

# pigtype<sup>®</sup> CSFV E<sup>rns</sup> Ab Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das  
E<sup>rns</sup>-Protein des Virus der Klassischen  
Schweinepest

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG  
zugelassen. Zulassungs-Nr.: FLI-C 006

**REF** 1 Platte (Katalog-Nr. PT272301)

**REF** 5 Platten (Katalog-Nr. PT272303)

**REF** 20 Platten (Katalog-Nr. PT272305)\*



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

\* nur auf Anfrage erhältlich

# Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	4
Symbole.....	4
Qualitätskontrolle.....	5
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise.....	5
Einleitung.....	7
Testprinzip.....	8
Zusätzlich benötigte Materialien.....	8
Wichtige Hinweise.....	9
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen.....	9
Protokoll: Durchführung des ELISA.....	11
Wichtige Hinweise vor Beginn.....	11
Vorbereitungen.....	11
Protokoll: ELISA.....	12
Auswertung.....	14
Validitätskriterien.....	14
Berechnung.....	14
Interpretation der Ergebnisse.....	15
Änderungsindex.....	19
Kurzanleitung für den pigtype CSFV E <sup>rns</sup> Ab.....	20

# Kit-Inhalt

<b>pigtype CSFV E<sup>ms</sup> Ab</b>	<b>(1)</b>	<b>(5)</b>	<b>(20)</b>
<b>Katalog-Nr.</b>	<b>PT272301</b>	<b>PT272303</b>	<b>PT272305*</b>
<b>Anzahl der Platten</b>	<b>1</b>	<b>5</b>	<b>20</b>
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem CSFV E <sup>ms</sup> -Antigen	1	5	20
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	1 x 60 ml	1 x 125 ml	2 x 500 ml
Negative Control (Negativ- kontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Positive Control (Positiv- kontrolle), gebrauchsfertig	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Wash Buffer, 10x concentrate (Waschpuffer, 10x Konzentrat)	1 x 125 ml	3 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugate (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 CSFV E<sup>rns</sup> Ab ist ein Doppel-Antigen-ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das E<sup>rns</sup>-Protein des Virus der Klassischen Schweinepest in Serum- und Plasmaproben vom Schwein (Haus- und Wildschwein).

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer FLI-C 006.

**Nur für den tierärztlichen Gebrauch.**

## Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben vom Schwein

# Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

## Lagerung

Die Komponenten des pigtype CSFV E<sup>rns</sup> 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). 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

pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab erlaubt den schnellen und zuverlässigen Nachweis von Antikörpern gegen das E<sup>rns</sup>-Protein des Virus der Klassischen Schweinepest in Serum- und Plasmaproben von Schweinen.

Das Virus der Klassischen Schweinepest, auch *Classical Swine Fever Virus* (CSFV), gehört zur Gattung der *Pestiviren* in der Familie der *Flaviviridae* und verursacht schwere und hochansteckende Erkrankungen bei Schweinen (*Suidae*, z.B. Haus- und Wildschwein). Aus diesem Grund ist die Klassische Schweinepest (KSP) von weltweiter Bedeutung. Da sich die Erkrankung in einer Reihe höchst variabler klinischer Symptome zeigt, sind labordiagnostische Methoden zur Diagnose einer Infektion nötig.

Tiere, die mit CSFV infiziert sind, bilden Antikörper gegen unterschiedliche Antigene, wie z. B. die viralen Hüllproteine E<sup>rns</sup> und E2. pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab ist eine hochsensitive und spezifische Lösung zum Nachweis von Antikörpern gegen das E<sup>rns</sup>-Protein in Serum- und Plasmaproben vom Schwein.

Daher ist pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab als KSP-Screeningtest geeignet.

Serologische Standardmethoden können nicht zwischen natürlicher Infektion und Impfung unterscheiden. Die Unterscheidung von Impfung und natürlicher Infektion (**D**ifferentiation of **I**nfected from **V**accinated **A**nimals - DIVA-Konzept) ist möglich, wenn mit Markerimpfstoffen immunisiert wird, die keine E<sup>rns</sup>-spezifische CSFV-Immunantwort induzieren (zum Beispiel E2-Subunit-Vakzine oder rekombinante Impfstoffe ohne CSFV E<sup>rns</sup>). In diesem Fall kann pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab auch als begleitender Differenzierungstest genutzt werden.

# Testprinzip

pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab ist ein Doppel-Antigen-ELISA. Die Mikrotiterplatte ist mit rekombinantem CSFV E<sup>rns</sup>-Antigen beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden Antikörper gegen CSFV E<sup>rns</sup> an das immobilisierte Antigen. Ungebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Antikörper werden durch das HRP-Konjugat detektiert. Ungebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 10 Minuten wieder gestoppt wird. Sind Antikörper gegen CSFV E<sup>rns</sup> in der Probe vorhanden, bewirkt die Peroxidase eine blaue Farbentwicklung, die nach Abstoppen der Reaktion nach gelb umschlägt. Die optische Dichte (OD) wird im Photometer bei 450 nm gemessen. Die OD-Werte korrelieren mit der Konzentration der Antikörper gegen CSFV E<sup>rns</sup> 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
- Optional: Gerät zum Einfüllen und Absaugen von Waschpuffer

- Mikrotiterplatten-Photometer
- Reaktionsgefäße oder Vorverdünnungsplatten für die Verdünnung der Proben
- 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.

**Hinweis:** Für zuverlässige Testergebnisse und um potentiell unspezifische Reaktionen durch restliches Konjugat zu vermeiden, stellen Sie sicher, während der Waschschrirte jede Kavität vollständig mit Waschpuffer zu füllen (ca. **400 µl**). Nutzen Sie, wenn möglich, ein Gerät im „overflow“-Modus zum Einfüllen und Absaugen des Waschpuffers.

# Protokoll: Durchführung des ELISA

## Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt “Wichtige Hinweise” auf Seite 9, bevor Sie mit der Durchführung beginnen.
- Serum- und Plasmaproben können vorverdünnt oder direkt in der Testplatte verdünnt werden.
- Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

## 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.
- Falls gewünscht, können Serum- und Plasmaproben vor der Analyse vorverdünnt werden. Proben **1:10** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z.B. 25 µl Probe in 225 µl Probenverdünner) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete Vorverdünnungsplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.

# Protokoll: ELISA

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

## Durchführung

1. Falls vorverdünnte Proben verwendet werden, bei Schritt 1a beginnen. Falls Proben verwendet werden, die erst in der Testplatte verdünnt werden, bei Schritt 1b beginnen.

- 1a. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Negativ- und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der **1:10 vorverdünnten** Serum- oder Plasmaproben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. Mit Schritt 2 fortfahren.

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

- 1b. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Negativ- und Positivkontrolle (in Doppelbestimmung) in die Kavitäten der Testplatte pipettieren. 90 µl Verdünnungspuffer in die restlichen Kavitäten pipettieren und je 10 µl der **unverdünnten** Serum- oder Plasmaprobe hinzugeben. Gut mischen. Mit Schritt 2 fortfahren.

**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.

2. 60 min bei 37°C inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
4. Jede Kavität 3x mit je **400 µl** angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

**Hinweis:** Nutzen Sie, wenn möglich, ein Gerät im „overflow“-Modus zum Einfüllen und Absaugen des Waschpuffers.

5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Konjugat geben und 60 min bei 37°C inkubieren.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 3x mit je **400 µl** angesetztem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.  
**Hinweis:** Nutzen Sie, wenn möglich, ein Gerät im „overflow“-Modus zum Einfüllen und Absaugen des Waschpuffers.
8. In jede Kavität 100 µl TMB-Substratlösung pipettieren.
9. 10 min bei Raumtemperatur (18-25°C) im Dunkeln inkubieren. Beginn der Zeitmessung nach dem Befüllen 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 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).

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

- **Proben mit einem S/P-Quotienten  $< 0,3$  werden als negativ befundet.**  
Es wurden keine Antikörper gegen CSFV E<sup>rns</sup> nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten  $\geq 0,3$  und  $< 0,5$  werden als fraglich befundet.**  
Zur Abklärung fraglicher Ergebnisse wird eine Wiederholungsuntersuchung empfohlen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten  $\geq 0,5$  werden als positiv befundet.**  
Es wurden Antikörper gegen CSFV E<sup>rns</sup> nachgewiesen.

**Empfehlung:** Zur Abklärung fraglicher, schwach positiver oder unplausibler positiver Testergebnisse kann eine Hitzebehandlung der Probe (30 min, 56°C) vor Testwiederholung durchgeführt werden. Bei wiederholt fraglichen Ergebnissen, deren Befundung mit anderen serologischen Methoden nicht geklärt werden kann, wird empfohlen, die Herde auf zirkulierendes Virus mittels molekulardiagnostischer Methoden (z.B. mit dem virotype CSFV RT-PCR Kit) zu untersuchen. Werden Lebendmarkerimpfstoffe verwendet, sind stammspezifische Molekularmethoden zum Nachweis der Klassischen Schweinepest geeignet.

INDICAL 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, cadof, cattletype, flocktype, pigtype und virotype finden Sie im Internet unter **[www.indical.com](http://www.indical.com)**.

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

# Notizen

# Notizen

## Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den pigtype CSFV E<sup>ms</sup> 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:** bactotype<sup>®</sup>, cador<sup>®</sup>, cattletype<sup>®</sup>, flocktype<sup>®</sup>, pigtype<sup>®</sup>, virotype<sup>®</sup> (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); Milli-Q<sup>®</sup> (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-1933-005 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

## Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-1933-005	Mai 2018	INDICAL-Design

# Kurzanleitung für den pigtype CSFV E<sup>rns</sup> Ab

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:100, Fleischsaft 1:10; gut durchmischen

---

<b>Schritt</b>	
1. Probe	100 µl/ Kavität
2. Inkubation	60 min bei 37°C
3. Waschen	3 x 400 µl*
4. Konjugat	100 µl/ Kavität
5. Inkubation	60 min bei 37°C
6. Waschen	3 x 400 µl*
7. TMB	100 µl/ Kavität
8. Inkubation	10 min bei RT
9. Stopp	100 µl/ Kavität
10. Messung	450 nm

---

\* Nutzen Sie, wenn möglich, ein Gerät im „overflow“-Modus.

## Auswertung

---

<b>Negativ</b>	<b>Fraglich</b>	<b>Positiv</b>
S/P < 0,3	$0,3 \leq S/P < 0,5$	S/P $\geq 0,5$

---