	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	1
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10259.1 – Vyhodnocení výsledků stanovení GMO metodou PCR	Revize	0

VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ STANOVENÍ GMO METODOU PCR

1 Účel a rozsah

Postup slouží k vyjádření a hodnocení výsledků stanovení GMO metodou polymerázové řetězové reakce. Jako podklady pro vyhodnocení slouží záznamy z kapilární nebo gelové elektroforézy.

2 Postup

Hodnocení testu

Všechny PCR kontroly musejí vykazovat pruh v místě, kde ho vykazovat mají.

Pozitivní kontrola PCR Vykazuje jasně rozeznatelný pruh v gelu v místě, kde se má hledaný pruh v porovnání s markerem vyskytovat.

Kontrola izolace (pouze u PCR vnitřních genů) Nevykazuje žádný pruh kromě pruhu či skvrny odpovídající svou polohou primerům, primer – dimerům, v oblasti (20 – 100) bp.

Beztemplátová kontrola PCR Nevykazuje žádný pruh kromě pruhu či skvrny odpovídající svou polohou primerům, primer – dimerům, v oblasti (20 – 100) bp.

V případě správných výsledků kontrol je možné konstatovat, že

Vzorky negativní pro daný amplikon jsou vzorky, v jejichž stopách se nevyskytují pruhy v místech, kde – ve srovnání s markerem a pozitivní kontrolou – má ležet hledaný pruh.

Vzorky pozitivní pro daný amplikon jsou vzorky, v jejichž stopách se vyskytují pruhy v místech, kde – ve srovnání s markerem a pozitivní kontrolou – má ležet hledaný pruh.


Vyhodnocení nejednoznačných výsledků

V případě nejasného nebo chybného výsledku výše uvedených kontrol je nutné daný běh amplifikace opakovat.

Dále pak musejí být výsledky shodné v obou paralelních stanoveních. Pokud je jedno paralelní stanovení pozitivní a druhé negativní, musí se analýza opakovat.

Pokud se při opakování izolace oba nové paralelní izoláty shodnou, zkouška se vyhodnotí podle těchto nových izolátů.

Pokud se objeví nespecifické amplifikace v oblasti očekávaného produktu, vzorek nelze s jistotou vyhodnotit. Na protokol se uvede, že daný parametr nebyl stanoven. Dalšími důvody nestanovení jsou nedostatečné množství DNA a neamplifikovatelná DNA.

	Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský Národní referenční laboratoř	Strana	2
	Jednotné pracovní postupy – zkoušení krmiv	Vydání	1
	10259.1 – Vyhodnocení výsledků stanovení GMO metodou PCR	Revize	0

Vyjádření výsledků na protokolu

Na protokolu se uvede výpis genetických modifikací a podle domluvy se zadavatelem analýzy také výpis stanovovaných screeningových elementů. Výsledek se uvádí jako detekován v případě nálezu genetické modifikace nebo nedetekován v případě nepřítomnosti genetické modifikace, popřípadě nestanovení a důvody nestanovení.

3 Literatura

- 1 ČSN EN ISO 24276 Metody pro detekci modifikovaných organismů a odvozených produktů, Všeobecné požadavky a definice.