

PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit

ELISA für *in vitro* Nachweis von Antikörpern gegen *Salmonellen* in Plasma und Serum von Schweinen

Katalog-Nummer 7610660

Pub. Nr. MAN0013914 Version B.0

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG zugelassen

Für Deutschland: Zulassungsnummer FLI-B 431



ACHTUNG! Bitte die Sicherheitsdatenblätter (SDB) lesen und Handlungsanweisungen befolgen. Es ist angemessene persönliche Schutzausrüstung (PSA) zu tragen (Brille, Kleidung, Handschuhe). Die Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind abzurufen unter thermofisher.com/support.



ACHTUNG! POTENZIELLE BIOGEFAHR. Informieren Sie sich auf der jeweiligen Produktwebsite (unter thermofisher.com) über biologische Gefahren, die von dem Produkt ausgehen können. Tragen Sie eine geeignete Schutzbrille sowie Schutzkleidung und -handschuhe.

Einführung

Die Salmonellose ist eine der bedrohlichsten Zoonosen, sie zeigt ernste klinische Symptome bei Menschen. Schweine werden als eine wichtige Quelle dieser Salmonelleninfektion angesehen. Infizierte Schweineherden stellen für die Allgemeinheit ein besonderes Gesundheitsrisiko als Kontaminationsquelle von Fleisch beim Schlachten dar. Eine Überwachung und Diagnose infizierter Schweineherden kann einfach durch Testen auf Antikörper für Salmonelleninfektionen in Serum oder Fleischsaft erreicht werden. Das Applied Biosystems™ PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit wurde am dänischen Veterinärinstitut entwickelt und wird erfolgreich im Kontrollprogramm für Salmonellen bei Schweinen in Dänemark angewendet. Darüber hinaus wird der ELISA oft als Goldstandard bei der Entwicklung anderer Salmonellen-ELISAs verwendet [1].

PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit kann verwendet werden, um Infektionen bei Schweinen aufzuspüren, die durch Salmonellenstämme der Serogruppe B, C1 und D verursacht werden (den am häufigsten auftretenden Serotypen, die in Europa, Asien und Amerika isoliert wurden). Der Test eignet sich besonders für groß angelegte Kontrollprogramme für Salmonelleninfektionen beim Schwein [1,2].

Testprinzip

Der PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit ist ein indirekter ELISA für den Nachweis von Antikörpern gegen *Salmonellen* im Schwein und weist Antikörper gegen die O-Antigene 1, 4, 5, 6, 7 und 12 des *Salmonellen* Lipopolysaccharid LPS nach. Platten wurden mit dem gereinigten LPS, das aus *Salmonella Typhimurium* und *Salmonella Choleraesuis* isoliert wurde, beschichtet. Das Konjugat ist ein an Meerrettichperoxidase gekoppeltes Kaninchen-Anti-Schweineserum.

Proben werden in einer Blindplatte vorverdünnt und in die entsprechenden Wells der Testplatte überführt und bei Raumtemperatur (22±3°C) inkubiert. Danach werden die Platten gewaschen und das HRP-Konjugat zugegeben und bei 22±3°C inkubiert. Nachdem die Platten gewaschen sind, wird das gebrauchsfertige Chromogen (TMB) Substrat in jedes Well der Testplatte pipettiert. Nach Inkubation bei 22±3°C wird die Farbentwicklung gestoppt und bei 450 nm gemessen.

Komponenten des Testkits

Packung mit 5 Platten für 450 Proben. Das Kit soll bis zum Verfallsdatum bei 5±3°C aufbewahrt werden. Siehe Kit-Etikett für das jeweilige Verfallsdatum. Die Haltbarkeit verdünnter, geöffneter oder wieder hergestellter Komponenten ist nachstehend gegebenenfalls vermerkt.

Komponente	Beschreibung
1: Testplatte	Fünf Testplatten.
2: Konjugat (30x)	30x konzentriert, vor dem Gebrauch verdünnen. Ein Fläschchen enthält 2,2 ml Konjugat. Haltbarkeit des verdünnten Konjugats: 24 Stunden bei 22±3°C.
3: Verdünnungspuffer (5x)	5x konzentriert, vor dem Gebrauch verdünnen. Ein Fläschchen enthält 60 ml Verdünnungspuffer. Haltbarkeit der Verdünnungspuffer-gebrauchslösung: 24 Stunden bei 22±3°C.
4: Waschpuffer (100x)	100x konzentriert, vor dem Gebrauch verdünnen. Ein Fläschchen enthält 60 ml Waschpuffer. Haltbarkeit der Waschlösung: 1 Woche bei 22±3°C.
5: Negativkontrolle	Gebrauchsfertig. Ein Fläschchen enthält 0,5 ml Negativkontrolle.
6: Validierungskontrolle	Gebrauchsfertig. Ein Fläschchen enthält 0,5 ml Validierungskontrolle. Hinweis: Die Verwendung dieses Kontrollelements ist optional.
7: Positivkontrolle	Gebrauchsfertig. Ein Fläschchen enthält 0,5 ml Positivkontrolle.
8: Chromogen (TMB) Substrat	Gebrauchsfertig. Ein Fläschchen enthält 60 ml Chromogen (TMB) Substrat.
9: Stopplösung	Gebrauchsfertig. Ein Fläschchen enthält 60 ml Stopplösung.
Weitere Kitbestandteile	Gebrauchsinformation

Zusätzlich benötigte Materialien und Geräte

Sofern nichts Gegenteiliges angegeben wurde, können alle Materialien auf thermofisher.com bezogen werden.

Schritt	Beschreibung
Blindplatten	Blindplatten zur Vorverdünnung der Plasma- und Serumproben. Wir empfehlen U-Boden Platten (Kat.-Nr. 267245). Es können jedoch auch andere nicht bindende Platten oder Röhrchen verwendet werden.
Allgemein	Laborausrüstung gemäß den nationalen Sicherheitsvorschriften.
Analysenergebnisse	Plattenleser. Der Leser muss einen geeigneten Filtersatz haben um die Platten bei 450 nm ablesen zu können.
Optional	Waschgerät.

Ablauf des Tests

Vorsichtsmassnahmen

- Nationale Sicherheitsvorschriften müssen befolgt werden.
- Der PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit muss in für diesen Zweck geeigneten Laboratorien durchgeführt werden.
- Proben müssen als potentiell infektiös betrachtet werden und alle mit den Proben in Berührung kommenden Gegenstände als potentiell kontaminiert erachtet werden.

Hinweise

Um optimale Ergebnisse mit dem PrioCHECK™ Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit zu erhalten, müssen folgende Hinweise beachtet werden:

- Das Testverfahren muss streng eingehalten werden.**
- Alle Reagenzien des Kits müssen vor Gebrauch auf Raumtemperatur (22±3°C) gebracht werden.
- Pipettenspitzen müssen nach jedem Pipettierschritt gewechselt werden.
- Für jedes Reagenz müssen eigene Behälter verwendet werden.
- Kitbestandteile dürfen nach ihrem Verfallsdatum, oder wenn Änderungen in ihrem Aussehen festgestellt werden, nicht mehr verwendet werden.
- Kitbestandteile verschiedener Kit-Chargennummern dürfen nicht zusammen verwendet werden.
- Demineralisiertes Wasser oder gleichwertiges für den Test verwenden.

Vorbereitung der Lösungen

Verdünnungspuffergebrauchslösung

Der Verdünnungspuffer (5x) (Komponente 3) muss in demineralisiertem oder destilliertem Wasser 1:5 verdünnt werden; für z.B. eine Platte werden 9 ml konzentrierter Verdünnungspuffer (5x) mit 36 ml demineralisiertem oder destilliertem Wasser gemischt.

Stabilität der Verdünnungspuffergebrauchslösung: 24 Stunden bei 22±3°C.

Konjugatverdünnung

Das Konjugat (30x) (Komponente 2) 1:30 in Verdünnungspuffergebrauchslösung verdünnen; für z.B. eine Platte werden 0,4 ml konzentriertes Konjugat (30x) mit 11,6 ml der Verdünnungspuffergebrauchslösung gemischt.

Hinweis: Das verdünnte Konjugat ist bis zu 24 h stabil.

Waschlösung

Der Waschpuffer (100x) (Komponente 4) muss mit demineralisiertem Wasser 1:100 verdünnt werden; für z.B. eine Platte werden 5 ml konzentrierte Waschlösung (100x) mit 495 ml demineralisiertem oder destilliertem Wasser gemischt.

Eine Flasche reicht für 6 Liter Waschlösung.

Haltbarkeit der Waschlösung: 1 Woche bei Lagerung bei 22±3°C.

Vorverdünnung der Proben 1:20 in einer Blindplatte

- 1. Geben Sie 10 µL jeder Testprobe in die entsprechenden Vertiefungen der Blindplatte (siehe Tabelle 1).
Hinweis: Je nach experimentellen Anforderungen können Testproben zu einer Vertiefung (Einzeltest) oder zwei nebeneinanderliegenden Vertiefungen (Duplikatetest) hinzugefügt werden.
- 2. Geben Sie 190 µL der Verdünnungspufferlösung in jede Vertiefung, die eine Probe enthält, und mischen Sie sie durch.
- 3. Die Blindplatte(n) 1 Minute lang bei 700 U/min (1/min) schütteln.

Hinweis: Das Mischen der Probe mit der Verdünnungspuffergebrauchslösung ist für den Test unbedingt erforderlich.

Inkubation von Kontrollen und Probe

Die empfohlene Testplattenbelegung finden Sie in Tabelle 2.

- 1. Jeden Streifen der Testplatte (Komponente 1) mit einem Markierstift beschriften.
- 2. 90 µl der Verdünnungspuffergebrauchslösung in jedes Well der Testplatte (Komponente 1) pipettieren.
- 3. Übertragen Sie 10 µL von jeder vor-verdünnten Probe von der Blindplatte in die entsprechenden Vertiefungen der Testplatte.
- 4. 10 µl der Negativkontrolle (Komponente 5) in die Wells A1 und B1 pipettieren.
- 5. 10 µl der Positivkontrolle (Komponente 7) in die Wells C1 und D1 pipettieren.
- 6. (Optional) 10 µl der Validierungskontrolle (Komponente 6) in die Wells E1 und F1 pipettieren.
- 7. Die Platte(n) 1 Minute lang bei 700 U/min (1/min) schütteln.
- 8. Die Testplatte(n) 30±3 Minuten bei 22±3°C inkubieren.

Inkubation mit Konjugat

- 1. Testplatte entleeren und die Platte 3 mal mit 300 µl verdünntem Waschpuffer waschen. Die Platte nach dem letzten Waschzyklus fest ausklopfen.
- 2. 100 µl der Konjugatgebrauchslösung in jedes Well pipettieren.
- 3. Die Platte(n) 30±3 Minuten bei 22±3°C inkubieren.

Inkubation mit Chromogen (TMB) Substrat

- 1. Testplatte entleeren und die Platte 3 mal mit 300 µl verdünntem Waschpuffer waschen. Die Platte nach dem letzten Waschzyklus fest ausklopfen.
- 2. 100 µl Chromogen (TMB) Substrat (Komponente 8) in jedes Well pipettieren.
- 3. Die Platte(n) 15±1 Minuten bei 22±3°C inkubieren.
- 4. 100 µl der Stopplösung (Komponente 9) in jedes Well zugeben.
- 5. Inhalt der einzelnen Wells der Platte(n) durchmischen.

Hinweis: Mit der Zugabe der Stopplösung 15 Minuten nach dem Befüllen des ersten Wells mit Chromogen (TMB) Substrat beginnen. Die Stopplösung in derselben Reihenfolge und mit der gleichen Geschwindigkeit wie das Chromogen (TMB) Substrat zugeben.

Ablesen des Tests und Berechnung der Ergebnisse

- 1. Messung der optischen Dichte (OD) der Wells bei 450 nm, vorzugsweise innerhalb von 15 Minuten nach Beendigung der Farbentwicklung.
- 2. Berechnung des Mittelwertes der OD₄₅₀ der Positivkontrolle (Wells C1 und D1).
- 3. Berechnung des Mittelwertes der OD₄₅₀ der Negativkontrolle (Wells A1 und B1).
- 4. Berechnen Sie den korrigierten OD₄₅₀-Wert der Positiv-Kontrolle, der Validierungskontrolle (falls verwendet) und aller Proben, indem Sie den durchschnittlichen OD₄₅₀-Wert der Negativ-Kontrolle (Vertiefungen A1 und B1) abziehen.
- 5. Die prozentuale Positivität (PP) aller Kontrollen und aller Proben gemäß nachstehender Formel berechnen:

Die OD₄₅₀ aller Proben wird als prozentuale Positivität (PP) der OD₄₅₀ der Positivkontrolle (PK) (Wells C1 und D1), korrigiert mit der mittleren OD₄₅₀ der Negativkontrolle (NK) (Wells A1 und B1), ausgedrückt.

PP = ((OD₄₅₀ Testprobe - mittlere OD₄₅₀ NK) / (mittlere OD₄₅₀ PK - mittlere OD₄₅₀ NK)) x 120)

Auswertung der Ergebnisse

Validitätskriterien

- 1. Die mittlere OD₄₅₀ der Negativkontrolle (Wells A1 und B1) muss <0,4 sein.
- 2. Die mittlere OD₄₅₀ der Positivkontrolle (unkorrigiert) muss >1,0 sein.
- 3. Wenn die Validierungskontrolle verwendet wurde, muss der durchschnittliche Prozentsatz der positiven Einstellung der Validierungskontrolle ≥ 60 sein.

Werden diese Kriterien nicht erfüllt, so ist die Platte ungültig.

Hinweis: Falls die OD₄₅₀ der Positivkontrolle (unkorrigiert) unter 1,0 liegt, ist das Chromogen (TMB) Substrat vermutlich zu kalt. In diesem Fall die Lösung vorher auf 22±3°C erwärmen oder bis zu 30 Minuten inkubieren.

Auswertung der prozentualen Positivität

PP = <40%	Negativ	Es liegen keine <i>Salmonellen</i> -spezifische Antikörper in der Probe vor.
PP = ≥40%	Positiv	Es liegen <i>Salmonellen</i> -spezifische Antikörper in der Probe vor.

In bestimmten *Salmonella*-Kontrollprogrammen kann für diesen Test ein anderer Cut-off angewendet werden (z.B.: PP 20). Es liegt jedoch in der Verantwortung der jeweiligen Behörde / des jeweiligen Anwenders eine solche Änderung zu implementieren.

Empfohlene Plattenbelegung

Die folgenden Plattenbelegungen ermöglichen eine effiziente Übertragung von vorverdünnten-Proben von der Blindplatte zur Testplatte (X - leer; S - Probe; P - Positiv-Kontrolle; N - Negativ-Kontrolle; V - Validierungskontrolle (optional)).

Tabelle 1 Blindplattenbelegung

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	X	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	X or S ⁽¹⁾	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	X or S ⁽¹⁾	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

⁽¹⁾ Wenn Sie die Validierungskontrolle verwenden, lassen Sie die Vertiefungen E1 und F1 leer.

Tabelle 2 Testplattenbelegung

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
B	N	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
C	P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
D	P	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
E	V or S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
F	V or S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
G	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
H	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

Referenzen

- 1. Nielsen B, Baggesen D, Bager F, Haugegaard J, Lind P (1995). *Veterinary Microbiology* 47:205–218.
- 2. Van der Heijden HMF (2001). First International Ring Trial of ELISA's for *Salmonella*-antibody. *Berl Münch Tierärztl Wschr* 389–392.

Kundendienst und technischer Support

Besuchen Sie thermofisher.com/askaquestion, um technischen Support zu erhalten.

Aktuelles zum Kundendienst und technischen Support finden Sie unter thermofisher.com/support, darunter:

- Telefonnummern von Ansprechpartnern weltweit
 - Bestellungs- und Web-Support
 - Betriebsanweisungen, Handbücher und Protokolle
 - Analysezertifikate
 - Sicherheitsdatenblätter (SDB)
- HINWEIS:** Wenden Sie sich für Sicherheitsdatenblätter für Reagenzien und Chemikalien anderer Hersteller an den jeweiligen Hersteller.

Beschränkte Gewährleistung

Die Life Technologies Corporation bzw. ihre verbundenen Unternehmen räumt dem Käufer für ihre Produkte Gewährleistungsrechte wie in den Allgemeinen Verkaufsbedingungen von Life Technologies beschrieben ein, die auf der Website von Life Technologies unter thermofisher.com/us/en/home/global/terms-and-conditions eingesehen werden können. Sollten Sie Fragen haben, kontaktieren Sie bitte Life Technologies unter thermofisher.com/support.



Prionics Lelystad B.V. | Platinastraat 33 | 8211 AR Lelystad | The Netherlands

Inhaltliche Änderungen dieses Leitfadens behalten wir uns ohne Ankündigung vor.

HAFTUNGSAUSSCHLUSS: IN DEM GESETZLICH ZUGELASSENEN UMFANG HAFTET LIFE TECHNOLOGIES UND/ODER SEINE TOCHTERUNTERNEHMEN NICHT FÜR BESONDERE, VERSEHENTLICHE, INDIREKTE, STRAFBARE, MEHRERE ODER FOLGESCHÄDEN IN VERBINDUNG MIT ODER HERVORGEHEND AUS DIESEM DOKUMENT, EINSCHLIESSLICH IHRER NUTZUNG DIESES DOKUMENTS.

Versionsgeschichte: Pub. Nr. MAN0013914 (Deutsch)

Ver.	Datum	Beschreibung
B.0	29. Oktober 2020	• Das Protokoll wurde aktualisiert, damit die Validierungskontrolle optional verwendet werden kann. • Ein Abschnitt zu empfohlenen Plattenbelegungen wurde hinzugefügt.
A.0	3 Juli 2019	Neues Dokument. Altes Dokument (MAN0013914 PrioCHECK Salmonella Ab porcine 2.0 serum 7610660 v1.6_d_160308.doc) zu neuester Dokumentvorlage aktualisiert, mit zugehörigen Aktualisierungen zu Informationen über beschränkte Lizenzen, Gewährleistungen, Marken und Logos. Der Productname wurde von PrioCHECK Salmonella Ab porcine 2.0 in PrioCHECK Porc. Salmonella Ab 2.0 Strip Kit geändert.

Wichtige Lizenzinformationen: Für dieses Produkt gelten unter Umständen eine oder mehrere Lizenzen zur eingeschränkten Nutzung („Limited Use Label License“). Mit der Verwendung dieses Produkts erklären Sie sich mit den Bedingungen und Bestimmungen aller anwendbaren Lizenzen zur eingeschränkten Nutzung einverstanden.

©2020 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Thermo Fisher Scientific und ihrer Tochtergesellschaften, sofern nicht anders angegeben.