

# Bluetongue Virus Antibody Test Kit, cELISA



Labor Diagnostik  
Leipzig

## Gebrauchsinformation

*in vitro*-Diagnostikum für Tiere

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 17 c TierSG zugelassen.

Zulassungs-Nr.: FLI-B 457

**Hersteller: VMRD Inc., Washington, USA**

USDA Zulassungsnummer 5010.20

## Der Vertrieb in Deutschland erfolgt durch:

Labor Diagnostik GmbH Leipzig  
Deutscher Platz 5b - 04103 Leipzig  
Tel: ++49 (0)341 12454-26  
Fax: ++49 (0)341 12454-60  
www.lab-leipzig.de

## Verwendungszweck

Der Bluetongue Virus Antibody Test Kit ist ein kompetitiver ELISA (cELISA) und detektiert Antikörper gegen das Bluetongue Virus (BTV) in Serum- und Plasmaproben von Wiederkäuern.

## Allgemeine Informationen

Im Serum bzw. Plasma enthaltene Antikörper gegen BTV blockieren die Bindung des Peroxidase-konjugierten anti-BTV-Antikörper an das Bluetongue-Virusantigen in den Plattenvertiefungen. Der quantitative Nachweis der Bindung des Peroxidase-Konjugates erfolgt durch die Zugabe von Enzymsubstrat und die dadurch ausgelöste Farbreaktion. Eine starke Farbentwicklung deutet auf keine Blockierung der Konjugatbindung und damit auf das Nichtvorhandensein von BTV-Antikörpern in der Probe hin. Eine schwache Farbentwicklung deutet auf eine Blockierung der Konjugatbindung und damit auf das Vorhandensein von BTV-Antikörpern in der Probe hin.

## Reagenzien

	2er Kit	5er Kit
A Antigen-Coated Plate/ Testplatte, Antigen-beschichtet	2 x 96-well Platten	5 x 96-well Platten
B Positive Control/Positivkontrolle	1 Flasche, 4 ml	1 Flasche, 4 ml
C Negative Control/Negativkontrolle	1 Flasche, 4 ml	1 Flasche, 4 ml
D Antibody-Peroxidase Conjugate/ Antikörper-Peroxidase-Konjugat	1 Flasche, 16 ml	1 Flasche, 16 ml
E 50X Wash Solution Concentrate/ 50X Waschpufferkonzentrat	1 Flasche, 60 ml	1 Flasche, 60 ml
F Substrate Solution/Substratlösung	1 Flasche, 30 ml	1 Flasche, 30 ml
G Stop Solution/Stopplösung	1 Flasche, 30 ml	1 Flasche, 30 ml

Vorliegende Gebrauchsanleitung mit Plattenschema

## Benötigte Materialien, die nicht mitgeliefert werden

Pipetten und Multikanalpipetten mit variablem Pipettiervolumen, Einwegpipettenspitzen, ELISA-Reader mit 620, 630 oder 650 nm Filter, destilliertes oder entionisiertes Wasser, Papiertücher, Pipettierwannen, Messzylinder, Waschflasche, Handwaschkamm oder automatisches Plattenwaschgerät, Kurzzeitwecker

## Lagerung

Alle Reagenzien müssen bei 2 – 7°C gelagert werden. **(Nicht gefroren lagern!)**

Die Reagenzien sind bei Einhaltung der auf der Verpackung beschriebenen Lagerbedingungen bis zum Ablauf des aufgedruckten Haltbarkeitsdatums stabil. **Der Testkit darf nach Ablauf des Haltbarkeitsdatums nicht mehr benutzt werden.**

## Vorsichtsmaßnahmen

Während der Nutzung der Reagenzien und Serum- oder Plasmaproben ist das Essen, Trinken und Rauchen zu unterlassen. Nicht mit dem Mund pipettieren! Einige Reagenzien enthalten Natriumazid oder Natriumfluorid – gesundheitsschädlich. Falls Reagenzien verschluckt werden, suchen Sie einen Arzt auf. Die Bestandteile des Testkits dürfen nicht verunreinigt und nicht mit Bestandteilen aus anderen Chargen vermischt werden. Alle Reste von Proben und mit Proben in Berührung gekommene Gegenstände sind als potenziell infektiöse Materialien zu dekontaminieren bzw. zu entsorgen. Nur für den tierärztlichen Gebrauch!

## Reagenzien- und Probenvorbereitung

- a. Alle Reagenzien, Platten und Proben müssen vor der Benutzung auf Raumtemperatur (21–25 °C) gebracht werden.
- b. Führen Sie auf jeder Testplatte jeweils 2 Positiv- (PK) und 2 Negativkontrollen (NK) mit. Markieren Sie die Position der PK und NK auf dem beigefügten Plattenschema.
- c. Nehmen Sie die Platten aus der Folienverpackung. Legen Sie ungenutzte Teststreifen wieder zurück in die Verpackung und verschließen Sie sie mit dem Sicherheitsverschluss. Stecken Sie die Teststreifen in den Rahmen und nummerieren Sie die Teststreifen entsprechend dem Plattenschema, um im Falle des Herausfallens eine Zuordnung zu gewährleisten.
- d. Das Antikörper-Peroxidase-Konjugat (Flasche D) ist **gebrauchsfertig** und darf **nicht verdünnt** werden.
- e. Verdünnen Sie das 50X Waschpufferkonzentrat 1:50 in destilliertem oder entionisiertem Wasser, z. B. 10 ml 50X Waschpufferkonzentrat (Flasche E) in 490 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen. Pro Plattenvertiefung wird ca. 1ml Waschlösung benötigt. Bereiten Sie immer etwas mehr Waschlösung vor als tatsächlich benötigt wird.
- f. Die Serum- und/oder Plasmaproben werden **unverdünnt** eingesetzt.
- g. Die Kontrollen (Positivkontrolle, Flasche B und Negativkontrolle, Flasche C) werden **unverdünnt** eingesetzt.

## Testdurchführung

1. Pipettieren Sie jeweils 25 µl der Kontrollen und der Serum- bzw. Plasmaproben gemäß dem Plattenschema in die Testplatte. Klopfen Sie mit den Fingern vorsichtig mehrmals auf die Testplatte, um eine vollständige Benetzung des Bodens der Plattenvertiefung mit der Probe zu gewährleisten. Achten Sie darauf, keine Probenreste zwischen den einzelnen Plattenvertiefungen zu verschleppen. Inkubieren Sie die Platte 15 bis 60 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25°C) ohne Abdeckung.
2. Geben Sie nach Ablauf von 15 bis 60 Minuten Probeninkubationszeit 25 µl Antikörper-Peroxidase-Konjugat (Flasche D) in jede Plattenvertiefung. Mischen Sie den Inhalt der Plattenvertiefungen durch leichtes Klopfen an die Plattenseite. Inkubieren Sie die Platte 15 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25°C) ohne Abdeckung.
3. Waschen Sie die Platte nach Ablauf der Inkubationszeit dreimal.

Wenn Sie ein automatisches Plattenwaschgerät nutzen: Stellen Sie die Platte in das Plattenwaschgerät und lassen Sie sie dreimal mit jeweils 300 µl 1x Waschlösung waschen.

Wenn Sie die Platten manuell waschen: Schütten Sie den Inhalt der Plattenvertiefungen in ein Waschbecken und entfernen Sie etwaige Serum- und Kontrollrückstände indem Sie mit der umgedrehten Platte mehrmals auf ein sauberes, trockenes Papierhandtuch klopfen. Füllen Sie die Plattenvertiefungen danach sofort mittels einer Mehrkanalpipette mit 1x Waschlösung. Schütten Sie die Waschlösung aus und trocknen Sie die Platte wie bereits beschrieben. Wiederholen Sie diesen Vorgang mindestens dreimal.

4. Geben Sie 50 µl Substratlösung (Flasche F) in jede Plattenvertiefung. Klopfen Sie mit den Fingern vorsichtig an die Testplatte, um eine vollständige Benetzung des Bodens der Plattenvertiefung mit der Substratlösung zu gewährleisten. Inkubieren Sie die Platte 10 Minuten bei Raumtemperatur (21 – 25°C) ohne Abdeckung. Die Platte darf dabei nicht direkter Sonneneinstrahlung ausgesetzt sein. Leeren Sie die Plattenvertiefungen nicht aus.
5. Geben Sie 50 µl Stopplösung (Flasche G) in jede Plattenvertiefung. Mischen Sie den Inhalt der Plattenvertiefungen durch leichtes Klopfen an der Plattenseite. Leeren Sie die Plattenvertiefungen nicht aus.
6. Nach der Kalibrierung des Photometers gegen Luft als Leerwert sollte die Messung der optischen Dichte (OD) im Photometer bei einer Wellenlänge von 620, 630 oder 650 nm sofort oder innerhalb von 20 Minuten nach dem Abstoppen erfolgen.
7. Die restlichen Reagenzien bis zur weiteren Verwendung bei 2 – 7°C lagern.

## Testvalidierung

- Für eine gültige Messung sollte der Mittelwert der NK eine optische Dichte (OD) größer als 0,300 und kleiner als 2,000 haben.
- Für eine gültige Messung sollte der Mittelwert der PK eine optische Dichte von weniger als 50% des Mittelwertes der NK haben.

## Auswertung der Testergebnisse

- Proben sind als positiv zu bewerten, wenn ihre OD kleiner als 50% des Mittelwertes der NK ist.
- Proben sind als negativ zu bewerten, wenn ihre OD größer oder gleich als 50% des Mittelwertes der NK ist.

**Plattenschema:**

12								
11								
10								
9								
8								
7								
6								
5								
4								
3								
2								
1								
	A	B	C	D	E	F	G	H

Bearbeiter:

Datum:

Ch.-B: