

GeneProof Aspergillus PCR Kit



Producto médico para diagnóstico *in vitro*

Este kit ha sido fabricado de conformidad con la Directiva EC 98/79/EC como dispositivo médico para diagnóstico *in vitro* y ha sido diseñado para su uso profesional en laboratorios clínicos y de investigación especializados.

CONTENIDO DEL KIT

REF	Versión ISIN CI incluido en la MasterMix			Versión ISEX CI suministrado en un tubo separado Control de extracción y de inhibición de la PCR		
	ASP/ISIN/025 25 rxn	ASP/ISIN/050 50 rxn	ASP/ISIN/100 100 rxn	ASP/ISEX/025 25 rxn	ASP/ISEX/050 50 rxn	ASP/ISEX/100 100 rxn
MasterMix						
<i>Aspergillus</i>	1x750 µl	2x750 µl	4x750 µl	1x750 µl	2x750 µl	4x750 µl
Positive Control						
<i>Aspergillus</i>	1x200 µl	1x200 µl	2x200 µl	1x200 µl	1x200 µl	2x200 µl
Internal Standard						
<i>Aspergillus</i>	-	-	-	1x1000 µl	1x1000 µl	2x1000 µl

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Los kits deben transportarse y almacenarse a temperaturas entre -85°C y -10°C. El kit permanecerá estable al menos hasta la fecha de caducidad impresa en el paquete si se mantiene a la temperatura de almacenamiento. La congelación y descongelación repetidas de los componentes del kit pueden resultar en una menor calidad de detección.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Secuencia diana	Separador intergénico ITS2/28S ADNr
Especificidad	<i>Aspergillus</i> spp. (<i>Aspergillus fumigatus</i> , <i>Aspergillus flavus</i> , <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus clavatus</i> , <i>Aspergillus nidulans</i> , <i>Aspergillus oryzae</i> , <i>Aspergillus ustus</i> , <i>Aspergillus versicolor</i> , <i>Aspergillus niveus</i> , <i>Aspergillus candidus</i> , <i>Aspergillus wentii</i> , <i>Aspergillus foetidus</i>) con diferenciación de <i>Aspergillus terreus</i> .
Sensibilidad analítica (LoD)	Alcanza hasta 48,837 genoma/ml con un 95% de probabilidad
Tipos de muestras	Sangre entera, plasma, BAL (Lavado broncoalveolar), esputo
Control de Calidad	Regularmente testado por los paneles de evaluación de calidad externos QCMD e Instand e.V.

PRINCIPIOS DEL MÉTODO

El kit de PCR está diseñado para la detección de los representantes clínicamente significativos de la especie *Aspergillus* que causan enfermedades infecciosas graves, especialmente en pacientes inmunodeficientes, mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. La detección de *Aspergillus* se basa en la amplificación de una secuencia específica de ADN mitocondrial y en la medición del crecimiento de la concentración del producto de amplificación mediante un proceso de PCR y sondas marcadas con fluoróforo. El género *Aspergillus* se detecta en el canal fluorescente FAM, mientras que el canal Cy5 permite la detección de *Aspergillus terreus*. Se incluye un Control interno / *Internal Standard* (CI) en la mezcla de reacción, que controla la posible inhibición de la reacción de PCR (versión ISIN) y también la calidad del proceso de extracción de ADN (versión ISEX). La amplificación positiva del CI se detecta en el canal de fluorescencia del fluoróforo HEX. El kit de detección utiliza la tecnología "hot start", minimizando las reacciones inespecíficas y asegurando la máxima sensibilidad. La MasterMix lista para usar contiene uracilo-ADN-glicosilasa (UDG), eliminando la posible contaminación de la reacción de PCR por productos de amplificación. El kit está diseñado para el diagnóstico *in vitro* y proporciona detección cualitativa.

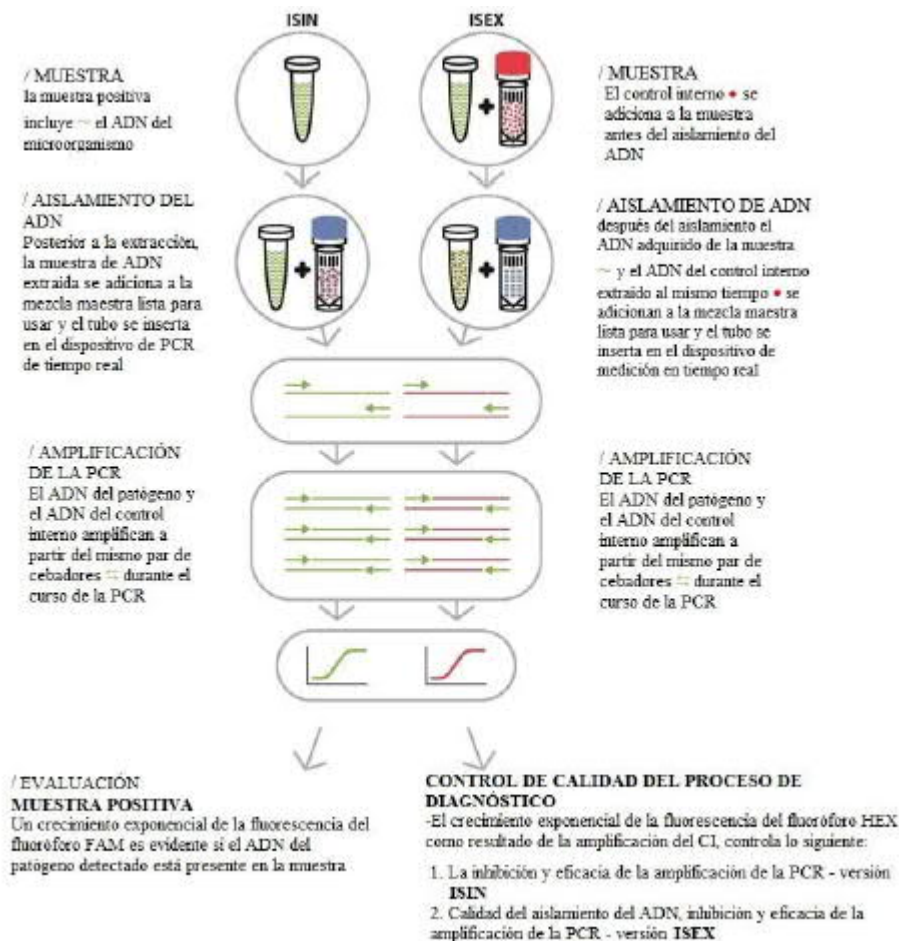
Versión ISIN

El control interno / *Internal Standard* se incluye en el tubo de la MasterMix. Esta versión del kit de PCR permite el control de inhibición de la PCR.

Versión ISEX

El control interno / *Internal Standard* se proporciona como un elemento independiente dentro del paquete. Esta versión del kit de PCR permite tanto el control de la inhibición de la PCR como el control de la eficiencia del proceso de extracción de ácidos nucleicos.

TECNOLOGIA DE DETECCIÓN DE ADN MICROBIANO



PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

El muestreo de al menos 1 ml debe realizarse en un vial estéril sin ningún medio de transporte y enviarse al laboratorio en un rango de temperatura de +2°C a +8°C dentro de las 24 horas. Para el almacenamiento a largo plazo, las muestras deben mantenerse entre -85°C y -10°C.

PURIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

La extracción de ácidos nucleicos debe realizarse mediante kits de extracción disponibles en el mercado, de acuerdo con los protocolos para la extracción de material clínico en particular. El fabricante recomienda el protocolo de aislamiento de hongos y los siguientes kits de aislamiento:

GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit

croBEENA 16 Nucleic Acid Extraction System

Cuando se utilizan las versiones ISEX de los kits de PCR, el CI debe agregarse directamente a la muestra al comienzo del proceso de aislamiento de modo que al final 1 µl del volumen de elución resultante contenga 0.1 µl del CI:

Volumen de Elución	25 µl	50 µl	100 µl	200 µl
Internal Standard	2.5 µl	5 µl	10 µl	20 µl

PREPARACIÓN DE LA PCR

1. Agregue 30 µl de MasterMix en los tubos de PCR.

2. Agregue 10 µl de la muestra de ácido nucleico aislada o 10 µl de control positivo / *positive control* en los tubos de PCR individuales. El volumen final de la mezcla de reacción será de 40 µl.

Es necesario mantener todos los componentes a +2°C hasta +8°C durante la preparación de la PCR.

3. Cierre los tubos, centrifugue brevemente, insértelos en el dispositivo y deje que amplifiquen de acuerdo con el siguiente perfil de PCR.

¡Tenga mucho cuidado al manipular el control positivo / positive control o el material clínico, un manejo incorrecto podría provocar la contaminación y el consiguiente deterioro de los componentes del kit o de la MasterMix! El fabricante no es responsable por el deterioro del kit debido a un manejo incorrecto.

PROGRAMA DE AMPLIFICACIÓN

Paso	Temperatura	Tiempo	Dato recopilado	Ciclos
Hold	37 °C	2 min		1
Hold	95 °C	10 min		1
PCR	95 °C	5 s		45
	60 °C	40 s	FAM + HEX + Cy5	
	72 °C	20 s		

INSTRUMENTOS

Los kits de PCR GeneProof están diseñados para su uso con dispositivos en tiempo real de varios fabricantes. Este kit de PCR ha sido validado con los siguientes dispositivos:

Rotor-Gene 3000*

CFX96™/Dx Real-Time PCR Detection System

SLAN® Real Time PCR System










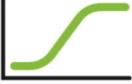
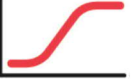










Applied Biosystems 7500 RealTime PCR System

LineGene 9600*













* La validación se aplica a un modelo de dispositivo que proporciona detección en los siguientes canales: FAM, HEX y Cy5.

Los kits de diagnóstico GeneProof se validan continuamente con varios tipos de dispositivos. Solicite la lista actualizada en support@geneproof.com.

EVALUACIÓN DE ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

Canal FAM	Canal Cy5	Canal HEX	Resultado	Interpretación
		 o 	Válido	<i>Aspergillus spp.</i> Positivo
		 o 	Válido	<i>Aspergillus spp./Aspergillus terreus</i> Positivo
		 o 	Válido	<i>Aspergillus terreus</i> Positivo
		 Ct<38	Válido	Negativo
		 Ct>38	Inválido	
			Inválido	

EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS DEL CONTROL

	Canal FAM+Cy5	Canal HEX	Resultado
Control Positivo		 o 	VÁLIDO
Control Negativo		 o 	VÁLIDO
Control Positivo		 o 	INVÁLIDO
Control Negativo		 o 	INVÁLIDO

ADVERTENCIA

Se incluye en el paquete un inserto de paquete válido único para un kit específico o se debe solicitar al fabricante en particular para el lote en particular. El kit debe desecharse después de su uso de acuerdo con la normativa legal vigente, teniendo en cuenta el hecho de que el kit no contiene componentes peligrosos, infecciosos o tóxicos que estén sujetos a normas de seguridad especiales, y los materiales de embalaje están hechos de papel y polipropileno. Si tiene alguna pregunta, comuníquese con nuestro Servicio al Cliente.

Atención al cliente y soporte técnico

Tel.: +420543211679
Email: support@geneproof.com

Pedidos

Tel.: +420543211679
Email: sales@geneproof.com



GeneProof a.s.
Videňská 101/119 / Dolní Heršpice / CZ-619 00 Brno / +420 543 211 679 / info@geneproof.com
Versión: DOK_275_15_01 Vigente desde: 30.11.2020

