

# Caprine Arthritis-Encephalitis Virus Antibody Test Kit, cELISA



Labor Diagnostik  
Leipzig

## Testkit zum Nachweis von Antikörpern gegen das Caprine Arthritis-Encephalitis Virus

### Gebrauchsinformation

*in vitro*-Diagnostikum für Tiere  
- Nur für Forschungszwecke-

**Hersteller: VMRD Inc., Washington, USA**  
USDA Zulassungsnummer 5139.20

### Der Vertrieb in Deutschland erfolgt durch:

Labor Diagnostik GmbH Leipzig  
Deutscher Platz 5b - 04103 Leipzig  
Tel: ++49 (0)341 12454-26  
Fax: ++49 (0)341 12454-60  
www.lab-leipzig.de

### Verwendungszweck

Der Caprine Arthritis-Encephalitis Virus (CAEV) Antibody Test Kit ist ein kompetitiver ELISA (cELISA) und detektiert Antikörper gegen Small Ruminant Lentivirus (Virus der Caprinen Arthritis und Enzephalitis und Maedi-Visna-Virus) in Serumproben von Schafen und Ziegen.

### Allgemeine Informationen

Im Serum enthaltene Antikörper gegen Small Ruminant Lentivirus (SRLV) blockieren die Bindung des Peroxidase-konjugierten anti-CAEV-Antikörpers an das CAE-Virusantigen in den Plattenvertiefungen. Der quantitative Nachweis der Bindung des Peroxidase-Konjugates erfolgt durch die Zugabe von Enzymsubstrat und die dadurch ausgelöste Farbreaktion. Eine starke Farbentwicklung deutet auf keine Blockierung der Konjugatbindung und damit auf das Nichtvorhandensein von SRLV-Antikörpern in der Probe hin. Eine schwache Farbentwicklung deutet auf eine Blockierung der Konjugatbindung und damit auf das Vorhandensein von SRLV-Antikörpern in der Probe hin.

### Reagenzien

	2er Kit	5er Kit
<b>A</b> Antigen-Coated Plate/ Testplatte (Streifenformat), Antigen-beschichtet	2 x 96-well Platten	5 x 96-well Platten
<b>B</b> Positive Control/Positivkontrolle	1 Flasche, 3,6 ml	1 Flasche, 3,6 ml
<b>C</b> Negative Control/Negativkontrolle	1 Flasche, 3,6 ml	1 Flasche, 3,6 ml
<b>D</b> 100X Antibody-Peroxidase Conjugate/ 100X Antikörper-Peroxidase-Konjugat, konzentriert	1 Flasche, 300 µl	1 Flasche, 500 µl
<b>E</b> Conjugate Diluting Buffer/ Konjugatverdünnungspuffer	1 Flasche, 30 ml	1 Flasche, 60 ml
<b>F</b> 10X Wash Solution Concentrate/ 10X Waschpufferkonzentrat	1 Flasche, 120 ml	2 Flaschen, á 120 ml
<b>G</b> Substrate Solution/Substratlösung	1 Flasche, 30 ml	1 Flasche, 60 ml
<b>H</b> Stop Solution/Stopplösung	1 Flasche, 30 ml	1 Flasche, 60 ml

Vorliegende Gebrauchsanleitung mit Plattenschema

## Benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden

Pipetten und Multikanalpipetten mit variablem Pipettiervolumen, Einwegpipettenspitzen, Reaktionsgefäße, ELISA-Reader mit 620, 630 oder 650 nm Filter, destilliertes oder entionisiertes Wasser, Papiertücher, Pipettierwannen, Messzylinder, Waschflasche, Handwaschkamm oder automatisches Plattenwaschgerät, Kurzzeitwecker

## Lagerung

Alle Reagenzien müssen bei 2 – 7 °C gelagert werden. **(Nicht gefroren lagern!)**

Die Reagenzien sind bei Einhaltung der auf der Verpackung beschriebenen Lagerbedingungen bis zum Ablauf des aufgedruckten Haltbarkeitsdatums stabil. **Der Testkit darf nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr benutzt werden.**

## Vorsichtsmaßnahmen

Während der Nutzung der Reagenzien und Serumproben ist das Essen, Trinken und Rauchen zu unterlassen. Nicht mit dem Mund pipettieren! Einige Reagenzien enthalten ProClin 300, Natriumazid oder Natriumfluorid. Diese Reagenzien können bei oraler Aufnahme gesundheitsschädlich sein. Falls Reagenzien verschluckt werden, suchen Sie einen Arzt auf. Sicherheitsdatenblätter sind auf Anforderung verfügbar. Die Bestandteile des Testkits dürfen nicht verunreinigt und nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen vermischt werden. Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu dekontaminieren bzw. zu entsorgen. Nur für den tierärztlichen Gebrauch!

## Reagenzien- und Probenvorbereitung

- a. Alle Reagenzien, Platten und Proben müssen vor der Benutzung auf Raumtemperatur (21-25 °C) gebracht werden.
- b. Führen Sie auf jeder Testplatte jeweils 2 Positiv- (PK) und 2 Negativkontrollen (NK) mit. Markieren Sie die Position der PK, der NK und der Proben auf dem beigefügten Plattenschema. Bei ganzen Mikrotiterplatten wird empfohlen, die Kontrollen in verschiedenen Positionen auf der Platte zu testen. Die **Serumproben** und **Kontrollen** (Positivkontrolle, Flasche B und Negativkontrolle, Flasche C) werden **unverdünnt** eingesetzt.
- c. Nehmen Sie die Platten aus der Folienverpackung. *Falls zutreffend:* Legen Sie ungenutzte Teststreifen wieder zurück in die Verpackung und verschließen Sie diese. Stecken Sie die Teststreifen in den Rahmen und nummerieren Sie die Teststreifen entsprechend dem Plattenschema, um im Falle des Herausfallens eine Zuordnung zu gewährleisten.
- d. Stellen Sie gebrauchsfertige Konjugatlösung her, indem Sie 1 Teil 100X Konjugat mit 99 Teilen Konjugatverdünnungspuffer mischen. Stellen Sie immer nur die benötigte Menge gebrauchsfertige Konjugatlösung her. Beispiel: Für eine Mikrotiterplatte benötigen Sie 6 ml gebrauchsfertiges Konjugat. Verdünnen Sie dazu 60 µl 100X Antikörper-Peroxidase-Konjugat in 5,940 ml Konjugatverdünnungspuffer. Pro Plattenvertiefung werden 50 µl gebrauchsfertiges Konjugat benötigt.
- e. Verdünnen Sie das 10X Waschpufferkonzentrat 1:10 in destilliertem oder entionisiertem Wasser, z. B. 50 ml 10X Waschpufferkonzentrat (Flasche F) in 450 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen. Pro Plattenvertiefung wird ca. 1,5 ml Waschlösung benötigt. Bereiten Sie immer etwas mehr Waschlösung vor als tatsächlich benötigt wird.

## Testdurchführung

1. Pipettieren Sie jeweils 50 µl der Kontrollen und der Serumproben gemäß dem Plattenschema in die Testplatte. Klopfen Sie mit den Fingern vorsichtig mehrmals auf die Testplatte, um eine vollständige Benetzung des Bodens der Plattenvertiefung mit der Probe zu gewährleisten. Achten Sie darauf, keine Probenreste zwischen den einzelnen Plattenvertiefungen zu verschleppen. Inkubieren Sie die Platte 60 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25 °C).
2. Waschen Sie die Platte nach Ablauf der Inkubationszeit dreimal.

Wenn Sie ein automatisches Plattenwaschgerät nutzen: Stellen Sie die Platte in das Plattenwaschgerät und lassen Sie sie dreimal mit jeweils 300 µl 1x Waschlösung waschen.

Wenn Sie die Platten manuell waschen: Schütten Sie den Inhalt der Plattenvertiefungen in ein Waschbecken und entfernen Sie etwaige Serum- und Kontrollrückstände indem Sie mit der umgedrehten Platte mehrmals auf ein sauberes, trockenes Papierhandtuch klopfen. Füllen Sie die Plattenvertiefungen danach sofort mittels einer Mehrkanalpipette oder Waschkamm mit 1x Waschlösung. Schütten Sie die Waschlösung aus und trocknen Sie die Platte wie bereits beschrieben. Wiederholen Sie diesen Vorgang mindestens dreimal.

3. Geben Sie 50 µl Antikörper-Peroxidase-Konjugat-Lösung in jede Plattenvertiefung. Klopfen Sie mit den Fingern vorsichtig mehrmals auf die Testplatte, um eine vollständige Benetzung des Bodens der Plattenvertiefung mit der Probe zu gewährleisten. Inkubieren Sie die Platte 30 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25 °C).
4. Waschen Sie die Platte nach Ablauf der Inkubationszeit dreimal (wie in Schritt 2 beschrieben).
5. Geben Sie 50 µl Substratlösung in jede Plattenvertiefung. Klopfen Sie mit den Fingern vorsichtig an die Testplatte, um eine vollständige Benetzung des Bodens der Plattenvertiefung mit der Substratlösung zu gewährleisten. Inkubieren Sie die Platte 20 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25 °C). Die Platte darf dabei nicht direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt sein. Leeren Sie die Plattenvertiefungen nicht aus.
6. Geben Sie 50 µl Stopplösung in jede Plattenvertiefung. Mischen Sie den Inhalt der Plattenvertiefungen durch leichtes Klopfen an der Plattenseite. Leeren Sie die Plattenvertiefungen nicht aus.
7. Nach der Kalibrierung des Photometers gegen Luft als Leerwert sollte die Messung der optischen Dichte (OD) im Photometer bei einer Wellenlänge von 620, 630 oder 650 nm nach dem Abstoppen erfolgen.
8. Die restlichen Reagenzien bis zur weiteren Verwendung bei 2 – 7 °C lagern.

## Testvalidierung

- Für eine gültige Messung sollte der Mittelwert (MW) der NK eine optische Dichte (OD) größer als 0,300 haben.
- Für eine gültige Messung sollte der Mittelwert der PK eine Hemmung von >35 % haben.

## Berechnung der Hemmung in % (% H):

$$\% H = 100 - \frac{OD_{\text{Probe}} \times 100}{MW \cdot OD_{\text{NK}}}$$

## Auswertung der Testergebnisse

- Proben sind als negativ zu bewerten, wenn ihre Hemmung kleiner als 35 % ist.
- Proben sind als positiv zu bewerten, wenn ihre Hemmung größer als 35 % ist.

Plattenschema:

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

Bearbeiter:

Datum:

Ch.-B: