



SARS-CoV-2 Blue-LAMP Detection KIT

SARS-CoV-2 Blue-LAMP Detection KIT jest przeznaczony do wykrywania koronawirusa SARS-CoV-2 w próbkach od pacjentów z objawami zakażenia COVID-19. Oczyszczony materiał genetyczny wirusa z wymazów z gardzieli, nosogardzieli, śliny itp. jest amplifikowany za pomocą reakcji LAMP – izotermicznej amplifikacji kwasów nukleinowych i wykrywany kolorymetrycznie, poprzez zmianę koloru reakcji z bezbarwnej na niebieską. Identyfikacja wirusa następuje na podstawie amplifikacji silnie konserwowanego rejonu w genie ORF1ab charakterystycznego dla SARS-CoV-2. Dodatkowo zestaw zawiera kontrolę specyficzną dla ludzkiego genu ACTB (gen kodujący beta-aktynę), co pozwala zweryfikować jednocześnie prawidłowość pobranego wymazu i jakość oczyszczanego RNA, oraz kontrolę pozytywną reakcji do sekwencji faga Lambda, która pozwala na potwierdzenie poprawności wykonania testu. Zestaw nie wykazuje reakcji krzyżowych wobec innych mikroorganizmów wywołujących choroby układu oddechowego. Czulość metody amplifikacji LAMP szacowana jest na 100 kopii cząsteczek RNA. W przypadku próbek z mniejszą ilością kopii RNA wirusowego poleca się stosować SARS-CoV-2 qRT-PCR Detection KIT (Nr kat. E0430).

Składnik	Nr kat. E0460-01 50 reakcji po 25 µl	Nr kat. E0460-02 500 reakcji po 25 µl
BlueLAMP Master Mix (2x) brązowa probówka (Chronić przed UV)	625 µl	10 x 625 µl
LAMPCov 10x Primer Mix żółta nakrętka	125 µl	5 x 250 µl
ACTB 10x Primer Mix niebieska nakrętka	63 µl	5 x 125 µl
Lambda 10x Primer Mix pomarańczowa nakrętka	35 µl	5 x 70 µl
Lambda 5x Positive Control czarna nakrętka	63 µl	625 µl
RNase free Water przezroczysta nakrętka	500 µl	5 x 1000 µl

Zawartość zestawu:

Wszystkie składniki zestawu należy przechowywać w temperaturze -20°C.

This product is developed, designed and sold exclusively for in vitro use only.

Protokół

Przygotowanie próbki pobranej od pacjenta.

RNA z wymazu, śliny bądź innej wydzieliny należy wyizolować przy pomocy zestawów dedykowanych do oczyszczania RNA wirusowego. Należy postępować zgodnie z instrukcją zalecaną przez producenta zestawu jednak do elucji zaleca się użycie wody wolnej od Rnaz ze względu na pH zależny barwnik zawarty w buforze

Składnik reakcji	Kontrola negatywna	Kontrola pozytywna	Kontrola próbki	Reakcja właściwa
Master Mix	N	P	A	C
	Bez matrycy	Lambda DNA	ACTB	SARS-Cov-2
BlueLAMP Master Mix (2x)	12,5 µl	12,5 µl	12,5 µl	12,5 µl
LAMPCov 10x Primer Mix	2,5 µl	-	-	2,5 µl
ACTB 10x Primer Mix	-	-	2,5 µl	-
Lambda 10x Primer Mix	-	2,5 µl		-
RNase free Water	5 µl	5 µl	5 µl	5 µl
Objętość Master Mix	20 µl	20 µl	20 µl	20 µl
RNase free Water	5 µl	-	-	-
Lambda 5x Positive Control	-	5 µl	-	-
Próbka oczyszczonego RNA od pacjenta	-	-	5 µl	5 µl
Objętość reakcji	25 µl	25 µl	25 µl	25 µl

reakcyjnym.

Przygotowanie reakcji PCR:

1. Określić ilość nastawianych reakcji. W każdym cyklu testowym należy nastawić:

- Kontrolę pozytywną **P** minimum 1 reakcja
- Kontrolę negatywną **N** minimum 1 reakcja
- Kontrolę próbki **A** w ilości badanych próbek
- Reakcję właściwą **C** w ilości badanych próbek

Każda próbka pacjenta powinna być przetestowana na obecność RNA SARS-Cov-2 oraz genu ACTB (kodującego beta-aktynę).

2. Po rozmrożeniu wszystkie składniki reakcji dobrze wymieszać przez wielokrotne pipetowanie. Reakcje powinny być przygotowywane na lodzie lub w bloku chłodzącym. Przygotować Master Mix'y reakcyjne w zależności od ilości reakcji według tabeli powyżej. Składniki Master Mix należy wymieszać poprzez wielokrotne pipetowanie. Nie należy „worteksować” mieszaniny.

3. Poporcjować Master Mix do probówek typu “strip” lub na płytkę przenosząc po 20 µl roztworu. Należy unikać spienienia. Usunąć z miejsca pracy wszystkie niepotrzebne już składniki reakcji aby nie doszło do ich kontaminacji.

4. Przygotować reakcje w następującej kolejności:

N—Kontrola negatywna: dodać 5 µl wody i zamknąć probówkę aby uniknąć zanieczyszczenia przez RNA pacjenta.

P— Kontrola pozytywna: dodać 5 µl Lambda 5x Positive Control.

A— Próbki RNA pacjentów: dodać po 5 µl oczyszczonego RNA i zamknąć probówki.

C— Próbki RNA pacjentów: dodać po 5 µl oczyszczonego RNA i zamknąć probówki.

5. Przygotowane reakcje wstawić do bloku grzewczego podgrzanego do 65°C na 40 minut. Zaleca się używanie termocyklera z grzaną pokrywą aby uniemożliwić parowanie reakcji.

6. Po zakończonej reakcji należy chłodzić próbki do temperatury pokojowej. **Nie otwierać probówek!** Po 15 minutach można wizualnie oceniać zmianę koloru w stosunku do kontroli negatywnej. Wyniki

This product is developed, designed and sold exclusively for in vitro use only.

Analiza wyników

Kontrola negatywna N	Kontrola pozytywna P	Kontrola próbki A	Reakcja właściwa C	Wynik
-	+	+	+	Pozytywny SARS-CoV-2
-	+	+	-	Negatywny SARS-CoV-2

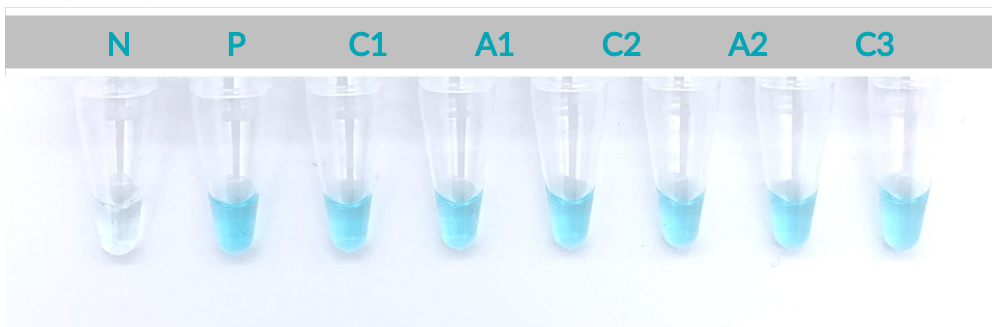


⇒ Reakcja z amplifikacją DNA



⇒ Brak amplifikacji

Aby odczytać właściwe zabarwienie należy schłodzić próbki do temperatury pokojowej i odczekać 15 min. Tylko konfiguracja wyników ujęta w tabeli uważana jest za poprawną, każdy inny wynik jest nieprawidłowy a badanie należy powtórzyć. Odcienie błękitu mogą się różnić w zależności od ilości materiału początkowego, od bardzo jasnego do bardzo ciemnego niebieskiego. W wyniku reakcji amplifikacji DNA powstaje zmętnienie, jest to efekt niezależny od zmiany koloru i występuje we wszystkich próbkach pozytywnych (niebieskich). Kontrola negatywna nie ma efektu zmętnienia i pozostaje bezbarwna. Wyniki można odczytywać przez 24 godziny od zakończenia reakcji. W miarę upływu czasu kolor uzyskuje większą intensywność. Ze względu na wrażliwość barwnika zawartego w buforze reakcyjnym należy unikać bezpośredniej ekspozycji reakcji na światło UV.



Opis: N—kontrola negatywna; P—kontrola pozytywna; A1— kontrola próbki pacjent 1, C1—reakcja właściwa pacjent 1; A2—kontrola próbki pacjent 2, C2—reakcja właściwa pacjent 2; A3—kontrola próbki pacjent 3, C3—reakcja właściwa pacjent 3

This product is developed, designed and sold exclusively for in vitro use only.