

genetic PCR solutions®

30 years' experience, packed in microtubes

ASFV MONODOSE-LAMP®

24 або 96 тестів

Генетичне виявлення
вірусу африканської чуми свиней



ПРИМІТКИ, ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ТОВАРНІ ЗНАКИ

Продукція, що входить до складу цього набору, продається покупцю виключно для досліджень (Research Use Only). Її не можна використовувати для ветеринарної чи медичної діагностики *in vitro* (IVD), а також перепродавати, розповсюджувати чи перепаковувати без письмової згоди GPS®. Послідовності праймерів і зондів у цьому продукті є промисловою власністю, розробленою GPS®.

GPS® є товарним знаком GENETIC ANALYSIS STRATEGIES S.L. Придбання цього продукту не може тлумачитися як надання дозволу або неявної ліцензії на будь-які патентні права, що належать іншим особам.

ЗМІСТ

ОПИС	2
ПРИНЦИП МЕТОДУ	3
СКЛАД НАБОРУ	3
УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ	4
НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ	5
ВАЖЛИВІ ПРИМІТКИ	6
ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ	7
ПРИГОТУВАННЯ ПОЗИТИВНОГО КОНТРОЛЮ	8
ПРОТОКОЛ І РЕЖИМ АМПЛІФІКАЦІЇ	9
РЕКОМЕНДОВАНІ КОНТРОЛІ РЕАКЦІЇ	10
ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ	11
СЕРТИФІКАЦІЯ АНАЛІЗУ	12
КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ	12
УЗГОДЖЕНІ СИМВОЛИ ТА СКОРОЧЕННЯ	13

ОПИС

ASFV MONODOSE-LAMP® — це набір специфічних цільових реагентів, призначених для виявлення **вірусу африканської чуми свиней** методом LAMP. Вірус африканської чуми свиней (вид *Asfivirus haemorrhagiae*) — великий оболонковий дволанцюговий ДНК-вірус родини Asfarviridae. Він є збудником африканської чуми свиней — тяжкої і часто смертельної хвороби, що уражає домашніх свиней і диких представників родини свинячих. Інфекція зазвичай супроводжується високою температурою, крововиливами та високою смертністю. Вірус може персистентно інфікувати бородавочників, кистевухих свиней і м'яких кліщів роду *Ornithodoros*, як правило, без клінічних ознак. Він передається через прямий контакт з інфікованими тваринами, споживання контамінованих продуктів зі свинини, контакт із контамінованими предметами (фомітами), а також через м'яких кліщів. Вірус дуже стійкий у довкіллі та в деяких продуктах зі свинини, що сприяє його збереженню і поширенню. Хворобу зареєстровано в багатьох регіонах Африки, Європи, Азії та Америки; вона становить серйозну загрозу здоров'ю свиней і світовій свинарській галузі. Науковий дизайн тесту ґрунтується на ліцензованій технології Центру досліджень здоров'я тварин (IRTA-CReSA).

ПРИНЦИП МЕТОДУ

Петлева ізотермічна ампліфікація (LAMP) дає змогу ампліфікувати цільову ділянку ДНК-матриці за допомогою специфічних олігонуклеотидів. Накопичений продукт ампліфікації можна виявити за допомогою флуоресцентних барвників. Зростання сигналу забезпечує чутливе виявлення патогенів.

СКЛАД НАБОРУ

TargetSpecies MONODOSE-LAMP® (ОКРЕМІ ПРОБІРКИ) — містять дегідратовану суміш специфічних праймерів, полімерази, dNTP, флуоресцентного барвника та буфера. 24 або 96 реакцій.

LAMP-буфер (БІЛА КРИШКА) — для розчинення MONODOSE LAMP, 2 пробірки по 1,2 мл.

Вода, вільна від ДНКаз/РНКаз (ЗЕЛЕНА КРИШКА), 500 мкл.

Позитивний контроль (ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА) — дегідратовані копії мішені для позитивного контролю.

Буфер для матриці (ЧОРНА КРИШКА) — виключно для розчинення позитивного контролю, 150 мкл.

УМОВИ ЗБЕРІГАННЯ

Усі компоненти ASFV MONODOSE-LAMP® стабільні при кімнатній температурі під час транспортування. Після отримання, якщо набір не використовується одразу, зберігайте його при температурі від -15 до -25 °C. Продукт стабільний протягом одного року (див. термін придатності на етикетці).

Позитивний контроль (ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА) після розчинення рекомендується зберігати в окремій коробці при температурі від -15 до -25 °C.

НЕОБХІДНІ МАТЕРІАЛИ, ЩО НЕ ВХОДЯТЬ ДО НАБОРУ

- Набір для виділення нуклеїнових кислот: необхідно застосувати відповідний метод очищення, щоб отримати чисту ДНК або РНК без інгібіторів (рекомендовано набори для екстракції GPS®)
- Мікропіпетки та стерильні наконечники з фільтрами
- Вортекс і міні-центрифуга
- Охолоджувальний блок
- Genie® Lite (OptiGene) або прилад, валідований користувачем. Прилад має реєструвати флуоресценцію в каналі SYBR/FAM.

ВАЖЛИВІ ПРИМІТКИ

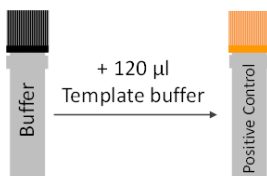
- Виключно для досліджень (RUO). Не призначено для діагностичних процедур.
- Щоб уникнути неправильного використання, уважно прочитайте цю інструкцію.
- Для правильної роботи з набором потрібен фахівець із належною підготовкою в галузі молекулярної біології.
- Відповідно до належної лабораторної практики завжди використовуйте відповідний лабораторний халат, одноразові рукавички та захисні окуляри.
- Усі прилади, що використовуються, мають бути перевірені та відкалібровані відповідно до рекомендацій виробника.
- Цим тестом можна аналізувати будь-який тип зразків після відповідного виділення нуклеїнових кислот.

ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ

- ⚠ Не відкривайте реакційні пробірки LAMP після завершення ампліфікації, оскільки існує високий ризик контамінації.
- ⚠ Щоб запобігти контамінації мікропіпеток, використовуйте стерильні наконечники з фільтрами.
- ⚠ Мікропіпетки, якими розводили позитивний контроль, не слід використовувати для інших реагентів LAMP.
- ⚠ Виділяйте, зберігайте та готуйте позитивні матеріали (зразки, позитивні контролю та продукти LAMP) в окремому лабораторному приміщенні.
- ⚠ Щоб уникнути перехресної контамінації позитивним контролем, вносьте його після закриття реакційних пробірок із негативним контролем і зразками.
- ⚠ Робочий процес у лабораторії має бути односпрямованим: від чистої зони підготовки до зони ампліфікації.
- ⚠ Тримайте компоненти охолодженими в охолоджувальному блоці.
- ⚠ Захищайте пробірки MONODOSE від тривалої дії світла.
- ⚠ Після підготовки пробірок MONODOSE негайно запускайте реакцію.
- ⚠ Про будь-який інцидент, пов'язаний із продуктом, необхідно повідомити GPS® (див. розділ КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ).

ПРИГОТУВАННЯ ПОЗИТИВНОГО КОНТРОЛЮ

Запаяний **позитивний контроль** (**ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА**) містить чисту матрицю, тому існує значний ризик контамінації. Щоб уникнути контамінації, дотримуйтесь рекомендацій розділу ЗАСТЕРЕЖЕННЯ ТА ЗАПОБІЖНІ ЗАХОДИ цієї інструкції. Для приготування **позитивного контролю** (**ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА**) коротко відцентрифугуйте пробірку, розчиніть вміст у 120 мкл **буфера для матриці** (ЧОРНА КРИШКА), ретельно перемішайте на вортексі та знову коротко відцентрифугуйте.



Внесіть 5 мкл матриці в лунку відповідно до схеми розміщення на планшеті. Кінцевий об'єм у кожній реакційній лунці LAMP становить 25 мкл.

ПРОТОКОЛ І РЕЖИМ АМПЛІФІКАЦІЇ

Внесіть у кожну окрему пробірку 20 мкл LAMP-буфера (БІЛА КРИШКА) і 5 мкл обробленого зразка. Якщо зразок не очищений, перед використанням розведіть його водою, вільною від нуклеаз, у співвідношенні 1:10, щоб зменшити концентрацію можливих інгібіторів. Ретельно перемішайте на вортексі та коротко відцентрифугуйте.

GPS® MONODOSE-LAMP® валідовано з використанням ізотермічного флуориметра реального часу Genie® Lite (OptiGene). Роботу тесту на інших LAMP-платформах не оцінювали, тому будь-яке застосування на альтернативних приладах користувач повинен валідувати перед рутинним використанням. MONODOSE-LAMP® може виготовлятися в низькопрофільних або високопрофільних пробірках. Для приладів, що працюють лише з власними витратними матеріалами, перенесіть у них вміст пробірки MONODOSE (25 мкл).

Зверніть увагу: флуоресцентний сигнал необхідно реєструвати в каналі SYBR/FAM.

Етап	Час	Температура
Гібридизація / елонгація і збір даних	25 хв	65 °C

Під час використання LAMP-приладу запрограмуйте його згідно з інструкцією виробника та встановіть 25 хвилин при 65 °C.

Після ампліфікації Genie® Lite виконує аналіз кривої відпалу. Під час цього процесу реакційну суміш поступово охолоджують, відстежуючи зміни флуоресценції. Отримана температура відпалу додатково підтверджує ідентичність продукту ампліфікації. Докладніше див. розділ «Інтерпретація результатів».

РЕКОМЕНДОВАНІ КОНТРОЛІ РЕАКЦІЇ

Ці контролі реакції LAMP рекомендовані з урахуванням вимог UNE/EN ISO 17025. Під час налаштування протоколу LAMP оберіть контролі, які найкраще відповідають вашій системі якості. Якщо передбачено етап екстракції, слід використовувати відповідні контролі екстракції.

Негативний контроль (Ctrl -): внесіть в одну пробірку 20 мкл LAMP-буфера (БІЛА КРИШКА) і 5 мкл води, вільної від ДНКаз/РНКаз (ЗЕЛЕНА КРИШКА). Ця реакція має бути негативною. Позитивний результат може свідчити про контамінацію деяких реагентів реакційної суміші, і тоді тест вважається непереконливим. Реагенти необхідно утилізувати.

Позитивний контроль (Ctrl +): приготуйте позитивний контроль (ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА), як описано вище. Внесіть в одну пробірку 20 мкл LAMP-буфера (БІЛА КРИШКА) і 5 мкл позитивного контролю. Позитивний результат свідчить, що реакцію LAMP налаштовано правильно і вона працює. Якщо результат негативний, тест слід ретельно повторити після перевірки температурного протоколу.

Негативний контроль екстракції (ExtCtrl -): виконайте екстракцію згідно з вашим протоколом без додавання зразка. Внесіть 20 мкл LAMP-буфера (БІЛА КРИШКА) і 5 мкл негативного зразка екстракції. У цьому випадку тест охоплює реагенти, використані на етапах екстракції. Якщо він позитивний, а негативний контроль негативний, контамінація сталася під час екстракції. Реагенти для екстракції необхідно утилізувати.

Позитивний контроль екстракції (ExtCtrl +): виконайте екстракцію згідно з вашим протоколом, додавши в перший буфер для екстракції 5 мкл позитивного контролю (ПОМАРАНЧЕВА КРИШКА) або нуклеїнові кислоти, виділені з чистих культур. Позитивний контроль екстракції дає змогу оцінити ефективність використаного методу екстракції. Очікується позитивний результат. Якщо він негативний, екстракцію слід ретельно повторити або замінити метод екстракції.

ІНТЕРПРЕТАЦІЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Зростання флуоресценції, подібне до спостережуваного в позитивному контролі, що відбувається протягом 25 хвилин реакції, інтерпретується як позитивна ампліфікація. Незначне зростання флуоресценції або пізня ампліфікація після цього періоду не повинні інтерпретуватися як позитивні результати.

Ctrl -	Ctrl +	Зразок	ExtCtrl -	Інтерпретація
+	+ / -	+ / -	+ / -	Реагенти LAMP контаміновані
-	-	+ / -	+ / -	Експеримент невдалий
-	+	+ / -	+	Контамінація на етапі екстракції
-	+	-	-	Негативний зразок
-	+	+	-	Позитивний зразок

Символи + і - означають, відповідно, наявність або відсутність ампліфікації.

Зразки, що демонструють очікуваний профіль ампліфікації разом із характерним піком плавлення, визначеним позитивним контролем, вважаються специфічною ампліфікацією. Під час валідації тесту очікувану температуру плавлення встановлено на рівні $87,0 \pm 0,5$ °C. Температури плавлення поза цим діапазоном або нетипові профілі кривих можуть свідчити про неспецифічну ампліфікацію чи артефакти, тому їх слід інтерпретувати з обережністю.

Описані критерії інтерпретації стосуються виключно результатів, отриманих на валідованій платформі Genie® Lite (OptiGene). Для інших LAMP-приладів еквівалентні робочі характеристики чи критерії інтерпретації не встановлено, тому користувач повинен їх валідувати перед застосуванням тесту на альтернативній платформі.

СЕРТИФІКАЦІЯ АНАЛІЗУ

Усі партії калібруються за стандартною кривою від 10^4 до 50 копій матриці. Уся ця інформація міститься в сертифікаті якості, який GPS® надає замовнику.

КОНТАКТНА ІНФОРМАЦІЯ

З будь-яких питань і щодо технічної підтримки звертайтеся на support@geneticpcr.com. Щодо комерційних пропозицій, замовлень або розробки нових мішеней звертайтеся на orders@geneticpcr.com.

УЗГОДЖЕНІ СИМВОЛИ ТА СКОРОЧЕННЯ

ДНК	Дезоксирибонуклеїнова кислота	ЗТ	Зворотна транскрипція
РНК	Рибонуклеїнова кислота		
LAMP	Петлева ізотермічна ампліфікація		



Лише для досліджень



Дата виготовлення



Номер партії



Термін придатності



Увага



Температурний діапазон



Див. інструкцію із застосування



Берегти від світла



Виробник



genetic PCR solutions®

by GENETIC ANALYSIS STRATEGIES S.L

Av. Dr. Gómez-Pardo Ródenas, 1

03300-Orihuela (Alicante)

☎ Тел.: +34-965429901

💻 Сайт: www.geneticpcr.com

✉ Ел. пошта: info@geneticpcr.com

За участі

IRTA[®]
CReSA

