

2017. július

# *cattletype*<sup>®</sup> BHV1 gE Ab kézikönyv



5 (katalógusszám: 270203)



20 (katalógusszám: 270205)

Az 1-es típusú szarvasmarha-herpeszvírus E-glikoproteinje elleni antitestek kimutatására

A német állatgyógyászati megbetegedésekről szóló törvény (FLI-B 664) 17c §-ának megfelelően bejegyezve

REF

270203, 270205



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b,  
04103 Lipcse, Németország

---

# Tartalom

A kit tartalma .....	3
Alkalmazási terület .....	3
Szimbólumok.....	4
Tárolás .....	5
Biztonsági információk .....	5
Minőség-ellenőrzés .....	6
Bevezetés .....	7
<b>A vizsgálat elve</b> .....	7
A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensek .....	9
Fontos megjegyzések .....	10
<b>Általános óvintézkedések</b> .....	10
Protokoll: ELISA teszteljárás.....	11
<b>Teszteljárás szérum- és plazmaminták esetében</b> .....	12
<b>Teszteljárás tejminták esetében</b> .....	14
Az adatok értelmezése.....	15
Hibaelhárítási útmutató .....	18
Függelék: Rövid útmutató .....	19
Rendelési információk.....	20

## A kit tartalma

<b><i>cattletype</i> BHV1 gE Ab</b>	<b>(5)</b>	<b>(20)</b>
<b>Katalógusszám</b>	<b>270203</b>	<b>270205</b>
<b>A lemezek száma</b>	<b>5</b>	<b>20</b>
Vizsgálólemez: inaktivált BHV1 antigénnel bevont 96 cellás mikrotiter lemez	5	20
Mintahígító, használatra kész	1 x 30 ml	1 x 125 ml
Negatív kontroll, használatra kész	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Pozitív kontroll, használatra kész	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Mosópuffer (10x)	3 x 125 ml	2 x 500 ml
Konjugátum, használatra kész	1 x 60 ml	1 x 240 ml
TMB szubsztrát, használatra kész	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Stop oldat, használatra kész	1 x 60 ml	1 x 240 ml
kézikönyv	1	1

## Alkalmazási terület

A *cattletype* BHV1 gE Ab enzimjelölt immunkémiai teszt (ELISA). Az 1-es típusú szarvasmarha-herpeszvírus (BHV1) E-glikoproteinje elleni antitestek kimutatására szolgál BHV1-fertőzött szarvasmarhából származó szérum-, plazma-, illetve tejmintákból. A kitet a Friedrich-Loeffler-Institut engedélyezte, és a német állatgyógyászati megbetegedésekről szóló törvény (FLI-B

664) 17c §-ának megfelelően került bejegyzésre Németországban állatgyógyászati diagnosztikai eljárások céljára.

**Kizárólag állatgyógyászati felhasználásra.**

## Szimbólumok



<N>

<N> lemezhez elegendő reagenst tartalmaz



Hivatalos gyártó



Sarzsorszám



Lejáratidátum



Tárolásra vonatkozó hőmérsékleti korlátozások



kézikönyv



Katalógusszám



Anyagszám



Szarvasmarhából származó mintákhoz

## Tárolás

A *cattletype* BHV1 gE Ab ELISA összetevőit 2–8 °C közötti hőmérsékleten kell tárolni, így a címkén található lejáratási időig stabilak maradnak. A mosópuffer (10x), a mintahígító és a stop oldat szobahőmérsékleten (18–25 °C) tárolandó a só kristályosodásának elkerülése érdekében. Amennyiben a kithez tesztcsíkok tartoznak, a megmaradó tesztcsíkokat visszazárt fóliatasakban tárolja szárítótasak alkalmazásával, 2–8 °C közötti hőmérsékleten a következő felhasználásig. A tesztcsíkok a lemez tasakjának felnyitását követően legalább 6 hétig tárolhatók.

## Biztonsági információk

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. A további tudnivalókat a megfelelő biztonsági adatlapok (safety data sheets, SDS-ek) tartalmazzák. Ezek elérhetők online, a [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) weboldalon, jól kezelhető, kompakt PDF formátumban; a weboldalon megtalálható, megtekinthető és kinyomtatható az egyes QIAGEN kitek és kitben található komponensek biztonsági adatlapja.



**FIGYELEM: A stop oldat 0,5 M kénsavat tartalmaz.**

---

Minden megmaradó mintát, valamint a mintákkal kapcsolatba kerülő tárgyat potenciálisan fertőző anyagként kell fertőtleníteni, illetve kidobni.

## Minőség-ellenőrzés

A QIAGEN ISO-minősített minőségirányítási rendszerének megfelelően a *cattletype* BHV1 gE Ab minden sarzsát leellenőrzik, hogy az megfelel-e az előírt paramétereknek, ezzel biztosítva az egyenletes és kifogástalan minőséget.

## Bevezetés

A *cattletype* BHV1 gE Ab nagy szenzitivitású teszt az 1-es típusú szarvasmarha-herpeszvírus (BHV1) E-glikoproteinje (gE) elleni antitestek kimutatására szérumban, plazmában és tejben. A BHV1 a szarvasmarhánál fellépő fertőző rhinotracheitis (IBR) nevű, tracheitisszel, rhinitisszel és lázzal járó légzőszervi betegség kórokozója. A BHV1-fertőzés továbbá fertőző pustulás vulvovaginitist (IPV), balanoposthitist és vetélést idézhet elő.

A klinikai megbetegedést gyakran lappangó BHV1-fertőzés követi. A vírus ismételt aktiválódása nyomán a fertőzés az egész csordában elterjedhet.

A standard szerológiai módszerekkel nem lehet elkülöníteni a természetes úton fertőződött és vakcinált állatokat; ez alól az IBR vakcinák jelentenek kivételt, amelyek nem tartalmaznak gE vírusfehérjét, és ezért lehetővé teszik a szerológiai elkülönítést. A *cattletype* BHV1 gE Ab specifikusan kimutatja a gE elleni antitesteket, és nem lép reakcióba a gE-mentesített vakcinákból származó antitestekkel. Ez a módszer tehát azokat az állatokat azonosítja, amelyek a terepen lévő BHV1 törzsekkel fertőződtek, illetve nem gE-mentesített IBR vakcinációban részesültek.

### A vizsgálat elve

A *cattletype* BHV1 gE Ab blokkoló ELISA teszt. A vizsgálólemez inaktivált BHV1 antigénnel van bevonva. A minta inkubálása során a BHV1-specifikus antitestek az immobilizált antigénhez kötődnek. A nem kötött anyagot öblítéssel eltávolítjuk.

---

A HRP-vel jelölt, gE-specifikus monoklonális antitest-konjugátum hozzáadásakor az nem képes a BHV1 antigénhez kötődni, ha antigén-determinánsát a tesztmintában lévő antitestek blokkolják. A nem kötött anti-gE-HRP konjugátumot kiöblítjük. A szubsztrátoldat hozzáadásával színreakciót indítunk, majd 10 perc után leállítjuk. Spektrofotométerrel megmérjük az optikai denzitást (optical density, OD). A blokkolási értéket (a gátlás százalékos arányát) a tesztminta és a BHV1 gE-specifikus antitesteket nem tartalmazó negatív kontroll vizsgálatából származó OD-értékekből számítjuk ki.



---

# A felhasználó által biztosítandó eszközök és reagensek

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (SDS-ek) tartalmazznak, amelyek az adott termék gyártójától szerezhetők be.

- Főzőpoharak
- Mérőhengerek
- Pipetták (állítható)
- Többcsatornás pipetták (állítható)
- Alumínium- vagy öntapadó fólia a vizsgálólemez lefedéséhez
- Opcionális: A mosópuffer bemérésére és felszívására szolgáló eszköz
- Abszorbanciaolvasó a mikrotiter lemezekhez
- A minták hígításához szükséges mintacsövek vagy lemezek
- Desztillált víz

---

# Fontos megjegyzések

## Általános óvintézkedések

Mindig tartsa szem előtt az alábbiakat:

- Ne tegye ki a TMB szubsztrátoldatot erős fénynek vagy napsugárzásnak a vizsgálat elvégzése során.
- A tesztkit összetevői ne szennyeződjenek, illetve ne keveredjenek össze más sarzsokból származó összetevőkkel.
- A tesztkit összetevőit nem szabad felhasználni a lejáratí időn túl.
- Ha nem elég tiszta az ioncserélő rendszerekből származó víz, amelyet a mosópuffer (10x) hígításához használnak, az megzavarhatja a mérést. Használjon kétszer desztillált vizet vagy nagymértékben tisztított vizet (Milli-Q®).
- A pontos teszteredményekhez elengedhetetlen, hogy a vizsgálat elvégzése során tiszta üvegedényeket alkalmazzon, a pipettázást és öblítést kellő gondossággal végezze, és szigorúan tartsa be az inkubációs időket.

---

## Protokoll: ELISA teszteljárás

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

- Az eljárás megkezdése előtt olvassa el a „Fontos megjegyzések” című részt a 10. oldalon.

Kezdés előtti teendők

- A felhasználás előtt közvetlenül hagyja a reagenseket szobahőmérsékletűre (18–25 °C) melegedni. Amennyiben a mosópufferben (10x) kicsapódott sókristályokat lát, finom körkörös mozdulatokkal és melegítéssel oldja fel őket.
- Hígítsa a mosópuffert (10x) desztillált vízben 1:10 arányban. Például egy vizsgálólemezhez hígítson 50 ml mosópuffert (10x) 450 ml desztillált vízzel, és keverje össze.
- Szérum-/plazmaminták: Friss, hűtött, illetve korábban lefagyasztott szérum- és plazmaminták alkalmazhatók.

A tejminták előkészítése

A mintaelemzést megelőzően a tejmintákat zsírtalanítani kell. A teljes tejmintákat 10 percen keresztül centrifugálja 3000 x *g*-n 10 °C-on, vagy tárolja a mintákat 2–8 °C-on egy éjszakán keresztül. Ezután távolítsa el a tejszínt.

## Teszteljárás szérum- és plazmaminták esetében

Olvassa el a „Kezdés előtti teendők” című részt a 11. oldalon.

### Eljárás

1. Pipetázzon 50 µl használatra kész mintahígítót a vizsgálólemez celláiba.
2. Pipetázzon 50 µl negatív kontrollt (két párhuzamossal) és pozitív kontrollt (két párhuzamossal) a megfelelő cellákba, és keverje össze.
3. Pipetázzon 50 µl mintát a fennmaradó cellákba, és keverje össze.

**Megjegyzés:** Jegyezze fel a kontrollok és minták elhelyezkedését a tesztprotokollba. Végezzen keverést lemezrázó készülékkel vagy a folyadék ismételt felszívásával és visszaengedésével. Fedje le a vizsgálólemezt.

4. Inkubálja egy éjszakán keresztül (16-22 óra) szobahőmérsékleten (18–25 °C).
5. Leszívással vagy lecsapolással távolítsa el az oldatot a cellákból.
6. Mindegyik cellát öblítse át 5-ször 300 µl előkészített (1x) mosópufferrel. Távolítsa el a puffert minden öblítés után leszívással vagy lecsapolással.
7. Pipetázzon 100 µl használatra kész konjugátumot minden cellába, és inkubálja 30 percen keresztül szobahőmérsékleten (18–25 °C).
8. Leszívással vagy lecsapolással távolítsa el az oldatot a cellákból.

- 
9. Mindegyik cellát öblítse át 5-ször 300  $\mu$ l előkészített (1x) mosópufferrel. Távolítsa el a puffert minden öblítés után leszívással vagy lecsapolással.
  10. Pipetázzon 100  $\mu$ l TMB szubsztrátoldatot a cellákba.
  11. Inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, sötétben. Az időmérést az első cella megtöltésekor indítsa el.
  12. Cellánként 100  $\mu$ l stop oldat hozzáadásával állítsa le a reakciót. Ugyanolyan sorrendben adja a cellákhoz a stop oldatot, mint a szubsztrátoldatot.
  13. A reakció leállítása után 20 percen belül mérje meg az OD-értéket a lemezolvasóval 450 nm-en. A referencia-hullámhosszon (620–650 nm) történő mérés opcionális.

## Teszteljárás tejminták esetében

Olvassa el a „Kezdés előtti teendők” című részt a 11. oldalon.

### Eljárás

1. Pipetázzon 100 µl negatív kontrollt (két párhuzamossal) és pozitív kontrollt (két párhuzamossal) a megfelelő cellákba.
2. Pipetázzon 100 µl zsírtalanított tejmintát a fennmaradó cellákba.

**Megjegyzés:** Jegyezze fel a kontrollok és minták elhelyezkedését a tesztprotokollba. Fedje le a vizsgálólemezt.

3. Inkubálja egy éjszakán keresztül (16-22 óra) szobahőmérsékleten (18–25 °C).
4. Leszívással vagy lecsapolással távolítsa el az oldatot a cellákból.
5. Mindegyik cellát öblítse át 5-ször 300 µl előkészített (1x) mosópufferrel. Távolítsa el a puffert minden öblítés után leszívással vagy lecsapolással.
6. Pipetázzon 100 µl használatra kész konjugátumot minden cellába, és inkubálja 30 percen keresztül szobahőmérsékleten (18–25 °C).
7. Leszívással vagy lecsapolással távolítsa el az oldatot a cellákból.
8. Mindegyik cellát öblítse át 5-ször 300 µl előkészített (1x) mosópufferrel. Távolítsa el a puffert minden öblítés után leszívással vagy lecsapolással.
9. Pipetázzon 100 µl TMB szubsztrátoldatot a cellákba.
10. Inkubálja 10 percig szobahőmérsékleten, sötétben. Az időmérést az első cella megtöltésekor indítsa el.

11. Cellánként 100  $\mu$ l stop oldat hozzáadásával állítsa le a reakciót. Ugyanolyan sorrendben adja a cellákhoz a stop oldatot, mint a szubsztrátoldatot.
12. A reakció leállítása után 20 percen belül mérje meg az OD-értéket a lemezolvasóval 450 nm-en.  
A referencia-hullámhosszon (620–650 nm) történő mérés opcionális.

## Az adatok értelmezése

### Validálási feltételek

Az eredmények akkor érvényesek, ha teljesülnek az alábbi feltételek:

- A negatív kontroll (negative control, NC) mért OD-értékének átlaga (mean value, MV)  $\geq 0,5$ .
- A pozitív kontroll (positive control, PC) mért OD-jának MV-értékéből számolt blokkolási érték  $\geq 75\%$ .

Érvénytelen mérés esetén a használati útmutató gondos elolvasását követően meg kell ismételni a vizsgálatot.

### Számítás

Számítsa ki a negatív kontroll (NC) és a pozitív kontroll (PC) mért OD-jának MV átlagértékét.

---

Számítás szérum- és plazmaminták esetében

A blokkolási érték az alábbi egyenlettel számítható ki:

$$\text{blokkolás \%} = \frac{\text{MV OD}_{\text{NC}} - \text{OD}_{\text{minta}}}{\text{MV OD}_{\text{NC}}} \times 100$$

Számítás tejminták esetében

A blokkolási érték az alábbi egyenlettel számítható ki:

$$\text{blokkolás \%} = \frac{(\text{MV OD}_{\text{NC}} * 2) - \text{OD}_{\text{minta}}}{(\text{MV OD}_{\text{NC}} * 2)} \times 100$$



## Az eredmények értelmezése

### Az adatok értelmezése szérum- és plazmaminták esetén

- $A < 40\%$  blokkolási értéket mutató minták negatívak.  
Nem voltak kimutathatók BHV1 gE elleni specifikus antitestek.
- $A \geq 40\%$  és  $< 50\%$  blokkolási értéket mutató minták gyanúsak.  
Javasolt a gyanús eredményt adó állatok ismételt vizsgálata.
- $A \geq 50\%$  blokkolási értéket mutató minták pozitívak.  
Kimutathatók voltak a BHV1 gE elleni specifikus antitestek.

### Az adatok értelmezése tejminták esetében

- $A < 35\%$  blokkolási értéket mutató minták negatívak.  
Nem voltak kimutathatók BHV1 gE elleni specifikus antitestek.
- $A \geq 35\%$  blokkolási értéket mutató minták pozitívak.  
Kimutathatók voltak a BHV1 gE elleni specifikus antitestek.

**Megjegyzés:** Egy adott tejminta negatív vizsgálati eredménye esetén javasolt az állat szérum- vagy plazmamintáinak ismételt vizsgálata az adott állat BHV-1 státuszának tisztázására. Poolozott vagy ömlesztett tejminták vizsgálata esetén a szenzitivitás fokozható a tejben lévő immunglobulin koncentrációját célzó protokollok követésével.

---

## Hibaelhárítási útmutató

A QIAGEN műszaki szolgálat kutató szakemberei örömmel állnak rendelkezésére, ha bármilyen kérdése van akár ennek a kézikönyvnek a tartalmával és a benne szereplő protokollokkal kapcsolatban, akár a mintafeldolgozási és vizsgálati módszerekkel kapcsolatban (az elérhetőség a következő címen található: **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

## Függelék: Rövid útmutató

Mintahígítás:

Szérum/plazma 1:2, alaposan keverje össze

Hígítatlan tej

Lépés	Protokoll
1. Minta	100 µl/cella
2. Inkubálás	Egy éjszakán át (16–22 óra) szobahőmérsékleten
3. Mosás	5 x 300 µl
4. Konjugátum	100 µl/cella
5. Inkubálás	30 perc szobahőmérsékleten
6. Mosás	5 x 300 µl
7. TMB	100 µl/cella
8. Inkubálás	10 perc szobahőmérsékleten
9. Leállítás	100 µl/cella
10. Leolvasás	450 nm

Az adatok értelmezése

	Negatív	Gyanús	Pozitív
Szérum/plazma	< 40%	≥ 40% és < 50%	≥ 50%
Tej	< 35%	–	≥ 35%

# Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógus-szám
<i>cattletype</i> BHV1 gE Ab (5)	480 reakcióhoz: 5 vizsgálólemez (tesztcsíkok), mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270203
<i>cattletype</i> BHV1 gE Ab (20)	1920 reakcióhoz: 20 vizsgálólemez, mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270205
<b>Kapcsolódó termékek</b>		
<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab (5)	480 reakcióhoz: 5 vizsgálólemez (tesztcsíkok), mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270043
<i>cattletype</i> BHV1 gB Ab (20)	1920 reakcióhoz: 20 vizsgálólemez, mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270045
<i>cattletype</i> MAP Ab (5)	480 reakcióhoz: 5 vizsgálólemez (tesztcsíkok), mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270803

<b>Termék</b>	<b>Tartalom</b>	<b>Katalógus- szám</b>
<i>cattletype</i> MAP Ab (20)	1920 reakcióhoz: 20 vizsgálólemez, mosópuffer, mintahígító, pozitív kontroll, negatív kontroll, konjugátum, TMB szubsztrátoldat, stop oldat	270805
<i>cattletype</i> Milk Prep Kit (50)	Precipitációs reagens, neutralizáló puffer, mátrix, elúciós puffer, spin szűrők, gyűjtőcsövek	271906

---

A QIAGEN ELISA kitek, valós idejű PCR, valamint valós idejű RT-PCR kitek széles skáláját kínálja állati kórokozók kimutatására. A *bactotype*<sup>®</sup>, *cador*<sup>®</sup>, *cattletype*, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype*<sup>®</sup> és *virotype*<sup>®</sup> termékekkel kapcsolatos további információkért keresse fel a **[www.qiagen.com/animal-health](http://www.qiagen.com/animal-health)** oldalt.

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit kézikönyvében vagy felhasználói útmutatójában található. A QIAGEN kitek kézikönyvei és felhasználói útmutatói a **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)** webhelyen érhetők el, vagy a QIAGEN Műszaki ügyfélszolgálattól vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

## Korlátozott licencszerződés a *cattletype* BHV1 gE Ab alkalmazásához

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen kézikönyv szerint, valamint a kíthez tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a kíthez tartozó komponenseket a termékhez mellékelte protokollokban, a jelen kézikönyvben és a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a kíthez tartozó komponensekbe beépítsék vagy azokkal együtt használják. A további protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátják más QIAGEN felhasználók rendelkezésére. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokollokknak az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal garanciát ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sértik harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licenckon kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a kit és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A kit és komponenseinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználásuk, felújításuk vagy újraértékesítésük tilos.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A kit vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresettili érvényesítésére és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a kittel és/vagy komponenseivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legújabb licencfeltételekről a [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) oldalon tájékozódhat.

Védjegyek: QIAGEN<sup>®</sup>, Sample to Insight<sup>®</sup>, *bactotype*<sup>®</sup>, *cado*<sup>®</sup>, *cattletype*<sup>®</sup>, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype*<sup>®</sup>, *virotype*<sup>®</sup> (QIAGEN Csoport); Milli-Q<sup>®</sup> (Merck KGaA, Darmstadt, Németország). A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvényi védelmen kívül esőnek, ha nem rendelkeznek külön jelöléssel.

HB-1833-006 © 2014–17 QIAGEN, minden jog fenntartva.

---

Rendelés: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Műszaki támogatás: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Webhely: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)