

GeneProof Epstein-Barr Virus (EBV) PCR Kit



Producto médico para diagnóstico *in vitro*

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

CONTENIDO DEL KIT

Nombre	EBV/ISEX/025 25 rxn	EBV/ISEX/100 100 rxn
MasterMix		
EBV	1 x750 µl	4 x750 µl
Calibrator		
EBV 10 ⁴ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
EBV 10 ³ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
EBV 10 ² cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
EBV 10 ¹ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
Internal Standard		
EBV	1x1000 µl	2x1000 µl

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Este kit debe ser transportado a una temperatura inferior -20 °C o menor. Si la temperatura de almacenamiento se mantiene entre -20 °C ± 5 °C, el kit permanecerá estable al menos hasta la fecha de caducidad impresa en el paquete. El kit permanece estable pasados los 15 ciclos repetidos de congelación/ descongelación.

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Secuencia diana	Secuencia del ADN del gen de copia única que codifica el antígeno nuclear 1 (EBNA1)
Especificidad analítica	Epstein-Barr virus, 100 %
Sensibilidad analítica	196,088 IU/ml
(LoD con probabilidad del 95 %)	(para NIBSC EBV 09/260 con aislamiento manual GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit)
Especificidad diagnóstica	100 % (CI _{95%} : 83,98 % - 100 %)
Sensibilidad diagnóstica	100 % (CI _{95%} : 96,53 % - 100 %)
Rango lineal	10 ¹⁰ – 10 ^{2.5} IU/ml con una exactitud de ± 0,5 log
Rango dinámico	10 ¹⁰ – 196,088 IU/ml
Unidades de determinación	cp/µl
Factor de conversión	1 IU = 1 cp
Trazabilidad metrológica	NIBSC EBV 09/260
Tipos de muestras validadas	BAL, LCR, plasma, sangre entera
Evaluación externa de calidad	Pruebas realizadas con regularidad en paneles de evaluación externa de calidad QCMD e INSTAND e.V
Estatuto regulador	CE IVD

El sistema de gestión de calidad está certificado de conformidad con los requisitos de la norma ČSN EN ISO 13485 ed.2:2016.

PRINCIPIOS DEL MÉTODO

Este kit de PCR está diseñado para la detección del virus Epstein-Barr (EBV) por el método de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. La detección de EBV se basa en el principio de la amplificación de la secuencia conservada específica del ADN del gen de copia única que codifica el antígeno nuclear 1 (EBNA1) y en la medición del aumento de fluorescencia. La presencia de EBV se indica por el aumento de fluorescencia del fluoróforo FAM. Un Internal Standard (IS) es excluido, controlando así la posible inhibición de la PCR y la calidad del proceso de extracción de ADN. La amplificación positiva de IS se detecta en el canal fluorescente para el fluoróforo HEX. El kit de detección utiliza la tecnología "hot start" que minimiza las reacciones no específicas y garantiza una sensibilidad máxima. La mezcla maestra lista para usar contiene uracilo-ADN-glicosilasa (UDG) que elimina la posible contaminación de la PCR por productos de amplificación. El kit está diseñado para el diagnóstico in vitro y proporciona una detección cualitativa y cuantitativa.

PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Es necesario tomar el plasma y el líquido cefalorraquídeo (LCR) en un tubo estéril sin medio de transporte. Las muestras de sangre entera deben ser tomadas en tubos con un anticoagulante adecuado que no inhiba la PCR, p. ej. EDTA. Las muestras deben ser transportadas al laboratorio dentro de las 24 horas a una temperatura entre +2 °C y +8 °C. Es necesario tomar entre 50 µl y 2 ml de muestras de fluidos corporales. En caso de una conservación prolongada es necesario mantener todas las muestras congeladas a una temperatura inferior a -10 °C.

EXTRACCIÓN 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 los siguientes productos:

GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit

croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit

El Internal Standard (IS) debe agregarse directamente a la muestra al comienzo del proceso de aislamiento, de modo que 1 µl del volumen final de elución resultante contenga 0,1 µl del IS:

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. Agite suavemente y centrifugue brevemente los componentes del kit.
2. Adicione 30 µl de la muestra maestra en los tubos de PCR.
3. Agregue 10 µl de la muestra de ácido nucleico extraído o 10 µl del calibrador (Calibrator) 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 a +8 °C durante la preparación de la PCR.*
4. Cierre los tubos, centrifugue brevemente, insértelos en el dispositivo y deje que ocurra la amplificación de acuerdo con el siguiente perfil de PCR. *¡Tenga mucho cuidado al manipular los calibradores o el material clínico; un manejo incorrecto puede provocar contaminación y consecuente deterioro de los componentes del kit! El fabricante no es responsable por el deterioro del kit debido a un manejo o almacenamiento incorrectos.*

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		
	60 °C	40 s	FAM + HEX	45
	72 °C	20 s		

INSTRUMENTOS

GeneProof Epstein-Barr Virus (EBV) PCR Kit está diseñado para su uso en dispositivos de real-time PCR de varios fabricantes:

croBEE Real-Time PCR System

Applied Biosystems 7300 / 7500 Real-Time PCR System
 AriaMx Real-Time PCR System
 CFX Connect™ / CFX96™/ Dx Real-Time PCR Detection System
 LightCycler® 2.0 / 480
 LineGene 9600 / 9600 Plus
 Montania 4896 Real-Time PCR termocycler

Mic qPCR Cyclers

QuantStudio™ 3 Real-Time PCR System
 QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
 Rotor-Gene 3000 / Q
 SLAN® Real-Time PCR System
 StepOne™/StepOne Plus™ Real-Time PCR System

Canales de detección requeridos: FAM, HEX

Comprobamos regularmente los kits de diagnóstico GeneProof en distintos tipos de instrumentos. La lista actualizada está disponible en www.geneproof.com o puede solicitarla en support@geneproof.com.

EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

Canal FAM	Canal HEX	Resultado	Interpretación
		Válido	EBV positivo
		Válido	EBV positivo
		Ct<38 Válido	EBV negativo
		Ct>38 Inválido	
		Inválido	

EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE LA DETECCIÓN

Utilice la siguiente fórmula para el cálculo de la concentración del virus en cp/ml para la extracción **manual** (utilizando GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit):

$$cp/ml = \frac{SC \times EV}{IV}$$

SC - Concentración de la muestra (cp/μl)

EV - Volumen de elución (μl)

IV - Volumen de extracción (ml)

Para facilitar el cálculo de la concentración de patógenos mediante extracción manual o automatizada puede utilizar la calculadora en www.geneproof.com.

ADVERTENCIA

El único Manual de uso válido para cada kit forma parte del embalaje; el fabricante dispone de un manual para cada lote de producción que entrega a petición. Utilice solo la combinación de componentes de un lote de paquete en particular. Una vez utilizado el kit, se recomienda desecharlo según la legislación vigente, teniendo en cuenta que el kit no contiene sustancias peligrosas, infecciosas o tóxicas que estén sometidas a normas de seguridad especiales, y que el embalaje está fabricado de papel y de polipropileno. En caso de cualquier duda contacte con nuestro departamento de Atención al cliente.

Atención al cliente y Soporte técnico

Tel.: +420 730 176 222

Email: support@geneproof.com

Pedidos

Tel.: +420 543 211 679

Email: sales@geneproof.com



GeneProof a.s.

Vídeňská 101/119 / Dolní Heršpice / CZ-619 00 Brno / +420 543 211 679 / info@geneproof.com

Versión: IFU_0006_A03_1.0, Vigente desde: 11. 8. 2021

