

Lyophilised, adsorbed anti-rabies nucleocapsid conjugate

REF 3572112

FOR THE HISTOLOGICAL DIAGNOSIS OF RABIES FROM BRAIN SMEARS BY IMMUNOFLUORESCENCE

Lyophilised: 4 x Q.S. 3 ml vials

I. COMPOSITION

IgG Immunoglobulins are:

- obtained by immunising rabbits with purified nucleocapsids from the fixed Pasteur strain
- purified by ion exchange chromatography
- coupled with fluorescein isothiocyanate (FITC)
- adsorbed (after titration) with 10% (final concentration) normal mouse brain suspension
- clarified by centrifugation and lyophilised

II. INTENDED USE

With the Rabies-specific labelled polyclonal Antibodies contained in the product which are targeted against the ribo-nucleoprotein complex of the Rabies virus, all currently known Lyssavirusgenotypes can be detected with the direct immunofluorescencetest (IFT) irrespective of the animal species tested.

Polyclonal antibodies, which are produced by the means of the Pasteur strain (PV) are known for their good specificity.

To ensure optimum performances, it is recommended to determine beforehand the most appropriate working solution (i.e. use reagent as undiluted or diluted).

The sensitivity of the anti-Rabies nucleocapsid conjugate may be reduced when testing Lyssavirus Genotype 3 (Mokola Virus), 5 (European Bat Lyssavirus, EBLV-1) and 6 (EBLV-2) strains. In this case the samples should be examined more carefully.

BIO-RAD

III. DIRECTION FOR USE

Reagent Preparation

Reconstitute each vial with 3 ml distilled water and centrifuge at 1500 rpm for 5 minutes for clarification.

Procedure

1. Fix the smears in acetone at -20°C for 30 minutes.
2. Add, on each smear, a sufficient quantity of clarified conjugate (i.e. 0.1 ml).
3. Incubate at 37°C for 30 minutes in a moist chamber.
4. Wash in two successive phosphate buffer (PBS) baths for 5 minutes each.
5. Apply a few drops of glycerine buffer.

Note: Counter staining in Evans Blue may improve the contrast and is sometimes useful for better fluorescent observation. A final 1/2000 dilution in Evans Blue is usually satisfactory.

- 1% Evans Blue solution - 20 µl (1 drop)
- clarified conjugate - 400 µl

Low positive samples may however be difficult to detect using Evans Blue.

Reading

Examine slides with a fluorescence microscope.

Controls

For easy diagnosis, we recommend to perform each day:

- a negative control with a normal mouse brain smear
- a positive control with a rabid mouse brain smear.

Other Reagents Required for the I.F. Reaction

- pH 7.2 phosphate buffer (10 X concentrated)
- glycerine buffer for I.F.
- Evans Blue: 1% stabilised solution
- Acetone resistant I.F. slides; 2 x 6 wells (7 mm)

Ask your Bio-Rad representative for more information on the availability of these reagents.

Available as

Kit 4 x q.s. 3 ml vial, lyophilised conjugate (code 3572112).

Each vial contains a quantity equivalent to 3 ml of adsorbed labelled immunoglobulins.

Storage

Storage at +2-8°C until the expiration date marked on the packaging.

After reconstitution the conjugate can be stored at +4°C protected from light for 15 days.

IV REFERENCES: See German version.

Conjugué anti-nucléocapside rabique, adsorbé, lyophilisé

REF 3572112

POUR LE DIAGNOSTIC DE LA RAGE EN IMMUNOFLUORESCENCE SUR CALQUES DE CERVEAUX

Lyophilisé : 4 flacons de QS 3 ml

I. COMPOSITION

Les immunoglobulines sont :

- obtenues par immunisation de lapins avec des nucléocapsides rabiques purifiées à partir de cellules infectées avec la souche de virus fixe Pasteur
- purifiées par chromatographie échangeuse d'ions
- couplées à l'isothiocyanate de fluorescéine (FITC)
- adsorbées (après titrage) en présence de 10% (concentration finale) d'une suspension d'encéphale de souris normales
- clarifiées par centrifugation et lyophilisées

II. UTILISATION

Avec les anticorps polyclonaux marqués contenus dans le produit et dirigés contre le complexe ribo-nucléoprotéique du virus rabique, tous les génotypes de Lyssavirus connus peuvent être détectés par le test d'immunofluorescence (IFT) et ceci quelle que soit l'espèce animale testée. Les anticorps polyclonaux, produits à partir de la souche virale Pasteur (PV) sont reconnus pour leur spécificité.

Pour garantir des performances optimum, nous vous recommandons de déterminer à l'avance la solution de travail la plus appropriée (conjugué pur ou dilué).

La sensibilité du conjugué Antinucléocapside Rabique peut être diminuée lors du test sur des souches de Lyssavirus de génotypes 3 (Mokolavirus), 5 (European Bat Lyssavirus ou EBLV-1) et 6 (EBLV-2).

Dans ce cas, les échantillons doivent être examinés avec précaution.

BIO-RAD

III. MODE OPERATOIRE

Préparation du réactif

Reconstituer chaque flacon avec 3 ml d'eau distillée et centrifuger à 1 500 tours/minute pendant 5 minutes pour clarification.

Procédure

1. Fixer les empreintes de cerveaux à l'acétone à -20°C pendant 30 minutes.
2. Déposer, sur chaque empreinte, une quantité suffisante de conjugué clarifié (environ 0,1 ml).
3. Incuber à 37°C pendant 30 minutes en chambre humide.
4. Laver 2 fois 5 minutes en tampon phosphate (PBS).
5. Ajouter quelques gouttes de glycérine tamponnée

Remarque : Une contre-coloration au Bleu d'Evans peut améliorer le contraste et est parfois favorable à une meilleure observation de la fluorescence. Une dilution finale de Bleu d'Evans à 1/2000 est généralement satisfaisante :

- solution de Bleu d'Evans à 1% - 20 µl (1 goutte)
- conjugué clarifié - 400 µl

Certains échantillons faiblement positifs peuvent toutefois s'avérer difficile à détecter avec le bleu d'Evans.

Lecture

Examiner les lames à l'aide d'un microscope équipé pour la fluorescence.

Contrôles

Pour la bonne pratique du diagnostic, il est conseillé de réaliser chaque jour:

- d'une part, un témoin positif sur une empreinte d'encéphale de souris normale
- d'autre part, un témoin positif sur une empreinte d'encéphale de souris rabique

Réactifs complémentaires nécessaires à la réaction en I.F.

- Tampon phosphate pH 7,2 pour I.F. (concentrée 10 fois)
- Glycérine tamponnée pour I.F.
- Bleu d'Evans : solution stabilisée à 1%
- Lames pour I.F., résistants à l'acétone 2 x 6 puits (7 mm)

Contactez votre représentant Bio-Rad pour plus d'information sur la disponibilité de ces réactifs.

Présentation

Kit 4 flacons Q.S. 3 ml de conjugué lyophilisé (code 3572112). Chaque flacon contient l'équivalent de 3 ml d'immunoglobulines conjuguées adsorbées.

Conservation

Conservation à +2°C – 8°C jusqu'à la date indiquée sur le conditionnement. Après reconstitution, le conjugué peut être conservé à +4°C et à l'obscurité pendant 15 jours.

IV REFERENCES : Voir la version allemande.

Notes

Lyophilisiertes, Adsorbiertes Anti-Tollwut Nukleokapsid Konjugat

REF 3572112

ZUR HISTOLOGISCHEN DIAGNOSE VON TOLLWUT AN GEHIRNABSTRICHEN DURCH IMMUNFLUORESCENZ

Lyophilisiert: 4 x 3 ml Fläschchen

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach §17c TierSG zugelassen.

Zul.-Nr. FLI-B 455

Gebrauchsinformation

I. ZUSAMMENSETZUNG

Die Immunoglobuline (IgG) werden:

- durch Immunisierung von Kaninchen mit gereinigten Nukleokapsiden eines definierten Pasteur-Stamms gewonnen
- durch Ionenaustauschchromatographie gereinigt
- an Fluorescein-Isothiocyanat gebunden (FITC)
- adsorbiert (nach Titration) mit einer 10% Suspension (Endkonzentration) von normalen Mäusegehirnen
- geklärt durch Zentrifugation und lyophilisiert

II. ZWECKBESTIMMUNG

Unter Verwendung der, im Produkt enthaltenen, tollwutspezifischen gelabelten polyklonalen Antikörpern, die gegen den Ribonukleoproteinkomplex des

BIO-RAD

Tollwutvirus gerichtet sind, können alle derzeit gekannten Lyssavirusgenotypen unabhängig von der Tierspezies im direkten Immunfluoreszenztest (IFT) antigenetisch erkannt werden. Polyklonale Antikörper, die mit Hilfe des Pasteur Virus (PV) Stammes hergestellt wurden, sind für ihre gute Spezifität bekannt. Um optimale Funktion und Ergebnisse sicherzustellen, empfiehlt es sich, zuerst die geeignete Verdünnung festzustellen (d.h. das Reagenz unverdünnt oder verdünnt zu verwenden).

Die Sensitivität des Anti-Tollwut-Nukleokapsid Konjugates kann je nach Verwendung des Herstellungsstammes bei Lyssaviren der Genotypen 3 (Mokola Virus), 5 (European Bat Lyssavirus, EBLV-1) und 6 (EBLV-2) geringer sein. In diesem Falle ist eine sorgfältige Untersuchung entsprechender Proben zu fordern.

III. TESTDURCHFÜHRUNG

Vorbereitung der Reagenzien

Eine Flasche mit 3 ml destilliertem, sterilen Wasser rekonstituieren und bei 1500 rpm für 5 Minuten zur Klärung zentrifugieren.

Testdurchführung

1. Die Gehirmapstriche mit Azeton bei -20°C für 30 Minuten fixieren.
2. Auf jeden Abstrich eine ausreichende Menge geklärtes Konjugat auftragen (z. B. 0,1 ml).
3. Bei 37°C für 30 Minuten in einer feuchten Kammer inkubieren.
4. Zweimaliges Spülen in Phosphatpufferlösung (PBS) für jeweils 5 Minuten.
5. Einige Tropfen gepufferten Glycerins (Mounting Medium) aufbringen.

Anmerkung: Eine Gegenfärbung mit Evans-Blau kann den Kontrast verbessern und in einigen Fällen zu einer verbesserten Auswertung der Fluoreszenz eingesetzt werden; eine Endverdünnung in Evans-Blau im Verhältnis 1:2000 ist im Allgemeinen zufrieden stellend.

- 1%-ige Evans-Blau Lösung - 20 µl (1 Tropfen)
- geklärtes Konjugat - 400 µl

Bei schwach positiven Proben kann der Nachweis unter Verwendung von Evans Blue schwierig sein.

Ablesen

Die Objektträger mit einem Fluoreszenzmikroskop auswerten.

Kontrollen

Für eine einfache Diagnose wird empfohlen, jeden Tag folgende Kontrolle durchzuführen:

- eine Negativkontrolle mit dem Gehirmapstrich einer nicht infizierten Maus
- eine Positivkontrolle mit dem Gehirnapstrich einer tollwut-positiven Maus.

Zusätzliche Reagenzien, die zur I.F.-Tollwutdiagnostik Erforderlich Sind

- Phosphatpuffer pH 7.2 (10-fach konzentriert)
- Gepuffertes Glycerin für I.F.
- Evans Blue Lösung: 1% stabilisierte Lösung
- Objektträger für I.F., resistent gegen Azeton, 2 x 6 Wells (7 mm)

Für weitere Informationen und bei Fragen zur Verfügbarkeit dieser Reagenzien kontaktieren Sie bitte Ihre Bio-Rad Niederlassung.

IV. ZUSAMMENSETZUNG

Kit mit 4 x 3 ml Fläschchen mit lyophilisiertem adsorbierten Anti-Tollwut Nukleokapsid Konjugat (Best.-Nr.: 3572112). Jedes Fläschchen enthält die äquivalente Menge für 3 ml adsorbierte, gelabelte Immunglobuline.

V. LAGERUNG

Bei +2 – 8°C bis zu dem auf der Verpackung angegebenen Haltbarkeitsdatum. Nach Ansetzen kann das Konjugat im Dunkel für 15 Tage bei +4°C gelagert werden.

VI. REFERENZEN

1. BARRAT J, BARRAT MJ, PICARD M and AUBERT M.F.A.,
Diagnostic de la rage sur culture cellulaire. Comparaison des résultats de l'inoculation au neuroblastome murin et de l'inoculation à la souris. Comp. Immun. Microbiol. Infect. Dis. (1988) Vol. I1, No. 3/4, pp. 207 214.
2. BOURHY H, ROLLIN P.E., VINCENT J and SUREAU P,
Comparative Field Evaluation of the Fluorescent-Antibody Test, Virus Isolation from Tissue Culture, and Enzyme Immunodiagnosis for Rapid Laboratory Diagnosis of Rabies. J Clin Microbiol. (1989) Mar;27(3):519-23.
3. DEAN D.J. et ABELSETH M.K. Epreuve des anticorps fluorescents. La rage : Techniques de laboratoire 1974 O.M.S. série de monographie (Genève) 75-83.
4. GOLDWASSER R.A., KISSLING R.E. Fluorescent antibody staining of street and fixed rabies virus antigens Proc. Soc. Exp. Biol. (NY), 1958, 98, 219-223.

Made and distributed in France by

Bio-Rad

3, boulevard Raymond Poincaré

92430 Marnes-La-Coquette - France

Tel.: +33 (0)1 47 95 60 00

Fax.: +33 (0)1 47 41 91 33

www.bio-rad.com



2015/11

Code: 881191