

# virotype<sup>®</sup> BTV pan/4 RT-PCR Kit

## Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von RNA des Bluetongue-  
Virus (BTV) und des BTV-Serotyps 4

Die deutsche Gebrauchsinformation ist nach § 11 Absatz 2 TierGesG  
zugelassen. Zulassungs-Nr.: FLI-C 020



24 Reaktionen (Katalog-Nr. VT280453)



96 Reaktionen (Katalog-Nr. VT280455)



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

# Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	3
Symbole .....	4
Qualitätskontrolle .....	4
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise .....	5
Einleitung .....	6
Testprinzip .....	6
RNA-Extraktion .....	7
Zusätzlich benötigte Materialien .....	9
Wichtige Hinweise .....	10
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen.....	10
Protokoll: Real-time RT-PCR zum Nachweis der RNA des Bluetongue-Virus und des BTV-Serotyps 4.....	12
Wichtige Hinweise vor Beginn .....	12
Vorbereitungen .....	12
Durchführung bei Verwendung eines 96-well Platten real-time Thermocyclers .....	13
Durchführung bei Verwendung des Rotor-Gene® Q oder Geräten ähnlicher Bauart .....	16
Auswertung.....	19
Interpretation der Ergebnisse .....	19
Änderungsindex.....	23

# Kit-Inhalt

<b>virotype BTV pan/4 RT-PCR Kit</b>	<b>(24)</b>	<b>(96)</b>
<b>Katalog-Nr.</b>	<b>VT280453</b>	<b>VT280455</b>
<b>Anzahl der Reaktionen</b>	<b>24</b>	<b>96</b>
Master Mix (Master-Mix, orangefarbener Deckel), enthält Enzyme, Primer und Sonden	1 x 500 µl	2 x 980 µl
Positive Control (Positivkontrolle, roter Deckel)	1 x 25 µl	1 x 150 µl
Negative Control (Negativkontrolle, blauer Deckel)	1 x 25 µl	1 x 150 µl
Gebrauchsinformation	1	1

## Verwendungszweck

Der virotype BTV pan/4 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 (BTVpan), der BTV-Serotyp 4 (BTV-4) und eine Extraktions- und Amplifikationskontrolle nachgewiesen.

Der Kit besitzt die Zulassung des Friedrich-Loeffler-Instituts nach § 11 Absatz 2 TierGesG mit der Zulassungsnummer FLI-C 020.

**Nur für den tierärztlichen Gebrauch.**

# Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Vor Licht schützen



Für Proben von Rind, Schaf und Ziege

## Qualitätskontrolle

Gemäß dem ISO-zertifizierten Qualitätsmanagement-System von INDICAL wird jede Charge des Tests virotype BTV pan/4 RT-PCR Kits nach festgelegten Prüfkriterien getestet, um eine einheitliche Produktqualität sicherzustellen.

# Lagerung

Die Komponenten des virotype BTV pan/4 RT-PCR Kits sind bei -30°C bis -15°C zu lagern – unter diesen Lagerbedingungen sind sie mindestens bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum haltbar. Vermeiden Sie wiederholtes Auftauen und Einfrieren (> 2x), 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). Diese erhalten sie von Ihrem lokalen Vertriebsmanager oder per Email von **compliance@indical.com**.

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

# Einleitung

Die Blauzungenkrankeheit (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 27 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 4 ist in Europa von besonderer epidemiologischer Bedeutung und für Ausbrüche der Blauzungenkrankeheit 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/4 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/4 RT-PCR Kit werden drei spezifische Primer-Sonden-Kombinationen verwendet:

- FAM™-Fluoreszenz für RNA der bisher bekannten 27 BTV-Serotypen
- Cy<sup>5</sup>-Fluoreszenz für RNA des BTV-Serotyps 4
- HEX™-Fluoreszenz für die Interne Kontrolle ( $\beta$ -Aktin mRNA aus der Probe)

Die Positivkontrolle enthält BTV-4 *in vitro* RNA (Cy5-Fluoreszenzsignal) und doppelsträngige BTV-8 RNA (FAM-Fluoreszenzsignal). Die Detektion des FAM-Fluoreszenzsignals 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/4 RT-PCR Kit ist geeignet zum Nachweis von BTV-RNA aus Vollblut (bevorzugt gerinnungsgehemmt, z. B. EDTA-Blut) und Gewebeproben (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 PCR muss die virale RNA aus dem Ausgangsmaterial extrahiert werden. INDICAL bietet für die RNA-Extraktion aus Tierproben validierte Produkte an.

Extraktionskit mittels „magnetic bead“-Verfahren:

- MagAttract® 96 cador Pathogen Kit

Extraktionskits mit Verwendung von Spin Columns:

- QIAamp® cador® Pathogen Mini Kit
- cador Pathogen 96 QIAcube® HT Kit

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

Für weitere Informationen zur automatisierten oder manuellen Extraktion von BTV-RNA aus verschiedenen Probenmatrices, lesen Sie entweder das entsprechende Handbuch oder kontaktieren sie den INDICAL Support unter **support@indical.com**.

# 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 (verstellbar)
- Nuklease-freie, aerosolgeschützte Pipettenspitzen mit Filter
- Sterile 1,5 ml Eppendorf®-Reaktionsgefäße
- Nuklease-freie (RNase/DNase-frei) Verbrauchsmaterialien
- Kühlvorrichtung und Eis oder Flüssigstickstoff
- Tischzentrifuge mit Rotor für 1,5 ml Reaktionsgefäße
- Real-time Thermocycler mit geeigneten Fluoreszenzkanälen
- Geeignete Software für den gewählten Thermocycler
- Geeignete PCR-Streifen und Deckel oder optische 96-well Mikrotiterplatte mit optischer Verschlussfolie oder optischem Deckel für den gewählten 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 Umdrehen 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/4 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 zum Nachweis der RNA des Bluetonge-Virus und des BTV-Serotyps 4

## Wichtige Hinweise vor Beginn

- Lesen Sie bitte den Abschnitt "Wichtige Hinweise" ab Seite 10, 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 Thermocyclers vertraut sind.
- RNA ist instabil. Führen Sie das Protokoll ohne Unterbrechungen durch.

## Vorbereitungen

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

## Durchführung bei Verwendung eines 96-well Platten real-time Thermocyclers

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 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-Thermocycler 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-Mix in jedes Reaktionsgefäß zu den denaturierten Proben pipettieren. Das Reaktionsvolumen beträgt somit 25 µl (Tabelle 1).

Tabelle 1. Ansetzen des Reaktionsgemisches

Komponente	Volumen
Master-Mix	20 µl
Probe	5 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>

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

Tabelle 2. Filtereinstellungen für den Reporter

<b>Pathogen/ Interne Kontrolle</b>	<b>Reporter</b>
BTV pan	FAM
BTV-4	Cy5
Interne Kontrolle	HEX/ JOE™ <sup>1</sup>
Passive Referenz <sup>2</sup>	ROX™

1 Verwenden Sie die für den gewählten Thermocycler geeignete Einstellung

2 Interne Referenz für ABI PRISM® Sequence Detection Systems von Applied Biosystems®

7. Falls nur der virotype BTV pan/4 RT-PCR Kit oder nur in Verbindung mit dem 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/4 und virotype BTV pan/8

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Zeit</b>	<b>Anzahl der Zyklen</b>
<b>Reverse Transkription</b>	50°C	10 min	1
<b>Initiale Aktivierung</b>	95°C	10 min	1
<b>2-Schritt-Cycling</b>			
Denaturierung	95°C	15 s	40
Annealing/Extension*	60°C	60 s	

\* Erfassung der Fluoreszenzdaten.

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

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

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Zeit</b>	<b>Anzahl der Zyklen</b>
<b>Reverse Transkription</b>	50°C	20 min	1
<b>Initiale Aktivierung</b>	95°C	15 min	1
<b>3-Schritt-Cycling</b>			
Denaturierung	95°C	30 s	
Annealing*	57°C	45 s	40
Extension	68°C	45 s	

\* Erfassung der Fluoreszenzdaten.

## Durchführung bei Verwendung des Rotor-Gene® Q oder Geräten ähnlicher Bauart

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-Thermocycler 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-Mix in jedes Reaktionsgefäß zu den denaturierten Proben pipettieren. Das Reaktionsvolumen beträgt somit 25 µl (Tabelle 5).

Tabelle 5. Ansetzen des Reaktionsgemisches

<b>Komponente</b>	<b>Volumen</b>
Master-Mix	20 µl
Probe	5 µl
<b>Gesamtvolumen</b>	<b>25 µl</b>

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

Tabelle 6. Filtereinstellungen für den Reporter am Rotor-Gene Q

<b>Pathogen/ Interne Kontrolle</b>	<b>Reporter</b>
BTV pan	green/ FAM
BTV-4	red/ Cy5
Interne Kontrolle	yellow/ HEX

8. Falls nur der virotype BTV pan/4 RT-PCR Kit oder nur in Verbindung mit dem 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/4 und virotype BTV pan/8

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Zeit</b>	<b>Anzahl der Zyklen</b>
<b>Reverse Transkription</b>	50°C	10 min	1
<b>Initiale Aktivierung</b>	95°C	10 min	1
<b>2-Schritt-Cycling</b>			
Denaturierung	95°C	15 s	40
Annealing/Extension*	60°C	60 s	

\* Erfassung der Fluoreszenzdaten.

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

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

<b>Schritt</b>	<b>Temperatur</b>	<b>Zeit</b>	<b>Anzahl der Zyklen</b>
<b>Reverse Transkription</b>	50°C	20 min	1
<b>Initiale Aktivierung</b>	95°C	15 min	1
<b>3-Schritt-Cycling</b>			
Denaturierung	95°C	30 s	
Annealing*	57°C	45 s	40
Extension	68°C	45 s	

\* Erfassung der Fluoreszenzdaten.

# Auswertung

## Interpretation der Ergebnisse

Für eine gültige Messung muss bei der Positivkontrolle das Fluoreszenzsignal des FAM-, Cy5- und des HEX-Kanals jeweils einen  $C_T$ -Wert<sup>1</sup> kleiner als 35 ergeben ( $C_T < 35$ ). Wird für die Positivkontrolle entweder kein FAM-Signal oder ein  $C_T \geq 35$  im FAM-Kanal detektiert, waren entweder der Denaturierungs- oder der Abkühlungsschritt unzureichend. In diesem Fall muss die Testung wiederholt werden. Die Negativkontrolle darf kein Fluoreszenzsignal zeigen.

Bei der Arbeit mit unbekanntem Proben sind die im Folgenden beschriebenen Ergebnisse möglich. Eine Zusammenfassung der möglichen Resultate finden Sie auch in Tabelle 9 auf Seite 21.

**Das Testergebnis ist positiv für BTV und BTV-4 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 (IC) zu einem schwächeren oder ausbleibenden HEX-Signal kommen.

---

<sup>1</sup>  $C_T$ , Threshold cycle (Schwellenzyklus) – Zyklus, in dem die Amplifikationskurve den Schwellenwert überschreitet, ab dem also erstmals ein klarer Anstieg der Fluoreszenz detektierbar ist

**Das Testergebnis ist positiv für BTV und negativ für BTV-4 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 (IC) zu einem schwächeren oder ausbleibenden HEX-Signal kommen.

**Das Testergebnis ist negativ sowohl für BTV als auch für BTV-4 und der Test ist gültig, wenn die folgenden Kriterien erfüllt sind:**

- Die Probe zeigt ein Signal nur 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 und der Test ist ungültig, 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\*

<b>FAM</b>	<b>Cy5</b>	<b>HEX</b>	<b>Ergebnis der Probe</b>
			Positiv für:
X		(X)	BTV
X	X	(X)	BTV <u>und</u> BTV-4
		X	negativ
			uneindeutig

\* 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“ ab Seite 19.

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, cador, 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.

## Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den virotype BTV pan/4 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, 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®, cador®, cattletype®, flocktype®, pigtype®, virotype® (INDICAL BIOSCIENCE GmbH); MagAttract®, QIAamp®, QIAcube®, Rotor-Gene® (QIAGEN GmbH); ABI PRISM® 7500 (Applied Biosystems); FAM™, HEX™, JOE™, ROX™ (Life Technologies Corporation); Cy®5 (GE Healthcare); Eppendorf® (Eppendorf-Netheler-Hinz GmbH). Lizenzierte Sonden sind durch Integrated DNA Technologies, Inc. hergestellt. 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-2054-DE-002 © 2018 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

## Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-2054-DE-002	August 2018	INDICAL-Design

**INDICAL**  
BIOSCIENCE

Ordering: [www.indical.com/contact](http://www.indical.com/contact)  
Technical Support: [support@indical.com](mailto:support@indical.com)  
Website: [www.indical.com](http://www.indical.com)