

# Manual do *pigtype*<sup>®</sup> *Yersinia* Ab



1 (ref.º 273801)



5 (ref.º 273803)\*



20 (ref.º 273805)\*

Para a detecção de anticorpos  
de *Yersinia* patogénica

Registado em conformidade com § 17c da Lei Alemã  
relativa a Doenças de Animais (FluB 441)

**REF**

273801, 273803, 273805



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 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](http://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](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing).

## **Índice**

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Conteúdo do kit</b>  | <b>4</b>  |
| <b>Utilização prevista</b>  | <b>5</b>  |
| <b>Símbolos</b>   | <b>5</b>  |
| <b>Armazenagem</b>  | <b>6</b>  |
| <b>Informações de segurança</b>                                   | <b>6</b>  |
| <b>Controlo de qualidade</b>                                      | <b>7</b>  |
| <b>Introdução</b>   | <b>8</b>  |
| Princípio   | 8         |
| <b>Equipamento e reagentes a serem fornecidos pelo utilizador</b> | <b>9</b>  |
| <b>Precauções gerais</b>  | <b>10</b> |
| <b>Protocolo:</b>   |           |
| ■ <b>ELISA</b>  | <b>12</b> |
| <b>Interpretação dos dados</b>                                    | <b>14</b> |
| Critérios de validação  | 14        |
| <b>Guia de resolução de problemas</b>                             | <b>16</b> |
| <b>Informações para encomendar</b>                                | <b>17</b> |
| <b>Guia rápido</b>  | <b>20</b> |
| <b>Interpretação dos dados</b>                                    | <b>20</b> |

## Conteúdo do kit

| <b><i>pigtype</i> Yersinia Ab</b>   |               |                |                |
|---|---------------|----------------|----------------|
| <b>Ref.<sup>a</sup></b>   | <b>273801</b> | <b>273803*</b> | <b>273805*</b> |
| <b>Número de placas</b>   | <b>1</b>      | <b>5</b>       | <b>20</b>      |
| Placa de teste: placa de microtitulação com 96 poços, revestidos com antigénio <i>Yersinia</i> não infeccioso | 1             | 5              | 20             |
| Sample diluent (diluyente de amostras), pronto a usar   | 1 x 60 ml     | 2 x 125 ml     | 2 x 500 ml     |
| Negative Control (controlo negativo), pronto a usar   | 1 x 1,5 ml    | 1 x 3,5 ml     | 2 x 3,5 ml     |
| Positive Control (controlo positivo), pronto a usar   | 1 x 1,5 ml    | 1 x 3,5 ml     | 2 x 3,5 ml     |
| Wash buffer (tampão de lavagem) (10x)   | 1 x 125 ml    | 2 x 125 ml     | 2 x 500 ml     |
| Conjugate (conjugado), pronto a usar  | 1 x 12 ml     | 1 x 60 ml      | 1 x 240 ml     |
| TMB substrate (substrato de TMB), pronto a usar   | 1 x 12 ml     | 1 x 60 ml      | 1 x 240 ml     |
| Stop solution (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* Yersinia Ab é um ELISA específico e sensível para detecção de anticorpos de *Yersinia* patogénica em amostras de soro, plasma e mioglobina provenientes de suínos. O kit foi aprovado pelo Friedrich-Loeffler-Institut e registado em conformidade com § 17c da Lei Alemã relativa a Doenças de Animais (FLI-B 441) para utilização na Alemanha para procedimentos de diagnóstico veterinário. Apenas para uso veterinário.

## Símbolos



Contém reagentes para  $\langle N \rangle$  placas



Fabricante legal



Número de lote



Prazo de validade



Limites de temperatura de armazenamento



Manual



Ref.<sup>o</sup>



Número do material



Proteger da luz



Para amostras de porcos

## Armazenagem

Os componentes do Kit *pigtype* Yersinia 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. Se forem fornecidas tiras de teste com o kit, armazene as tiras de teste restantes 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](http://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* Yersinia Ab são testados quanto às especificações predeterminadas, a fim de garantir uma qualidade constante do produto.

## Introdução

O *pigtype* Yersinia Ab é uma solução altamente específica e sensível para a detecção de anticorpos das estirpes patogénicas de *Yersinia*. Os antigénios (proteínas externas de *Yersinia*) utilizados neste teste são produzidos somente por estirpes patogénicas, abrangendo todos os serotipos. Consequentemente, é excluída a reactividade cruzada dos anticorpos a espécies não patogénicas ou a outras enterobactérias.

Ao género *Yersinia* pertencem quinze espécies. Três delas (*Y. pestis*, *Y. enterocolitica* e *Y. pseudotuberculosis*) são patogénicas para os humanos. Conforme a directiva 2003/99/CE, a yersiniose, e seus agentes, são zoonoses a monitorizar.

O *pigtype* Yersinia Ab é um método eficaz de monitorização do estado de infecção de rebanhos por longos períodos de tempo e de controlo do estado sorológico de animais adquiridos.

## Princípio

O *pigtype* Yersinia Ab é um ELISA indirecto. A placa de teste de microtitulação é revestida com antigénio *Yersinia* recombinante e não infeccioso. Durante a incubação das amostras, os anticorpos específicos de *Yersinia* ligam-se ao antigénio imobilizado. O material não ligado é removido através de lavagem. O conjugado anti-IgG-HRP detecta anticorpos no soro ligados ao antigénio. O conjugado não ligado é removido através de lavagem. É iniciada uma reacção colorimétrica adicionando solução de substrato, interrompendo-se a reacção após 10 minutos. Na presença de anticorpos

específicos de *Yersinia*, dentro da amostra, a HRP catalisa um desenvolvimento de cor azul, que se torna amarelo após adicionar a solução de paragem. A absorvância (OD) mede-se num espectrofotómetro. Os valores de OD correlacionam-se com a concentração de anticorpos específicos de *Yersinia* 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.

**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. Coloque 90 µl de diluente de amostra em cada poço. Adicione 10 µl de amostra de mioglobina não diluída e misture bem (veja o procedimento 1a).

Extraia amostras de mioglobina de aproximadamente 10 g de tecido contaminado isento de gordura e de sangue, do pilar do diafragma, num dispositivo de colheita de mioglobina, congelando e descongelando (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 10.

### Procedimento

- 1. Pipete 100  $\mu$ l de cada um dos controlos negativos (em duplicado) e dos controlos positivos (em duplicado) prontos a usar, e as amostras diluídas 1:10 de carne/ou as amostras diluídas 1:100 de soro ou plasma para os poços da placa de testes.**
- 1a. Alternativamente, pipete 90  $\mu$ l de diluente de amostras para cada poço de amostra e adicione 10  $\mu$ l da amostra não diluída de mioglobina. 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 de um dia para o outro entre 2 e 8 °C.**
- 3. Remova a solução dos poços através de aspiração ou drenagem.**
- 4. Lave cada poço 3 vezes com 300  $\mu$ l de tampão de lavagem preparado. Remova o tampão após cada uma das lavagens.**
- 5. Pipete 100  $\mu$ l 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 µl de tampão de lavagem preparado. Remova o tampão após cada uma das lavagens.
8. Pipete 100 µl 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 µl 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:

- O valor médio (MV) do valor medido de OD do controlo positivo (PC) tem de ser  $\geq 0,7$
- O valor médio (MV) do valor medido de OD do controlo negativo (NC) tem de ser  $\leq 0,3$

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

### Cálculo

Calcule o 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:

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

## Interpretação dos resultados

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

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

Foram detectados anticorpos específicos das spp. *Yersinia*.

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

Não foi possível detectar anticorpos específicos das spp. *Yersinia*.

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

**São positivas as amostras com rácio S/P  $\geq 0,4$ .**

Foram detectados anticorpos específicos das spp. *Yersinia*.

**São negativas as amostras com rácio S/P  $< 0,4$ .**

Não foi possível detectar anticorpos específicos das spp. *Yersinia*.

## **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](http://www.qiagen.com)).

## Informações para encomendar

| <b>Produto</b>                         | <b>Conteúdo</b>   | <b>Ref.º</b> |
|--|---|--------------|
| <i>pigtype</i><br>Yersinia<br>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><br>Yersinia Ab<br>(5)*  | Para 192 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 | 273803       |
| <i>pigtype</i><br>Yersinia Ab<br>(20)* | Para 96 reacções: 20 placas de teste, tampão de lavagem, diluente de amostras, controlo positivo, controlo negativo, conjugado, solução de substrato de TMB, solução de paragem         | 273805       |

\* Apenas disponível sob solicitação.

| <b>Produto</b>                           | <b>Conteúdo</b>   | <b>Ref.ª</b> |
|--|---|--------------|
| <b>Produtos relacionados</b>             |   |              |
| <i>pigtype</i><br>Salmonella<br>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       |
| <i>pigtype</i><br>Trichinella<br>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><br>Toxoplasma<br>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><br>PRRSV Ab<br>(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](http://www.qiagen.com).

† Homologação por parte do FLI 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](http://www.qiagen.com/Animal-and-Veterinary-Testing) para mais informações sobre o *bactotype*<sup>®</sup>, *cador*<sup>®</sup>, *cattletype*<sup>®</sup>, *flocktype*<sup>®</sup>, *pigtype* e *virotype*<sup>®</sup>.

Para informações actualizadas sobre licenciamento e avisos legais específicos do produto, consulte o respectivo guia ou o manual do utilizador do kit QIAGEN. Os manuais de instruções do kit QIAGEN e os manuais do utilizador estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser pedidos à Assistência Técnica ou ao distribuidor local da QIAGEN.

## Guia rápido

Diluição de amostras:

Soro/plasma 1:100

Mioglobina 1:10

| <b>Passo</b> | <b>Protocolo curto</b>               | <b>Protocolo de um dia para o outro</b>     |
|--------------|--------------------------------------|---|
| 1. Amostra   |                                      | 100 µl/poço                                 |
| 2. Incubação | 60 min.<br>à temperatura<br>ambiente | De um dia para<br>o outro entre<br>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

|                                  | <b>Negativo</b> | <b>Positivo</b> |
|----------------------------------|-----------------|-----------------|
| Protocolo curto                  | S/P <0,3        | S/P ≥0,3        |
| Protocolo de um dia para o outro | S/P <0,4        | S/P ≥0,4        |

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](http://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 infrinjam 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](http://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

