

Detect-*Clostridium perfringens* β 2-Toxin Schnelltest

ANWENDUNG: zum Nachweis von β 2-Toxin in Kulturüberständen von *Clostridium perfringens*. Nur für Forschungszwecke! Für professionelle Anwendung.

REF AG002

Version: 2019-12-02

GEBRAUCHSANWEISUNG EIGENSCHAFTEN:

Gebrauchsfertige Reagenzien

Testlaufzeit: 20 Minuten

Manufacturer / Hersteller:

LIONEX GmbH



Salzdahlumer Str. 196, Gebäude 1A

D-38126 Braunschweig

Tel. +49-531-2601266

FAX +49-531-6180654

Distribution / Vertrieb:

LIONEX GmbH

Salzdahlumer Str. 196, Gebäude 1A

D-38126 Braunschweig

Tel. +49-531-2601266

FAX +49-531-6180654

BESCHREIBUNG

Der LIONEX *Clostridium perfringens* β 2-Toxin Schnelltest wurde zur schnellen und kostengünstigen Analyse von *Clostridium perfringens* Kulturüberständen entwickelt. Der Test ermöglicht die Identifizierung von β 2-Toxin-bildenden *Cl. perfringens* Typ A Isolaten. Diese Isolate sind mit dem Auftreten von Saugferkeldurchfällen assoziiert (Literatur).

KITKOMPONENTEN



10 Bestimmungen,

10 Testkassetten in Aluminiumbeuteln

und eine Tropfflasche mit Pufferlösung

10 Röhrchen mit Kulturmedium



1 Gebrauchsanweisung

NEG

1 Negativ Kontrolle, 0,5 mL (enthält kein β 2-Toxin)

COC

1 Cut-off Kontrolle, 0,5 mL (enthält 100 ng/mL β 2-Toxin)

POS

1 Positiv Kontrolle, 0,5 mL (enthält 400 ng/mL β 2-Toxin)

STABILITÄT UND LAGERUNG



Ungeöffneter TEST KIT: bis zum Verfallsdatum

Geöffneter Aluminiumbeutel: Tests bitte innerhalb eines Tages aufbrauchen!

Geöffnete Pufferlösung: bis zum Verfallsdatum

Ungeöffnete Tests und die Pufferlösung sind bei Raumtemperatur stabil (20 – 30 °C).

Kulturmedium: bei 2-8°C lagern

NICHT EINFRIEREN oder hohen Temperaturen (über 37°C) aussetzen. Das Verfallsdatum ist auf den Etiketten angegeben.

WEITERE ZUR TESTDURCHFÜHRUNG NOTWENDIGE MATERIALIEN

37 °C Brutschrank, 20 μ L Mikroliterpipette und Pipettenspitzen, Laboruhr.

TESTPRINZIP

Der LIONEX **Detect-*Clostridium perfringens* β 2-Toxin-Test** ist ein membranbasierter Schnelltest zum Nachweis von *Clostridium perfringens* β 2-Toxin in Kulturüberständen. Dieser immunochromatografische Schnelltest basiert auf dem Prinzip des Enzym Immuno Assay.

Der Test enthält Kulturmedium zur Anzucht von *C. perfringens* sowie Testkassetten, eine Pufferlösung und Kontrollreagenzien (zum Vergleich und zur internen Validierung). Jede Testkassette enthält einen Teststreifen, auf dem eine mit dem Fängerantikörper und Kontrolllinien beschichtete Nitrozellulosemembran immobilisiert ist. Am unteren Ende des Teststreifens unterhalb des Probenfensters befindet sich das Farbreagenz (Konjugat). Das Konjugat ist ein mit kolloidalem Gold gekoppelter β 2-Toxin-spezifischer Antikörper. Nachdem die Probe und die Pufferlösung nacheinander in die dafür vorgesehene Vertiefung der Testkassette pipettiert wurden, passiert die verdünnte Probe das Konjugat. Der spezifische Antikörper im Konjugat bindet an das in der Probe enthaltene β 2-Toxin und der gesamte Komplex fließt durch die Nitrozellulosemembran bis zu dem Abschnitt auf dem der Fängerantikörper immobilisiert ist (T). Der Fängerantikörper wiederum bindet an das bereits am Konjugat gebundene β 2-Toxin und eine rote Testbande erscheint. Je nachdem wie hoch die Konzentration an β 2-Toxin in der Probe ist, erscheint die Bande mehr oder weniger deutlich. Der übrige Komplex wandert weiter durch die Membran bis zu dem Abschnitt, auf dem sich zwei Kontrolllinien befinden (C). Sie enthalten eine hohe und eine niedrige Konzentration β 2-Toxin (400 ng und 100 μ g β 2-Toxin pro mL Kulturüberstand). Das Erscheinen der roten Kontrolllinien signalisiert eine erfolgreiche Testdurchführung.

EINSCHRÄNKUNGEN

Der LIONEX Detect-*Clostridium perfringens* β 2-Toxin-Test ist ein Schnelltest zum Nachweis von *Clostridium perfringens* β 2-Toxin in Kulturüberständen. Für andere Probenmaterialien wurde der Test nicht evaluiert, daher kann die Verwendung anderer Materialien zu falsch negativen Ergebnissen führen. Der Test eignet sich ausschließlich zur Detektion von *C. perfringens* β 2-Toxin, zum Nachweis anderer Toxine aus Clostridien ist der Test nicht geeignet. **Die Testvorschriften und die Anleitung zur Testinterpretation müssen sehr sorgfältig befolgt werden.**

VORSICHTSMASSNAHMEN UND HINWEISE:

1. Die geltenden Laborvorschriften zum Umgang mit Infektionserregern müssen eingehalten werden.
2. Alle benutzten Materialien und Reste von Reagenzien und Proben sind 20 min zu autoklavieren.
3. Der Test ist für Forschungszwecke geeignet.
4. Benutzen Sie den Test niemals nach Ablauf des Verfallsdatums.
5. Entfernen Sie nicht den Teststreifen aus der Testkassette.
6. Erwärmen Sie alle Reagenzien vor der Testdurchführung auf Raumtemperatur (20 - 30 °C).
7. Vermeiden Sie Kontamination der Reagenzien oder Proben durch die Verwendung auswechselbarer Pipettenspitzen.
8. Verwenden Sie niemals Reagenzien von unterschiedlichen Kit-Chargen und mischen Sie die Reagenzien nicht untereinander.

VORBEREITUNG VON REAGENZIEN

Lagerung der Proben:

Kulturüberstand aus den beimpften Kulturröhrchen kann sofort verwendet werden. Die Lagerung der Kulturüberstände ist bei 2-8 °C für 24 h möglich. Für eine längere Lagerung sollten die Proben bei unter -20 °C eingefroren werden.

Testreagenzien: eine Vorbereitung der Kit Komponenten ist nicht notwendig.

Anzucht des Erregers

Von jeder zu untersuchenden Reinkultur wird eines der dem Kit beiliegenden Kulturröhrchen beimpft (z.B. mittels einer sterilen Impföse eine Kultur entnehmen und damit das Röhrchen animpfen) und über Nacht bei 37 °C bebrütet. Das Medium in den Kulturröhrchen enthält ein Reduktionsmittel, daher ist ein Verbringen des Röhrchens in einen Anaerobiotopf nicht erforderlich.

TESTDURCHFÜHRUNG

Testzeit 20 min

1. Öffnen Sie so viele Tests wie Sie benötigen und legen Sie diese auf eine saubere Fläche (Labortisch).
2. Pipettieren Sie 20 µL der Probe in die dafür vorgesehene Vertiefung.
3. Geben Sie **2 Tropfen** der Pufferlösung aus der Tropfflasche hinzu.
4. Lesen Sie das Testergebnis nach **20 min** ab (spätestens nach 25 min. Später erscheinende Linien sind nicht zu berücksichtigen).
5. Bei negativem Testergebnis sollte die Flüssigkultur auf Reinheit überprüft werden (Gramfärbung oder Ausplattieren und Bebrüten unter aeroben und anaeroben Bedingungen).

Bemerkung: die Negativ-, Cut-off- und Positivkontrollen können zur internen Validierung verwendet werden. Verwenden Sie jeweils **20 µL** der Standardlösungen pro Kassette für die Messung.

ERGEBNISSE

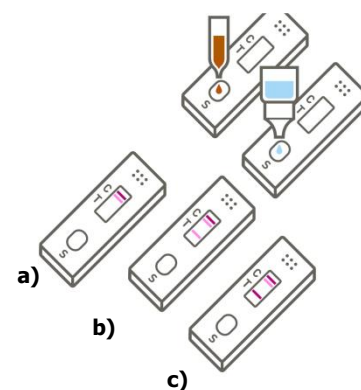
Im Kontrollbereich „C“ befinden sich eine positive Kontrolllinie (C1 = 400 ng β2-Toxin pro mL Kulturüberstand) und eine schwächere cut-

off Kontrolllinie (C2 = 100 ng Toxin/mL Kulturmedium). Die cut-off Kontrolllinie ist die positive Kontrolle für pathogenetisch relevante β2-Toxin-Konzentrationen.

POSITIV: Die rote Linie im Testbereich „T“ ist stärker als Kontrolllinie C2 (cut-off Kontrolllinie). Bei stark positiven Proben (Testlinie gleich stark wie Kontrolllinie C1) kann die cut-off Kontrolllinie sehr schwach sein oder fehlen. Die Probe enthält mehr als 100 ng β2-Toxin/mL. Die rote Linie im Testbereich „T“ kann gleich stark oder schwächer als Kontrolllinie C1 sein.

NEGATIV: Die rote Linie im Testbereich „T“ ist schwächer als die cut-off Kontrolllinie (C2 = 100 ng/mL) oder fehlt. Die Probe enthält weniger als 100 ng β2-Toxin/mL.

Testdurchführung und mögliche Testergebnisse (a = negativ; b = schwach positiv, c = positiv):

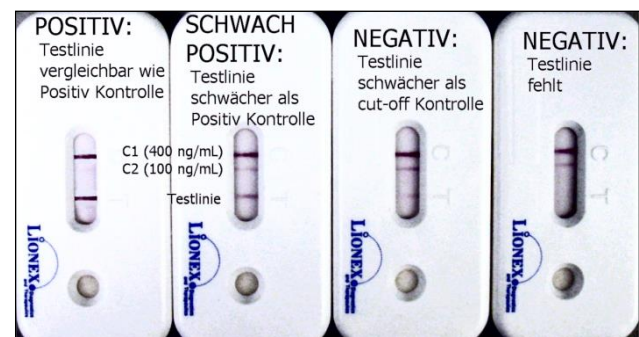


Interpretation

Positiv und schwach positiv: Eine ursächliche Beteiligung des Isolates an der klinischen Durchfallerkrankung der Ferkel ist wahrscheinlich. Das Isolat ist gut geeignet für die Herstellung von bestandsspezifischem Impfstoff.

Negativ: Diese Isolate werden auch bei gesunden Ferkeln nachgewiesen. Die Auslösung einer Durchfallerkrankung allein durch diese Erreger ist wenig wahrscheinlich. Sie sind nur bedingt für die Herstellung von bestandsspezifischem Impfstoff geeignet.

Beispiele möglicher Testergebnisse:



LITERATUR

1. Alphons J.A.M. van Asten, Georgios N. Nikolaou 1, Andrea Gröne: The occurrence of cpb2-toxigenic *Clostridium perfringens* and the possible role of the β2-toxin in enteric disease of domestic animals, wild animals and humans. The Veterinary Journal 183 (2010) 135-14