

MegaFLUO® BABESIA canis ad us. vet.

In vitro Diagnostikum

Testkit zum indirekten semiquantitativen Immunfluoreszenz-Nachweis spezifischer IgG-Antikörper gegen *Babesia canis* im Plasma oder Serum des Hundes

GEBRAUCHSINFORMATION



6912 Hörbranz – AUSTRIA

1. INFORMATIONEN ZUM TESTKIT

TESTKITKOMPONENTEN

1 Testkit MegaFLUO® BABESIA canis enthält:

- 10 Objektträger, beschichtet mit *Babesia canis*-Antigenen
- 1 Tropfflasche mit 3,0 ml FLUO FITC Anti-Hund-IgG-Konjugat
- 1 Tropfflasche mit 0,5 ml Positivkontrolle
- 1 Tropfflasche mit 0,5 ml Negativkontrolle
- 1 Tropfflasche mit 3,0 ml Eindeckmittel
- 1 Gebrauchsinformation

PROBENMATERIAL

Serum oder Plasma

LAGERUNG UND HALTBARKEIT

- Die Lagertemperatur für das gesamte Testkit beträgt +2–8°C
- Die unterschiedlichen Angaben von Lagertemperaturen auf den Etiketten der Einzelkomponenten beziehen sich auf deren Lagerung bei Einzelkauf (→ anderes Verfallsdatum).
- Die Haltbarkeit beträgt 12 Monate ab Herstellung.

NOTWENDIGES, NICHT IM TESTKIT ENTHALTENES MATERIAL

PBS (Phosphat-gepufferte Kochsalzlösung) pH 7,2–7,4, Gefäß zum Waschen mit PBS, Reaktionsgefäße für Serumverdünnungen, Mikroliterpipetten, 24×50 mm Deckgläser, Fluoreszenzmikroskop mit Filtersystem für FITC (Fluoresceinisothiocyanat, Anregungswellenlänge 465–495, Grenzfilter 515–555) und 400× Vergrößerung, Brutschrank mit 37°C, feuchte Kammer.

HAFTUNG

Das gesamte Haftungsrisiko im Zusammenhang mit der Verwendung dieses Produktes liegt beim Käufer. Der Hersteller übernimmt keine Haftung für indirekte, spezielle oder daraus folgende Schäden jeglicher Art, die aus der Benutzung, Testdurchführung und -auswertung dieses Produktes resultieren.

SYMBOLERKLÄRUNG

- Lagerung 2–8°C – siehe Etikett
- Für den tierärztlichen Gebrauch
- In vitro Diagnostikum
- Gebrauchsinformation genau beachten
- Verwendbar bis – siehe Etikett
- Chargen-Bezeichnung
- Keine Reagenzien verschiedener Testkits, Chargennummern oder mit abgelaufenem Verfallsdatum verwenden.

2. TESTPRINZIP

Hundeseren werden mit PBS (pH 7,2–7,4) entsprechend verdünnt und auf die Antigenfelder aufgebracht, um im Fall einer positiven Probe eine Antigen-Antikörperbindungsreaktion bei 37°C zu ermöglichen. Durch anschließendes Spülen mit PBS werden nicht-gebundene, unspezifische Serumproteine abgewaschen. Im nächsten Schritt wird das fluoreszinmarkierte FLUO FITC Anti-Hund-IgG-Konjugat aufgebracht, welches an die Antigen-Antikörperkomplexe bindet. Nach einer Inkubationszeit von 30 Minuten wird nicht-gebundenes Konjugat mit PBS abgespült. Abschließend werden die Antigenfelder mit Eindeckmittel und Deckglas abgedeckt. Die Beurteilung erfolgt mittels Fluoreszenzmikroskop (Filtersystem für FITC) bei 400× Vergrößerung.

3. VORSICHTSMASSNAHMEN

- Stellen Sie sicher, dass die exakte Zuordnung der Testkitkomponenten zum jeweiligen Patienten gewährleistet ist.
- Für jede Probe bzw. Verdünnung eine neue Pipettenspitze verwenden.
- Das Konjugat ist photosensitiv und wärmeempfindlich, deshalb sollte es bis kurz vor Testung in Dunkelheit bei 2–8°C gelagert werden.
- Das Konjugat enthält Evans-Blau als Farbstoff, das potentiell krebserregend ist. Hautkontakt und Ingestion sind unbedingt zu vermeiden.
- Das Probenmaterial und die Objektträger müssen als potentiell infektiös angesehen werden und sind mit den verwendeten Testkitkomponenten nach der Testdurchführung fachgemäß zu entsorgen.

4. WICHTIGE ZUSATZINFORMATIONEN ZUR TESTAUSWERTUNG

Seroprävalenz

Der Cut-Off kann je nach Region sowie Probenherkunft (Abhängigkeit von der Prävalenz und des Endemie-Status) variieren. Daher wird jedem Labor empfohlen, den individuellen Cut-Off selbst festzulegen.

Eine akute Infektion (2- bis 4-facher Titeranstieg: „Serokonversion“) kann nur durch eine Titerbestimmung eines Serumpaars (2 Proben im Abstand von 2–3 Wochen) bestimmt werden.

Darüber hinaus sind die Testergebnisse grundsätzlich in Verbindung mit der Anamnese, der Klinik sowie mit zusätzlichen Laborparameter zu interpretieren.

Verschiedene Babesien-Formen

Für die Beschichtung der Objektträger wird Blut von natürlich infizierten Hunden verwendet. Daher können als Einschlusskörperchen sowohl Merozoiten als auch Trophozoiten erkennbar sein, und sie können in variabler Anzahl vorkommen.

5. TESTDURCHFÜHRUNG

1. Die Testkitkomponenten (außer Konjugat!) und die zu testenden Seren sollten zum Zeitpunkt der Anwendung Raumtemperatur haben.
2. Stellen Sie entsprechende Verdünnungen (z. B. 1:160, 1:320 usw.) mit PBS für alle zu testenden Seren her. Für Seren, welche in einem früheren Test positiv beurteilt wurden, empfiehlt es sich, 2-fach-Serienverdünnungen mit PBS herzustellen, um den Endtiter (= höchste, noch positive Verdünnung) zu bestimmen.
3. Entnehmen Sie die Objektträger vorsichtig der Verpackung und legen Sie sie in die feuchte Kammer. Tragen Sie auf jeden Objektträger 1 Tropfen (20 µl) der Positiv- und Negativkontrolle auf separate Antigenfelder auf. Pipettieren Sie von jeder Serumverdünnung ebenfalls 20 µl auf separate Antigenfelder (Abb.1). Achten Sie darauf, dass die Antigenfelder vollständig benetzt sind.
4. Inkubieren Sie für 30 Minuten bei 37°C.
5. Waschschritt: Klopfen Sie die Serumverdünnungen vorsichtig ab und schwenken Sie die Objektträger 5 Minuten in PBS. Wiederholen Sie den Schritt für weitere 5 Minuten in frischem PBS. Spülen Sie anschließend die Objektträger kurz mit dest. Wasser ab. Klopfen Sie vorsichtig überschüssiges Wasser ab und trocknen Sie gegebenenfalls vorsichtig die Teflonbeschichtung zwischen den Antigenfeldern mit saugfähigem Papier oder Wattestäbchen. Lassen Sie jedoch die Antigenfelder nicht austrocknen!
Sollten Sie zum Waschen eine Spritzflasche verwenden, richten Sie den Strahl nicht direkt auf die Antigenfelder.
6. Legen Sie die Objektträger zurück in die feuchte Kammer und tragen Sie sofort auf jedes verwendete Antigenfeld 1 Tropfen FLUO FITC Anti-Hund-IgG-Konjugat auf (Abb.2). Achten Sie darauf, dass die Antigenfelder vollständig benetzt sind.
7. Inkubieren Sie für 30 Minuten bei 37°C und in Dunkelheit, um das photosensitive Konjugat zu schützen.
8. Wiederholen Sie den Waschschritt, wie in Punkt 5 beschrieben.
9. Geben Sie einige Tropfen Eindeckmittel auf Deckgläser und legen Sie diese vorsichtig auf die Objektträger. Versuchen Sie, etwaige Luftblasen vorsichtig herauszudrücken.
10. Werten Sie die Objektträger im Fluoreszenzmikroskop bei 400× Vergrößerung aus (Abb.3), indem Sie die Fluoreszenzmuster der Proben mit denen der Positiv- bzw. Negativkontrolle vergleichen.
11. Versiegelte Objektträger können bei 2–8°C im Dunkeln bis zu 7 Tage aufbewahrt werden.

6. TESTAUSWERTUNG

Für die Auswertung wird ein Fluoreszenzmikroskop mit einem Filtersystem für FITC (Anregungswellenlänge 465–495, Grenzfilter 515–555) und einer Vergrößerung von 400× benötigt.

Die Fluoreszenzbilder (Form, Dichte etc.) der Negativ- und Positivkontrolle gelten grundsätzlich als Referenzbilder. Davon abweichende Reaktionsmuster sind als unspezifisch, sprich negativ zu bewerten!

Positives Fluoreszenzbild ≥ 1:160

Es sind helle, deutlich erkennbare, regelmäßig gefärbte und scharf abgegrenzte Einschlusskörperchen (Merozoiten/Trophozoiten) im Zytoplasma (oder, bei geplatzten Erythrozyten, außerhalb) infizierter Erythrozyten erkennbar.

Es empfiehlt sich, positive Proben weiter zu verdünnen, um den Endtiter (= höchste, noch positive Verdünnung) zu bestimmen.

Cut-Off-Fluoreszenzbild / Empfohlener Cut-Off 1:160

Die Einschlusskörperchen zeigen eine geringe (1+) gelbgrüne Fluoreszenz.

Negatives Fluoreszenzbild < 1:160

Die Einschlusskörperchen zeigen keine gelbgrüne Fluoreszenz, sie sind rötlich bis grau oder sind nicht mehr erkennbar.

Abweichende fluoreszierende Reaktion:

Reaktionsmuster, die sich von denen der Positivkontrolle unterscheiden, sind als unspezifische Reaktionen und daher als negativ zu bewerten.

Abbildungen finden Sie unter www.megacor.at

