invertieren des Reaktionsgefäßes dient dem gleichmäßigen Verteilen des Fällungsreagenz in der Probe. Die erfolgreiche Fällung des Caseins ist sichtbar am Dickwerden bzw. Ausflocken der Milch.

3. 15 min bei 4°C mit 3800 x g zentrifugieren.

Hinweis: Das Casein sammelt sich als Pellet am Boden des Gefäßes.

Wichtig: Gegebenenfalls muss nach der Zentrifugation die Rahmschicht auf der Molke entfernt werden.

4. Überstand vorsichtig in ein neues 50 ml-Reaktionsgefäß gießen, dort 2 ml Neutralisationspuffer (NP, rote Lösung) hinzufügen und durch leichtes Schwenken mischen.

Hinweis: Casein-Pellet verwerfen. Nach Zugabe von 2 ml NP sollte die Farbe der Probe von gelblich nach rötlich umschlagen. Bleibt

die Probe gelb, ist der pH-Wert zu niedrig. In 300 µl-Schritten mehr NP zugeben und mischen, bis die Farbe nach rot umschlägt. Ein korrekter pH-Wert ist sehr wichtig für die Bindung.

5. 800 µl Matrix-Suspension zugeben und für 2 Stunden unter leichter Bewegung (z. B. auf einem Taumler) bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

Hinweis: Unmittelbar vor Gebrauch der Matrix diese sehr gut resuspendieren. Das Schwenken während der Inkubation ist notwendig, da sich die Matrix mit der Zeit absetzt.

6. Probe 5 min bei 4°C mit 3000 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig abnehmen und verwerfen. 3-5 mm Überstand über dem Matrix-Pellet stehen lassen.

Hinweis: Falls die Matrix nicht als Pellet vorliegt, gegebenenfalls die Zentrifugationszeit verlängern. Für die Abnahme des Überstandes empfiehlt sich die Verwendung einer Wasserstrahlpumpe.

7. Das Matrix-Pellet im verbliebenen Puffer resuspendieren und anschließend in den Filter der Spin Column geben.

Hinweis: Die Spin-Filter vorher mit der Probenkennzeichnung beschriften.

8. Die Spin Columns für etwa 3 s zentrifugieren und den Durchlauf verwerfen.

Hinweis: Falls nicht die gesamte Matrix in einem Schritt in den Spin-Filter überführt werden konnte, den Rest nach der Zentrifugation überführen und Schritt 8 wiederholen.

9. Matrix 2-mal mit je 500 µl Aqua bidest. waschen. Zentrifugation wie unter Schritt 8 durchführen und den Durchlauf jeweils verwerfen.

Hinweis: Falls nicht die gesamte Matrix in Schritt 7 auf den Spin Filter übertragen werden konnte, den ersten Waschschrift für den Transfer der restlichen Matrix auf den Spin Filter benutzen.

Hinweis: Falls die Matrix noch Flüssigkeit enthält, sollte der Zentrifugationsschritt verlängert werden.

10. 10 µl Neutralisationspuffer in frische 1,5 ml bzw. 2 ml Reaktionsgefäße vorlegen und die Spin-Filter von den Collection Tubes in die Reaktionsgefäße umsetzen.

Hinweis: Die Reaktionsgefäße mit der Probenkennzeichnung beschriften.

11. 200 µl Elutionspuffer (gelbe Lösung) auf die Matrix in den Spin-Filtern geben. Für 1-5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend für etwa 3 s zentrifugieren.

Wichtig: Darauf achten, dass die Matrix komplett mit Elutionspuffer bedeckt ist.

Hinweis: Bei korrekter Neutralisation des Eluats schlägt die Farbe von gelb nach rosa um.

12. Das Eluat kann unverdünnt als Probe im ELISA eingesetzt werden.

Hinweis: Je nach eingesetztem Nachweisverfahren kann die Menge des an Probe einzusetzenden Eluats variieren. Es kann auch ein Verdünnungsschritt notwendig sein.

Durchführung für Einzelmilchproben

1. 5 ml Milchprobe in ein verschließbares 15 ml-Reaktionsgefäß geben (z. B. 15 ml Blue Cap Tube).
2. 100 µl Fällungsreagenz (grüne Lösung) zugeben. Das Reaktionsgefäß verschließen und den Inhalt durch 10-maliges Invertieren mischen.

Hinweis: Das Invertieren des Reaktionsgefäßes dient dem gleichmäßigen Verteilen des Fällungsreagenz in der Probe. Die erfolgreiche Fällung des Caseins ist sichtbar am Dickwerden bzw. Ausflocken der Milch.

3. 15 min bei 4°C mit 3800 x g zentrifugieren.

Hinweis: Das Casein sammelt sich als Pellet am Boden des Gefäßes.

Wichtig: Gegebenenfalls muss nach der Zentrifugation die Rahmschicht auf der Molke entfernt werden.

4. Überstand vorsichtig in ein neues 15 ml-Reaktionsgefäß gießen, dort 200 µl Neutralisationspuffer (NP, rote Lösung) hinzufügen und durch leichtes Schwenken mischen.

Hinweis: Casein-Pellet verwerfen. Nach Zugabe von 200 µl NP sollte die Farbe der Probe von gelblich nach rötlich umschlagen. Bleibt die Probe gelb, ist der pH-Wert zu niedrig. In 50 µl-Schritten mehr NP zugeben und mischen, bis die Farbe nach rot umschlägt. Ein korrekter pH-Wert ist sehr wichtig für die Bindung.

5. 200 µl Matrix-Suspension zugeben und für 2 Stunden unter leichter Bewegung bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

Hinweis: Unmittelbar vor Gebrauch der Matrix diese sehr gut resuspendieren. Das Schwenken während der Inkubation ist notwendig, da sich die Matrix mit der Zeit absetzt.

6. Die Probe 5 min bei 4°C mit 3000 x g zentrifugieren. Den Überstand vorsichtig abnehmen und verwerfen. 3-5 mm Überstand über dem Matrix-Pellet stehen lassen.

Hinweis: Falls die Matrix nicht als Pellet vorliegt, gegebenenfalls die Zentrifugationszeit verlängern. Für die Abnahme des Überstandes empfiehlt sich die Verwendung einer Wasserstrahlpumpe.

7. Das Matrix-Pellet im verbliebenen Puffer resuspendieren und anschließend in den Filter der Spin Column geben.

Hinweis: Die Spin-Filter vorher mit der Probenkennzeichnung beschriften.

8. Die Spin Columns für etwa 3 s zentrifugieren und den Durchlauf verwerfen.

Hinweis: Falls nicht die gesamte Matrix in einem Schritt in den Spin-Filter überführt werden konnte, den Rest nach der Zentrifugation überführen und Schritt 8 wiederholen.

9. Matrix 2-mal mit je 500 µl Aqua bidest. waschen. Zentrifugation wie unter Schritt 8 durchführen und den Durchlauf jeweils verwerfen.

Hinweis: Falls nicht die gesamte Matrix in Schritt 7 auf den Spin Filter übertragen werden konnte, den ersten Waschschrift für den Transfer der restlichen Matrix auf den Spin Filter benutzen.

Hinweis: Falls die Matrix noch Flüssigkeit enthält, sollte der Zentrifugationsschritt verlängert werden.

10. 10 µl Neutralisationspuffer in frische 1,5 ml bzw. 2 ml Reaktionsgefäße vorlegen und die Spin-Filter von den Collection Tubes in die Reaktionsgefäße umsetzen.

Hinweis: Die Reaktionsgefäße mit der Probenkennzeichnung beschriften.

11. 200 µl Elutionspuffer (gelbe Lösung) auf die Matrix in den Spin-Filtern geben. Für 1-5 Minuten bei Raumtemperatur inkubieren und anschließend für etwa 3 s zentrifugieren.

Hinweis: Bei korrekter Neutralisation des Eluats schlägt die Farbe von gelb nach rosa um.

12. Das Eluat kann unverdünnt als Probe im ELISA eingesetzt werden.

Hinweis: Je nach eingesetztem Nachweisverfahren kann die Menge des an Probe einzusetzenden Eluats variieren. Es kann auch ein Verdünnungsschritt notwendig sein.

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, cador, 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.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den cattletype Milk Prep Kit

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). 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-1658-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1658-002	Juli 2018	INDICAL-Design

INDICAL
BIOSCIENCE

Ordering: www.indical.com/contact
Technical Support: support@indical.com
Website: www.indical.com