

pigtype[®] Yersinia Ab Gebrauchsinformation



1 (Katalog-Nr. 273801)



5 (Katalog-Nr. 273803)*



20 (Katalog-Nr. 273805)*

Zum Nachweis von Antikörpern gegen
pathogene Yersinien

REF

273801, 273803*, 273805*



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	7
Verwendungszweck	8
Symbole	8
Lagerung	9
Sicherheitshinweise	9
Qualitätskontrolle	10
Einleitung	11
Testprinzip	11
Zusätzlich benötigte Materialien	13
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	13
Vorbereitungen	14
Protokoll: ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen pathogene Yersinien	16
Durchführung	16
Auswertung	18
Validitätskriterien	18
Interpretation der Ergebnisse	19
Hilfe zur Fehlersuche	20
Bestellinformationen	21
Kurzanleitung	24
Auswertung	24

Kit-Inhalt

<i>pig</i>type Yersinia Ab			
Katalog-Nr.	273801	273803*	273805*
Anzahl der Platten	1	5	20
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem <i>Yersinia</i> - Antigen	1	5	20
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 60 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Wash Buffer (10x) (Waschpuffer, 10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugate (Anti-IgG-HRP- Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB Substrate (TMB- [Tetramethylbenzidin]- Substratlösung), gebrauchsfertig	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Gebrauchsinformation	1	1	1

* Nur auf Anfrage erhältlich.

Verwendungszweck

pigtype Yersinia Ab ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen pathogene Yersinien in Serum-, Plasma- und Fleischsaftproben vom Schwein.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

Symbole



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 Schwein

Lagerung

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

Einleitung

pigtype Yersinia Ab ist ein hochsensitives und spezifisches Produkt zum Nachweis von Antikörpern gegen pathogene *Yersinia*-Stämme. Da die im Test verwendeten Antigene (*Yersinia* Outer Proteins) serovarübergreifend nur von pathogenen Stämmen produziert werden, können Kreuzreaktionen mit apathogenen Spezies oder anderen Enterobakterien ausgeschlossen werden.

Der Gattung *Yersinia* gehören 15 Spezies an, von denen drei (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica* und *Y. pseudotuberculosis*) humanpathogen sind. Nach der EU-Richtlinie 2003/99/EG sind Yersiniosen und ihre Erreger zu überwachen.

pigtype Yersinia Ab stellt ein effektives Mittel zur Überwachung des Infektionsstatus von Tierbeständen über längere Zeiträume sowie zur Kontrolle des serologischen Status gekaufter Tiere dar.

Testprinzip

pigtype Yersinia Ab funktioniert nach dem Prinzip eines indirekten ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit nicht-infektiösem, rekombinantem *Yersinia*-Antigen beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden *Yersinia*-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Serumantikörper werden durch das Anti-IgG-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 *Yersinia*-spezifische 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 *Yersinia*-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 **1:100** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z. B. 5 µl Probe in 495 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete Vorverdünnungsplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.

Fleischsaft: Fleischsaftproben vor der Analyse **1:10** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z. B. 25 µl Probe in 225 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen.

Alternativ können die Fleischsaftproben direkt in der Testplatte verdünnt werden. Hierzu 90 µl Verdünnungspuffer in jede Kavität vorlegen, jeweils 10 µl unverdünnte Fleischsaftprobe hinzupipettieren und anschließend gut mischen (siehe Durchführung, Schritt 1a).

Die Fleischsaftproben aus etwa 10g fettfreiem und von Blutverunreinigungen freiem Muskelfleisch (z. B. Zwerchfellpfeiler) extrahieren.

Die Fleischsaftproben in einem Fleischsaftbehälter einfrieren und wieder auftauen. Bei 2-8°C gelagerte Proben sollten innerhalb von 24 Stunden analysiert werden. Alternativ können die Proben bis zur Analyse bei -20°C über mehrere Monate gelagert werden.

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

Protokoll: ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen pathogene Yersinien

Bitte lesen Sie den Abschnitt „Vorbereitungen“ ab Seite 14.

Durchführung

1. Jeweils 100 μ l der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der 1:10 verdünnten Fleischsaftproben und/oder der 1:100 verdünnten Serum- oder Plasmaproben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
 - 1a. Alternativ 90 μ l Verdünnungspuffer in jede Kavität pipettieren und je 10 μ l der unverdünnten Fleischsaftproben hinzufügen. Gut mischen.
Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Sie können zum Mischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.
2. 60 min bei Raumtemperatur (18-25°C) oder über Nacht (12-18h) bei 2-8°C inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
4. Jede Kavität 3x mit je 300 μ l angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-IgG-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur inkubieren.
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 $\leq 0,3$ 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:

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

Interpretation der Ergebnisse

Auswertung Kurzprotokoll (60 min Inkubationszeit)

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

Es wurden spezifische Antikörper gegen *Yersinia* spp. nachgewiesen.

Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,3$ werden als negativ befundet.

Spezifische Antikörper gegen *Yersinia* spp. wurden nicht nachgewiesen.

Auswertung Übernachtprotokoll (Inkubation über Nacht)

Proben mit einem S/P-Quotienten $\geq 0,4$ werden als positiv befundet.

Es wurden spezifische Antikörper gegen *Yersinia* spp. nachgewiesen.

Proben mit einem S/P-Quotienten $< 0,4$ werden als negativ befundet.

Spezifische Antikörper gegen *Yersinia* spp. wurden nicht 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>pigtype</i> Yersinia Ab (1)	Für 96 Reaktionen: 1 Testplatte (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273801
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273803
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (20)*	Für 1920 Reaktionen: 20 Testplatten, Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273805
Verwandte Produkte		
<i>pigtype</i> Salmonella Ab (5) [†]	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273003

*Nur auf Anfrage erhältlich.

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

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>pigtype</i> Toxoplasma Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273403
<i>pigtype</i> Trichinella Ab (5)*	Für 480 Reaktionen: 5 Testplatten (Streifen), Waschpuffer, Verdünnungspuffer, Positivkontrolle, Negativkontrolle, Anti-IgG-HRP-Konjugat, TMB-Substratlösung, Stopplösung	273503

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

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.

Kurzanleitung

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:100

Fleischsaft 1:10

Schritt	Kurzprotokoll	Übernachtprotokoll
1. Probe	100 µl/Kavität	
2. Inkubation	60 min RT	über Nacht 2-8°C
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	Positiv
Kurzprotokoll	S/P < 0,3	S/P ≥ 0,3
Übernachtprotokoll	S/P < 0,4	S/P ≥ 0,4

Notizen

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *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 *pigtype* Yersinia 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**

