**AniDiag FMDV PCR Kit**

**Real-time RT-PCR**

*Pro veterinární in vitro diagnostiku*

*Veterinární přípravek*

*Uchovávat mimo dohled a dosah dětí*

*Před použitím čtěte příbalovou informaci*

**Obecné informace**

Souprava je určena k detekci RNA viru slintavky a kulhavky (FMDV – *Foot-and-mouth disease virus*) z izolátů krve a orgánů přežvýkavců, prasat a dalších druhů savců. Diagnostická souprava obsahuje vnitřní kontrolu reverzní transkripce. FMDV je detekován v kanálu FAM. Vnitřní kontrola reverzní transkripce je detekována v kanálu Cy5. Souprava je validována na systému Bio-Rad CFX Opus Real-Time PCR a je kompatibilní se všemi komerčně dostupnými analyzátory PCR v reálném čase, které umožňují excitaci a čtení emise fluorescenčních barviv FAM a Cy5. Souprava je určena pro použití vyškoleným personálem podle tohoto letáku.

**Specifikace**

|  |  |
| --- | --- |
| Cílový druh | Přežvýkavci, prasata |
| Cílová sekvence | Foot-and-mouth disease virus (FMDV) |
| Vzorky | Izoláty z krve a orgánů |
| 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 se všemi příslušnými místními předpisy.

**Skladování a stabilita**

Podmínky přepravy: < -15 °C

Podmínky skladování: < -15 °C

Stabilita: 12 měsíců

**Informace pro objednání**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Kód  | Technologie   | Balení  |
| A10005 | Real-time RT-PCR  | 25 rx  |
| A10006  | Real-time RT-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 chladicí 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/Kalibrátory 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/Cy5

**Test validity**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
|      | FAM | Cy5 | Výsledek |
| Pozitivní kontrola | + | + | validní |
| Negativní kontrola  | - | + | validní |

**Vyhodnocení**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
|  | FAM | Cy5 |
| Master Mix  | + | + |
| Interpretace | Pozitivní na FMDV |

**Poznámka:**

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