

flocktype® IBV Ab

Gebrauchsinformation



2 (Katalog-Nr. 274302)



5 (Katalog-Nr. 274303)*

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das
Virus der Infektiösen Bronchitis (IBV)



274302, 274303*



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



* Nur auf Anfrage erhältlich.

QIAGEN Sample and Assay Technologies

QIAGEN ist der führende Anbieter von innovativen Probenvorbereitungs- und Testtechnologien zur Isolierung und Analyse von Nukleinsäuren und Proteinen in biologischen Proben. Unsere technologisch und qualitativ hochwertigen Produkte und Dienstleistungen sind ein Garant für Erfolg – von der Probenvorbereitung bis zum Ergebnis.

QIAGEN setzt Standards in den Bereichen:

- Reinigung von DNA, RNA und Proteinen
- Nukleinsäure- und Protein-Assays
- microRNA-Forschung und RNAi
- Automatisierung von Probenvorbereitungs- und Testtechnologien

Unsere Mission ist es, Ihnen herausragende Erfolge und bahnbrechend neue Erkenntnisse bei Ihrer Arbeit zu ermöglichen. Weitere Informationen finden Sie im Internet unter www.qiagen.com.

Zusätzlich bietet QIAGEN jetzt qualitativ hochwertige, einfach anzuwendende, sensitive molekulare Lösungen zum Nachweis von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen und zur veterinärinfektiologischen Forschung an. Das veterinärmedizinische Produktangebot von QIAGEN umfasst eine breite Auswahl verschiedener pathogenspezifischer PCR-Assays und eine wachsende Auswahl an ELISA-Tests. Weitere



Informationen finden Sie im Internet unter
www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing.

Inhalt

Kit-Inhalt	6
Verwendungszweck	7
Symbole	7
Lagerung	8
Sicherheitshinweise	8
Qualitätskontrolle	9
Einleitung	10
Testprinzip	10
Zusätzlich benötigte Materialien	12
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	12
Vorbereitungen	13
Protokoll: ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBV	15
Auswertung	17
Validitätskriterien	17
Interpretation der Ergebnisse	18
Hilfe zur Fehlersuche	19
Bestellinformationen	20
Kurzanleitung	23
Auswertung	23

Kit-Inhalt

flocktype IBV Ab		
Katalog-Nr.	274302	274303*
Anzahl der Platten	2	5
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem IBV-Antigen	2	5
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml	1 x 3,5 ml
Wash Buffer (10x) (Waschpuffer, 10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml
Conjugate (Anti-IgY-HRP-Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 24 ml	1 x 60 ml
TMB Substrate (TMB- [Tetramethylbenzidin]- Substratlösung), gebrauchsfertig	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 24 ml	1 x 60 ml
Gebrauchsinformation	1	1

* Nur auf Anfrage erhältlich.

Verwendungszweck

flocktype IBV Ab ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bronchitis (IBV) in Serum- und Plasmaproben vom Huhn.

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 Huhn

Lagerung

Die Komponenten des *flocktype* IBV 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 *flocktype* IBV Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Einleitung

flocktype IBV Ab ist ein hochsensitives Produkt zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bronchitis in Serum- und Plasmaproben vom Huhn.

IBV-Infektionen zeigen sich anhand von Atembeschwerden und können in Geflügelbetrieben große wirtschaftliche Verluste als Folge haben. Der Nachweis IBV-spezifischer Antikörper mittels *flocktype* IBV Ab stellt eine zuverlässige Methode zur Überwachung humoraler Impfreaktionen oder natürlicher Infektionen dar.

Das im *flocktype* IBV Ab verwendete Antigen ist ein rekombinant hergestelltes Strukturprotein des IBV. Dieses Protein ist unter den IBV-Stämmen hochkonserviert und es wird als das wichtigste immunogene Peptid angesehen.

Der *flocktype* IBV Ab ist in Kombination mit der FlockSoft™-Auswertungssoftware in der Lage, die durch Impfung oder natürliche Infektion induzierten Antikörpertiter im Huhn zu erkennen und quantitativ darzustellen.

Testprinzip

flocktype IBV Ab funktioniert nach dem Prinzip eines indirekten ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit einem rekombinanten Strukturprotein des Virus beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden IBV-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Serumantikörper werden durch das Anti-IgY-HRP-Konjugat detektiert, nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Durch Zugabe der Substratlösung wird eine

Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt wird. Sind IBV-Antikörper in der Probe vorhanden, bewirkt die Peroxidase eine blaue Farbentwicklung, die nach Abstoppen der Reaktion durch Zugabe der Stopplösung nach gelb umschlägt. Die optische Dichte (OD) wird im Photometer gemessen; sie ist proportional zur Konzentration der IBV-Antikörper in der Probe.

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.

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

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 (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.

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: Waschpuffer (10x) 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen, z. B. für eine Testplatte 25 ml Waschpuffer (10x) in 225 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.

Serum, Plasma: Serum- und Plasmaproben vor der Analyse **1:500** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z. B. 1 µl Probe in 499 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete

Vorverdünnungslplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.

Alternativ können die Proben ausgehend von einer Vorverdünnung (1:50 in Verdünnungspuffer) direkt in der Testplatte verdünnt werden (siehe Durchführung, Schritt 1a).

- Die **Kontrollen** sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

Protokoll: ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen IBV

Bitte lesen Sie den Abschnitt „Vorbereitungen“ ab Seite 11.

Durchführung

1. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der 1:500 verdünnten Proben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
- 1a. Alternativ 90 µl Verdünnungspuffer in jede Kavität pipettieren und je 10 µl der 1:50 vorverdünnten Proben hinzufügen. Gut mischen.

Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Für den Probentransfer wird die Verwendung einer Mehrkanalpipette empfohlen. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

2. 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
4. Jede Kavität 3x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-IgY-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Die Testplatte abdecken.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 3x mit je 300 µl angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
8. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.
9. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Füllen der ersten Kavität.
10. Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
11. 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 Positivkontrolle (PK) muss $\geq 0,7$ sein.
- Der MW der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss $\leq 0,2$ sein.

Bei ungültigen Testergebnissen 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).

Berechnen Sie das Verhältnis der OD der Proben zum OD-Mittelwert der Positivkontrolle („S/P-Quotient“) nach der folgenden Formel:

$$S/P = \frac{OD_{\text{Probe}} - MW_{OD_{NK}}}{MW_{OD_{PK}} - MW_{OD_{NK}}}$$

Aus dem S/P-Quotienten kann der Endpunkttiter bei einer Verdünnung von 1:500 nach folgender Formel berechnet werden:

$$\log_{10} \text{Titer} = 1,22 (\log_{10} S/P) + 3,55$$

Interpretation der Ergebnisse

Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,2$ werden als negativ befundet.

Spezifische Antikörper gegen IBV wurden nicht nachgewiesen.

Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,2$ und $< 0,3$ werden als fraglich befundet.

Fragliche Ergebnisse werden der Mehrheit der positiven oder negativen Testergebnisse zugeordnet. Zur Abklärung fraglicher Ergebnisse werden Wiederholungsuntersuchungen im Abstand von einigen Wochen empfohlen. Bei erstmalig bzw. frisch geimpften Tieren können fragliche Testergebnisse ein Hinweis auf eine beginnende Zunahme der Bildung spezifischer Antikörper sein. Bei mehrfach geimpften Tieren können fragliche Testergebnisse ein Hinweis auf eine unzureichende Bildung oder die Abnahme spezifischer Antikörper sein.

Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,3$ werden als positiv befundet.

Es wurden spezifische Antikörper gegen IBV nachgewiesen.

Hilfe zur Fehlersuche

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

Bestellinformationen

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>flocktype</i> IBV Ab (2)	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	274302
<i>flocktype</i> IBV Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	274303
Verwandte Produkte		
<i>flocktype</i> IBDV Ab (2) [†]	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	274202
<i>flocktype</i> NDV Ab (2) [†]	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	275002

*Nur auf Anfrage erhältlich.

[†] Kit ist auch in anderen Größen erhältlich; siehe www.qiagen.com

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg Ab (2)*	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB- Substratlösung, Stopplösung	274502
<i>flocktype</i> Mycoplasma Ms Ab (2)*	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB- Substratlösung, Stopplösung	274602
<i>flocktype</i> Mycoplasma Mg/Ms Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB- Substratlösung, Stopplösung	274803
<i>flocktype</i> AIV Ab (2)*	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB- Substratlösung, Stopplösung	274012

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>flocktype</i> Salmonella Ab (2)*	Für 192 Reaktionen: 2 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgY-HRP-Konjugat, TMB- Substratlösung, Stopplösung	275702

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 im jeweiligen QIAGEN Kit- oder Geräte-Handbuch. QIAGEN Kit- und Geräte-Handbücher stehen im Internet unter www.qiagen.com zur Verfügung oder können vom Technischen Service von QIAGEN oder Ihrem Händler vor Ort angefordert werden.

* Kit ist auch in anderen Größen erhältlich; siehe www.qiagen.com

Kurzanleitung

Probenverdünnung:

Serum/Plasma 1:500

Schritt	
1. Probe	100 µl/Kavität
2. Inkubation	30 min RT
3. Waschen	3 x 300 µl
4. Konjugat	100 µl/Kavität
5. Inkubation	30 min RT
6. Waschen	3 x 300 µl
7. TMB	100 µl/Kavität
8. Inkubation	10 min RT
9. Stopp	100 µl/Kavität
10. Messung	450 nm

Auswertung

Negativ	Fraglich	Positiv
$S/P \leq 0,2$	$S/P \geq 0,2$ und $< 0,3$	$S/P \geq 0,3$

Notizen

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, FlockSoft™, *pigtype*®, *virotype*® (QIAGEN-Gruppe). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in diesem Handbuch verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den *flocktype* IBV 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 und diesem Handbuch 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, diesem Handbuch 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.

© 2015 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

