***AniDiag PRRSV PCR Kit***

*Pro veterinární in vitro diagnostiku*

*Veterinární přípravek*

*Uchovávat mimo dohled a dosah dětí*

*Před použitím čtěte příbalovou informaci*

**Obecné informace**

Souprava je určena ke kvantitativní detekci viru reprodukčního a respiračního syndromu prasat (PRRSV) z krevních a orgánových izolátů, tekutin dýchacích cest a spermatu. Souprava umožňuje triplexní detekci PRRSV1 (PRRSV EU), PRRSV2 (PRRSV NA) a patogenní varianty hpPRRSV1 včetně kmenů Rosalia a CreSa. Diagnostická souprava obsahuje vnitřní kontrolu reverzní transkripce.

Podtyp PRRSV 1 (PRRSV EU) je detekován v kanálu FAM, podtyp PRRSV 2 (PRRSV NA) v kanálu HEX a patogenní varianta PRRSV 1 (hpPRRSV1) v kanálu ROX. Vnitřní kontrola je detekována v kanálu Cy5.

Souprava je validována na systému Bio-Rad CFX Opus Real-Time PCR System a je kompatibilní se všemi komerčně dostupnými analyzátory PCR v reálném čase, které umožňují excitaci a čtení emise fluorescenčních barviv FAM, HEX, ROX a Cy5.

Souprava je určena pro použití vyškoleným personálem podle tohoto letáku.

**Specifikace**

|  |  |
| --- | --- |
| Cílový druh | Prasata |
| Cílová sekvence | Porcine reproductive and respiratory syndrome virus (PRRSV) |
| Vzorky | Izoláty z krve a orgánů, tekutin dýchacích cest, spermatu |
| Rozsah použití | PCR detekce klinických izolátů |
| Certifikace | Pro veterinární diagnostiku |

**Obsah balení**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Složka | Barva | 25 rxn | 100 rxn |
| Master Mix | Zelená | 1x375 µl | 4x375 µl |
| Pozitivní kontrola  | Červená | 1x100 µl | 1x100 µl |
| Negativní kontrola | Bílá | 1x100 µl | 1x100 µl |

**Doporučení**

* Používejte sterilní špičky s aerosolovou bariérou a jednorázové rukavice, aby se zabránilo kontaminaci.
* Vzorky by měly být zpracovávány v souladu s laboratorními postupy a s vhodnými postupy biologické bezpečnosti určenými pro manipulaci s infekčními vzorky.
* Zabraňte opakovanému rozmrazení a zmrazení, jednotlivé komponenty zmrazte v alikvotních množstvích, budou-li se používat pouze nepravidelně.
* Nepoužitá činidla a odpad by měly být likvidovány v souladu s místními právními předpisy.

**Skladování a stabilita**

Podmínky přepravy: < -15 °C

Podmínky skladování: < -15 °C

Stabilita: 12 měsíců

**Informace pro objednání**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kód  | Technologie   | Balení  |
| A10001  | Real-time PCR  | 25 rx  |
| A10002  | Real-time PCR  | 100 rx  |

**Objednávky**

sales@emdecon.com

**Technická podpora**

support@emdecon.com

**Příprava Vzorku**

* Všechny komponenty před počátkem analýzy rozmrazte v lednici (4–8°C). Během přípravy reakcí používejte chladící blok.
* Připravte izolát RNA ze vzorku.
* Master Mix, Pozitivní kontrolu/Kalibrátory a Negativní kontrolu před použitím krátce vortexujte a centrifugujte (5 s).
* Alikvotujte 15 μl Master Mixu a přidejte vzorek izolátu, Pozitivní kontrolu nebo Negativní kontrolu (5 μl). Celkový reakční objem je 20 μl.
* Uzavřete PCR zkumavku a centrifugujte (5 s).
* Spusťte PCR protokol.

**PCR Protokol**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|  | Popis | Teplota/Čas | Počet cyklů |
| 1 | Reverzní transkripce | 50 °C/15 min | 1 |
| 2 | Aktivace enzymu | 95 °C/2 min | 1 |
| 3 | Denaturace | 95 °C/10 s | 5 |
| 4 | Annealing  | 62 °C/40 s |
| 5 | Denaturace | 95 °C/5 s | 40 |
| 6 | Annealing**\*** | 60 °C/40 s |

**\*** Fluorescenční čtení v kanálech FAM/HEX/ROX/Cy5

**Test validity**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|      | FAM | HEX | ROX | Cy5 | Result |
| Pozitivní kontrola  | + | + | + | + | validní |
| Negativní kontrola  | - | - | - | + | validní |

**Vyhodnocení**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | FAM | HEX | ROX | Cy5 |
| Master Mix  | + | - | - | + |
| Interpretace | Pozitivní na PRRSV subtyp 1 |
| Master Mix | - | + | - | + |
| Interpretace | Pozitivní na PRRSV subtyp 2 |
| Master Mix | + | - | + | + |
| Interpretace | Pozitivní na patogenní subtyp hpPRRSV 1 |

**Poznámka:** Fluorescenční kanál Cy5 je vnitřní kontrolou reverzní transkripce. Signál musí být pozitivní u všech testovaných vzorků.

