

BOVIGAM™ Pokeweed Mitogen

Stimulationsantigen zur Labordiagnose der Zellviabilität unter Verwendung von Rinder-Gamma-Interferon-Tests

Katalog-Nummer 5108777

Pub. No. MAN0019564 Version B.0



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.

Einleitung

Applied Biosystems™ BOVIGAM™ Pokeweed Mitogen (Kat.-Nr. 5108777; PWM) ist ein Stimulationsantigen für BOVIGAM™ TB Kit und BOVIGAM™ 2G TB Kit, bestehend aus einem Lektin der Amerikanischen Kermesbeere (*Phytolacca americana*). BOVIGAM™ Pokeweed Mitogen ist eine Viabilitätskontrolle für Zellen und wirkt als unspezifisches Agens zur Stimulation bestimmter T-Zell Populationen. Die rekonstituierte Lösung enthält keine Konservierungsmittel.

Allgemeine Hinweise

PWM wird bei der Durchführung von BOVIGAM™ TB Kit oder BOVIGAM™ 2G TB Kit zur Stimulation von Vollblutproben verwendet. Es ist unbedingt notwendig, dass alle für BOVIGAM™ TB Kit oder BOVIGAM™ 2G TB Kit entnommenen Blutproben an einer zuvor gereinigten Stelle entnommen werden und in Probengefäße überführt werden, die Lithiumheparin als Antikoagulans enthalten. Die Probengefäße mehrmals invertieren, um eine vollständige Mischung von Blut und Heparin zu gewährleisten. Die Blutproben sollten bei Raumtemperatur (22±3°C, Extreme vermeiden) zum Testlabor transportiert und innerhalb von 30 Stunden nach Entnahme für die BOVIGAM™ Assays verwendet werden.

WICHTIG! Das Blut darf nicht im Kühlschrank aufbewahrt werden.

Testprinzip

PWM ist ein geeignetes Agens zur unspezifischen Stimulation zellvermittelter Interferon-gamma (IFN-γ) Produktion. Daher kann PWM als Positivkontrolle für diese Art von Stimulationsassays verwendet werden.

PWM wird mit Lymphozyten im Vollblut vermischt und über Nacht inkubiert. Anschließend wird das Blutplasma oberhalb der Kulturen entnommen und unter Verwendung der BOVIGAM™ TB Kit oder BOVIGAM™ 2G TB Kit auf IFN-γ Produktion untersucht.

Allgemeine Vorsichtshinweise

Laborsicherheit

Nationale Sicherheitsvorschriften müssen streng befolgt werden.

Testverfahren

Zur Stimulation im 96-Well Format

Das PWM ist lyophilisiert und muss bei 5±3°C gelagert werden. Für die Herstellung der Stammlösung (1 mg/ml) wird das lyophilisierte PWM mit 3,2 ml RPMI 1640 Medium rekonstituiert. Diese Stammlösung sollten in geeigneten Aliquots bei -20°C bis -25°C eingefroren werden.

Zur Stimulation werden geeignete Aliquots der Stammlösung aufgetaut. Um die Endkonzentration von 5 µg/ml je Assay zu erreichen, werden 55 µl Stammlösung in 945 µl RPMI 1640 Medium verdünnt (Arbeitskonzentration).

Blutproben direkt vor der Verwendung gleichmäßig durchmischen. Beim Test 25 µl PWM (aus der Arbeitskonzentration) in das entsprechende Well vorlegen, dann 250 µl Vollblut zugeben und durch auf- und abpipettieren vorsichtig durchmischen.

Zur Stimulation im 24-Well Format

Das PWM ist lyophilisiert und muss bei 5±3°C gelagert werden. Für die Herstellung der Stammlösung (1 mg/ml) wird das lyophilisierte PWM mit 3,2 ml RPMI 1640 Medium rekonstituiert. Diese Stammlösung sollten in geeigneten Aliquots bei -20°C bis -25°C tiefgefroren werden.

Zur Stimulation werden geeignete Aliquots der Stammlösung aufgetaut. Um die Endkonzentration von 5 µg/ml je Assay zu erreichen, werden 80 µl Stammlösung in 920 µl RPMI 1640 Medium verdünnt (Arbeitskonzentration).

Blutproben direkt vor der Verwendung gleichmäßig durchmischen. Beim Test 100 µl PWM (aus der Arbeitskonzentration) in jedes Well vorlegen, dann 1,5 ml Vollblut zugeben und durch auf- und abpipettieren vorsichtig durchmischen.

Gewinnung der Plasmaproben

- 96 Well-Platten: Bei 500 x g für 10 min abzentrifugieren (bei Raumtemperatur). 110 µl Überstand abnehmen und in eine neue 96 Well-Platte überführen. Die Platten verschließen und bei -80°C bis zur Durchführung des EIA aufbewahren.
- 24 Well-Platten: Die benötigte Menge an Plasma in eine neue 96 Well-Platte überführen, die Platten verschließen und bei -80°C bis zur Durchführung des EIA aufbewahren.

Der anschließende BOVIGAM™ TB Kit oder BOVIGAM™ 2G TB Kit Assay muss entsprechend der jeweiligen *Gebrauchsinformation* durchgeführt werden.

Auswertung

Stimulation mit PWM (Stimulationskontrolle)

1. Mittlere Absorptionswerte für Nil-Antigen und PWM von jeder Probe berechnen.
2. Mittlere Absorptionswerte von Nil-Antigen und PWM von jedem Tier vergleichen.

$$\text{Positive Viabilität} = \text{OD PWM} - \text{Nil-Antigen} \geq 0,5$$

$$\text{Negative Viabilität} = \text{OD PWM} - \text{Nil-Antigen} < 0,5$$

PWM stimulierte Blutproben mit einer OD von <0,5 OD Einheiten (PWM-Nil) werden als Proben eingestuft, die Blutzellen mit ungenügender Viabilität enthalten. Es wird empfohlen, die Blutentnahme zu wiederholen.

Vollblutproben die nach einer PWM-Stimulation bei der Analyse im EIA einen mittleren OD-Wert (nach Abzug des Nil-Antigen Wertes) größer 0,5 aufweisen, enthalten vitale Lymphozyten.

Werden Proben mit geringerem Wert gemessen, so kann dies darauf hindeuten, dass die Vitalität der Lymphozyten durch den Transport oder unsachgemäße Handhabung verringert wurde. Auch PWM-Proben von gestressten, schlecht ernährten oder immunsupprimierten Tieren können OD-Werte unterhalb von 0,5 OD Einheiten zeigen. Proben, die diesen Schwellwert nicht erreichen, sollten nicht ausgewertet werden.

VORSICHT

Immunsuppression, die durch eine vor kurzem durchgeführte Behandlung mit Dexamethason oder eine Geburt verursacht wurde, kann die IFN-γ Antworten auf mykobakterielle Antigene möglicherweise herabsetzen. Tiere, die innerhalb der letzten Woche eine Injektion mit Dexamethason erhalten haben oder die innerhalb der letzten 4 Wochen gekalbt haben, müssen nochmals getestet werden, um die Möglichkeit eines falsch-negativen Ergebnisses zu mindern.

Die Verantwortung für die Auswertung des Tests und die daraus folgenden Entscheidungen für die Viehzucht liegen allein in der Verantwortung des Anwenders, des beratenden Tierarztes und der zuständigen Gesundheitsberater.

Thermo Fisher Scientific übernimmt keine Verantwortung für den Verlust oder Schaden, wie auch immer verursacht, der aus der Auslegung von Testergebnissen hervorgeht.

Wiederholungstest

Tiere mit einem PWM-Nil OD-Wert <0,5 OD Einheiten sollten nochmals getestet werden.

Lagerung

Lichtgeschützt bei 5±3°C (lyophilisiert) lagern. Rekonstituiertes und aliquotiertes PWM sollte bei -20°C eingefroren werden.

Für tierärztlichen Gebrauch. Ausschließlich für in vitro zu verwenden.

Lieferumfang

BOVIGAM™ Pokeweed Mitogen ist in 3,2 mg Gefäßen erhältlich.

Referenzen

Schiller, I, Waters, WR, Vordermeier, HM, Nonnecke, B, Welsh, M, Keck, N, Whelan, A, Sigafoose, T, Stamm, C, Palmer, M, Thacker, T, Hardegger, R, Marg-Haufe, B, Raeber, A, and Oesch, B. *Clin. Vaccine Immunol.* 16(8), 1196-1202, 2009.

Die hier beschriebene Verfahrensweise erfüllt nicht die Spezifikationen dieser Gebrauchsinformation. Thermo Fisher Scientific ist nicht verantwortlich für die mit dieser Verfahrensweise erhaltenen Ergebnisse.

Kundendienst und technischer Support

Besuchen Sie [thermofisher.com/askaquestion](https://www.thermofisher.com/askaquestion), um technischen Support zu erhalten.

Aktuelles zum Kundendienst und technischen Support finden Sie unter [thermofisher.com/support](https://www.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](https://www.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](https://www.thermofisher.com/support).



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

Inhaltliche Änderungen dieses Leitfadens behalten wir uns ohne Ankündigung vor.

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

Versionsgeschichte: Pub. Nr. MAN0019564 (Deutsch)

Ver.	Datum	Beschreibung
B.0	16. August 2023	Die deutschen Gesetzesangabe zur Zulassung wurde entfernt.
A.0	26. Oktober 2020	Neues Dokument. Altes Dokument [160331_Package_Insert_PWM_Bovigam2G_1.3_d.docx] zu neuester Dokumentvorlage aktualisiert, mit zugehörigen Aktualisierungen zu Informationen über beschränkte Lizenzen, Gewährleistungen, Marken und Logos.

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.

©2023 Thermo Fisher Scientific Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Thermo Fisher Scientific und ihrer Tochtergesellschaften, sofern nicht anders angegeben.