

## **HDSD BỘ Ready EMS Screening KIT-PCR SPOTCHECK**

### **1. Giới thiệu chung**

Bộ **Ready EMS Screening KIT** được sử dụng để phát hiện tác nhân gây bệnh **EMS** (hay còn gọi là **Bệnh AHPND**) bằng kỹ thuật PCR và đọc tín hiệu spotcheck.

#### **Nguyên lý hoạt động**

- Gen độc tố của vi khuẩn *Vibrio parahaemolyticus* gây bệnh EMS/AHPND 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**

<b>Thành phần</b>	<b>Mô tả</b>	<b>Bảo quản</b>
Tube Ready EMS 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 EMS 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**

- Rửa đông toàn bộ hóa chất
- Tube Ready EMS 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 EMS Screening KIT	1 tube
Buffer PCR 1X	35 $\mu$ L
Tổng thể tích (chưa bơm mẫu)	35 $\mu$ L

### 3.3. Bơm mẫu

Loại mẫu	Thể tích
Mẫu thử	5 $\mu$ L
Chứng dương (PC)	5 $\mu$ L
Chứng âm (NC)	5 $\mu$ L

### 3.4. Chu kỳ nhiệt

Đặt các mẫu đã chuẩn bị vào máy Real-time và cài đặt chu trình nhiệt<sup>(\*)</sup> 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.