



Gebrauchsinformation zu VD-0029-S **FITC-Ig to PI₃**

Charakteristik: Immunglobulin aus hyperimmunem Rinder- oder Kaninchenserum gegen Parainfluenza-3 Virus (PI₃); isoliert mit Hilfe der Rivanolsulfatmethode; konjugiert mit Fluoresceinisothiocyanat und lyophilisiert.

Anwendung: Das Konjugat wird verwendet um den PI₃-Virus in Zellkulturen, die mit Material von verdächtigen Tieren inokuliert wurden, und in Geweben von natürlich oder experimentell infizierten Tieren nachzuweisen.

Gewebe: In infizierten Tieren vermehrt sich das Virus hauptsächlich im Epithel der Bronchien und Bronchiolen, auch in den Alveolen, und ist in Kryostatschnitten dort am sichersten durch Immunfluoreszenz nachzuweisen. In infizierten Zellen werden kleine fluoreszierende Granula oder verlaufende Fluoreszenz des Zytoplasmas gefunden.

Zellkulturen: Zur Virusisolation sollten die oben genannten Organe verwendet werden, in anderen Organen ist die Viruskonzentration zu gering. Für die Anzucht sind foetale Rindernierenzellen am empfänglichsten, primäre Zellkulturen von anderen Rinderorganen oder stabile Rinderzelllinien können ebenfalls benutzt werden.

Materialvorbereitung und Infektion der Zellkulturen: Die Kulturen werden mit dem tierischen Material - Nasalsekrete - eventuell mit Organsuspensionen von Organen toter Tiere oder auch mit dem Kulturüberstand von Vorkulturen infiziert. Nach dem Abspülen mit Earle's Salzlösung oder Parker's Medium lässt man 60 min bei 37°C adsorbieren. Danach werden die Kulturen mit serumfreien Medium (Earle + 0,30 % Lactalbuminhydrolysat) überschichtet.

Präparation des Konjugates: Das lyophilisierte Konjugat wird mit 1 ml Aqua bidest. angesetzt und mehrfach pipettiert, bis es total gelöst ist. Danach wird es mit 3 ml 0,1 M Tris-HCl-Puffer, pH 8,0, auf die Arbeitsverdünnung (1:4, 1:8) gebracht. Arbeitsverdünnung ist die, bei welcher noch eine gut positive Fluoreszenz zu sehen ist. Wir empfehlen, die optimale Arbeitsverdünnung durch weitere Verdünnung in 2er-Schritten mit Tris-Puffer zu ermitteln.

Fixierung und Färbung: Nach 24 - 48 h Inkubation werden die Präparate bei Raumtemperatur getrocknet, danach für 10 min in kaltem Aceton fixiert und anschließend 30 min bei 37°C in einer feuchten Kammer mit der Arbeitsverdünnung des Konjugates inkubiert. Danach werden die Schnitte dreimal mit 0,1M Tris-Puffer gewaschen und mit neutralem Glycerin:Tris-HCl-Puffer, 9:1, gewässert.

Überprüfung der gefärbten Präparate: Bei Gewebekulturinfektionen wird ein positives Ergebnis in Abhängigkeit von dem Virusgehalt des Inoculums durch Fluoreszenz einzelner Zellen oder Zellgruppen angezeigt, fluoreszierende Granula werden im Zytoplasma gebildet, in späteren Infektionsstadien fluoreszieren auch die Kerne. Positive Ergebnisse bei der Überprüfung von Schnitten zeigen spezifische Fluoreszenz im Epithelbereich von Follikeln und im Epithelbereich der Tonsillenhaut überwiegend im Zytoplasma, manchmal auch im Zellkern. **Kontrolle der Spezifität:** Durch Behandeln von nichtinfizierten Kulturen mit dem spezifischen Konjugat; Färben von infizierten Kulturen mit heterologen Konjugaten oder Inhibition der spezifischen Färbung durch vorangegangene Inkubation des Präparates mit einem spezifischen Antiserum für 30 min bei 37°C.

Packungsgröße: 1 ml

Lagerung: Dunkel und trocken bei +4°C

Unter diesen Bedingungen ist das Präparat bis zum angegebenen Verfallsdatum haltbar.

Stand: Juli 1999