

September 2015

cattletype[®] BHV1 gB Ab Gebrauchsinformation



5 (Katalog-Nr. 270043)



20 (Katalog-Nr. 270045)

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das
Glykoprotein B des Bovinen Herpesvirus 1

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 17c TierSG
zugelassen.

Zulassungs-Nr.: FLI-B 491

REF

270043, 270045



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Deutschland

Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck	4
Symbole	5
Lagerung.....	6
Sicherheitshinweise	6
Qualitätskontrolle	7
Einleitung	8
Testprinzip	8
Zusätzlich benötigte Materialien.....	10
Wichtige Hinweise.....	11
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	11
Protokoll: Durchführung des ELISA.....	12
Durchführung für Serum- und Plasmaproben	14
Durchführung für Milchproben	16
Auswertung.....	18
Hilfe zur Fehlersuche.....	20
Appendix: Kurzanleitung	21
Bestellinformation	22

Kit-Inhalt

<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab	(5)	(20)
Katalog-Nr.	270043	270045
Anzahl der Platten	5	20
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem BHV1- Antigen	5	20
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 30 ml	1 x 125 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Wash Buffer (10x) (Waschpuffer, 10x)	3 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugate (Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB Substrate (TMB- [Tetramethylbenzidin]- Substratlösung, gebrauchsfertig	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Gebrauchsinformation	1	1

Verwendungszweck

cattletype BHV1 gB Ab ist ein kompetitiver Enzym-Immunoassay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen das Glykoprotein B des Bovinen Herpesvirus 1 (BHV1) in Serum-, Plasma- und Milchproben vom Rind. Nach Probenaufbereitung mit einem geeigneten Konzentrierungsverfahren (z. B. *cattletype* Milk Prep Kit) ist der *cattletype* BHV1 gB Ab auch zur Untersuchung von Milchpoolproben geeignet. Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 17c TierSG mit der Zulassungsnummer FLI-B 491.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



<N>

Kit enthält Reagenzien für <N> Platten



Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Vor Licht schützen



Für Proben vom Rind

Lagerung

Die Komponenten des *cattletype* BHV1 gB Ab ELISA sind bei 2-8 °C zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Waschpuffer (10x) und Stopplösung können bei Raumtemperatur (18-25°C) gelagert werden, um die Bildung von Salzkristallen zu vermeiden. Falls der Kit Teststreifen enthält, sind nicht benutzte Teststreifen bis zur Verwendung im wieder verschlossenen Folienbeutel mit Trockenmittel bei 2-8 °C zu lagern. Nach erstmaliger Öffnung des Plattenbeutels sind die Teststreifen mindestens 6 Wochen haltbar.

Sicherheitshinweise

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern entnehmen (safety data sheets, SDS). In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN-Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.



Vorsicht: Die Stopplösung enthält 0.5 mol/l Schwefelsäure.

Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu entsorgen bzw. zu dekontaminieren.

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des Tests *cattletype* BHV1 gB Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Einleitung

cattletype BHV1 gB Ab ist ein hocho sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das Glykoprotein B des Bovinen Herpesvirus 1 (BHV1). BHV1 ist der Erreger der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR), einer Atemwegserkrankung, die mit Tracheitis, Rhinitis und Fieber einhergeht. Weiterhin können BHV1-Infektionen Infektiöse Pustuläre Vulvovaginitis (IPV), Balanoposthitis und Spontanaborte verursachen.

Nach klinisch manifester BHV1-Infektion folgt häufig ein Stadium der Latenz. Durch Reaktivierung des Virus kann es zur Weiterverbreitung der Infektion im Tierbestand kommen. *cattletype* BHV1 gB Ab ermöglicht den Nachweis von Antikörpern gegen BHV1 in Serum-, Plasma- und Milchproben von Rindern, die mit BHV1 infiziert sind oder mit einem Impfstoff vakziniert wurden, der das Glykoprotein B (gB) von BHV1 enthält.

Testprinzip

cattletype BHV1 gB Ab funktioniert nach dem Prinzip eines blocking ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit inaktiviertem BHV1-Antigen beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden BHV1-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Anschließend wird ein Meerrettichperoxidase (HRP)-markierter, gB-spezifischer monoklonaler Antikörper zugegeben, der nicht binden kann, wenn bereits BHV1-spezifische Antikörper aus der Probe gebunden sind. Ungebundenes HRP-Konjugat wird herausgewaschen und durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt

wird. Bei Abwesenheit BHV1-spezifischer Antikörper in der Probe, katalysiert die Meerrettichperoxidase die Entwicklung eines blauen Farbstoffs, der nach Zugabe der Stopplösung nach gelb umschlägt. Die optische Dichte wird im Photometer bei 450 nm gemessen. Der Hemmwert (prozentuale Blockierung) der Probe wird aus den OD-Werten der Probe und der Negativkontrolle, die keine BHV1-spezifischen Antikörper enthält, berechnet.

Zusätzlich benötigte Materialien

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien immer einen Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen können Sie den entsprechenden Sicherheitsdatenblättern (safety data sheets, SDS) entnehmen, die Sie vom jeweiligen Hersteller beziehen können.

Für alle Probenarten:

- Bechergläser
- Messzylinder
- Pipetten (verstellbar)
- Mehrkanalpipetten (verstellbar)
- Alufolie oder Abklebefolie zum Abdecken der Testplatte
- Optional: Gerät zum Einfüllen und Absaugen von Waschpuffer
- Mikrotiterplatten-Photometer
- Reaktionsgefäße oder Vorverdünnungsplatten für die Verdünnung der Proben
- Destilliertes Wasser

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Setzen Sie die TMB-Substratlösung während der Testdurchführung nicht starkem Lichteinfluss oder direktem Sonnenlicht aus.
- Die Komponenten des Testkits dürfen nicht verunreinigt und nicht mit Komponenten aus anderen Chargen vermischt werden.
- Benutzen Sie die Komponenten des Testkits nicht nach Ablauf des Verfallsdatums.
- Das für die Verdünnung des Waschpufferkonzentrates (10x) verwendete Wasser, insbesondere Wasser aus Ionenaustauscheranlagen, kann bei ungenügender Reinheit die Reaktion beeinträchtigen. Wasser mit der Qualität von bidestilliertem Wasser oder Reinstwasser (z. B. Milli-Q®) ist geeignet.
- Die Verwendung sorgfältig gereinigter Glasmaterialien, sorgfältiges Pipettieren und Waschen während der Testdurchführung und die genaue Einhaltung der angegebenen Inkubationszeiten sind unabdingbare Voraussetzungen, um die Genauigkeit der Messergebnisse zu gewährleisten.

Protokoll: Durchführung des ELISA

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 11, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.

Vorbereitungen

- Reagenzien unmittelbar vor der Benutzung auf Raumtemperatur (18-25°C) bringen und durch Schwenken mischen. Eventuell gebildete Salzkristalle im Waschpuffer (10x) müssen durch Schwenken und leichtes Erwärmen wieder aufgelöst werden.
- Waschpuffer (10x) 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen, z.B. für eine Testplatte 50 ml Waschpuffer (10x) in 450 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.
- Es kann frisches, kühl gelagertes oder aufgetautes Serum oder Plasma verwendet werden.

Vorbereitungen von Milchproben

Milchproben müssen vor der Untersuchung entrahmt werden. Hierzu werden die Proben für 10 min bei 10°C mit 3000 x g zentrifugiert oder über Nacht bei 2-8°C gelagert. Anschließend wird der Rahm entfernt.

Hinweis: Nach Probenaufbereitung mit einem geeigneten Konzentrierungsverfahren ist *cattletype* BHV1 gB Ab auch zur Untersuchung von Sammelmilchproben anwendbar. Der Test

wurde für Poolproben aus bis zu 50 Einzelmilchproben nach
Aufbereitung mit dem *cattletype* Milk Prep Kit validiert.

Durchführung für Serum- und Plasmaproben

Bitte lesen Sie den Abschnitt „Vorbereitungen“ auf Seite 12

Durchführung

1. Je 50 μl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
2. Jeweils 50 μl der Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren und mischen.
3. Je 50 μl der Proben in die weiteren Kavitäten pipettieren und mischen.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

4. Für 2 Stunden bei 37°C oder über Nacht (12-18h) bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
5. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
6. Jede Kavität 5x mit je 300 μl angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
7. In jede Kavität 100 μl gebrauchsfertiges Konjugat geben und 60 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
8. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.

-
9. Jede Kavität 5x mit je 300 μ l angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
 10. In jede Kavität 100 μ l TMB-Substratlösung pipettieren.
 11. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Kavität.
 12. Reaktion durch Zugabe von 100 μ l Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
 13. Messung der OD im Plattenphotometer bei 450 nm innerhalb von 20 min nach Abstoppen der Reaktion. Optional kann zusätzlich bei 620-650 nm als Referenzwellenlänge gemessen werden.

Durchführung für Milchproben

Bitte lesen Sie den Abschnitt „Vorbereitungen“ auf Seite 12.

Durchführung

1. Jeweils 100 μ l der Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren.

2. Je 100 μ l der entrahmten Proben in die weiteren Kavitäten pipettieren.

Hinweis: Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Die Testplatte abdecken.

3. Über Nacht (12-18h) bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

4. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.

5. Jede Kavität 5x mit je 300 μ l angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

6. In jede Kavität 100 μ l gebrauchsfertiges Konjugat geben und 60 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

7. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.

8. Jede Kavität 5x mit je 300 μ l angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

9. In jede Kavität 100 μ l TMB-Substratlösung pipettieren.

10. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Kavität.

-
11. Reaktion durch Zugabe von 100 μ l Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
 12. Messung der OD im Plattenphotometer bei 450 nm innerhalb von 20 min nach Abstoppen der Reaktion.
Optional kann zusätzlich bei 620-650 nm als Referenzwellenlänge gemessen werden.

Auswertung

Validitätskriterien

Die Ergebnisse sind gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt werden:

- Der Mittelwert (MW) der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss $\geq 0,60$ sein.
- Der aus dem MW der gemessenen OD-Werte der Positivkontrolle (PK) errechnete Hemmwert muss $\geq 75 \%$ sein.

Bei ungültigen Testungen sollte der Test nach gründlichem Lesen der Gebrauchsinformation wiederholt werden.

Berechnung

Berechnen Sie aus den OD-Werten der Negativkontrolle (NK) und der Positivkontrolle (PK) jeweils die Mittelwerte (MW).

Der Hemmwert wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Hemmwert} = \frac{\text{MW OD}_{\text{NK}} - \text{OD}_{\text{Probe}}}{\text{MW OD}_{\text{NK}}} \times 100$$

Interpretation der Ergebnisse

- Proben mit einem Hemmwert $< 45\%$ werden als negativ befundet.
Spezifische Antikörper gegen BHV1 wurden nicht nachgewiesen.
- Proben mit einem Hemmwert $\geq 45\%$ und $< 55\%$ werden als fraglich befundet.
Zur Abklärung fraglicher Ergebnisse wird eine Wiederholungsuntersuchung empfohlen.
- Proben mit einem Hemmwert $\geq 55\%$ werden als positiv befundet.
Es wurden spezifische Antikörper gegen BHV1 nachgewiesen.

Hilfe zur Fehlersuche

Die Wissenschaftler des Technischen Service bei QIAGEN beantworten gerne Ihre Fragen zu den Angaben und Protokollen in dieser Gebrauchsinformation sowie zu Probenvorbereitungs- und Testtechnologien allgemein (Möglichkeiten der Kontaktaufnahme finden Sie auf der hinteren Umschlagseite und im Internet unter **www.qiagen.com**).

Appendix: Kurzanleitung

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:2, gut durchmischen

Milch unverdünnt

Schritt	Kurzprotokoll	Übernachtprotokoll*
1. Probe		100 μ l/ Kavität
2. Inkubation	Serum: 2 h 37°C	über Nacht bei RT
3. Waschen		5 x 300 μ l
4. Konjugat		100 μ l/ Kavität
5. Inkubation		60 min bei Raumtemperatur
6. Waschen		5 x 300 μ l
7. TMB		100 μ l/ Kavität
8. Inkubation		10 min bei Raumtemperatur
9. Stopp		100 μ l/ Kavität
10. Messung		450 nm

* Milchproben **müssen** mit dem Übernachtprotokoll getestet werden.

Auswertung

Negativ	Fraglich	Positiv
<45%	\geq 45% und <55%	\geq 55%

Bestellinformation

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab (5)	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270043
<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab (20)	Für 1920 Reaktionen: 20 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270045
Verwandte Produkte		
<i>cattletype</i> BHV1 gE Ab (5)	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270203
<i>cattletype</i> BHV1 gE Ab (20)	Für 1920 Reaktionen: 20 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270205

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>cattle</i> type MAP Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270803
<i>cattle</i> type MAP Ab (20)*	Für 1920 Reaktionen: 20 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	270805
<i>cattle</i> type Milk Prep Kit (50)*	Fällungsreagenz, Neutralisierungspuffer, Matrix, Elutionspuffer, Spin-Filter, Collection Tubes	271906

* Nur auf Anfrage erhältlich

QIAGEN bietet zum Nachweis von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen eine Auswahl verschiedener ELISA-Kits sowie real-time PCR und real-time RT-PCR Kits an. Weitere Informationen zu den Produktgruppen *bactotype*[®], *cador*[®], *cattletype*, *flocktype*[®], *pigtype*[®] und *virotype*[®] finden Sie im Internet unter **www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing**.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie in der jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Gebrauchsinformation. QIAGEN Kit- und Geräte-Gebrauchsinformationen stehen im Internet unter **www.qiagen.com** zur Verfügung oder können vom Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem Händler vor Ort angefordert werden.

Notizen

Notizen

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den *cattletype* BHV1 gB Ab

Mit der Nutzung dieses Produkts erkennen Käufer und Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen seiner Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Kit gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in mit dem Produkt zur Verfügung gestellten Protokollen, dieser Gebrauchsinformation sowie in zusätzlichen, unter www.qiagen.com verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von QIAGEN nicht vollständig getestet und optimiert. QIAGEN gewährt auf diese Protokolle keine Garantie und übernimmt auch keine Garantie dafür, dass sie die Rechte Dritter nicht verletzen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieser Kit und/oder die mit ihm durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieser Kit und seine Komponenten sind für die einmalige Verwendung lizenziert und dürfen nicht wiederverwendet, wiederaufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Anwender des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen könnten oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihm bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines seiner geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder dessen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen können im Internet unter **www.qiagen.com** nachgelesen werden.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, *Sample to Insight*®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, *virotypes*® (QIAGEN-Gruppe); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1588-DE 004 © 2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

Austria • techservice-at@qiagen.com
Germany • techservice-de@qiagen.com
Switzerland • techservice-ch@qiagen.com

www.qiagen.com