

# flocktype<sup>®</sup> IBV Ab

## Gebrauchsinformation

Zum Nachweis von Antikörpern gegen das  
Virus der Infektiösen Bronchitis (IBV)

---



5 Platten (Katalog-Nr. FT274303)



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

# Inhalt

Kit-Inhalt.....	3
Verwendungszweck.....	4
Symbole.....	4
Qualitätskontrolle.....	5
Lagerung.....	5
Sicherheitshinweise.....	5
Einleitung.....	6
Testprinzip.....	6
Zusätzlich benötigte Materialien.....	7
Wichtige Hinweise.....	8
Allgemeine Vorsichtsmaßnahmen.....	8
Protokoll: Durchführung des ELISA.....	9
Wichtige Hinweise vor Beginn.....	9
Vorbereitungen.....	9
Protokoll: ELISA.....	10
Auswertung.....	12
Validitätskriterien.....	12
Berechnung.....	12
Interpretation der Ergebnisse.....	13
Änderungsindex.....	15
Kurzanleitung für den flocktype IBV Ab.....	16

# Kit-Inhalt

<b>flocktype IBV Ab</b>	<b>(5)</b>
<b>Katalog-Nr.</b>	<b>FT274303</b>
<b>Anzahl der Platten</b>	<b>5</b>
Test Plate (Testplatte): Mikrotiterplatte mit 96 Kavitäten, beschichtet mit nicht-infektiösem IBV-Antigen	5
Sample Diluent (Verdünnungspuffer), gebrauchsfertig	2 x 125 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)	2 x 125 ml
Conjugate (Anti-IgY-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

Der flocktype IBV Ab-Testkit ist ein spezifischer und sensitiver ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bronchitis (IBV) in Serum- und Plasmaproben vom Huhn.

**Nur für den tierärztlichen Gebrauch.**

## Symbole



Legaler Hersteller



Chargennummer



Zur Verwendung bis



Zulässiger Temperaturbereich für die Lagerung



Gebrauchsinformation



Katalognummer



Materialnummer



Für Proben vom Huhn

# Qualitätskontrolle

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

## Lagerung

Die Komponenten des flocktype IBV 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.

## 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**.



**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

Der flocktype IBV Ab-Testkit ermöglicht den schnellen und zuverlässigen Nachweis von Antikörpern gegen das Virus der Infektiösen Bronchitis (IBV) in Serum- und Plasmaproben vom Huhn.

IBV oder das Aviäre Coronavirus gehört zur Gattung der *Gammacoronaviridae* in der Familie der *Coronaviridae* und verursacht die Infektiöse Bronchitis bei Geflügel. Die Infektiöse Bronchitis ist in der Regel durch das Auftreten respiratorischer Symptome charakterisiert und kann daher klinisch mit anderen Erkrankungen der Atemwege beim Geflügel verwechselt werden (z.B. Newcastle-Krankheit, chronische respiratorische Erkrankung verursacht durch *Mycoplasma gallisepticum*, etc.). Virämisches IBV kann darüber hinaus den Reproduktionstrakt befallen oder auch die Ursache für Nierenversagen sein. Zusammengefasst ist die Prävention vor Infektiöser Bronchitis von enormer Bedeutung im Hinblick auf den Tierschutz und wirtschaftliche Aspekte der Geflügelindustrie.

Der Nachweis von Antikörpern gegen IBV mit Hilfe des flocktype IBV Ab ist eine zuverlässige Methode, um die humorale Immunantwort gegen Impfung oder IBV-Infektion zu detektieren.

## Testprinzip

Die Mikrotiterplatte ist mit nicht infektiösen IBV-Antigenen beschichtet. Während der Inkubation der Proben binden IBV-spezifische Antikörper an das immobilisierte Antigen, nicht gebundenes Material wird durch Waschen entfernt. Die an das Antigen gebundenen Serumantikörper werden durch das Anti-IgY-HRP-Konjugat detektiert, nicht gebundenes Konjugat wird durch Waschen entfernt. Durch Zugabe der Substratlösung wird eine Farbreaktion gestartet, die nach 15 Minuten

wieder gestoppt wird. Sind IBV-Antikörper 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 gemessen. Die OD-Werte korrelieren mit der Konzentration der IBV-Antikörper 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 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 8, 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 25 ml Waschpuffer (10x) in 225 ml destilliertem Wasser verdünnen und mischen.

- Serum, Plasma: Serum- und Plasmaproben vor der Analyse **1:500** mit Verdünnungspuffer verdünnen (z.B. 1 µl Probe in 499 µl Verdünnungspuffer) und gut mischen. Verwenden Sie Plastik-Reaktionsgefäße oder unbeschichtete Vorverdünnungsplatten zur Verdünnung. Nach jeder Probe die Pipettenspitze wechseln.

Alternativ können die Proben ausgehend von einer Vorverdünnung (1:50 in Verdünnungspuffer, z.B. 5 µl Probe in 245 µl Verdünnungspuffer) direkt in der Testplatte verdünnt werden (siehe Durchführung, Schritt 1a).

- Die Kontrollen sind gebrauchsfertig und müssen nicht verdünnt werden.

# Protokoll: ELISA

- Bitte lesen Sie den Abschnitt "Vorbereitungen" auf Seite 9.

## Durchführung

1. Jeweils 100 µl der gebrauchsfertigen Positiv- und Negativkontrolle (in Doppelbestimmung) sowie der 1:500 verdünnten Proben in die Kavitäten der Testplatte pipettieren.
- 1a. Alternativ 90 µl Verdünnungspuffer in jede Kavität pipettieren und je 10 µl der 1:50 vorverdünnten Proben hinzufügen. Gut mischen.

**Hinweis:** Halten Sie die Positionen der Kontrollen und Proben in einem Testprotokoll fest. Für den Probentransfer wird die Verwendung einer Mehrkanalpipette empfohlen. Zum Durchmischen entweder einen Plattenschüttler verwenden oder die Flüssigkeit wiederholt Auf- und Abpipettieren. Die Testplatte abdecken.

2. 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren.
3. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
4. Jede Kavität 3x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.
5. In jede Kavität 100 µl gebrauchsfertiges Anti-IgY-HRP-Konjugat geben und 30 min bei Raumtemperatur (18-25°C) inkubieren. Die Testplatte abdecken.
6. Die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen aus den Kavitäten entfernen.
7. Jede Kavität 3x mit je 300 µl (1x) verdünntem Waschpuffer waschen; nach jedem Waschen die Flüssigkeit durch Absaugen oder Ausschlagen entfernen.

8. In jede Kavität 100  $\mu$ l TMB-Substratlösung pipettieren.
9. 15 min bei Raumtemperatur (18-25°C) im Dunkeln inkubieren.  
Beginn der Zeitmessung nach dem Befüllen der ersten Kavität.
10. Reaktion durch Zugabe von 100  $\mu$ l 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:

- Die Differenz der Mittelwerte (MW) der gemessenen OD-Werte der Positivkontrolle (PK) und der Negativkontrolle (NK) muss  $\geq 0,2$  sein.
- Der MW der gemessenen OD-Werte der Negativkontrolle (NK) muss  $\leq 0,2$  sein.

Bei ungültigen Testergebnissen 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:

$$S/P = \frac{OD_{\text{Probe}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}{MW_{\text{OD}_{\text{PK}}} - MW_{\text{OD}_{\text{NK}}}}$$

Aus dem S/P-Quotienten kann der Endpunkttiter bei einer Verdünnung von 1:500 nach folgender Formel berechnet werden:

$$\text{Log}_{10} \text{ Titer} = 1,0 (\text{Log}_{10} \text{ S/P}) + 3,62$$

# Interpretation der Ergebnisse

- **Proben mit einem S/P-Quotienten  $< 0,25$  oder Titer  $< 1040$  werden als negativ befundet.**  
Spezifische Antikörper gegen IBV wurden nicht nachgewiesen.
- **Proben mit einem S/P-Quotienten  $\geq 0,25$  oder Titer  $\geq 1040$  werden als positiv befundet.**  
Es wurden spezifische Antikörper gegen IBV nachgewiesen.

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 afosa, bactotype, cador, cattletype, flocktype, pigtype, Svanovir 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

## Eingeschränkte Nutzungsvereinbarungen für den flocktype IBV 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<sup>®</sup>, bactotype<sup>®</sup>, cador<sup>®</sup>, cattletype<sup>®</sup>, flocktype<sup>®</sup>, pigtype<sup>®</sup>, Svanovir<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-2558-DE-003 © 2022 INDICAL BIOSCIENCE GmbH, alle Rechte vorbehalten.

## Änderungsindex

Gebrauchsinformation	Version	Änderung
HB-2558-DE-003	Dezember 2022	Redaktionelle Änderungen
HB-2558-DE-002	August 2022	Anpassung Verwendungszweck
HB-2558-DE-001	Juni 2022	Produkt-Launch

# Kurzanleitung für den flocktype IBV Ab

Probenverdünnung:

Serum, Plasma 1:500, gut durchmischen

Schritt	Protokoll
1. Probe	100 µl/Kavität
2. Inkubation	30 min bei RT
3. Waschen	3 x 300 µl
4. Konjugat	100 µl/Kavität
5. Inkubation	30 min bei RT
6. Waschen	3 x 300 µl
7. TMB	100 µl/Kavität
8. Inkubation	15 min bei RT
9. Stopp	100 µl/Kavität
10. Messung	450 nm

## Auswertung

	Negativ	Positiv
Serum, Plasma	S/P < 0,25 oder Titer < 1040	S/P ≥ 0,25 oder Titer ≥ 1040