



PCRRun™

Tick-Borne Molecular Detection Panel

Cat. No.30QTR102

Somente para uso Veterinário e *In vitro*

SKU30QTR102 **Instruções de uso**

FINALIDADE

O Pannel de Detecção Molecular PCRRun® Quattro destina-se à detecção de quatro patógenos transmitidos por carrapatos: *Ehrlichia canis*, *Anaplasma platys*, *Babesia canis (canis e vogeli)* e *Babesia gibsoni* em DNA extraído de sangue total com o kit de Extração de DNA nº 30PRE104. O kit foi projetado para ser usado na detecção de infecções agudas e contém todos os componentes necessários para realizar um teste fácil e preciso para esses quatro patógenos.

PRINCÍPIO

O PCRRun® Quattro é um ensaio molecular baseado na amplificação isotérmica de genes específicos de patógenos. Destina-se à detecção qualitativa de quatro organismos transmitidos por carrapatos separados, *E. canis*, *A. platys*, *B. canis (canis e vogeli)* e *B. gibsoni*. Este kit foi projetado para ser usado com um bloco de calor compatível.

ESTOCAGEM E MANUSEIO

- Conservar entre 2-25 °C (temperatura ambiente ou refrigerado)
- Evitar exposição direta de luz solar.
- Não utilizar após a validade informada no rótulo.
- Não congelar.
- Não submeter a altas temperaturas

Precauções:

- Para evitar contaminação de DNA na reação, sempre utilizar luvas descartáveis durante a realização do teste.
- Abrir e remover os tubos de reação PCRRun das embalagens seladas de alumínio, somente imediatamente antes da sua utilização.
- Retornar os tubos de reação PCRRun não utilizados para o pacote de alumínio original, juntamente com o secador. Selar com fita adesiva.**
- Não utilize o kit se a bolsa ou os componentes estiverem danificados.
- Cada componente neste kit é adequado para uso apenas com um número de lote específico. Os componentes foram homologados no controle da qualidade como unidade de lote padrão. Não misturar componentes de diferentes números de lote.
- Utilizar procedimentos sanitários do Brasil, destinados a resíduos biológicos e moleculares, no manuseio e descarte de componentes do kit.
- Realizar a extração de DNA em uma área separada da área utilizada para a reação PCRRun

INFORMAÇÕES

Os carrapatos são conhecidos por serem portadores de uma variedade de organismos potencialmente patogênicos, como rickettsias, bactérias, vírus e protozoários. Um carrapato individual pode abrigar vários agentes e, como resultado, podem ocorrer co-infecções, agravando a dificuldade de diagnóstico e tratamento.

DIAGNÓSTICO

Características clínicas, histórico e exames laboratoriais são essenciais para o diagnóstico preciso das doenças. Historicamente, o exame microscópico de esfregaços de sangue tornou-se o teste mais comum usado, mas a identificação correta do patógeno alvo é subjetivamente difícil com uma alta ocorrência de interpretações incorretas. Testes adicionais incluem imunofluorescência indireta (IFI), ensaio imunoenzimático (ELISA) e reação em cadeia da polimerase

(PCR). O uso de testes de anticorpos em estágios agudos da doença pode resultar falsos-negativos, pois os sinais clínicos precedem a geração de títulos de anticorpos e os pacientes imunocomprometidos não produzem anticorpos mensuráveis. A presença de títulos de anticorpos nem sempre define uma doença presente, mas pode ser uma indicação de uma exposição anterior ao patógeno. Para verificar a infecção, deve ser demonstrada a soroconversão.

O PCRRun® Quattro fornece um teste rápido de diagnóstico diferencial para todos os quatro patógenos presentes no pannel. O nível de detecção do teste é altamente específico e sensível durante a doença ativa e é aplicável antes da soroconversão e aparecimento de títulos mensuráveis de anticorpos. O teste fornece uma ajuda precisa no diagnóstico, permitindo um protocolo de tratamento ideal.^{1,2}

CONTEÚDO DO KIT

Conteúdo	Quantidade
Quatro tubos de PCR codificados por cores. (Veja o código de cores abaixo)	2
Envelope de alumínio com dispositivo de detecção de ácido nucleico descartável.	8
Tubos capilares de plástico descartáveis de 20 µL*	10

Código de cores:

- ✓ Vermelho: *Ehrlichia canis*;
- ✓ Amarelo: *Anaplasma platys*;
- ✓ Azul: *Babesia canis*;
- ✓ Verde: *Babesia gibsoni*.

* Pipetas calibradas e ponteiros com barreira para aerossol podem ser usada no lugar das pipetas de plástico.

EQUIPAMENTOS E SOLUÇÕES NECESSÁRIOS:

- Biogal PCRRun® Extrator de DNA da Amostra
- Bloco de aquecimento a 60 °C compatível com tubos de 0,2 mL para PCR.
- Bloco de aquecimento (é comercializado pela Biogal)
- Temporizador
- Tesoura
- Caneta marcadora permanente de ponta fina
- Luvas descartáveis

COLETA, ESTOCAGEM E TRANSPORTE

O kit é adequado para detectar ácido nucleico extraído de 50 µL de sangue total de preferência com EDTA, usando o Kit de Extração Rápida de DNA PCRRun® Sample Prep (Cat No. 30PRE104). Os anticoagulantes sanguíneos têm uma consequência substancial nas reações de PCR, portanto, é imperativo que o volume ideal de sangue seja coletado conforme indicado no tubo. Para obter melhores resultados, amostras adquiridas recentemente e extratos de DNA recém-preparados são recomendados para uso com o kit PCRRun®. A menos que recomendado de outra forma, amostras e extratos de DNA podem ser mantidos a 2-8°C por até 24 horas ou -20°C por um tempo maior.

PROTOCOLO - REAÇÃO PCRRun®

1. Limpe a área de trabalho para o ensaio com solução de hipoclorito a 3,5%, diluído com água numa proporção de 1:10.

2. Material para o ensaio:

- DNA extraído da amostra com Kit de Extração Rápida de DNA PCRRun® Sample Prep (Cat No. 30PRE104)
- Embalagem com os tubos de reação;
- Pipetas capilares para 20 µL de volume;
- Marcador de ponta fina;

3. Ligue o bloco de aquecimento e ajustar a 60°C. Assim que o bloco atingir a temperatura, prossiga.

4. Retire e destaque os tubos necessários para a reação PCRRun® da embalagem. Oito tubos individuais estão ligados por um espaçador de plástico fino. Utilizando uma tesoura pequena e limpa, destacar o número necessário de tubos sem abrir as tampas. Tomar cuidado para retornar os tubos não utilizados para

o envelope de alumínio e selar completamente com fita adesiva para manter um ambiente seco. Bata o tubo verticalmente e suavemente sobre uma superfície plana e firme para que todo o conteúdo desça ao fundo do tubo. A pequena pastilha branca deve estar localizada na parte inferior do tubo.

5. Identifique os tubos com o número de cada amostra.

6. Abra cuidadosamente a tampa dos tubos de reação, um de cada vez. Com o tubo capilar descartável de 20 µL, pipete 20 µL do DNA extraído com o Kit de Extração de DNA PCRun® e transfira-o para o tubo de reação. Confira se todo o conteúdo da pipeta capilar foi transferido corretamente ao tubo. Bata suavemente o tubo de reação em uma superfície rígida para trazer tudo o fluido para o fundo do mesmo. Encube o tubo em temperatura ambiente por 1 minuto para permitir que o *pellet* se dissolva completamente.

7. Coloque o tubo de reação no orifício apropriado no bloco de aquecimento pré-aquecido (60 °C) e incube durante exatamente 1 hora. Não abra a tampa do tubo durante ou no final do período de incubação.

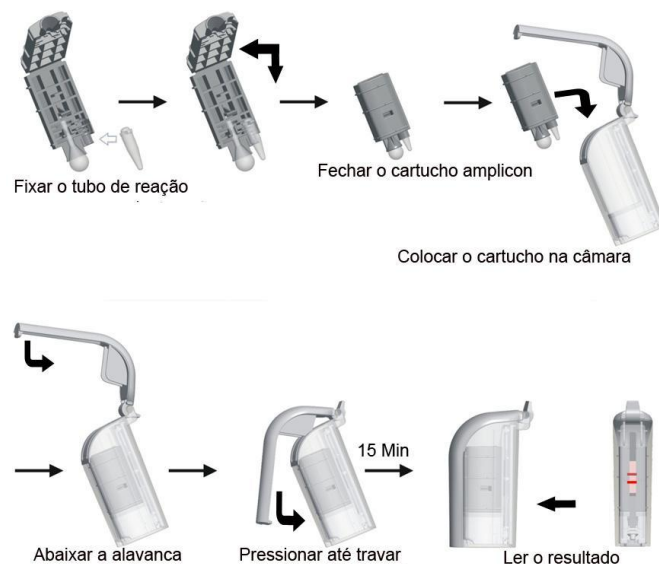
8. No final do período de incubação (1 hora), remova o tubo do bloco de aquecimento e imediatamente analise com o dispositivo de detecção de ácido nucleico.

REAÇÃO COM O DISPOSITIVO DE DETECÇÃO de DNA

É necessário um dispositivo de detecção de ácido nucleico descartável para cada amostra. Abrir e remover os componentes do dispositivo de detecção. O dispositivo é composto por duas peças de plástico, contendo no cartucho *amplicon* um bulbo com tampão e a câmara de detecção, contendo a tira de fluxo lateral (Fig. 1).

1. Verificar se o bulbo contém o tampão.
2. Identificar cada dispositivo com o número da amostra.
3. Fixar a seção da tampa do tubo de reação no espaço localizado ao lado do bulbo com tampão. Aplique uma leve pressão para prender o tubo de reação no cartucho *amplicon* (Fig. 1).
4. Feche bem o cartucho *amplicon*. Colocar o cartucho na câmara de detecção com o bulbo virado para baixo e para frente do dispositivo.
5. Empurrar a alavanca para baixo para travar o dispositivo.
6. Leia os resultados em 15 minutos. Resultados lidos após 30 minutos são inválidos.

FIG. 1



LEITURA E INTERPRETAÇÃO DO RESULTADO

Cada tubo de ensaio é lido separadamente. Os códigos de cores são:

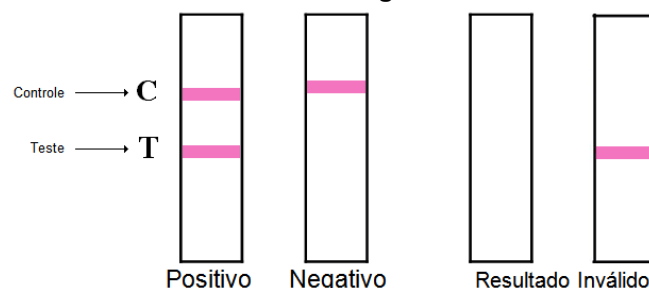
Vermelho: *Ehrlichia canis*,
Amarelo: *Anaplasma platys*,
Azul: *Babesia canis*,
Verde: *Babesia gibsoni*.

A presença de mais de uma reação positiva indica coinfeção. Um ensaio válido deve apresentar uma banda de controle vermelha. A linha de controle deve aparecer independentemente de um resultado positivo ou negativo. (Figura 2):

1. **Resultado positivo** – duas bandas aparecem, a linha de controle superior e a linha de teste inferior. A aparência da linha de controle e da linha de teste indica a presença do DNA alvo.

2. **Resultado negativo** – uma única linha de controle é exibida. O aparecimento de apenas uma linha de controle indica a ausência do DNA alvo ou que o número de cópias está abaixo do limite de detecção.

Fig. 2



LIMITAÇÕES

Como acontece com qualquer kit de diagnóstico, os resultados obtidos devem ser usados como adjuvantes de outros achados clínicos e laboratoriais. A precisão dos resultados do teste depende da qualidade da amostra e da adesão ao protocolo. Pode ocorrer um resultado negativo se a amostra for inadequada ou se a concentração do agente patogénico-alvo for inferior à sensibilidade do ensaio. Animais submetidos a tratamento com antibióticos ou antiprotozoários provavelmente apresentarão um resultado negativo de PCRun®.

SENSIBILIDADE

Este teste pode detectar 10³ cópias do gene alvo no DNA purificado.

REFERÊNCIAS

1. Are vector-borne pathogen co-infections complicating the clinical presentation in dogs? De Tommasi et al. Parasites & Vectors 2013, 6:97.
2. CVBD Digest No 2 2008. A challenge for the practitioner- co-infection with vector-borne pathogens in dogs..



Importador e Distribuidor Exclusivo:
JMR Trading Ltda/VP Diagnóstico. CNPJ: 11.857.347/0001-71
Registro no MAPA: PR 000017-5
Rua Mandaguari, 1752, Pinhais, PR, Brasil, CEP: 83.325-015
Resp Téc.: Margareth Carvalo S. Agottani (CRMV-PR 3288)
SAC: info@vpdiagnostico.com.br / www.vpdiagnostico.com.br
PRODUTO PARA USO VETERINÁRIO – NÃO NECESSITA DE REGISTRO



Fabricante:
Biogal Galed Labs
Kibbutz Galed, 1924000
Tel: +972-4-9898605
www.biogal.com