

Manual do *virotype*[®] Tissue Lysis Reagent



100 ml (ref.º 289992)



250 ml (ref.º 289993)

Reagente de lise de tecido para lise rápida de vários tipos de amostra

REF

289992, 289993



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



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 alta 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 oferece agora soluções moleculares de alta qualidade, sensíveis e fáceis de utilizar, que permitem a identificação e investigação de agentes patogénicos animais. O portfólio de agentes patogénicos animais da QIAGEN inclui uma vasta gama de reagentes de PCR específicos de cada agente patogénico.

Índice

Conteúdo do kit	4
Utilização prevista	4
Armazenagem	4
Símbolos	5
Informações de segurança	5
Controlo de qualidade	6
Protocolos:	
■ Lise de amostras de tecido da orelha	7
■ Lises de esfregaços aviários	9
Guia de resolução de problemas	11
Informações para encomendar	12

Conteúdo do kit

<i>virotype</i> Tissue Lysis Reagent		
Ref.^o	289992	289993
<i>virotype</i> Tissue Lysis Reagent	100 ml	250 ml
Handbook (Manual)	1	1

Utilização prevista

O *virotype* Tissue Lysis Reagent é um reagente de extracção para uma rápida preparação de vários tipos de amostra sem procedimentos de extracção de ácidos nucleicos. O *virotype* Tissue Lysis Reagent foi concebido e homologado para preparação de amostras de tecido fresco ou seco da orelha de bovinos (tecido da orelha com Ø entre 2 e 3 mm) e para esfregaços traqueais (amostras individuais e em pool) de galinhas e perus. A lise de outros tipos de amostra é possível mas é necessário ser homologada pelo cliente.

Armazenagem

O *virotype* Tissue Lysis Reagent deve ser armazenado entre -15 e -30 °C, mantendo a sua estabilidade até à data de validade declarada no rótulo. Congele os componentes em alíquotas caso só sejam utilizados de forma intermitente.

Símbolos



Contém <N> de volume



Fabricante legal



Número de lote



Prazo de validade



Limites de temperatura de armazenamento



Manual



Ref.^ª



Número do material



Proteger da luz

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.

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 *virotype* Tissue Lysis Reagent são testados quanto às especificações predeterminadas, a fim de garantir uma qualidade constante do produto.

Protocolo 1: Lise de amostras de tecido da orelha

Atenção:

Este protocolo apenas foi homologado para amostras de tecido da orelha de bovinos (2–3 mm de diâmetro) e a subsequente aplicação a jusante utilizando o kit *virotype* BVDV RT-PCR*.

Procedimento

1. Coloque o *virotype* Tissue Lysis Reagent à temperatura ambiente (18 a 26 °C) antes da utilização. Calcule e meça o volume necessário e congele o tampão de lise restante.
2. Adicione 200 µl de *virotype* Tissue Lysis Reagent a cada amostra de tecido da orelha (Ø 2–3 mm) directamente no dispositivo de colheita.
3. Sele os tubos com as tampas correspondentes ou com película de alumínio, adequada para incubações a quente.
4. Incube a amostra conforme exibido na Tabela 1.

Tabela 1. Períodos de incubação

Passo	Temperatura	Tempo
1	65 °C†‡	30 min
2	98 °C†	15 min

† Efectue a incubação numa estufa de dessecação ou de esterilização. Os blocos de aquecimento são apenas recomendados para tubos de reacção próprios.

‡ Os períodos de incubação podem ser prolongados em até 10 minutos.

5. Deixe que a amostra arrefeça durante 5 minutos entre 2 e 8 °C (por ex., em gelo).

* Não disponível nos EUA ou Canadá.

- 6. Processar lisados rapidamente. Os lisados que não serão testados imediatamente podem ser armazenados durante até 12 h entre 2 e 8 °C ou durante até 6 meses entre -15 e -30 °C.**

Compilação de pools

Após a conclusão da lise de amostras individuais de tecido da orelha, faça pools de volume igual (pelo menos 10 µl) de lisados e misture (por ex., pools de 20: pool de 10 µl de 20 lisados respectivamente [volume de pool de amostras total de 200 µl]).

RT-PCR em tempo real

O *virotype* Tissue Lysis Reagent apenas foi homologado em combinação com o kit *virotype* BVDV RT-PCR.

5 µl de cada pool/lisado são testados directamente com o kit *virotype* BVDV RT-PCR. Em casos raros, em função da qualidade da amostra, a realização de testes a lisados de amostras individuais pode resultar em testes inválidos, em consequência da inibição de PCR (a fluorescência FAM e a fluorescência HEX não são detectadas). Nesses casos, recomendamos misturar 2,5 µl de lisado com 2,5 µl de água sem RNase e repetir o teste.

Descongele os lisados congelados à temperatura ambiente e misture suavemente a amostra passando-a para uma ponta de pipeta e expelindo-a de volta para o dispositivo de colheita, repetindo o processo algumas vezes antes da utilização.

Protocolo 2: Lises de esfregaços aviários

Procedimento

1. Coloque o *virotype* Tissue Lysis Reagent à temperatura ambiente (18 a 26 °C) antes da utilização. Calcule e meça o volume necessário e congele o tampão de lise restante.
2. Dilua o *virotype* Tissue Lysis Reagent a 1:5 em água sem nuclease ou em solução salina tamponada com fosfato. Em alternativa, é possível reutilizar o *virotype* Tissue Lysis Reagent não diluído.
3. Coloque o esfregaço num tubo de reacção descartável adequado (consultar Tabela 2).
4. Adicione o *virotype* Tissue Lysis Reagent a cada tubo de reacção. Certifique-se de que todos os esfregaços ficam totalmente cobertos pelo *virotype* Tissue Lysis Reagent (Tabela 2).

Tabela 2. Tipos de esfregaço

	Amostra individual	Pools		
		Zaragatoa fina	Zaragatoa grossa	
Tubo de reacção	2 ml	2 ml	Tubo de fundo redondo de 15 ml	
Esfregaços	1	2-5	2-3	4-5
Tampão de lise	500 µl	500 µl	1000 µl	1500 µl

5. Feche os tubos de reacção com a tampa correspondente e centrifugue brevemente.
6. Incube a amostra conforme exibido na Tabela 3.

Tabela 3. Períodos de incubação

Passo	Temperatura	Tempo
1	65 °C*†	30 min
2	98 °C*	15 min

* Efectue a incubação numa estufa de dessecação ou de esterilização. Os blocos de aquecimento são apenas recomendados para tubos de reacção próprios.

† Os períodos de incubação podem ser prolongados em até 10 minutos.

7. **Deixe que a amostra arrefeça durante 5 minutos entre 2 e 8 °C (por ex., em gelo).**
8. **Processar lisados rapidamente. Os lisados que não serão testados imediatamente podem ser armazenados durante até 5 dias entre 2 e 8 °C ou durante até 6 meses entre -15 e -30 °C.**

Compilação de pools

Para pools de teste de até 10 esfregaços, retire volumes iguais dos lisados após a conclusão da lise e misture-os bem (pelo menos 10 µl de cada lisado).

PCR em tempo real

5 µl de cada lisado/pool são testados directamente com o kit *bactotype Mycoplasma Mg/Ms PCR*[†]. Em casos raros, em função da qualidade da amostra, a realização de testes a lisados de amostras individuais pode resultar em testes inválidos, em consequência da inibição de PCR (não é detectada qualquer fluorescência). Nesses casos, recomendamos misturar 2,5 µl de lisado com 2,5 µl de água sem nuclease e repetir o teste.

Descongele os lisados congelados à temperatura ambiente e centrifugue as amostras brevemente.

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).

[†] Não disponível nos EUA ou Canadá.

Informações para encomendar

Produto	Índice	Ref.º
<i>virotype</i> Tissue Lysis Reagent (100 ml)	Reagente de lise de tecido, 100 ml	289992
<i>virotype</i> Tissue Lysis Reagent (250 ml)	Reagente de lise de tecido, 250 ml	289993
Produtos relacionados		
<i>virotype</i> BVDV RT- PCR Kit (96)*†	Para 96 reacções: PCR Mix (mistura de PCR), Enzyme Mix (mistura de enzimas), Positive Control (controlo positivo), Negative Control (controlo negativo)	280375
<i>bactotype</i> Mycoplasma Mg/Ms PCR Kit (96)*†	Para 96 reacções: Master Mix (mistura principal), Positive Control (controlo positivo), Negative Control (controlo negativo)	288105

*Não disponível nos EUA ou Canadá.

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

Para informações actualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consulte o respectivo manual de instruções do kit QIAGEN ou o manual do utilizador. Os manuais de instruções do kit QIAGEN e os manuais do utilizador estão disponíveis em www.qiagen.com ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Notas

Marcas comerciais: QIAGEN®, *bactotype*®, *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.

Acordo de licenciamento limitado para o *virotype* Tissue Lysis Reagent.

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 revenda.
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

Canada ■ techservice-ca@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

USA ■ techservice-us@qiagen.com

