

Số: 117 /QĐ-TY-TS

Hà Nội, ngày 23 tháng 02 năm 2018

**QUYẾT ĐỊNH**  
**Ban hành Tiêu chuẩn cơ sở**

Căn cứ Luật Tiêu chuẩn và Quy chuẩn kỹ thuật ngày 29/6/2006;

Căn cứ Nghị định số 127/2007/NĐ-CP ngày 01/8/2007 của Chính phủ quy định chi tiết thi hành một số điều của Luật tiêu chuẩn và quy chuẩn kỹ thuật;

Căn cứ Thông tư số 21/2007/TT-BKHCN ngày 28/9/2007 của Bộ trưởng Bộ Khoa học và Công nghệ về việc hướng dẫn xây dựng và áp dụng tiêu chuẩn;

Căn cứ Quyết định số 1399/QĐ-BNN-TCCB ngày 13/4/2017 của Bộ trưởng Bộ Nông nghiệp và Phát triển nông thôn quy định chức năng, nhiệm vụ, quyền hạn và cơ cấu tổ chức của Cục Thú y;

Xét đề nghị của Trưởng phòng Thú y Thủy sản,

**QUYẾT ĐỊNH:**

**Điều 1.** Ban hành Tiêu chuẩn cơ sở quy trình phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR; Ký hiệu: TCCS 01: 2018/TY-TS.

**Điều 2.** Đối tượng và phạm vi áp dụng:

1. Áp dụng tại tất cả phòng thử nghiệm của các đơn vị trực thuộc Cục Thú y.
2. Chi cục Thú y/Chi cục Chăn nuôi và Thú y và các đơn vị liên quan căn cứ điều kiện phòng thử nghiệm của đơn vị tham khảo, áp dụng Tiêu chuẩn cơ sở này cho phù hợp, hiệu quả.

**Điều 3.** Tiêu chuẩn cơ sở quy trình phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR (Ký hiệu: TCCS 01: 2018/TY-TS) ban hành kèm theo Quyết định này thay thế Tiêu chuẩn cơ sở quy trình phát hiện vi rút gây bệnh đốm trắng ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR (Ký hiệu: TCCS 01: 2014/TY-TS) tại Quyết định số 934/QĐ-TY-TS ngày 12/12/2014 của Cục trưởng Cục Thú y.

**Điều 4.** Quyết định này có hiệu lực thi hành kể từ ngày ký.

**Điều 5.** Chánh Văn phòng Cục, Trưởng phòng Thú y Thủy sản và Thủ trưởng các đơn vị liên quan chịu trách nhiệm thi hành quyết định này./.

**Nơi nhận:**

- Như Điều 5;
- Bộ trưởng Nguyễn Xuân Cường (để b/c);
- Thứ trưởng Vũ Văn Tám (để b/c);
- Cục trưởng (để b/c);
- Tổng cục Thủy sản;
- CCTY, CN&TY các tỉnh, thành phố có nuôi tôm;
- Lưu: VT, TS.

**KT. CỤC TRƯỞNG**  
**PHÓ CỤC TRƯỞNG**  
  
**Dương Tiến Thề**



**BẢN CÔNG BỐ TIÊU CHUẨN CƠ SỞ**

TCCS 01:2018/TY-TS

Tên cơ quan: Cục Thú y

Địa chỉ: Số 15/78, Giải Phóng, Phương Mai, Đống Đa, Hà Nội

Điện thoại: 02436.290.284

Fax: 02436.290.286

**CÔNG BỐ:**

Tên tiêu chuẩn: TCCS 01:2018/TY-TS

Áp dụng cho các xét nghiệm phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR.

Cục Thú y cam kết thực hiện xét nghiệm phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng ở tôm theo đúng tiêu chuẩn công bố nêu trên./.

*Hà nội, ngày 23 tháng 02 năm 2018*

**KT. CỤC TRƯỞNG  
PHÓ CỤC TRƯỞNG**



**Dương Tiến Thể**

**TCCS**

**TIÊU CHUẨN CƠ SỞ**



**TIÊU CHUẨN CƠ SỞ**

**TCCS 01:2018/TY-TS**

**QUY TRÌNH XÉT NGHIỆM PHÁT HIỆN VI RÚT GÂY HỘI CHỨNG  
ĐÓM TRẮNG (WSSV) Ở TÔM BẰNG KỸ THUẬT REAL-TIME PCR**

**Hà Nội, ngày 23/02/2018**

## MỤC LỤC

LỜI NÓI ĐẦU .....	1
PHẦN KHÁI QUÁT .....	2
1. Tên gọi .....	2
2. Phạm vi áp dụng.....	2
3. Giới thiệu.....	2
PHẦN KỸ THUẬT.....	3
1. Tiêu chuẩn kỹ thuật.....	3
2. Mục đích.....	3
3. Trách nhiệm .....	3
4. Nội dung.....	3
4.1. Nguyên tắc.....	3
4.2. Nguyên liệu hóa học và sinh học .....	3
4.2.1. Nguyên liệu hóa học.....	3
4.2.2. Nguyên liệu sinh học .....	4
4.3. Thiết bị và dụng cụ.....	4
4.4. Cách tiến hành.....	5
4.4.1. Sơ đồ thực hiện.....	5
4.4.2. Chuẩn bị mẫu.....	6
4.4.3. Chiết tách DNA .....	6
4.4.4. Thực hiện phản ứng Real-time PCR .....	6
4.4.5. Đọc kết quả.....	7
Tài liệu tham khảo.....	9
PHỤ LỤC A: CHIẾT TÁCH DNA .....	10
PHỤ LỤC B: VẬT TƯ CHO MỘT MẪU XÉT NGHIỆM.....	12

## **LỜI NÓI ĐẦU**

TCCS 01:2018/TY-TS quy trình xét nghiệm phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR do Cục Thú y biên soạn và ban hành. Tiêu chuẩn này được áp dụng tại tất cả các phòng thử nghiệm của các đơn vị trực thuộc Cục Thú y. Các phòng thử nghiệm bệnh thủy sản khác căn cứ điều kiện phòng thử nghiệm của đơn vị mình tham khảo, áp dụng cho phù hợp, hiệu quả.

Cơ quan biên soạn: Cục Thú y.

Quyết định ban hành số 117/QĐ-TY-TS ngày 23 tháng 02 năm 2018 của Cục trưởng Cục Thú y.

## PHẦN KHÁI QUÁT

### 1. Tên gọi

TCCS 01:2018/TY-TS quy trình phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR.

### 2. Phạm vi áp dụng

Quy trình này được áp dụng cho xét nghiệm phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR. Đối tượng áp dụng là các loài giáp xác như: tôm sú (*Penaeus monodon*), tôm thẻ chân trắng (*P. vanamei*)...;

Mẫu được dùng để xét nghiệm là: mang, chân bơi, đuôi, giáp đầu ngực, máu, cơ bụng, ấu trùng, hậu ấu trùng của các loài nêu trên, đối với tôm tắm ướp phải loại bỏ hết chất tắm; Cua: mang, tế bào biểu bì.

### 3. Giới thiệu

Vi rút gây hội chứng đốm trắng là một giống mới *Whispovirus* thuộc họ mới *Nimaviridae*. Vi rút dạng hình trứng, kích thước 120x275nm, có một đuôi phụ ở một đầu, kích thước 70x300nm. Dấu hiệu đặc trưng của tôm nhiễm bệnh có những đốm trắng ở dưới vỏ có đường kính từ 0,5-2,0 mm.

Bệnh đốm trắng lây truyền qua đường nằm ngang là chính. Vi rút lây từ các giáp xác khác (tôm, cua, chân chèo) nhiễm bệnh đốm trắng từ môi trường bên ngoài ao hoặc ngay trong ao nuôi tôm. Khi tôm bị bệnh đốm trắng trong ao sức khoẻ yếu hoặc chết các con tôm khoẻ đã ăn chúng dẫn đến bệnh lây lan càng nhanh hơn.

Quy trình phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR đáp ứng theo yêu cầu của Tổ chức Thú y Thế giới (OIE) và yêu cầu của một số nước nhập khẩu như Úc,...

## PHẦN KỸ THUẬT

### 1. Tiêu chuẩn kỹ thuật

TCCS xét nghiệm, phát hiện vi rút gây hội chứng đốm trắng (WSSV) ở tôm bằng kỹ thuật Real-time PCR.

### 2. Mục đích

Phát hiện WSSV ở tôm bằng kỹ thuật Realtime RT-PCR nhằm phục vụ công tác chẩn đoán xét nghiệm và phòng chống dịch bệnh trên tôm.

### 3. Trách nhiệm

Xét nghiệm viên, kỹ thuật viên, chẩn đoán viên phải thực hiện theo đúng quy trình. Phụ trách phòng thí nghiệm có trách nhiệm kiểm tra và đảm bảo quy trình được tuân thủ đúng, đủ và chính xác.

### 4. Nội dung

#### 4.1. Nguyên tắc

Vi rút gây hội chứng đốm trắng ở tôm được phát hiện bằng kỹ thuật Real-time PCR với mỗi xuôi WSSV1011F, mỗi ngược WSSV1079R và đoạn dò Taqman Probe WSSV-p.

#### 4.2. Nguyên liệu hóa học và sinh học

##### 4.2.1. Nguyên liệu hóa học

- Dung dịch Phosphate Buffered Saline (PBS):

Thành phần	Số lượng (gram)
NaCl	8,0
KCl	0,2
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,15
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,2

Lượng hóa chất trên được cho vào bình thủy tinh, cho nước cất 2 lần vào vừa đúng 1 lít, khuấy tan hoàn toàn, điều chỉnh pH  $7,2 \pm 0,2$  và đem hấp vô trùng (Autoclave) 121°C, 15 phút.

- Cồn (Ethanol) 90% và 70%

- Kít chiết tách InviMAG<sup>®</sup> Virus DNA/RNA Mini Kit/ KF96, Cat. No: 7441050100 hoặc kít tương đương.



- Kít Platinum<sup>®</sup> Quantitative PCR superMix-UDG, Cat. No: 11730-017 hoặc kít tương đương.

#### 4.2.2. Nguyên liệu sinh học

- Đoạn mồi (primers) và đoạn dò (probe) cho WSSV

Tên mồi và đoạn dò	Trình tự
WSSV1011F	5'- Tgg TCC CgT CCT CAT CTC Ag -3'
WSSV1079R	5'- gCT gCC TTg CCg gAA ATT A -3'
WSSV-p	5'- <b>6FAM</b> - AgC CAT gAA gAA TgC CgT CTA TCA CAC A - <b>BHQ1</b> -3'

- Đoạn mồi (primers) và đoạn dò (probe) kiểm soát quá trình chiết tách DNA

Tên mồi và đoạn dò	Trình tự
18S Forward	5'-Cgg CTA CCA CAT CCA Agg AA-3';
18S Reverse	5'-gCT ggA ATT ACC gCg gCT -3'
18S probe	5'- <b>VIC</b> TgC Tgg CAC CAg ACT TgC CCT C <b>TAMRA</b> -3'

- Hệ thống đối chứng cho phản ứng Realtime PCR phát hiện vi rút WSSV:

+ Đối chứng âm là mẫu nước không có RNA/DNA dùng để pha loãng các chất phản ứng.

+ Mẫu đối chứng dương là mẫu có chứa DNA của virus gây bệnh đốm trắng (WSSV) được chiết tách từ mẫu dương chuẩn.

- Hệ thống đối chứng kiểm soát quá trình chiết tách DNA:

+ Mẫu đối chứng âm là PBS dùng xử lý mẫu hoặc mẫu mô tôm không mang vi rút WSSV.

+ Mẫu đối chứng dương là mẫu có chứa DNA vật chủ hoặc tế bào động vật.

#### 4.3. Thiết bị và dụng cụ

- Máy trộn mẫu (Vortex).

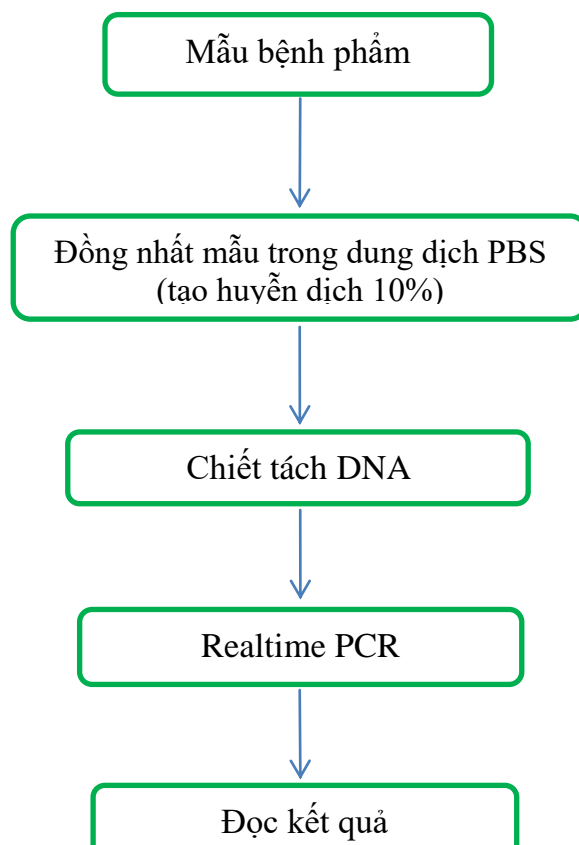
- Máy ly tâm nhỏ (Centrifuge Spin).

- Máy lắc và ủ nhiệt (nhiệt độ từ 37 đến 100°C).

- Máy chiết tách RNA/DNA tự động Thermo Scientific™ KingFisher™ Flex; Thermo Scientific™ KingFisher™ mL hoặc tương đương.
- Máy ly tâm lạnh cho ống eppendorf 1.5 ml.
- Máy hấp khử trùng Autoclave.
- Máy Real-time PCR Stratagene Mx3005P hoặc tương đương.
- Tủ an toàn sinh học cấp II.
- Tủ lạnh lưu trữ ở các nhiệt độ: + 4°C; -20°C và -80°C.
- Micropipettes và đầu tip có lọc tương ứng lấy được các thể tích: 0,5 - 10 µl; 10 -100 µl và 100 - 1000µl.
- Các đĩa nhựa 96 giếng hoặc ống nhựa chứa dung dịch tách chiết, phù hợp với máy chiết tách RNA/DNA tự động ở trên.
- Ống PCR 200 µl hoặc đĩa PCR 200 µl 96 giếng.
- Ống eppendorf thể tích 0,5 ml và 1,5 ml.
- Ống ly tâm nhựa thể tích 5 ml, 10 ml và 50 ml.
- Chai thủy tinh 500-1000 ml.
- Bút viết, đồng hồ chuyên dụng trong phòng thí nghiệm và các dụng cụ cần thiết khác.

#### 4.4. Cách tiến hành

##### 4.4.1. Sơ đồ thực hiện



#### 4.4.2. Chuẩn bị mẫu

Loại mẫu được sử dụng để xét nghiệm với quy trình này có thể là mẫu tươi hoặc mẫu được cố định trong cồn 90%, bao gồm: mang, chân bơi, đuôi, giáp đầu ngực, máu, cơ bụng hoặc ấu trùng, hậu ấu trùng của các loài giáp xác như: tôm sú (*P. monodon*), tôm thẻ chân trắng (*P. vanamei*), ...

Dùng kẹp và kéo vô trùng để thực hiện các thao tác: tách, cắt lấy mẫu. Mẫu được chia thành 2 phần: 1 phần cho thực hiện xét nghiệm và 1 phần lưu trữ.

Mẫu được nghiền nhuyễn với tỷ lệ 1 thể tích mẫu trong 9 thể tích dung dịch muối đệm PBS (Phosphate Buffered Saline), để tạo thành huyền dịch 10% (sử dụng cân phân tích cân trọng lượng mẫu được nghiền để điều chỉnh lượng dung dịch BPS nhằm đảm bảo tạo được huyền dịch 10%). Thu hồi huyền dịch 10% vào ống nắp vặn vô trùng, rồi chuyển vào tủ âm sâu (-80°C) trong thời gian tối thiểu 1 giờ trước khi tiến hành chiết tách DNA.

#### 4.4.3. Chiết tách DNA

- Quy trình chiết tách DNA được thực hiện theo hướng dẫn của kit chiết tách InviMAG<sup>®</sup> Virus DNA/RNA Mini Kit/ KF96 (Phụ lục A).

- Hoặc có thể sử dụng các loại kit chiết tách khác tương đương, phù hợp cho việc chiết tách DNA vi rút.

#### 4.4.4. Thực hiện phản ứng Real-time PCR

- Đặt ống PCR hoặc đĩa PCR 96 giếng chứa thành phần phản ứng Real-time PCR (Master Mix) và mẫu DNA vào máy Real-time PCR. Vận hành máy và cài đặt chương trình nhiệt độ theo hướng dẫn.

- Chuẩn bị Master Mix và chu kỳ luân nhiệt được thực hiện theo Bảng 1.1; Bảng 1.2 và Bảng 2.

**Bảng 1.1:** Chuẩn bị Master Mix cho phản ứng Realtime PCR phát hiện WSSV theo kit Platinum<sup>®</sup> Quantitative PCR SuperMix-UDG, Cat.No: 11730-017.

STT	Thành phần	Nồng độ	Thể tích cho 1 phản ứng (µl)
1	Nước không có RNA/DNA		6,0
2	Dung dịch SuperMix		12,5
3	Mỗi WSSV1011F	20 µM	0,5
4	Mỗi WSSV1079R	20 µM	0,5

5	Đoạn dò WSSV-p	6 $\mu$ M	0,5
Tổng thể tích dung dịch đệm thực hiện phản ứng			<b>20</b>
6	Mẫu DNA		5
Tổng thể tích dung dịch thực hiện phản ứng			<b>25</b>

**Bảng 1.2:** Chuẩn bị Master Mix cho phản ứng Realtime PCR kiểm soát quá trình chiết tách DNA theo kit Platinum<sup>®</sup> Quantitative PCR SuperMix-UDG, Cat.No: 11730-017.

STT	Thành phần	Nồng độ	Thể tích cho 1 phản ứng ( $\mu$ l)
1	Nước không có RNA/DNA		6,0
2	Dung dịch SuperMix		12,5
3	Mồi 18S Forward	20 $\mu$ M	0,5
4	Mồi 18S Reverse	20 $\mu$ M	0,5
5	Đoạn dò 18 probe	6 $\mu$ M	0,5
Tổng thể tích dung dịch đệm thực hiện phản ứng			<b>20</b>
6	Mẫu DNA		5
Tổng thể tích dung dịch thực hiện phản ứng			<b>25</b>

\* Tùy theo kit sử dụng mà thành phần Master Mix có thể khác nhau, việc thực hiện chuẩn bị Master Mix nên tuân thủ theo hướng dẫn của kit được sử dụng.

**Bảng 2:** Chu kỳ luân nhiệt đối với máy Real-time PCR Stratagene Mx3005P

Nhiệt độ	Thời gian	Số chu kỳ
50°C	02 phút (*)	01
95°C	02 phút (*)	01
95°C	15 giây	40
60°C	60 giây (Ghi nhận tín hiệu quang ở bước này)	(Ghi chú: Đối với mẫu xét nghiệm phát hiện WSSV trên tôm được xuất khẩu qua Úc, số chu kỳ được tăng lên 45)

(\*) Nhiệt độ và thời gian này chỉ phù hợp với kit Platinum<sup>®</sup> Quantitative PCR SuperMix-UDG, Cat.No: 11730-017. Việc thực hiện cài đặt nhiệt độ và thời gian nên tuân thủ theo hướng dẫn của từng kit được sử dụng.

#### 4.4.5. Đọc kết quả

Kết quả của phản ứng Real-time PCR được xác định dựa vào chu kỳ ngưỡng (Cycle threshold: Ct).

Kiểm tra hệ thống mẫu đối chứng dương và đối chứng âm. Nếu hệ thống

mẫu đối chứng dương và đối chứng âm là đúng thì điều chỉnh baseline theo 5% tín hiệu huỳnh quang và đọc kết quả xét nghiệm theo baseline này.

- + Mẫu đối chứng âm phải cho kết quả âm tính.

- + Mẫu đối chứng dương phải cho kết quả dương tính và có giá trị Ct trùng khớp với giá trị Ct của mẫu đã được chuẩn độ trước đó.

Nếu một trong 04 hệ thống mẫu đối chứng là không đúng thì phải thực hiện lại xét nghiệm.

Giải thích kết quả phản ứng Realtime PCR phát hiện vi rút WSSV

- Trường hợp: Thực hiện 40 chu kỳ

- + Mẫu có giá trị Ct < 35 được xem là dương tính

- + Mẫu không có giá trị Ct là âm tính

- + Mẫu có giá trị Ct trong khoảng  $35 \leq Ct \leq 40$  được xem là nghi ngờ.

Những mẫu nghi ngờ này, cần được thực hiện lại xét nghiệm hoặc sử dụng phương pháp xét nghiệm tương đương khác để khẳng định kết quả.

- Trường hợp: Thực hiện 45 chu kỳ

- + Mẫu có giá trị Ct < 40 được xem là dương tính

- + Mẫu không có giá trị Ct là âm tính

- + Mẫu có giá trị Ct trong khoảng  $40 \leq Ct \leq 45$  được xem là nghi ngờ.

Những mẫu nghi ngờ này, cần được thực hiện lại xét nghiệm hoặc sử dụng phương pháp xét nghiệm tương đương khác để khẳng định kết quả.

## **Tài liệu tham khảo**

1. OIE Manual of Diagnostic Tests for Aquatic Animals 2017. CHAPTER 2.2.8. White Spot Disease.
2. Tang K.F.J. and Lightner D.V., 2001. Development of real-time PCR assays for detection of White spot syndrome virus, Yellow head virus, Taura syndrome virus and Infectious hypodermal and hematopoietic necrosis virus in penaeid shrimp.
3. Procedure for detection of white spot syndrome virus for biosecurity risk management. Version 1.1, 2017. Department of Agriculture and Water Resources.
4. Invitrogen<sup>TM</sup> Platinum<sup>®</sup> Quantitative PCR SuperMix-UDG.

## PHỤ LỤC A: CHIẾT TÁCH DNA

### a. Chuẩn bị hóa chất

Các hóa chất cần được chuẩn bị và bảo quản theo đúng hướng dẫn của bộ kit InviMAG<sup>®</sup> Virus DNA/RNA Mini Kit/ KF96, Cat. No: 7441050100, với thể tích vừa đủ cho số lượng mẫu chiết tách, bao gồm:

- (1) Dung dịch đệm Lysis Buffer RV
- (2) Dung dịch rửa 1 (Wash 1)
- (3) Dung dịch rửa 2 (Wash 2)
- (4) Hỗn hợp hạt từ tính (Bead Mix)
- (5) Dung dịch thu hồi DNA/RNA Elution Buffer (EB)

Nếu chiết tách DNA bằng máy chiết tách tự động Thermo Scientific<sup>™</sup> KingFisher<sup>™</sup> Flex, cần phải chuẩn bị trước các đĩa chứa dung dịch chiết tách theo hệ thống của máy như sau:

- + Đĩa Washing 1: 800µl dung dịch Wash 1/giếng;
- + Đĩa Washing Wash 2 và Washing Wash 3: 800µl dung dịch Wash 2/giếng;
- + Đĩa Elution Buffer: 100µl dung dịch EB/giếng.

### b. Tiến hành

- Huyền dịch 10% của mẫu bệnh phẩm được rã đông, trộn đều bằng máy vortex. Ly tâm mẫu trong máy ly tâm lạnh với lực ly tâm 2500 g/15 phút.
- Hút 200µl dịch trong bên trên sau khi ly tâm vào ống eppendorf 1,5ml vô trùng có chứa sẵn 200 µl dung dịch đệm Lysis. Trộn đều mẫu bằng máy vortex và spin để kéo các phần bám trên nắp ống xuống.
- Chuyển toàn bộ dung dịch trong ống eppendorf vào đĩa chứa mẫu 96 giếng (mỗi giếng tương ứng với một mẫu chiết tách). Dùng giấy dán đĩa chuyên dụng dán kín mặt đĩa.
- Đặt đĩa lên máy lắc, ủ nhiệt. Lắc đĩa với gia tốc 750rpm/15 phút và ở nhiệt độ 65°C.

- Lấy đĩa ra khỏi máy lắc, để nguội trong 5 phút, tháo bỏ giấy dán đĩa. Bổ sung 420 µl dung dịch Bead Mix (gồm có 400 µl Binding solution và 20 µl MAP) vào mỗi giếng.

- Chuyển tất cả các đĩa bao gồm: đĩa Tip Combs, đĩa Elution Buffer, đĩa Washing Wash 3, đĩa Washing Wash 2, đĩa Washing Wash 1 và đĩa chứa mẫu vào từng khay của máy chiết tách tự động theo hướng dẫn của máy.

- Chọn chương trình chiết tách DNA đã được cài đặt trước đó theo hướng dẫn của hãng sản xuất kit InviMAG<sup>®</sup> Virus DNA/RNA Mini Kit/ KF96.

- Sau 34 phút, quá trình chiết tách hoàn tất. Thu hồi DNA của từng giếng vào ống eppendorf 0.5 ml tương ứng đã ghi rõ ký hiệu mẫu.

- Bảo quản mẫu DNA ở 2-8°C trong vài tuần và -20°C trong thời gian lâu hơn.



## PHỤ LỤC B: VẬT TƯ CHO MỘT MẪU XÉT NGHIỆM

TT	Tên Vật Tư	Đơn vị tính	Số lượng bình quân cho 01 mẫu	Diễn giải
1	Cryotube 1,8ml free RNA/DNA (nắp vặn ngoài, tự đứng)	Cái	7	1 cái: chứa mẫu 2 cái: chuẩn bị mẫu đối chứng. 1 cái: chứa Proteinase K working solution 1 cái: chứa Carrier RNA working solution 1 cái : chứa primer & probes 1 cái : chuẩn bị master mix
2	Cryotube 5ml free RNA/DNA (nắp vặn ngoài, tự đứng)	Cái	2	1 cái: chứa Elution Buffer 1 cái: chứa Binding Solution và MAP solution
3	PCR tube 0,5 ml	Cái	3	Lưu giữ mẫu RNA/DNA
4	Trip PCR có nắp 0,2ml	Cái	1	Nhân gene rRT-PCR
5	InviMag® Virus DNA/RNA Mini Kit/ KF96(480 test/ kit)	Kit	0,0069	Chiết tách RNA hoặc DNA
6	Ethanol Absolute	ml	7,15	Bổ sung vào dung dịch rửa 1, rửa 2
7	KF ml tube	Cái	3	Chiết tách RNA hoặc DNA
8	KF ml Tip Combs	Cái	1	Chiết tách RNA hoặc DNA
9	Tube ly tâm nhựa 50 ml	Cái	3	1 cái: chứa dung dịch Lysis 1 cái: chứa dung dịch rửa 1 1 cái: chứa dung dịch rửa 2
10	Finntip Multistepper 1500µl sterile	Cái	5	1 cái: cho dung dịch rửa 1 2 cái: cho dung dịch rửa 2 1 cái: cho Lysis Solution vào eppendorf 1 cái: cho Elution Buffer vào đĩa chiết xuất

TT	Tên Vật Tư	Đơn vị tính	Số lượng bình quân cho 01 mẫu	Diễn giải
11	Micropipet filter tip 1000 $\mu$ l	Cái	8	2 cái: Mix Proteinase K và Carrier RNA 3 cái: chuyển mẫu + Lysis Solution vào đĩa chiết xuất 1 cái: cho Binding Solution vào ống cryotube 5ml 1 cái: cho MAP Solution vào ống cryotube 5 ml 1 cái: cho Binding Solution và MAP solution vào đĩa chiết xuất
12	Micropipet filter tip 200 $\mu$ l	Cái	8	3 cái: cho mẫu và đối chứng vào eppendorf chứa Lysis Solution 3 cái: cho thu hoạch RNA/DNA 1 cái: chuẩn bị master mix 1 cái: phân phối Master mix vào đĩa PCR
13	Micropipet filter tip 20 $\mu$ l	Cái	3	Chuẩn bị master mix
14	Micropipet filter tip 10 $\mu$ l	Cái	6	1 cái: chuẩn bị master mix 1 cái: đưa mẫu RNA/DNA vào đĩa PCR chứa master mix 4 cái: đưa mẫu RNA/DNA đối chứng vào đĩa PCR chứa master mix
15	Quần áo bảo hộ dùng 1 lần	Bộ	2	Xử lý mẫu
16	Găng tay	Đôi	8	4 đôi: xử lý mẫu 2 đôi: chiết xuất RNA/DNA 2 đôi: chuẩn bị master mix
17	Khẩu trang N95	Cái	2	Xử lý mẫu
18	Primers và Probe WSSV (2000 test/bộ)	Bộ	0,0028	Nhân gene rPCR
19	Primers và Probe 18S (2000 test/bộ)	Bộ	0,0028	Nhân gene rPCR

<b>TT</b>	<b>Tên Vật Tư</b>	<b>Đơn vị tính</b>	<b>Số lượng bình quân cho 01 mẫu</b>	<b>Diễn giải</b>
20	Invitrogen™ Platinum® Quantitative PCR SuperMix-UDG (100 react with 50µl/ reaction)	Kit	0,0275	Nhân gene rRT-PCR: 25 µl/ reaction