

BioAmp FELV RNA

BRA0062R100/BRA0062R25

Teste para detecção do RNA do Vírus da Leucemia Felina (FeLV)

100 reações/ 25 reações

O kit FELV RT é um sistema sensível e específico que contém todos os reagentes necessários para a detecção específica do RNA viral livre no plasma (viremia ativa), após conversão em cDNA por transcriptase reversa, indicando replicação viral em infecções progressivas. Ideal para diagnóstico de antigenemia confirmada, diferenciação de fases agudas e acompanhamento terapêutico em gatos. A técnica de Transcrição Reversa seguida de Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (RT-qPCR) amplifica e identifica o produto amplificado por marcadores de fluorescência.

Composição do Kit

Componente	Composição	Quantidade
Master Mix BioAmp	Mistura otimizada de água livre de nucleases, tampão, dNTPs, enzima Taq polimerase, oligonucleotídeos e sondas de hidrólise específicos para o agente alvo.	4 tubos*
RT	Enzima Transcriptase Reversa	1 tubo
Controle Negativo (CN)	Água livre de nucleases	1 tubo

*Cada tubo corresponde a 25 reações.

Condições de Armazenamento

- Este produto é transportado sob refrigeração, não afetando o desempenho do produto.
- Mantenha o reagente congelado entre -15°C e -30°C até o uso.
- Evite ciclos repetidos de congelamento /descongelamento (>2 vezes) para garantir a estabilidade do kit.

Informações de segurança

- Quando trabalhar com produtos químicos use jaleco, luvas e óculos de proteção adequados. Para obter mais informações, consulte os documentos sobre segurança (*Safety Data Sheet, SDS*) correspondentes.
- Todos os resíduos de amostra e os objetos que estiveram em contato com os mesmos devem ser descontaminados ou eliminados como material potencialmente infeccioso.

Equipamentos e insumos que devem ser fornecidos pelo usuário

- Equipamentos: Termociclador para PCR em Tempo Real com filtros para leitura dos fluoróforos FAM™ e HEX™ ou similar, Cabine para PCR, micropipetas calibradas de volume variável (0,5µL a 1000µL), centrífuga de tubos, homogeneizador de tubos tipo vortex e raque para microtubos.
- Insumos: Kit de extração de ácidos nucleicos, ponteiras com barreira, microtubos para PCR em Tempo Real e luvas de procedimento sem talco.

Avisos e precauções

- Uso exclusivo para diagnóstico in vitro.
- Não utilizar se a embalagem estiver danificada.
- Evitar a exposição à luz.
- Não utilizar o reagente após a data de validade.
- Não abrir os tubos de PCR após a amplificação.
- Não misturar os reagentes de diferentes lotes.
- Utilizar plásticos livres de nucleases.
- Todas as instruções devem ser lidas antes de realizar o teste e estritamente seguidas.

Suporte técnico

Para maiores informações e assistência técnica, entre em contato com o Suporte Técnico pelo e-mail, site biorise@biorise.com.br ou telefone (45) 99858-0038

Histórico de revisões

Manual de uso	Data	Versão	Modificações
MU-FELVRT0001	11/ 2025	V01	20seg - 1min

Nota: pequenas alterações tipográficas, gramaticais e de formatação não são incluídas no histórico de revisões.

Biorise Biotecnologia
DNA SOLUCOES BIOMOLECULARES LTDA
CNPJ 52.438.916/0001-21
Rua Das Cassias-Imperiais, 290 Bairro Biopark
Toledo-PR CEP: 85920-263
Fone: (45) 99858-0038
biorise@biorise.com.br | biorise.com.br

Procedimento de Uso

A. Extração de ácidos nucleicos

Os ácidos nucleicos (DNA/RNA) devem ser extraídos da amostra e purificados antes do uso do kit de PCR.

Os kits de extração de ácidos nucleicos utilizados devem ser previamente validados pelo usuário. Após a extração, os ácidos nucleicos podem ser mantidos em gelo ou de +2°C a +8°C por algumas horas até o uso. Para longos períodos de armazenamento, manter as amostras em temperatura entre -15°C e -65°C.

B. Preparo da Reação

Antes de começar

- Descongele todos os reagentes em temperatura ambiente e protegidos da luz.
- Antes de utilizar, homogeneíze e centrifugue todos os reagentes.
- Conserve os reagentes em gelo ou em um bloco frio durante o preparo da reação de PCR.

1. Fracione o Master Mix BioAmp de acordo com o número de reações a serem preparadas¹ e inclua o volume correspondente de enzima RT conforme a tabela abaixo.

1. Não é recomendado o preparo de menos de 3 reações devido à perda de volume e possíveis erros de pipetagem.

Componente	1 reação
Master Mix BioAmp	20,6uL
RT	0,4uL
Amostra	4uL
Volume total	25uL

2. Homogeneíze a mistura e pipete 21 µL do Master Mix BioAmp com RT em cada tubo de reação.

3. Adicione 4 µL da amostra em cada tubo de reação.

4. Adicione 4 µL de BioRef Vírus da Leucemia Felina ao tubo de reação dedicado ao controle positivo de amplificação.

5. Adicione 4 µL do CN fornecido no kit ao tubo de reação dedicado ao controle negativo da amplificação.

6. Feche os tubos de reação com tampas correspondentes ou sele a placa.

7. Defina os filtros para os marcadores indicados no software do termociclador de acordo com a tabela abaixo.

Patógeno/Controle Interno	Reporter	Quencher
Vírus da Leucemia Felina (RNA)	FAM™	BHQ-1
Referência passiva ¹	ROX™	

¹Referência passiva para uso com instrumentos de PCR em tempo real que permitem normalização.

7. Execute a corrida no termociclador de acordo com as condições especificadas na tabela abaixo.

Número de Ciclos	Temperatura	Tempo
1x	45 °C	15 minutos
1x	95 °C	2 minutos
40x	95 °C	15 segundos
	60 °C 	1 minuto

 Captura da fluorescência.

C. Análise e interpretação dos resultados

- Determinar o *Threshold* em qualquer ponto da fase exponencial do gráfico de amplificação de cada fluorocromo.
- As etapas de extração e amplificação são validadas se os seguintes resultados são obtidos:

Controles	Amplificação FAM™	Interpretação
Controle negativo de amplificação (CNA)	Não	Ausência de contaminação na amplificação
Controle positivo de amplificação (CPA)	Sim	Validação do passo de amplificação
Controle negativo de extração (CNE)	Não	Ausência de contaminação na extração
Controle positivo de extração (CPE)	Sim	Validação do passo de extração

3. A reação de amplificação de cada amostra é interpretada de acordo com a tabela abaixo.

Amplificação FAM™	Interpretação
× Não	Não detectado ¹
✓ Sim	Detectado
	Inconclusivo ²

¹**Não detectado:** Ausência do material genético do patógeno na amostra ou em quantidades inferiores ao limite de detecção.

²**Inconclusivo:** curva de amplificação não característica.

Possíveis causas: Reação de RT-PCR defeituosa devido a inibidores, erro de configuração, amostra degradada e/ou problema com extração de ácidos nucleicos (perda ou degradação dos ácidos nucleicos).

Recomendações: Realizar uma nova reação de PCR utilizando a amostra diluída 1:5 em água ultrapura. Se a reação for inconclusiva, realizar uma nova extração dos ácidos nucleicos da amostra.

Observação amostras que apresentarem amplificação do marcador FAM™ com Ct (cycle threshold) acima de 37 devem ter seu resultado considerado como negativo, devido ao limite de detecção da técnica.