

HDSĐ BỘ Ready EHP Screening KIT-PCR SPOTCHECK

1. Giới thiệu chung

Bộ **Ready EHP Screening KIT** được sử dụng để phát hiện tác nhân gây bệnh **EHP** bằng kỹ thuật PCR và đọc tín hiệu spotcheck.

Nguyên lý hoạt động

- DNA đặc hiệu trên vi bào tử trùng *Enterocytozoon hepatopenaei* gây bệnh EHP được khuếch đại đặc hiệu bằng primer/probe.
- Sau khi mẫu PCR xong được đưa qua máy Spotcheck. Tín hiệu huỳnh quang được ghi nhận và cho kết quả tương ứng.
- Giá trị Copies sử dụng để xác định sự có mặt của tác nhân mục tiêu.

2. Thành phần bộ KIT

Thành phần	Mô tả	Bảo quản
Tube Ready EHP Screening KIT	Taq polymerase, dNTPs, primer forward, primer reverse, Probe (FAM)	-20°C
Buffer PCR 1X	Buffer hòa tan các thành phần trong tube Ready EHP Screening KIT	-20°C
Positive control (PC)	Mẫu chứng dương	-20°C
Negative control (NC)	Nước không chứa nuclease	2-8°C

3. Phương pháp tiến hành

3.1. Chuẩn bị trước phản ứng

- Rã đông toàn bộ hóa chất
- Tube Ready EHP Screening KIT ly tâm nhanh 5 giây trước khi sử dụng
- Buffer PCR 1X vortex nhẹ và ly tâm nhanh trước khi sử dụng
- Chuẩn bị:
 - NC (Negative Control)
 - PC (Positive Control) vortex nhẹ và ly tâm nhanh trước khi sử dụng
- Làm việc trong tủ sạch (nếu có) để tránh nhiễm chéo

3.2. Chuẩn bị mix phản ứng

Thành phần	Thể tích hút cho một phản ứng
Tube Ready EHP Screening KIT	1 tube
Buffer PCR 1X	35 μ L
Tổng thể tích (chưa bơm mẫu)	35 μ L

3.3. Bơm mẫu

Loại mẫu	Thể tích
Mẫu thử	5 μ L
Chứng dương (PC)	5 μ L
Chứng âm (NC)	5 μ L

3.4. Chu kỳ nhiệt

Đặt các mẫu đã chuẩn bị vào máy Real-time và cài đặt chu trình nhiệt^(*) như sau:

Bước	Nhiệt độ	Thời gian	Chu kỳ
Biến tính ban đầu (Initial Denaturation)	93°C	10 phút	1
Biến tính (Denaturation)	93°C	15 giây	43
Bắt cặp (Annealing) và kéo dài (Extension)	66°C	30 giây	
	25°C	30 giây	1

4. Phân tích kết quả

4.1. Kiểm tra đối chứng

Đối chứng	Kết quả mong đợi
NC (âm tính)	Màu xanh (giá trị 0)
PC (dương tính)	Màu đỏ (giá trị 1001-10000) hoặc màu cam (101-1000)

✚ Nếu đối chứng không đạt → kết quả không hợp lệ

4.2. Diễn giải kết quả mẫu

Giá trị	Màu	CT tương đương	Kết luận
0	Xanh	-	Âm tính
1-100	Hồng	>35	Nghi ngờ
101-1000	Cam	30-35	Dương tính trung bình
1001-10000	Đỏ	26-29	Dương tính nặng
>10000	Đỏ	<26	Dương tính nặng

Lưu ý quan trọng

- Tránh nhiễm chéo giữa các mẫu.
- Luôn có NC và PC trong mỗi lần chạy.
- Không sử dụng hóa chất quá hạn hoặc rã đông nhiều lần.
- Đảm bảo pipet chính xác.