

Manual do *pigtype*[®] *Trichinella* Ab



1 (ref.º 273501)



5 (ref.º 273503)



20 (ref.º 273505)*

Kit multi-espécie ELISA para detecção
de anticorpos contra as spp.
Trichinella.

Registado em conformidade com § 17c da Lei Alemã relativa
a Doenças de Animais (FLH-B 511)

REF

273501, 273503, 273505



QIAGEN Leipzig GmbH, Deutscher Platz 5b,
04103 Leipzig, Alemanha



* Apenas disponível sob solicitação.

Tecnologias de amostras e testes da QIAGEN

A QIAGEN é o principal fornecedor de tecnologias inovadoras de amostras e testes, permitindo isolar e detectar o conteúdo de qualquer amostra biológica. Os avançados produtos e serviços de elevada qualidade da nossa empresa garantem o sucesso, desde a amostra até ao resultado.

A QIAGEN é uma empresa de referência em matéria de:

- Purificação de ADN, ARN e proteínas
- Testes de ácidos nucleicos e proteínas
- Investigação em microRNA e RNAi
- Automatização de tecnologias de amostras e testes

A nossa missão permitir-lhe-á alcançar o sucesso, bem como resultados notáveis. Para mais informações, visite-nos em www.qiagen.com.

Além disso, a QIAGEN fornece soluções moleculares de alta qualidade, sensíveis e fáceis de utilizar, que permitem a detecção de agentes patogénicos veterinários e a investigação de agentes patogénicos animais. O portfólio veterinário da QIAGEN inclui uma vasta gama de ensaios de PCR específicos de agentes patogénicos e um portfólio ELISA extenso e em crescimento. Para mais informações, visite-nos em www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing.

Índice

Conteúdo do kit	4
Utilização prevista	5
Símbolos	5
Armazenagem	6
Informações de segurança	6
Controlo de qualidade	7
Introdução	8
Princípio	9
Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador	10
Precauções gerais	11
Protocolo:	
■ ELISA	14
Interpretação dos dados	16
Guia de resolução de problemas	18
Informações para encomendar	19
Guia rápido	22
Interpretação dos dados	23

Conteúdo do kit

<i>pigtype</i> Trichinella Ab			
Ref.^a	273501	273503	273505*
Número de placas	1	5	20
Placa de teste: placa de microtitulação com 96 poços, revestidos com antígeno E/S de <i>Trichinella</i> não infecciosa	1	5	20
Diluinte de amostras, pronto a usar	1 x 60 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Controlo negativo, pronto a usar	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Controlo positivo, pronto a usar	1 x 1,5 ml	1 x 3,5 ml	2 x 3,5 ml
Tampão de lavagem (10x)	1 x 125 ml	2 x 125 ml	2 x 500 ml
Conjugado, pronto a usar	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Substrato de TMB, pronto a usar	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Solução de paragem, pronta a usar	1 x 12 ml	1 x 60 ml	1 x 240 ml
Manual	1	1	1

* Apenas disponível sob solicitação.

Utilização prevista

O *pigtype* Trichinella Ab é um ensaio imunoenzimático (ELISA) indirecto. Destina-se à detecção de anticorpos contra as spp. *Trichinella* em amostras de soro, plasma e mioglobina de porco e de javali. As amostras de soro e de plasma de porco e javali podem ser testadas em pools de até 10 amostras individuais. O kit de testes também pode ser utilizado com outras espécies de mamíferos como, por ex., cavalo, raposa e roedores. O kit foi aprovado pelo Friedrich-Loeffler-Institut e registado em conformidade com § 17c da Lei Alemã relativa a Doenças de Animais (Flu-B 511) para utilização na Alemanha para procedimentos de diagnóstico veterinário. Apenas para uso veterinário.

Símbolos



Contém reagentes para <N> placas



Fabricante legal



Número de lote



Prazo de validade



Limites de temperatura de armazenamento



Manual



Ref.º



Número do material



Proteger da luz



Para amostras de porco e de javali

Armazenagem

Os componentes do Kit *pigtype* Trichinella Ab ELISA devem ser armazenados entre 2 e 8 °C e mantêm-se estáveis até ao prazo de validade indicado no rótulo. O tampão de lavagem (10x) e a solução de paragem podem ser armazenados à temperatura ambiente (18 a 25 °C) para evitar a cristalização de sais.

Armazene as tiras de teste não utilizadas na bolsa de folha de alumínio novamente selada com dessecante entre 2 e 8 °C até à utilização seguinte. As tiras de teste podem ser armazenadas, no mínimo, durante 6 semanas após a abertura da bolsa de placas.

Informações de segurança

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (MSDS) apropriadas. Estas estão disponíveis online no formato compacto e prático PDF em www.qiagen.com/safety, onde pode procurar, visualizar e imprimir as MSDS de cada kit QIAGEN e componente do kit.



ATENÇÃO: a solução de paragem contém 0,5 M de ácido sulfúrico.

Todos os resíduos de amostras e objectos que tenham entrado em contacto com amostras devem ser desinfectados ou eliminados como material potencialmente infeccioso.

Informações de emergência 24 horas

Emergência química ou assistência a acidentes disponível
24 horas por dia por parte de:

CHEMTREC

EUA e Canadá ■ Tel.: 1-800-424-9300

Fora dos EUA e Canadá ■ Tel.: +1-703-527-3887 (aceites
chamadas a cobrar no destino)

Controlo de qualidade

De acordo com o Sistema de Gestão de Qualidade Total certificado pela norma ISO da QIAGEN, todos os lotes do *pigtype* Trichinella Ab são testados quanto às especificações predeterminadas, a fim de garantir uma qualidade constante do produto.

Introdução

O *pigtype* *Trichinella* Ab é uma solução altamente sensível para detecção de anticorpos das spp. *Trichinella*. A triquinose é uma zoonose causada pelo nematode *Trichinella*. Nos humanos pode causar doença desde ligeira a fatal. Os humanos são infectados pelo consumo de carne de porco que contenha larvas de *Trichinella*. A maioria dos porcos infectados não apresenta sintomas clínicos. Para evitar a infecção em humanos, todos os porcos abatidos para a cadeia alimentar são testados através de digestão artificial.

A regulação da Comissão Europeia (CE) N.º 2075/2005 permite que as empresas sejam certificadas como livres de *Trichinella* sob determinadas condições. Uma destas condições é um programa de monitorização. Os testes sorológicos podem oferecer um método mais rentável do que o mais corrente método de digestão, na monitorização de anticorpos de *Trichinella* em carne de porco de sistemas de produção integrados. O *pigtype* *Trichinella* Ab pode ser utilizado na monitorização de infecções por *Trichinella* como parte integrante dos referidos programas.

Princípio

O *pigtype* Trichinella Ab é um ELISA indirecto. A placa de microtitulação é revestida com antigénios inactivos de *Trichinella* (antigénio E/S). Durante a incubação das amostras, os anticorpos específicos de *Trichinella* ligam-se ao antigénio imobilizado.

O material não ligado é removido através de lavagem. Os anticorpos do soro ligados ao antigénio são detectados por um conjugado de peroxidase de rábano (HRP) multi-espécie.

O conjugado não ligado é removido através de lavagem.

É iniciada uma reacção colorimétrica adicionando solução de substrato, e interrompida após 10 minutos. Na presença de anticorpos específicos de *Trichinella*, dentro da amostra, a HRP cataliza um desenvolvimento de cor azul, que se torna amarelo após adicionar a solução de paragem. A absorvância (OD) mede-se utilizando um espectrofotómetro a 450 nm. Os valores de OD correlacionam-se com a concentração de anticorpos específicos de *Trichinella* da amostra.

Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador

Quando trabalhar com substâncias químicas, use sempre uma bata de laboratório adequada, luvas descartáveis e óculos de protecção. Para mais informações, consulte as fichas de dados de segurança (MSDS) apropriadas, disponíveis no fornecedor do produto.

- Gobelés
- Provetas
- Pipetas (ajustáveis)
- Pipetas multicanal (ajustáveis)
- Folha adesiva ou de alumínio para cobrir a placa de testes
- Dispositivo para administração e aspiração de solução de lavagem (opcional)
- Leitor de absorvância de placa de microtitulação
- Tubos ou placas para diluir as amostras
- Água destilada

Precauções gerais

O utilizador deve ter sempre em atenção o seguinte:

- Não exponha a solução de substrato de TMB a luz intensa ou à luz do sol durante a execução do teste.
- Os componentes do kit de teste não devem ser contaminados ou misturados com componentes de outros lotes.
- Não utilize componentes do kit de teste que tenham excedido o prazo de validade.
- A água de sistemas de intercâmbio de iões utilizada para diluição da solução de lavagem (10x) pode interferir com o ensaio se não for suficientemente pura. É indicada a água duplamente destilada ou altamente purificada (Milli-Q).
- A utilização de equipamentos de vidro limpos, uma pipetagem e lavagem cuidadosas durante o teste e uma estrita observância dos tempos de incubação indicados são essenciais para obter resultados de teste precisos.

O que fazer antes de iniciar o procedimento

- Coloque os reagentes à temperatura ambiente (18 a 25 °C) imediatamente antes da utilização. Em caso de cristais de sais precipitados no tampão de lavagem (10x), dissolva-os com agitação e aquecimento suaves.

Tampão de lavagem: dilua o tampão de lavagem (10x) 1:10 em água destilada, por ex., para uma placa de teste dilua 25 ml de tampão de lavagem (10x) em 225 ml de água destilada e misture.

Soro/plasma: antes da análise das amostras, em amostras de soro/plasma, dilua **1:100** em diluente de amostras (por ex., dilua 5 µl de amostra em 495 µl de diluente de amostras) e misture bem. Utilize tubos de plástico ou placas de microtitulação não revestidas para a diluição. Substitua as pontas das pipetas entre amostras.

Agrupar amostras: as amostras de soro ou de plasma podem também ser testadas em pools de 10 amostras individuais (por ex. agrupe 10 µl de cada uma de 10 amostras). Dilua as amostras agrupadas **1:20** com diluente de amostras (por ex., dilua 10 µl de amostra em 190 µl de diluente de amostras) e misture.

Mioglobina: antes da análise das amostras, em amostras de mioglobina, dilua **1:10** em diluente de amostras (por ex., dilua 25 µl de amostra em 225 µl de diluente de amostras) e misture bem.

Em alternativa, é possível diluir as amostras de mioglobina directamente na placa de teste (consulte o Procedimento 1a).

Para extrair amostras de mioglobina, congele aproximadamente 10 g de carne do músculo sem sangue ou gordura, por ex., dos pilares musculares do diafragma lombar, num dispositivo de colheita de mioglobina e, em seguida, descongele (em alternativa, as amostras de carne podem ser armazenadas a -20 °C durante vários meses até serem analisadas). Retire a mioglobina libertada pelas amostras descongeladas

e armazene entre 2 e 8 °C. As amostras armazenadas entre 2 e 8 °C devem ser analisadas num prazo de 24 horas.

- Os **Controlos** estão prontos a usar e não necessitam de diluição

Protocolo: ELISA

Leia “O que fazer antes de iniciar o procedimento”, na página 11.

Procedimento

1. Pipete 100 µl de cada um dos controlos negativos (em duplicado) e dos controlos positivos (em duplicado) prontos a usar e as amostras diluídas 1:10 de mioglobina/ou as amostras diluídas 1:100 de soro ou plasma para os poços da placa de testes.

1a. Em alternativa, pipete 90 µl de diluente de amostras em cada poço de amostra e adicione 10 µl da amostra não diluída de mioglobina e/ou da amostra pré-diluída 1:10 de soro ou de plasma. Misture bem.

Registe as posições dos controlos e das amostras num protocolo de teste. Recomenda-se a utilização de uma pipeta multicanal para transferência de amostras. Cubra a placa de testes.

- 2. Incube durante 60 min. à temperatura ambiente (18 a 25 °C) ou durante a noite (12 a 18 horas) entre 2 e 8 °C.**
- 3. Remova a solução dos poços através de aspiração ou drenagem.**
- 4. Lave cada poço 3 vezes com 300 µl de tampão de lavagem preparado. Remova o tampão após cada uma das lavagens.**
- 5. Pipete 100 µl de conjugado pronto a usar em cada poço e incube durante 30 min. à temperatura ambiente.**
- 6. Remova a solução dos poços através de aspiração ou drenagem.**

7. Lave cada poço 3 vezes com 300 μ l de tampão de lavagem preparado. Remova o tampão após cada uma das lavagens.
8. Pipete 100 μ l de solução de substrato de TMB em cada um dos poços.
9. Incube durante 10 min. à temperatura ambiente, no escuro. Inicie a cronometragem após o primeiro poço ser enchido.
10. Interrompa a reacção adicionando 100 μ l de solução de paragem por poço. Adicione a solução de paragem na mesma ordem em que adicionou a solução de substrato.
11. Meça a OD no leitor de placas a 450 nm dentro de 20 min. após interromper a acção.

Opcionalmente pode medir a um comprimento de onda de referência (620 a 650 nm).

Interpretação dos dados

Critérios de validação

Os resultados serão válidos se forem satisfeitos os seguintes critérios:

- A OD média do controlo positivo tem de ser $\geq 0,7$
- A OD média do controlo negativo tem de ser $\leq 0,2$

Em caso de ensaios inválidos, o teste deve ser repetido após uma revisão profunda das instruções de utilização.

Cálculo

Calcule os valores médios (MV) da OD medida para o controlo negativo (NC) e para o controlo positivo (PC).

O rácio (S/P) de OD de amostra por OD média do controlo positivo calcula-se segundo a seguinte equação:

$$S/P = \frac{OD_{\text{amostra}} - MV OD_{\text{NC}}}{MV OD_{\text{PC}} - MV OD_{\text{NC}}}$$

Protocolo de interpretação curto (incubação de 60 min. da amostra)

São positivas as amostras com rácio S/P $\geq 0,3$.

Foram detectados anticorpos específicos das spp. *Trichinella*.

São negativas as amostras com rácio S/P $< 0,3$.

Não foi possível detectar anticorpos específicos das spp.

Trichinella.

Protocolo de interpretação de um dia para o outro (incubação da amostra durante a noite)

São positivas as amostras com rácio S/P $\geq 0,45$.

Foram detectados anticorpos específicos das spp. *Trichinella*.

São negativas as amostras com rácio S/P $< 0,45$.

Não foi possível detectar anticorpos específicos das spp.

Trichinella.

Guia de resolução de problemas

Os cientistas da Assistência Técnica da QIAGEN estão sempre prontos a responder a qualquer questão que possa ter sobre as informações e/ou protocolos constantes deste manual ou sobre as tecnologias de amostras e testes (para informações de contacto, consulte o verso do manual ou visite-nos em www.qiagen.com).

Informações para encomendar

Produto	Conteúdo	Ref.º
<i>pigtype</i> Trichinella Ab (1)	Para 96 reacções: 1 placa de teste (tiras), tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273501
<i>pigtype</i> Trichinella Ab (5)	Para 480 reacções: 5 placas de teste (tiras), tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273503
<i>pigtype</i> Trichinella Ab (20)*	Para 1920 reacções: 20 placas de teste, tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273505
Produtos relacionados		
<i>pigtype</i> Salmonella Ab (5)†	Para 480 reacções: 5 placas de teste (tiras), tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273003

* Apenas disponível sob solicitação.

† Disponíveis outros tamanhos de kit; consulte www.qiagen.com.

Produto	Conteúdo	Ref.ª
<i>pigtype</i> Yersinia Ab (1)	Para 96 reacções: 1 placa de teste (tiras), tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273801
<i>pigtype</i> Toxoplasma Ab (5)*†	Para 480 reacções: 5 placas de teste (tiras), tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	273403
<i>pigtype</i> PRRSV Ab (5)*†	Para 480 reacções: 5 placas de teste (tiras), tampão, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem	272703

* Disponíveis outros tamanhos de kit; consulte www.qiagen.com.

† Homologação por parte do FLL pendente.

A QIAGEN oferece uma gama de kits ELISA e kits de PCR em tempo real e RT-PCR em tempo real para a detecção de agentes patogénicos animais. Visite www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing para mais informações sobre os produtos *bactotype*[®], *cador*[®], *cattletype*[®], *flocktype*[®], *pigtype*[®] e *virotype*[®].

Para informações actualizadas sobre licenciamento e avisos legais específicos do produto, consulte o respectivo guia ou o manual do utilizador do kit QIAGEN. Os guias e manuais do utilizador do kit QIAGEN estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser solicitados à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Guia rápido

Diluição de amostras:

Soro/plasma 1:100

Mioglobina 1:10

Passo	Protocolo curto	Protocolo de um dia para o outro
1. Amostra		100 µl/poço
2. Incubação	60 min. à temperatura ambiente	De um dia para o outro entre 2 e 8 °C
3. Lavagem		3 x 300 µl
4. Conjugado		100 µl/poço
5. Incubação	30 min. à temperatura ambiente	
6. Lavagem		3 x 300 µl
7. TMB		100 µl/poço
8. Incubação	10 min. à temperatura ambiente	
9. Paragem		100 µl/poço
10. Leitura		450 nm

Interpretação dos dados

	Negativo	Positivo
Protocolo curto	S/P <0,3	S/P ≥0,3
Protocolo de um dia para o outro	S/P <0,45	S/P ≥0,45

Notas

Notas

Notas

Marcas comerciais: QIAGEN®, *bactotype*®, *cador*®, *cattletype*®, *flocktype*®, *pigtype*®, *virotype*® (Grupo QIAGEN). Os nomes registados, marcas comerciais, etc. utilizados neste documento, mesmo quando não especificamente indicados como tal, não deverão ser considerados como não protegidos pela legislação.

A utilização deste produto implica a aceitação dos seguintes termos por parte de qualquer comprador ou utilizador do produto:

1. O produto deverá ser usado unicamente em conformidade com os protocolos fornecidos com o produto e com o presente manual e recorrendo à utilização exclusiva de componentes contidos no kit. Nos termos dos direitos de propriedade intelectual, a QIAGEN não concede nenhuma licença para usar ou incluir os componentes englobados neste kit com qualquer componente não incluído neste kit, salvo conforme descrito nos protocolos fornecidos com o produto, no presente manual, e em quaisquer protocolos adicionais disponíveis em www.qiagen.com. Alguns dos referidos protocolos adicionais foram fornecidos por utilizadores QIAGEN para utilizadores QIAGEN. Os referidos protocolos não foram testados de forma exaustiva ou otimizados pela QIAGEN. A QIAGEN não assegura nem garante que os referidos protocolos não infringem os direitos de terceiros.
2. Salvo em licenças expressamente declaradas, a QIAGEN não presta qualquer garantia de que este kit e/ou a sua utilização ou utilizações não infringam os direitos de terceiros.
3. Este kit e os seus componentes estão licenciados para uma única utilização e não podem ser reutilizados, renovados nem ser objecto de venda.
4. A QIAGEN não se responsabiliza especificamente por quaisquer outras licenças, expressas ou implícitas, salvo as expressamente declaradas.
5. O comprador e utilizador do kit concorda em não tomar nem permitir que terceiros tomem medidas que possam conduzir ou facilitar quaisquer dos actos proibidos acima mencionados. A QIAGEN pode fazer cumprir as proibições do presente Contrato de Licença Limitada em qualquer tribunal e deverá recuperar todas as custas de tribunal e de investigação em que incorra, incluindo honorários de advogados, em qualquer processo destinado a fazer cumprir o presente Contrato de Licença Limitada ou qualquer um dos seus direitos de propriedade intelectual relativos ao kit e/ou aos seus componentes.

Para obter os termos de licença actualizados, consulte www.qiagen.com.

© 2013 QIAGEN, todos os direitos reservados.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

