

# cattletype<sup>®</sup> BHV1 gE Ab

## Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das Glykoprotein E des Bovinen Herpesvirus 1

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG zugelassen. Zulassungs-Nr.: FLI-B 664



5 Platten (Katalog-Nr. CT270203)



INDICAL BIOSCIENCE GmbH, Deutscher Platz 5b,  
04103 Leipzig, Deutschland

# Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck .....	4
Symbole.....	4
Qualitätskontrolle .....	5
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise.....	5
Einleitung .....	7
Testprinzip .....	8
Zusätzlich benötigte Materialien .....	9
Wichtige Hinweise .....	10
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen .....	10
Protokoll: Durchführung des ELISA.....	11
Wichtige Hinweise vor Beginn.....	11
Vorbereitungen .....	11
Vorbereitungen von Milchproben .....	11
Durchführung des ELISA für Serum- und Plasmaproben .....	12
Durchführung des ELISA für Milchproben .....	14
Auswertung .....	16
Validitätskriterien .....	16
Berechnung.....	16
Interpretation der Ergebnisse .....	17
Änderungsindex.....	19
Kurzanleitung für den cattletype BHV1 gE Ab.....	20

# Kit-Inhalt

cattletype BHV1 gE Ab	(5)
Katalog-Nr.	CT270203
Anzahl der Platten	5
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem BHV1-Antigen	5
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 30 ml
Negative Control (Negativkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml
Positive Control (Positivkontrolle), gebrauchsfertig	1 x 3,5 ml
Wash Buffer, 10x concentrate (Waschpuffer, 10x Konzentrat)	3 x 125 ml
Conjugate (Anti-gE-HRP-Konjugat), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
TMB Substrate (TMB-[Tetramethylbenzidin]-Substratlösung), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Stop Solution (Stopplösung), gebrauchsfertig	1 x 60 ml
Gebrauchsinformation	1

# Verwendungszweck

cattletype BHV1 gE Ab ist ein kompetitiver Enzym-Immunoassay (ELISA) zum Nachweis von Antikörpern gegen das Glykoprotein E des Bovinen Herpesvirus 1 (BHV1) in Serum-, Plasma- und Milchproben vom Rind.

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer FLI-B 664.

Nur für den tierärztlichen Gebrauch.

## Symbole



Legaler Hersteller



Chargenbezeichnung



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben vom Rind

# Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests cattletype BHV1 gE Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

## Lagerung

Die Komponenten des cattletype BHV1 gE 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), Verdünnungspuffer 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). Diese

erhalten sie von Ihrem lokalen Vertriebsmanager oder per Email von [compliance@indical.com](mailto:compliance@indical.com).



**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.

# Einleitung

cattletype BHV1 gE Ab ist ein hochsensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das Glykoprotein E des Bovinen Herpesvirus 1 aus Serum-, Plasma- und Milchproben. BHV1 ist der Erreger der Infektiösen Bovinen Rhinotracheitis (IBR), einer Atemwegserkrankung, die mit Tracheitis, Rhinitis und Fieber einhergeht. Weiterhin können BHV1-Infektionen Infektiöse Pustuläre Vulvovaginitis (IPV), Balanoposthitis und Spontanaborte verursachen.

Nach klinisch manifester BHV1-Infektion folgt häufig ein Stadium der Latenz. Durch Reaktivierung des Virus kann es zur Weiterverbreitung der Infektion im Tierbestand kommen.

Serologische Methoden können nicht zwischen natürlicher Infektion und konventioneller Impfreaktion unterscheiden. Es wurden daher IBR-Impfstoffe entwickelt, die das virale gE-Protein nicht enthalten. Somit ist eine Differenzierung zwischen Markerimpfung und Feldinfektion möglich.

cattletype BHV1 gE Ab detektiert spezifisch Antikörper gegen das Glykoprotein E (gE). Der Test reagiert nicht mit Antikörpern nach Impfungen mit gE-deletierten Impfstoffen. Mit dieser Methode können demnach Tiere identifiziert werden, die entweder mit BHV1-Feldstämmen infiziert sind oder mit einem Impfstoff vakziniert wurden, der das Glykoprotein E (gE) von BHV1 enthält.

# Testprinzip

cattletype BHV1 gE Ab funktioniert nach dem Prinzip eines blocking ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit inaktiviertem BHV1-Antigen beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden BHV1-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Anschließend wird ein Meerrettichperoxidase (HRP)-markierter, gE-spezifischer monoklonaler Antikörper zugegeben, der nicht binden kann, wenn bereits BHV1-spezifische Antikörper aus der Probe gebunden sind. Ungebundenes HRP-Konjugat wird herausgewaschen und durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt wird. Bei Abwesenheit BHV1 gE-spezifischer Antikörper in der Probe, katalysiert die Meerrettichperoxidase die Entwicklung eines blauen Farbstoffs, der nach Zugabe der Stopplösung nach gelb umschlägt. Die optische Dichte wird im Photometer bei 450 nm gemessen. Der Hemmwert (prozentuale Blockierung) der Probe wird aus den OD-Werten der Probe und der Negativkontrolle, die keine BHV1-spezifischen Antikörper enthält, berechnet.

# 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
- Optional: Gerät zum Einfüllen und Absaugen von Waschpuffer
- Mikrotiterplatten-Photometer
- Destilliertes Wasser

# Wichtige Hinweise

## 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 (z. B. 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.

# Protokoll: Durchführung des ELISA

## Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" auf Seite 10, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.

## 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 (10x) 1:10 mit destilliertem Wasser verdünnen, z.B. für eine Testplatte 50 ml Waschpuffer (10x) in 450 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.
- Serum, Plasma: Es kann frisches, kühl gelagertes oder aufgetautes Serum oder Plasma verwendet werden.

## Vorbereitungen von Milchproben

Milchproben müssen vor der Untersuchung entrahmt werden. Hierzu werden die Proben für 10 min bei 10°C mit 3000 x g zentrifugiert oder über Nacht bei 2-8°C gelagert. Anschließend wird der Rahm entfernt.

# Durchführung des ELISA für Serum- und Plasmaproben

- Bitte lesen Sie den Abschnitt "Vorbereitungen" auf Seite 11.

## Durchführung

1. Je 50 µl des gebrauchsfertigen Verdünnungspuffers in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
2. Jeweils 50 µl der Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die entsprechenden Kavitäten pipettieren und mischen.
3. Je 50 µl der Proben in die weiteren Kavitäten pipettieren und mischen.

**Hinweis:** Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

4. Über Nacht (16-22h) bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
5. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
6. Jede Kavität 5x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
7. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-gE-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.

8. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
9. Jede Kavität 5x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
10. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.
11. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Befüllen der ersten Kavität.
12. Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
13. 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.

# Durchführung des ELISA für Milchproben

- Bitte lesen Sie den Abschnitt "Vorbereitungen" auf Seite 11.

## Durchführung

1. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die festgelegten Kavitäten pipettieren.
2. Je 100 µl der entrahmten Milchproben in die weiteren Kavitäten pipettieren.

**Hinweis:** Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Die Testplatte abdecken.

3. Über Nacht (16-22h) bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
4. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
5. Jede Kavität 5x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
6. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-gE-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
7. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
8. Jede Kavität 5x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
9. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.

10. 10 min bei Raumtemperatur im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Befüllen der ersten Kavität.
11. Reaktion durch Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Kavität stoppen. Die Stopplösung ist in der gleichen Reihenfolge wie die Substratlösung zuzugeben.
12. 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 Negativkontrolle (NK) muss  $\geq 0,5$  sein.
- Der aus dem MW der gemessenen OD-Werte der Positivkontrolle (PK) errechnete Hemmwert muss  $\geq 75\%$  sein.

Bei ungültigen Testungen 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).

Berechnungsformel für Serum- und Plasmaproben

Der Hemmwert wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Hemmwert} = \frac{\text{MW OD}_{\text{NK}} - \text{OD}_{\text{Probe}}}{\text{MW OD}_{\text{NK}}} \times 100$$

Berechnungsformel für Milchproben

Der Hemmwert wird nach folgender Formel berechnet:

$$\% \text{ Hemmwert} = \frac{(\text{MW OD}_{\text{NK}} * 2) - \text{OD}_{\text{Probe}}}{(\text{MW OD}_{\text{NK}} * 2)} \times 100$$

# Interpretation der Ergebnisse

## Auswertung für Serum- und Plasmaproben

- Proben mit einem Hemmwert  $< 40\%$  werden als negativ befundet. Spezifische Antikörper gegen BHV1 gE wurden nicht nachgewiesen.
- Proben mit einem Hemmwert  $\geq 40\%$  und  $< 50\%$  werden als fraglich befundet. Zur Abklärung fraglicher Ergebnisse wird eine Wiederholungsuntersuchung empfohlen.
- Proben mit einem Hemmwert  $\geq 50\%$  werden als positiv befundet. Es wurden spezifische Antikörper gegen BHV1 gE nachgewiesen.

## Auswertung für Milchproben

- Proben mit einem Hemmwert  $< 35\%$  werden als negativ befundet. Spezifische Antikörper gegen BHV1 gE wurden nicht nachgewiesen.
- Proben mit einem Hemmwert  $\geq 35\%$  werden als positiv befundet. Es wurden spezifische Antikörper gegen BHV1 gE nachgewiesen.

Zur sicheren Beurteilung des BHV1-Status von Einzeltieren ist bei einem negativen Ergebnis der Einzelmilchuntersuchung die Untersuchung einer individuellen Blutprobe durchzuführen. Für eine Erhöhung der Sensitivität von Screeninguntersuchungen von Tankmilchproben werden geeignete Aufkonzentrierungsverfahren für Immunglobuline empfohlen.

INDICAL bietet ein breites Produktportfolio zur Testung von veterinärmedizinisch relevanten Pathogenen an. Dazu gehören ELISA-Kits, qPCR-Kits und Reagenzien, Master-Mixe, Extraktionskits sowie Geräte für die automatisierte Extraktion von Nukleinsäuren.

Weitere Informationen zu den Produktlinien afosa, bactotype, cador, cattletype, flocktype, IndiField, IndiMag, IndiMix, IndiSpin, pigtype, SVANOVIR und virotype finden Sie unter **[www.indical.com](http://www.indical.com)**.

Aktuelle Lizenzinformationen und produktspezifische Anwendungseinschränkungen finden Sie in der jeweiligen Gebrauchsinformation.

## Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den cattletype BHV1 gE 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, dieser Gebrauchsinformation und mit den Komponenten, die im Kit geliefert werden, verwendet werden. INDICAL 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, dieser Gebrauchsinformation sowie in zusätzlichen, unter [www.indical.com](http://www.indical.com) verfügbaren Protokollen beschriebenen Anwendungen. Einige dieser zusätzlichen Protokolle wurden von Anwendern für andere Anwender zur Verfügung gestellt. Diese Protokolle wurden von INDICAL nicht vollständig getestet und optimiert. INDICAL 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 INDICAL 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. INDICAL 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. INDICAL 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.indical.com](http://www.indical.com) nachgelesen werden.

**Warenzeichen/Markennamen:** afosa, bactotype®, cador®, cattletype®, flocktype®, IndiField®, IndiMag®, IndiMix®, IndiSpin®, pigtype®, SVANOVIR®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q® (Merck KGaA, Darmstadt, Germany). Es kann nicht davon ausgegangen werden, dass die in dieser Gebrauchsinformation verwendeten Markennamen oder Warenzeichen ungeschützt sind, auch wenn sie nicht als Markenname oder Warenzeichen gekennzeichnet sind.

HB-1833-008 © 2018-2025 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

## Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1833-DE-008	September 2025	Diskontinuierung CT270205; redaktionelle Änderungen
HB-1833-007	Mai 2018	INDICAL-Design

# Kurzanleitung für cattletype BHV1 gE Ab

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:2, gut durchmischen

Milch unverdünnt

Schritt	Protokoll
1. Probe	100 µl/Kavität
2. Inkubation	über Nacht (16-22h) bei RT
3. Waschen	5 x 300 µl
4. Konjugat	100 µl/Kavität
5. Inkubation	30 min bei RT
6. Waschen	5 x 300 µl
7. TMB	100 µl/Kavität
8. Inkubation	10 min bei RT
9. Stopp	100 µl/Kavität
10. Messung	450 nm

## Auswertung

	Negativ	Fraglich	Positiv
Serum, Plasma	< 40%	≥ 40% und < 50%	≥ 50%
Milch	< 35%	-	≥ 35%