

virotype[®] BTV pan/8 RT-PCR Kit

Gebrauchsinformation



24 (Katalog-Nr. 280443)



96 (Katalog-Nr. 280445)



480 (Katalog-Nr. 280447)*

Zum Nachweis von RNA des Bluetongue-Virus und
des BTV-Serotyps 8

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 17c TierSG zugelassen.
Zulassungs-Nr.: FLI-B 539



280443, 280445, 280447*



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	4
Verwendungszweck	4
Symbole	5
Lagerung	5
Sicherheitshinweise	6
Qualitätskontrolle	6
Einleitung	7
Testprinzip	7
RNA-Extraktion	8
Zusätzlich benötigte Materialien	10
Wichtige Hinweise	11
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen	11
Negativkontrolle	11
Positivkontrolle	11
Extraktions- und Amplifikationskontrolle	12
Protokoll:	
■ Real-time RT-PCR bei Verwendung des Rotor-Gene Q	13
■ Real-time RT-PCR bei Verwendung eines 96-well-Platten real-time Gerätes	17
Auswertung und Interpretation der Daten	20
Hilfe zur Fehlersuche	23
Bestellinformationen	24

Kit-Inhalt

<i>virotype</i> BTV pan/8 RT-PCR Kit	(24)	(96)	(480)
Katalog-Nr.	280443	280445	280447*
Anzahl der Reaktionen	24	96	480
Master Mix (Master-Mix, orangener Deckel), enthält Enzyme, Primer und Sonden	1 x 500 µl	2 x 980 µl	6 x 1625 µl
Positive Control (Positivkontrolle, roter Deckel)	1 x 25 µl	1 x 70 µl	2 x 50 µl
Negative Control (Negativkontrolle, blauer Deckel)	1 x 25 µl	1 x 70 µl	2 x 50 µl
Gebrauchsinformation	1	1	1

* Nur auf Anfrage erhältlich.

Verwendungszweck

virotype BTV pan/8 RT-PCR Kit ist ein real-time Multiplex RT-PCR Kit zum Nachweis der RNA des Bluetongue-Virus in Proben von Rind, Schaf und Ziege. Der Kit ermöglicht den Nachweis des Erregers in Vollblut (Einzel- oder Poolproben) und Gewebeproben (Milz, Lymphknoten). Mit dem Testkit werden alle bekannten Serotypen des Bluetongue-Virus (panBTV), der europäische BTV-Serotyp 8 (BTV-8) und eine Extraktions- und Amplifikationskontrolle nachgewiesen.

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 17c TierSG mit der Zulassungsnummer FLI-B 539. **Nur für den tierärztlichen Gebrauch.**

Symbole



<N>

Kit enthält Reagenzien für <N> Tests



Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Vor Licht schützen



Für Proben von Rind, Schaf und Ziege

Lagerung

Die Komponenten des *virotype* BTV pan/8 RT-PCR Kits sind bei – 15 bis –30 °C lichtgeschützt zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 2 x), da dadurch die

Sensitivität des Assays verringert werden kann. Falls die Komponenten nur gelegentlich verwendet werden, frieren Sie sie aufgeteilt in Aliquots ein.

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.

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

24-Stunden-Giftnotruf

Bei chemischen Notfällen und Unfällen erhalten Sie 24 Stunden am Tag Hilfe von:

CHEMTREC

Deutschland ■ Tel.: 0-800-181-7059

USA u. Kanada ■ Tel.: 1-800-424-9300

Außerhalb von USA u. Kanada ■ Tel.: +1-703-527-3887

(R-Gespräche werden angenommen)

Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von QIAGEN wird jede Charge des *virotype* BTV pan/8 RT-PCR Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

Einleitung

Die Blauzungenkrankheit (Bluetongue Disease) ist eine nicht ansteckende Infektionskrankheit von Wiederkäuern. Der Erreger ist das Bluetongue-Virus (BTV), ein doppelsträngiges RNA-Virus der Gattung *Orbivirus* aus der Familie der *Reoviridae*, das in mindestens 25 bekannten Serotypen vorkommt. Das Virus ist weltweit verbreitet. Von der Krankheit sind vor allem Schafe, Rinder und Ziegen betroffen. Schafe zeigen in der Regel deutlichere Symptome. In schweren Fällen kann es zu einer Schwellung und Blaufärbung der Zunge (Bluetongue) kommen.

Der BTV-Serotyp 8 ist in Mitteleuropa von besonderer epidemiologischer Bedeutung und für Ausbrüche der Blauzungenkrankheit in jüngerer Zeit verantwortlich. Überträger der Tierseuche sind bestimmte Stechmücken der Gattung *Culicoides* (Gnitzen). Daneben kann das Virus auch über unsaubere Kanülen bei Behandlungen und Blutentnahmen verbreitet werden.

Testprinzip

Beim Nachweis von Pathogenen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) werden spezifische Bereiche aus dem Genom des Pathogens amplifiziert. Bei der real-time RT-PCR wird das entstandene Amplifikat mit Hilfe von Fluoreszenzfarbstoffen detektiert. Diese sind in der Regel an Oligonukleotid-Sonden gekoppelt, die spezifisch an das Amplifikat binden. Die Beobachtung des Verlaufs der Fluoreszenzintensität während der PCR (in Echtzeit, daher „real-time PCR“) ermöglicht den Nachweis des sich anreichernden Produkts, ohne die Reaktionsgefäße danach wieder öffnen zu müssen.

virotype BTV pan/8 RT-PCR Kit enthält alle Reagenzien, die für den Nachweis der BTV-RNA notwendig sind, einschließlich Positiv- und Negativkontrolle. Mit diesem Kit werden reverse Transkription und PCR im gleichen Reaktionsgefäß durchgeführt, was die Kontaminationsgefahr verringert.

Im *virotype* BTV pan/8 RT-PCR Kit werden drei spezifische Primer-Sonden-Kombinationen verwendet: eine für die RNA der bisher bekannten 25 BTV-Serotypen (FAM™-Fluoreszenzsignal), eine für die RNA des europäischen BTV-Serotyps 8 (Cy5™-Fluoreszenzsignal) und eine für ein in der Probe vorhandenes Housekeeping-Gen (β -Aktin-mRNA, HEX™-Fluoreszenzsignal). Die Positivkontrolle enthält BTV-8 RNA und erlaubt die Kontrolle des Denaturierungsschrittes, da nur bei erfolgreicher Denaturierung der viralen, doppelsträngigen RNA eine erfolgreiche Amplifikation durchgeführt werden kann.

RNA-Extraktion

virotype BTV pan/8 RT-PCR Kit ist geeignet zum Nachweis von BTV-RNA aus Vollblut (bevorzugt gerinnungsgehemmt, z. B. EDTA-Blut) und Gewebeprobe (Milz, Lymphknoten) von Wiederkäuern. Auf Grund der hohen Sensitivität des Testkits können Blutproben in Pools aus bis zu 10 Einzelproben getestet werden. Die optimale Poolgröße hängt jedoch von der BTV-Prävalenz im untersuchten Gebiet ab.

Vor der real-time RT-PCR muss die virale RNA aus dem Ausgangsmaterial extrahiert werden. QIAGEN bietet eine Auswahl verschiedener Produkte zur RNA-Extraktion aus Tierproben an.

- QIAamp® *cador*® Pathogen Mini Kit

- QIAamp Viral RNA Mini Kit
- RNeasy® Fibrous Tissue Mini Kit für Gewebe
- RNeasy Mini Kit

Falls die real-time RT-PCR nicht unmittelbar nach der Extraktion durchgeführt wird, lagern Sie die RNA bei -20°C, bzw. bei -70°C für längere Zeit.

Bei Verwendung von Kits auf Basis von Spinsäulen kann die RNA-Extraktion mit Hilfe des QIAcube® automatisiert werden.

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.

- Pipetten
- Nuklease-freie, aerosolgeschützte Pipettenspitzen mit Filter
- Sterile 1,5 ml Eppendorf®-Reaktionsgefäße
- Nuklease-freie (RNase/DNase-freie) Verbrauchsmaterialien
- Tischzentrifuge mit Rotor für 1,5 ml Reaktionsgefäße
- 96-well Standard PCR-Gerät
- Kühlvorrichtung und Eis oder Flüssigstickstoff
- Rotor-Gene® Q oder 96-well real-time Thermocycler mit geeigneten Fluoreszenzkanälen
- Rotor-Gene Q Software Version 1.7.94 oder höher bzw. geeignete Software für den gewählten 96-Well Platten-Thermocycler
- PCR-Streifen und Deckel, 0,1 ml, zur Verwendung mit dem Rotor-Gene Q (Strip Tubes and Caps, 0.1 ml, Kat.-Nr. 981103 oder 981106) oder optische 96-well-Mikrotiterplatte mit optischer Verschlussfolie oder optischem Deckel für den gewählten 96-well real-time Thermocycler

Wichtige Hinweise

Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen

Folgendes sollte vom Anwender immer beachtet werden:

- Nuklease-freie Pipettenspitzen mit Filter verwenden.
- Positivmaterial (Proben, Positivkontrollen sowie Amplifikate) separat von allen anderen Reagenzien lagern und verarbeiten und in einem räumlich getrennten Bereich zum Reaktionsgemisch hinzufügen.
- Alle Komponenten vor Testbeginn auf Eis auftauen lassen.
- Nach dem Auftauen die Komponenten durch Invertieren mischen und anschließend kurz anzentrifugieren.
- Die Komponenten des Testkits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Proben und Kontrollen während des Ansetzens auf Eis oder in einem Kühlblock halten.

Negativkontrolle

Bei jedem PCR-Lauf sollte mindestens eine Negativkontrolle mitgeführt werden. Hierdurch können etwaige Kontaminationen im Reaktionsansatz entdeckt werden.

Positivkontrolle

Bei PCR-Ansätzen mit unbekanntem Proben wird empfohlen, eine Positivkontrolle im PCR-Lauf mitzuführen, das heißt eine Probe, von der bekannt ist, dass sie die interessierende virale RNA enthält. Mit einer Positivkontrolle wird die Funktionalität des Pathogentests nachgewiesen, also zum Beispiel das korrekte Ansetzen des Reaktionsgemisches. Setzen Sie im *virotype* BTV

pan/8 RT-PCR Kit 5µl der mitgelieferten Positivkontrolle ein, um die erfolgreiche Amplifikation der Zielsequenz zu überprüfen.

Extraktions- und Amplifikationskontrolle

Zusätzliche Prozesssicherheit und Benutzerfreundlichkeit wird durch den in Form eines weiteren Primer-Sonden-Satzes enthaltenen Internen Kontrollansatzes gewährleistet, mit dem ein in der Probe vorhandenes Housekeeping-Gen nachgewiesen wird. Damit ist eine Kontrolle sowohl der Extraktion als auch der Amplifikation möglich.

Protokoll: Real-time RT-PCR bei Verwendung des Rotor-Gene Q

Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ ab Seite 11, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Führen Sie bei jedem PCR-Lauf mindestens eine Positivkontrolle (Positive Control) und eine Negativkontrolle (Negative Control) mit.
- Lesen Sie das Protokoll vollständig durch, bevor Sie mit der Durchführung beginnen, und stellen Sie sicher, dass Sie mit der Bedienung des gewählten real-time PCR-Cyclers vertraut sind.
- RNA ist instabil. Führen Sie das Protokoll ohne Unterbrechungen durch.

Vorbereitungen

- Alle Reagenzien lichtgeschützt auf Eis auftauen lassen.
- Während des Ansetzens der PCR die Reagenzien auf Eis halten.
- Die Reagenzien vor dem Gebrauch kurz anzentrifugieren.

Durchführung

- 1. Mindestens 7 µl der RNA-Proben und der Positivkontrolle in einzelne 0,2 ml PCR-Reaktionsgefäße pipettieren. Die Reaktionsgefäße verschließen (z.B. mit PCR sealing foil).**

Führen Sie eine Positivkontrolle mit.

Positivkontrolle: Anstelle der RNA-Probe mindestens 7 µl der Positivkontrolle (Positive Control) einsetzen.

2. Die Proben für 5 min bei 98°C in einem 96-well Standard PCR-Gerät denaturieren.
3. Sofort in Eiswasser oder flüssigem Stickstoff für mindestens 20 s abkühlen.
4. Pipettieren Sie 5 µl jeder RNA-Probe, der Positiv- und Negativkontrolle separat in einzelne 0,1 ml PCR-Reaktionsgefäße, die für die Verwendung mit dem Rotor-Gene Q geeignet sind.
5. 20 µl des Master-Mixes in jedes Reaktionsgefäß pipettieren. Das Reaktionsvolumen beträgt somit 25 µl (Tabelle 1).

Tabelle 1. Ansetzen des Reaktionsgemisches

Komponente	Volumen
Master-Mix	20 µl
Probe	5 µl
Gesamtvolumen	25 µl

6. Die Reaktionsgefäße mit den passenden Deckeln verschließen.
7. In der Software des Thermocyclers die Filter für die Reporter gemäß Tabelle 2 einstellen.

Tabelle 2. Reporter-Filtereinstellungen am Rotor-Gene Q

Pathogen/Interne Kontrolle	Reporter
BTV	green/ FAM
BTV-8	red/ Cy5
Interne Kontrolle	yellow/ HEX

8. Falls nur der *virotype* BTV pan/8 RT-PCR Kit verwendet wird, das in Tabelle 3 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.

Tabelle 3. Real-time RT-PCR-Protokoll für BTV pan/8

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
50 °C	10 min	1
95 °C	10 min	1
95 °C	15 s	40
60 °C*	60 s	

* Erfassung der Fluoreszenzdaten

9. Falls weitere *virotype*-Tests simultan durchgeführt werden (z.B. *virotype* PRRSV, *virotype* BVDV, *virotype* CSFV, *virotype* SBV und/oder *virotype* Influenza A), das in Tabelle 4 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.

Tabelle 4. Real-time RT-PCR-Protokoll bei mehreren simultan durchgeführten *virotype*-Tests

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
50 °C	20 min	1
95 °C	15 min	1
95 °C	30 s	
57 °C*	45 s	40
68 °C	45 s	

* Erfassung der Fluoreszenzdaten.

Protokoll: Real-time RT-PCR bei Verwendung eines 96-well-Platten real-time Gerätes

Lesen Sie bitte den Abschnitt „Wichtige Hinweise“ ab Seite 11, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.

Durchführung

- 1. 5 µl der RNA-Proben, der Positiv- und Negativkontrolle in einzelne Reaktionsgefäße pipettieren. Die Reaktionsgefäße verschließen (z.B. mit PCR sealing foil).**

Führen Sie eine Positiv- und Negativkontrolle mit.

Positivkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 5 µl der Positivkontrolle (Positive Control) einsetzen.

Negativkontrolle: Anstelle der RNA-Probe 5 µl der Negativkontrolle (Negative Control) einsetzen.

- 2. Die Proben für 5 min bei 98°C in einem 96-well Standard PCR-Gerät denaturieren.**
- 3. Sofort in Eiswasser oder flüssigem Stickstoff für mindestens 20 s abkühlen. Die denaturierten Proben auf Eis oder in einem Kühlblock halten.**
- 4. 20 µl des Master-Mixes in jedes Reaktionsgefäß pipettieren. Das Reaktionsvolumen beträgt somit 25 µl (Tabelle 5).**

Tabelle 5. Ansetzen des Reaktionsgemisches

Komponente	Volumen
Master-Mix	20 µl
Probe	5 µl
Gesamtvolumen	25 µl

- 5. Die Reaktionsgefäße mit den passenden Deckeln verschließen.**
- 6. In der Software des Thermocyclers die Filter für die Reporter gemäß Tabelle 6 einstellen.**

Tabelle 6. Reporter-Filtereinstellungen

Pathogen/Interne Kontrolle	Reporter
BTV	FAM
BTV-8	Cy5
Interne Kontrolle	HEX/JOE*
Passive Referenz†	ROX

* Verwenden Sie die für Ihr PCR-Gerät geeignete Einstellung.

† Interne Referenz ABI PRISM® Sequence Detection Systems von Applied Biosystems®

- 7. Falls nur der *virotype* BTV pan/8 RT-PCR Kit verwendet wird, das in Tabelle 7 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.**

Tabelle 7. Real-time RT-PCR-Protokoll für BTV pan/8

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
50 °C	10 min	1
95 °C	10 min	1
95 °C	15 s	40
60 °C*	60 s	

* Erfassung der Fluoreszenzdaten

- 8. Falls weitere *virotype*-Tests simultan durchgeführt werden (z.B. *virotype* PRRSV, *virotype* BVDV, *virotype* CSFV, *virotype* SBV und/oder *virotype* Influenza A), das in Tabelle 8 gezeigte real-time RT-PCR-Protokoll verwenden.**

Tabelle 8. Real-time RT-PCR-Protokoll bei mehreren simultan durchgeführten *virotype*-Tests

Temperatur	Zeit	Anzahl der Zyklen
50 °C	20 min	1
95 °C	15 min	1
95 °C	30 s	40
57 °C†	45 s	
68 °C	45 s	

† Erfassung der Fluoreszenzdaten.

Auswertung und Interpretation der Daten

Interpretation der Ergebnisse

Für eine gültige Messung muss bei der Positivkontrolle das Fluoreszenzsignal des FAM-, Cy5- und HEX-Kanals jeweils einen C_T -Wert* kleiner als 35 ergeben ($C_T < 35$). Wird weder ein FAM- noch ein Cy5-Signal für die Positivkontrolle detektiert, waren entweder der Denaturierungs- oder der Abkühlungsschritt unzureichend. In diesem Fall muss die Testung wiederholt werden. Die Negativkontrolle darf kein Signal zeigen.

Bei der Arbeit mit unbekanntem Proben sind die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse möglich. Eine Zusammenfassung der möglichen Ergebnisse der Proben finden Sie auch in Tabelle 9 auf Seite 22.

Das Testergebnis ist positiv für BTV und BTV-8 und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal im FAM-, Cy5- sowie im HEX[†]-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an BTV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit der internen Kontrolle zu einem schwächeren oder ausbleibenden HEX-Signal kommen.

* C_T , Threshold cycle (Schwellenzyklus) – Zyklus, in dem die Amplifikationskurve den Schwellenwert überschreitet, ab dem also erstmals ein klarer Anstieg der Fluoreszenz detektierbar ist.

† Auf dem Rotor-Gene Q grün, rot und gelb.

Das Testergebnis ist positiv für BTV und negativ für BTV-8 und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt ein Signal im FAM- und im HEX-Kanal, jedoch kein Signal im Cy5-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal.

Bei sehr hohen Ausgangskonzentrationen an BTV-RNA in der Probe kann es durch Konkurrenz mit der internen Kontrolle zu einem schwächeren oder ausbleibenden HEX-Signal kommen.

Das Testergebnis ist negativ sowohl für BTV als auch für BTV-8 und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:

- Die Probe zeigt nur ein Signal im HEX-Kanal.
- Die Positivkontrolle zeigt ein Signal in allen Kanälen.
- Die Negativkontrolle zeigt kein Signal.

Das positive HEX-Fluoreszenzsignal schließt die Möglichkeit einer PCR-Inhibition oder fehlerhaften RNA-Extraktion aus, da die interne Kontrolle erfolgreich amplifiziert wurde.

Eine diagnostische Aussage ist nicht möglich, wenn folgende Situation auftritt:

- Die Probe zeigt in keinem der Fluoreszenzkanäle ein Signal.

Entweder wurde die PCR inhibiert oder die Probenextraktion wurde nicht korrekt durchgeführt. Wir empfehlen, die jeweiligen

Einzelproben erneut in Nuklease-freiem Wasser zu testen (beispielsweise 1:5 verdünnt) oder die RNA-Extraktion bzw. den gesamten Test mit frischem Probenmaterial zu wiederholen

Überprüfen Sie, ob bei der Positivkontrolle (Positive Control) in allen Kanälen ein Fluoreszenzsignal detektiert wurde. Das Ausbleiben eines Signals für die Positivkontrolle weist auf einen Fehler hin, beispielsweise eine inkorrekte Denaturierung der viralen RNA, fehlerhafte RNA-Extraktion oder eine falsche Programmierung des PCR-Gerätes.

Wiederholen Sie die RNA-Extraktion oder das gesamte Verfahren mit frischem Probenmaterial.

Tabelle 9. Tabelle zur Interpretation der Ergebnisse*

Fluoreszenz-signal	Pathogen			
	BTV	BTV-8	Negativ	Ungültig
FAM	X	X		
Cy5		X		
HEX	(X)	(X)	X	

* Die Ergebnisse können entsprechend interpretiert werden, sofern Positiv- und Negativkontrolle die erwarteten Ergebnisse zeigen. Die Positivkontrolle muss ein Signal im FAM-, Cy5- und HEX-Kanal zeigen. Die Negativkontrolle darf kein Signal zeigen. Eine vollständige Erklärung aller möglichen Ergebnisse der Proben finden Sie im Abschnitt „Auswertung und Interpretation der Daten“ ab Seite 20.

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>virotype</i> BTV pan/8 RT-PCR Kit (24)	Für 24 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	280443
<i>virotype</i> BTV pan/8 RT-PCR Kit (96)	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	280445
<i>virotype</i> BTV pan/8 RT-PCR Kit (480)*	Für 480 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	280447
Verwandte Produkte		
<i>bactotype</i> [®] Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit (96)†	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	288105
<i>virotype</i> BTV RT-PCR Kit (96)†	Für 96 Reaktionen: PCR-Mix, Enzym-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	280435
<i>virotype</i> PRRSV RT-PCR Kit (96)†	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	282305
<i>virotype</i> BVDV RT-PCR Kit (96)†	Für 96 Reaktionen: PCR-Mix, Enzym-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	280375

* Nur auf Anfrage erhältlich.

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

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
<i>virotype</i> CSFV RT-PCR Kit (96)*	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	281805
<i>virotype</i> SBV RT-PCR Kit (96)*	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	281605
<i>virotype</i> Influenza A RT-PCR Kit (96)*	Für 96 Reaktionen: Master-Mix, Positivkontrolle, Negativkontrolle	282605
QIAamp <i>cador</i> Pathogen Mini Kit (50)*	Für 50 Präparationen: 50 QIAamp Mini Spinsäulen, Carrier-RNA, Proteinase K, Collection Tubes (2 ml), RNase-freie Puffer	54104
QIAamp Viral RNA Mini Kit (50)*	Für 50 RNA-Präparationen: 50 QIAamp Mini Spinsäulen, Carrier-RNA, Collection Tubes (2 ml), RNase-freie Puffer	52904
RNeasy Fibrous Tissue Mini Kit (50)	Für 50 Präparationen: 50 RNeasy Mini Spinsäulen, Collection Tubes (1,5 ml und 2 ml), Proteinase K, RNase-freie DNase I, RNase-freie Reagenzien und Puffer	74704
RNeasy Mini Kit (50)*	Für 50 Präparationen: 50 RNeasy Mini Spinsäulen, Collection Tubes (1,5 ml und 2 ml), RNase-freie Reagenzien und Puffer	74104

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

Produkt	Inhalt	Kat.-Nr.
Rotor-Gene Q 5plex Plattform	Real-Time-PCR-Cycler mit 5 Kanälen (grün, gelb, orange, rot, dunkelrot), Laptop, Software, Zubehör, 1 Jahr Garantie auf Teile und Arbeit	9001570

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.

Warenzeichen/Markennamen: QIAGEN®, QIAamp®, QIAcube®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, RNeasy®, Rotor-Gene®, *viratype*® (QIAGEN-Gruppe); Applied Biosystems®, ABI PRISM®, FAM™, HEX™, JOE™, ROX™, TAMRA™ (Applied Biosystems Corporation oder ihre Tochtergesellschaften); Eppendorf® (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH); Cy5™ (GE Healthcare). 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.

Der Erwerb dieses Produkts berechtigt den Käufer zur Nutzung des Produkts zur Amplifikation und Detektion von Nukleinsäuresequenzen zur veterinärmedizinischen In-vitro-Diagnostik. Eine allgemeine Patent- oder sonstige Lizenz, welche über vorgenanntes Nutzungsrecht des Käufers dieses Produkts hinausgeht, wird nicht gewährt.

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den *viratype* BTV pan/8 RT-PCR Kit

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.

© 2013 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

