Systém RealPCR\* MilQ-ID DNA

Systém RealPCR MilQ-ID DNA se používá k identifikaci DNA mikroorganismů obvykle spojovaných s bovinní mastitidou ve vzorcích mléka (vzorky konzervovaného, čerstvého nebo bazénového mléka). Systém také detekuje gen beta-laktamázy grampozitivních bakterií.

REF 99-56061, 99-56062, 99-56063, 99-56064 Test With Confidence1

Systém RealPCR\* MilQ-ID DNA

Pouze pro veterinární účely.

Název a určené použití

Systém RealPCR MilQ-ID DNA sestává z cílových směsí pro multiplexní PCR v reálném čase, které se používají k identifikaci a diferenciaci DNA mikroorganismů vyvolávajících mastitidu a k detekci genu beta-laktamázy grampozitivních bakterií. Systém lze použít k vyšetření konzervovaných i nekonzervovaných vzorků mléka a také vzorků bazénového mléka.

Obecné informace

Mastitida je nejčastějším a nejnákladnějším onemocněním dojnic. Obvykle vzniká jako imunitní odpověď na bakteriální invazi strukového kanálku bakteriemi vyskytujícími se v chovu. Rozlišujeme dvě hlavní skupiny patogenů vyvolávajících mastitidu, a to jsou nakažlivé patogeny a patogeny z prostředí. Patogeny vyvolávající mastitidu mohou infikovat krávy v období stání na sucho i během laktace. Do nákladů mléčných chovů spojených s mastitidou se promítá pokles produkce mléka, nepoužitelnost mléka k lidské spotřebě, zvýšený počet somatických buněk a výdaje na léčbu a kontrolu mastitidy.

IDEXX RealPCR je modulární systém, v němž jsou specifické cílové směsi spárovány se standardizovanými směsmi vzorové DNA nebo RNA a jednou směsnou pozitivní kontrolou. Činidla jsou balena individuálně a prodávána zvlášť, aby s nimi bylo možné manipulovat, pokud možno flexibilně.

Systém RealPCR MilQ-ID DNA používá čtyři cílové směsi, které obsahují primery a sondy pro detekci mikrobiální DNA a genu beta-laktamázy grampozitivních bakterií, při amplifikaci se vzorovou směsí RealPCR MilQ-ID DNA Master Mix (MilQ-ID MMx). Cíle identifikované jednotlivými směsmi MilQ-ID DNA jsou uvedeny v tabulce níže. Interní kontrolou testů je interní pozitivní vzorek RealPCR (IPC), který se k testovanému vzorku přidává během extrakce nukleové kyseliny. IPC obsahuje syntetickou DNA, která je amplifikována primery a sondami zahrnutými v jednotlivých směsích MilQ-ID DNA. IPC je detekován v kanálu VIC.

Systém MilQ-ID je kompatibilní s přístroji Applied Biosystems 7500 a QuantStudio5. K analýze dat qPCR je použit software RealPCR Connect.

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| RealPCR MilQ-ID Mix 1 | RealPCR MilQ-ID Mix 2 | RealPCR MilQ-ID Mix 3 | RealPCR MilQ-ID Mix 4 |
| 99-56061 | 99-56062 | 99-56063 | 99-56064 |
| Staphylococcus aureus | Staphylococcus spp. | Enterococcus spp. | Mycoplasma spp. |
| Streptococcus agalactiae | Gen beta-laktamázy gram+ bakterií | Klebsiella spp. | Pseudomonas aeruginosa |
| Mycoplasma bovis | Streptococcus dysgalactiae | Trueperella pyogenes | Corynebacterium bovis |
| Streptococcus uberis | E. coli a příbuzné druhy Shigella | Prototheca spp. | Kvasinky |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Materiál a uchovávání | | | | | |
| Identifikace/  Obecné informace | Barva uzávěru | Množství | Uchovávání | | Cykly zmrazení/rozmrazení |
|  |  | 100 testů | Při převzetí | Po rekonstituci |  |
| Směsi RealPCR MilQ-ID DNA, suché | Zelená | 1 x 1,0 ml | -25 až 8 °C | -25 až -15 °C | <6 |
| 99-56061, 99-56062, 99-56063, 99-56064  Každou směs rekonstituujte pomocí čištěné vody určené pro metodu PCR (PCR Grade Water) pro dosažení objemu 1 ml. Směsi MilQ-ID uchovávejte v temnu. Datum exspirace na lahvičce platí pro suchou i rekonstituovanou formu. Etikety na zkumavkách s jednotlivými směsmi MilQ-ID označují verzi PC, která je kompatibilní s cílovou směsí. Příklad: PC > v1.4 znamená, že cílovou směs je možné použít s PC verzí 1.4 a novějšími verzemi. | | | | | |
| Vzorová směs RealPCR MilQ-ID DNA Master Mix (MilQ-ID MMx) | Červená | 1 x 1,0 ml | -25 až -15 °C (dlouhodobě) | Nerelevantní | <6 |
| 99-56255  Koncentrovaná vzorová směs, která obsahuje hot-start polymerázu pro použití s cílovými směsmi RealPCR MilQ-ID. Tato vzorová směs je viskóznější než většina vzorových směsí – doporučený způsob manipulace viz část Postup testování. Ve směsi MilQ-ID MMx není referenční barvivo (ROX). | | | | | |
| Interní pozitivní kontrolní vzorek RealPCR  (IPC), suchý | Bílá | 1 x 500 µl | -25 až 8 °C | -25 až -15 °C | <6 |
| 99-56330  Rekonstituujte pomocí vody PCR Grade pro dosažení objemu 500 µl. IPC obsahuje všechny cílové interní kontroly IDEXX RealPCR. Datum exspirace na lahvičce platí pro suchou i rekonstituovanou formu. IPC je označena číslem verze (např. v1.3). Jakmile jsou pro produktovou řadu RealPCR vytvořeny nové interní kontrolní cíle, cílové sekvence jsou přidány do IPC a číslo verze IPC se aktualizuje (např. v1.3 se zvýší na v1.4). | | | | | |
| Pozitivní kontrolní vzorek RealPCR  (PC), suchý | Modrá | 1 x 500 µl | -25 až 8 °C | -25 až -15 °C | <6 |
| 99-56310  Rekonstituujte pomocí vody PCR Grade pro dosažení objemu 500 µl. PC obsahuje všechny cíle (targets) IDEXX RealPCR a ISC (včetně cílů pro směsi MilQ-ID DNA) a je určen k použití se všemi cílovými směsmi IDEXX RealPCR. Datum exspirace na lahvičce platí pro suchou i rekonstituovanou formu. PC je označen číslem verze (např. v1.7). Jakmile jsou pro produktovou řadu RealPCR vytvořeny nové cílové směsi, cílové sekvence jsou přidány do PC a číslo verze PC se aktualizuje (např. v1.7 se zvýší na v1.8).  PC zahrnuje Signaturu IDEXX (unikátní sekvence oligonukleotidů). Přítomnost Signatury IDEXX v pracovním prostředí poukazuje na kontaminaci PC. Laboratoře, které chtějí monitorovat kontaminaci PC, mohou detekovat Signaturu IDEXX s použitím směsí RealPCR PC Tracker DNA Mix a RealPCR DNA MMx. | | | | | |
| Voda RealPCR PCR Grade | Čirá | 2 x 1,0 ml | -25 až 8 °C | | Nerelevantní |
| 99-56350  Čištěná voda určená pro PCR metodu (PCR Grade Water) je kvalifikována pro použití při PCR v reálném čase. Používá se k rekonstituci reagencií RealPCR. Používá se také jako PCR negativní kontrola pro každou testovací várku. Lahvičky s touto vodou nepřesunujte mezi různými pracovními oblastmi PCR. Pro každou oblast je nutné použít samostatnou lahvičku s vodou, aby nedošlo ke kontaminaci. | | | | | |
| Poznámka: V tabulce na konci této příbalové informace je uveden popis symbolů používaných v příbalové informaci a na etiketě. | | | | | |

Potřebné materiály, které nejsou součástí soupravy

* Souprava RealPCR MilQ-ID Magnetic Bead Kit
* Volitelné – centrifuga s rotorem a adaptéry pro destičky s více jamkami
* Mikrocentrifuga pro odstřeďování mikrozkumavek o objemu 2 ml, která může dosáhnout 1500 až 3000 × g
* Vhodné osobní ochranné pomůcky (např. rukavice, laboratorní plášť)
* Pipetové špičky odolné vůči aerosolům a neobsahující nukleázu
* Sterilní mikrozkumavky pro přípravu směsi PCR
* Pipety (5–1000 µl); speciální pipety pro přípravu směsi PCR Mix
* 96jamkové PCR destičky a optické adhezivní fólie/kryty destiček
* Přístroje Applied Biosystems 7500 nebo Applied Biosystems QuantStudio5
* Software RealPCR Connect

Laboratorní postupy a varování

* Nepoužívejte činidla po datu exspirace.
* Celý proces je nutné provádět za nepřítomnosti nukleázy.
* Při práci s činidly a nukleovými kyselinami používejte rukavice bez pudru.
* Pro zabránění zkřížené kontaminace provádějte veškeré příslušné činnosti s použitím špiček pipet bez nukleázy, které jsou odolné vůči aerosolům, a fyzicky separujte pracoviště, kde dochází k extrakci nukleové kyseliny (a manipulaci s ní), nastavení PCR a provádění PCR.
* Odpad likvidujte podle místních právních předpisů.
* Uchovávejte mimo dohled a dosah dětí. Veterinární přípravek.

Rekonstituce suchých složek

Každou směs MilQ-ID DNA Mix, PC a IPC rekonstituujte pipetováním vody PCR Grade pro dosažení objemu uvedeného na etiketě příslušné složky. Roztok nechte stát po dobu 2–3 minut při teplotě 18 až 26 °C. Před použitím promíchejte a krátce odstřeďte pomocí mikrocentrifugy. Po rekonstituci směsí MilQ-ID DNA Mix, PC a IPC připravte příslušné alikvoty a roztoky uchovávejte ve zmrazeném stavu. Zmražené složky nechte před použitím rozmrazit po dobu přibližně 15 až 30 minut při teplotě 18 až 26 °C, jemně je promíchejte a krátce odstřeďte pomocí mikrocentrifugy (~1 500 až 3 000 × g).

Extrakce DNA

Systém MilQ-ID DNA byl validován pro použití se soupravou RealPCR MilQ-ID Magnetic Bead Kit. Pokud není test proveden okamžitě po extrakci DNA, uchovávejte čištěnou DNA při teplotě < -15 °C. Jako vzorek by měl být zahrnut také negativní kontrolní vzorek pro extrakci („mock sample“).

|  |  |
| --- | --- |
| Postup testu | |
| 1 | Příprava směsi PCR Mix.   * Rozmrazenou směs MilQ-ID MMx promíchejte převrácením nebo jemným vortexováním zkumavky. * MilQ-ID MMx je viskózní roztok, který je nutné pipetovat pomalu. * Jednotlivé směsi PCR Mix připravíte aplikací 10 µl směsi MilQ-ID DNA Mix a 10 µl MilQ-ID MMx na každou reakci. * Při přípravě jednotlivých směsí PCR Mix nejprve pipetujte směs MilQ-ID Mix do zkumavky a poté přidejte směs MilQ-ID MMx. Propláchněte špičku pipety s MMx tak, že roztok několikrát nasajete do pipety a opět vypustíte. * Důkladné promíchání jednotlivých složek zajistíte mírným vortexováním roztoku. * Jednotlivé směsi PCR Mix pomalu pipetujte do příslušných jamek PCR destičky.   Směs PCR Mix je možné uchovávat po dobu 8 hodin při teplotě 2 až 8 °C nebo po dobu 2 týdnů při teplotě -25 až -15 °C. Chraňte před světlem. |
| 2 | Pipetou aplikujte 20 µl směsi PCR Mix do příslušných jamek destičky s více jamkami. |
| 3 | Do každé jamky přeneste 5 µl vzorku DNA. Konečný objem pro reakci je 25 µl. |
| 4 | Pro každou směs PCR Mix testovanou na destičce použijte jamky pro PC (5 μl) a pro negativní kontrolní vzorek PCR (5 μl vody PCR Grade). |
| 5 | Destičku uzavřete krytem, a pokud je třeba, jemně ji odstřeďte, aby se obsah jamek usadil a uvolnily se vzduchové bublinky. |

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| 6 | Pomocí programu RealPCR MilQ-ID Cycling Program (níže) nastavte termocykler. | | | | |
| 7 | Ověřte aktuálnost kalibrace přístroje a zkontrolujte, zda je nastaven na snímání fluorescence pro tato barviva: FAM, NED, VIC, ROX, CY5. | | | | |
| 8 | Vložte destičku do přístroje PCR. Zahajte cyklus testování. | | | | |
|  | Program RealPCR\* MilQ-ID Cycling Program | |  |  |  |
|  |  | Teplota | Čas | Cykly |  |
|  | Denaturace | 95 °C | 1 min | 1 |  |
|  |  |  |  |  |  |
|  | Amplifikace\*\* | 95 °C  60 °C | 15 s  30 s | 45 |  |
|  | \*\*Nastavte přístroj tak, aby zaznamenával fluorescenci až po amplifikaci při 60 °C. | | | | |
| 9 | Analýza dat. Po dokončení cyklu ověřte pomocí softwaru RealPCR Connect (od společnosti IDEXX) validitu testu a analyzujte výsledky testování vzorku. Soubor s daty o testovacím cyklu uložte do počítače používaného k analýze dat nebo si pro import dat do softwaru připravte adresář v příslušném umístění. Další pokyny najdete v návodu k použití softwaru RealPCR Connect. | | | | |

Odbornou pomoc získáte zde:

IDEXX USA Tel: +1 800 548 9997 nebo +1 207 556 4895 IDEXX Europe Tel: +800 727 43399

Obraťte se na oblastního manažera nebo distributora IDEXX nebo navštivte naši webovou stránku: idexx.com/contactlpd

*Níže uvedené informace garantuje držitel rozhodnutí o schválení, není předmětem posouzení v rámci řízení o schválení veterinárního přípravku:*

\*IDEXX, RealPCR a Test With Confidence jsou ochranné známky nebo registrované ochranné známky společnosti IDEXX Laboratories, Inc. nebo jejích obchodních poboček v USA a/nebo dalších zemích. Všechny další produkty a názvy a loga společností jsou ochrannými známkami svých držitelů.

Barviva, která jsou součástí tohoto produktu, jsou prodávána na základě licence společnosti Biosearch Technologies, Inc. a jsou chráněna patenty USA a mezinárodními patenty, ať už byly vydány nebo je o ně zažádáno. Tato licence se vztahuje na veterinární a humánní aplikace, omezené na výzkum a vývoj a na diagnostické použití.

UPOZORNĚNÍ PRO KUPUJÍCÍ: LIMITOVANÁ LICENCE

Sonda MGP obsažená v tomto produktu se prodává v rámci licence od společnosti ELITech Group pouze zákazníkům působícím v *oblasti* veterinární diagnostiky, in vitro humánní diagnostiky a testování vody. Zakoupení tohoto produktu zahrnuje licenci na použití pouze tohoto množství produktu, a to výhradně pro vlastní potřebu kupujícího a pouze v této *oblasti*. Produkt nesmí být použit k žádnému jinému komerčnímu účelu, mimo jiné včetně přebalování nebo dalšího prodeje v jakékoli formě. Výslovně, implicitně ani zprostředkovaně se nepřevádí žádné právo na základě jiného patentového nároku nebo pro jiné použití.

Informace o patentu: idexx.com/patents

2022 IDEXX Laboratories, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**Popis symbolů**

 Kód šarže

 Sériové číslo

 Katalogové číslo

 Diagnostika in vitro

 Autorizovaný zástupce v Evropském společenství

 Pozitivní kontrolní vzorek

 Negativní kontrolní vzorek

 Použijte do

 Datum výroby

 Výrobce

 Teplotní omezení

 Čtěte návod na použití

****  Větší změna v návodu na použití

IDEXX Laboratories, Inc.

One IDEXX Drive

Westbrook, Maine 04092

USA

Výrobce:

IDEXX Montpellier SAS

326 rue de la Galéra

34090 Montpellier

Francie

Zástupce pro EU a držitel rozhodnutí o schválení:

IDEXX B.V.

P.O. Box 1334

2130 EK Hoofddorp

Nizozemsko

Idexx.com