

<p><b>Canine Heartworm Antigen Test Kit</b></p>	
<p>For veterinary use only</p>	
<p>English Version</p>	

#### PetChek® HTWM PF

The PetChek Canine Heartworm Antigen Test is an enzyme immunoassay for the detection of *Dirofilaria immitis* (*D. immitis*) antigen in canine or feline serum or plasma. A microtritation format has been devised in which antibodies to *D. immitis* antigen are coated on test wells. Upon incubation of the sample in the coated test well, antigen in the sample forms complexes with the coated antibodies.

Following removal of the sample, an enzyme conjugated antibody is added and binds to antigen captured in the well. In the final step of the assay, unbound conjugate is washed away and enzyme substrate/ chromogen is added. Subsequent color development indicates the presence of heartworm antigen in the sample.

#### Precautions and Warnings

- Do not expose TMB Substrate Solution to direct sunlight or any oxidizing agents.
- Care should be taken to prevent contamination of kit components.
- Optimal results will be obtained by strict adherence to this procedure. Careful pipetting and washing technique throughout this procedure are necessary to maintain precision and accuracy.

#### Storage

Store all reagents at 2–8°C. Allow reagents to come to room temperature (18–25°C) before use. Precipitation may occur in Stop Solution. Bring to room temperature (18–25°C) and mix by swirling before use.

#### Kit Components

- |  |        |
|--|--------|
| 1 Anti-Heartworm Antibody Coated Plates  | 2 x 96 |
| 2 1 bottle Anti-Heartworm: HRPO Conjugate (horseradish peroxidase), (preserved with gentamicin and Kathon) | 20 mL  |
| 3 1 bottle HTWM Positive Control: <i>D. immitis</i> antigen positive serum (preserved with Kathon)         | 4 mL   |
| 4 1 bottle HTWM Negative Control: serum free of <i>D. immitis</i> antigen (preserved with Kathon)          | 4 mL   |
| 5 1 bottle TMB Substrate Solution  | 25 mL  |
| 7 1 bottle Wash Concentrate (10X) (preserved with gentamicin)  | 100 mL |
| 8 1 bottle Stop Solution   | 25 mL  |
| • Precision pipette capable of dispensing 0.1 mL (100 µL) of sample  |        |
| • Disposable pipette tips  |        |
| • Well Holder  |        |

#### Materials Required but Not Provided

- Distilled or deionized water
- Wash bottle

#### Use of precision pipette to dispense 100 µL

Place disposable pipette tip on pipette. Depress button on pipette, place tip in sample and release button slowly to pull up sample. Depress button to dispense sample in well.

<p><b>Testovací souprava na detekci antigenu vlasovce psího</b></p>	
<p>Pouze pro veterinární použití.</p>	
<p>Česká verze</p>	

<p><b>PetChek® HTWM PF</b></p>	
<p>Test PetChek na stanovení antigenu vlasovce psího je enzymatický imunotest pro detekci <i>dirofilaria immitis</i> (<i>D. immitis</i>) v psím nebo kočičím séru nebo plazmě. Obsahuje mikrotitrační destičku s testovacími jamkami, ve kterých jsou navázaný protilátky proti antigenu <i>D.immitis</i>. Po inkubaci vzorku v testovacích jamkách vytvoří protilátky komplex s antigenem ve vzorku.</p>	

Po odstranění vzorku jsou přidány protilátky konjugované s enzymem, které se váží na antigen fixovaný v testovací jamce. V posledním kroku testu se vymyje nenavázaný konjugát a je přidán chromogen, který je substrátem pro enzym. Následný vznik barevné reakce indikuje přítomnost antigenu vlasovce psího ve vzorku.

#### Bezpečnostní opatření a varování

- Nevystavujte substrátový roztok TMB přímému slunečnímu světlu nebo jiným oxidačním činidlům.
- Je potřeba dbát na to, aby byly součástí soupravy chráněny před kontaminací.
- Optimální výsledky budou získány při důsledném dodržování tohoto postupu. Aby byla zajištěna přesnost a preciznost, je během tohoto procesu nezbytná pečlivá pipetovací a promývací technika.

#### Skladování

Skladujte všechny reagence při teplotách v rozmezí 2 °C–8 °C. Před použitím nechte činidla přizpůsobit pokojové teplotě (18 °C–25 °C). Ve stop-roztoku může docházet k precipitaci. Před použitím uveďte na pokojovou teplotu (18 °C–25 °C) a promíchejte krouživým pohybem.

#### Součásti soupravy

- |   |        |
|---|--------|
| 1 Destičky potažené protilátkou proti antigenu vlasovce psího (Anti-Heartworm)  | 2 x 96 |
| 2 1 lahvička s protilátkou proti antigenu vlasovce: HRPO konjugát (křtenová peroxidáza), (konzervováno gentamicínem a Kathonem) | 20 mL  |
| 3 1 lahvička pozitivní kontroly HTWM: Sérum pozitivní na antigen <i>D. immitis</i> (konzervováno Kathonem)                      | 4 mL   |
| 4 1 lahvička negativní kontroly HTWM: sérum bez antigenu <i>D. immitis</i> (konzervováno Kathonem)                              | 4 mL   |
| 5 1 lahvička substrátového roztoku TMB  | 25 mL  |
| 7 1 lahvička promývacího koncentrátu (10X) (konzervováno gentamicínem)  | 100 mL |
| 8 1 lahvička stop-roztoku   | 25 mL  |
| • Přesná dávkovací pipeta na 0,1 ml (100 µl) vzorku   |        |
| • Jednorázové pipetové špičky   |        |
| • Stojánek na testovací jamky   |        |

#### Další potřebný materiál, který není součástí balení

- Destilovaná nebo deionizovaná voda
- Láhev se stříčkou

#### Použití dávkovací pipety 100 µl

Nasaďte na pipetu jednorázový pipetovou špičku. Stiskněte tlačítko na pipetě, ponořte špičku do vzorku a pomalým posunutím tlačítka natáhněte vzorek. Stisknutím tlačítka nadávkujte vzorek do jamky.

<p><b>Testovací súprava na detekciu antigénu vlasovca psieho</b></p>	
<p>Len na veterinárne použitie.</p>	
<p>Slovenská verzia</p>	

<p><b>PetChek® HTWM PF</b></p>	
<p>Test PetChek na detekciu antigénu vlasovca psieho využívajú enzymatickú imunoanalýzu na detekciu antigénu <i>Dirofilaria immitis</i> (<i>D. immitis</i>) v sére alebo plazme psov alebo mačiek. V rámci navrhnutého formátu mikrotitračné sú testovacie jamky potiahnuté protilátkami na antigén <i>D. immitis</i>. Po inkubácii vzorky v potiahnutých testovacích jamkách vytvára antigén vo vzorke komplex s potiahnutými protilátkami.</p>	

Po odstránení vzorky sa pridá enzýmom konjugovaná protilátka, ktorá sa viaže na antigén zachytený v jamke. V poslednom kroku testu sa nenavázaný konjugát vymyje a pridá sa enzymový substrát/ chromogén. Následné sfarbenie označuje prítomnosť antigénu vlasovca vo vzorke.

<p><b>Bezpečnostné opatrenia a varovania</b></p>	
<ul style="list-style-type: none"><li>Substrátový roztok TMB nevystavujte priamemu slnečnému svetlu ani žiadnym oxidačným činidlám.</li> <li>Je potrebné dbať na to, aby sa zabránilo kontaminácii komponentov súpravy.</li> <li>Optimálne výsledky dosiahnete striktným dodržiavaním tohto postupu. Starostlivá technika pipetovania a premývania v rámci celého postupu je nevyhnutná na zachovanie presnosti a správnosti.</li></ul>	

<p><b>Uskladnenie</b></p>	
<p>Všetky reagence uchovávejte pri teplote 2 °C – 8 °C. Pred ich použitím počkajte, kým nebudú mať izbovú teplotu (18 °C – 25 °C). V prerušovacom roztoku môže dôjsť k zraženiu. Pred použitím privedte na izbovú teplotu (18 °C – 25 °C) a virením ho rozmiešajte.</p>	

<p><b>Komponenty súpravy</b></p>	
1 Doštičky potiahnuté protilátkami na antigén vlasovca	2 x 96
2 1 fľaštička antigénu vlasovca: konjugát HRPO (chrenová peroxidáza), (konzervovaný gentamycínom a kathonom)	20 ml
3 1 fľaštička pozitívnej kontrolnej vzorky vlasovca: sérum pozitívne na antigén <i>D. immitis</i> (konzervované kathonom)	4 mL
4 1 fľaštička negatívnej kontrolnej vzorky vlasovca psieho: sérum bez antigénu <i>D. immitis</i> (konzervované kathonom)	4 mL
5 1 fľaštička substrátového roztoku TMB	25 mL
7 1 fľaštička premývacieho koncentrátu (10X) (konzervovaného gentamycínom)	100 mL
8 1 fľaštička prerušovacieho roztoku	25 mL
• Presné pipety schopné nadávať 0,1 ml (100 µl) vzorky	
• Jednorazové hroty pipiet	
• Držiak jamiek	

<p><b>• Potrebne materiály, ktoré nie sú súčasťou súpravy</b></p>	
<ul style="list-style-type: none"><li>Destilovaná alebo deionizovaná voda</li> <li>Premývačka</li></ul>	

<p><b>Používanie presných pipiet na dávkovanie 100 µl</b></p>	
<p>Na presnú pipetu nasaďte jednorazový hrot pipety. Stlačte tlačidlo na pipete, vložte hrot do vzorky a pomaly uvoľnite tlačidlo, aby sa do pipety natiahla vzorka. Stlačením tlačidla nadávkuje vzorku do jamky.</p>	


<p><b>Preparation of Wash Solution</b></p>	
<p>Dilute Wash Concentrate ten-fold (1/10) with distilled/deionized water (e.g. 5 mL of Wash Concentrate plus 45 mL of water for each 12 wells). Salt crystals may form in the Wash Concentrate upon storage. If this occurs, allow concentrate to come to room temperature (18–25°C) and mix by swirling to redissolve crystals before preparing wash solution.</p>	

<p><b>Sample Information</b></p>	
<p>Serum or plasma may be used in this test. Serum or plasma (e.g., Heparin, EDTA) may be stored for up to 7 days at 2–8°C. Highly hemolyzed samples should not be used, however moderately hemolyzed or lipemic samples will not affect results. For longer storage, sample should be frozen (-20°C or colder).</p>	

<p><b>Test Procedure</b></p>	
<p>Allow reagents to come to room temperature (18–25°C) before use. Mix reagents by gentle swirling.</p>	

- Count the number of samples to be tested plus two wells for the positive and negative controls (one each). If using the well holder, remove the required number of wells from the bag and place into the well holder (up to 2 strips or 24 wells). If using the plate frame, remove the required number of complete strips from the bag and place into the 96-well plate frame. Record the positions of samples and controls on a worksheet.

<p><b>1</b></p>	
-----------------	---


<p><b>2</b></p>	
-----------------	---

<p><b>3</b></p>	
-----------------	---

- Using the precision pipette provided in kit and a separate pipette tip for each sample, add 100 µL of serum or plasma to appropriate wells. Incubate sample in well for 5 minutes at room temperature (18–25°C).

<p><b>4</b></p>	
-----------------	---

<p><b>5</b></p>	
-----------------	---

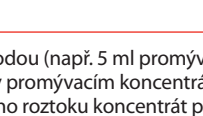
<p><b>6</b></p>	
-----------------	---

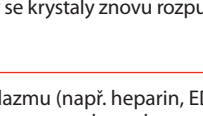
<p><b>7</b></p>	
-----------------	---

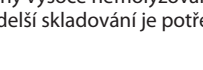
<p><b>8</b></p>	
-----------------	---


<p><b>9</b></p>	
-----------------	---


<p><b>10</b></p>	
------------------	---

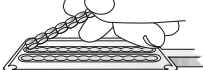
<p><b>11</b></p>	
------------------	---


<p><b>12</b></p>	
------------------	--

<p><b>13</b></p>	
------------------	---

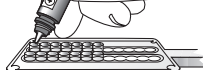
<p><b>14</b></p>	
------------------	---

<p><b>15</b></p>	
------------------	---

<p><b>16</b></p>	
------------------	---


<p><b>17</b></p>	
------------------	---

<p><b>18</b></p>	
------------------	---

<p><b>19</b></p>	
------------------	---

<p><b>20</b></p>	
------------------	---

<p><b>21</b></p>	
------------------	---

<p><b>22</b></p>	
------------------	---

<p><b>23</b></p>	
------------------	---

<p><b>24</b></p>	
------------------	---

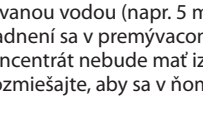
<p><b>25</b></p>	
------------------	---

<p><b>26</b></p>	
------------------	---

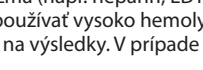
<p><b>27</b></p>	
------------------	---

<p><b>28</b></p>	
------------------	---


<p><b>29</b></p>	
------------------	---

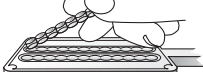
<p><b>30</b></p>	
------------------	---


<p><b>31</b></p>	
------------------	---

<p><b>32</b></p>	
------------------	---

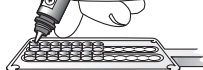
<p><b>33</b></p>	
------------------	---


<p><b>34</b></p>	
------------------	---

<p><b>35</b></p>	
------------------	---


<p><b>36</b></p>	
------------------	---


<p><b>37</b></p>	
------------------	---


<p><b>38</b></p>	
------------------	---

<p><b>39</b></p>	
------------------	---


<p><b>40</b></p>	
------------------	---

<p><b>41</b></p>	
------------------	---

<p><b>42</b></p>	
------------------	---

<p><b>43</b></p>	
------------------	---

<p><b>44</b></p>	
------------------	---


<p><b>45</b></p>	
------------------	---

<p><b>46</b></p>	
------------------	---

<p><b>47</b></p>	
------------------	---

<p><b>48</b></p>	
------------------	--

<p><b>49</b></p>	
------------------	---

<p><b>50</b></p>	
------------------	---

<p><b>51</b></p>	
------------------	---

<p><b>52</b></p> </
---------------------