

GeneProof Parvovirus B19 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	B19/ISEX/025 25 rxn	B19/ISEX/100 100 rxn
MasterMix B19	1x750 µl	4x750 µl
Calibrator B19 10 ⁴ IU/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator B19 10 ³ IU/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator B19 10 ² IU/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator B19 10 ¹ IU/µl	1x200 µl	1x200 µl
Internal Standard B19	1x1000 µl	2x1000 µl

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

Este kit puede ser transportado a una temperatura inferior a -20 °C. El kit permanecerá estable al menos hasta la fecha de caducidad impresa en el paquete si la temperatura de almacenamiento se mantiene entre -20 ± 5 °C. Los componentes son estables durante un máximo de 5 ciclos repetidos de congelación/descongelación o como máximo 14 días después del primer uso de un vial en particular (lo que ocurra primero).

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

Secuencia diana	Secuencia conservada del ADN del gen de copia única que codifica la proteína VP1 (cápside)
Especificidad analítica	Parvovirus B19, 100 %
Sensibilidad analítica	90,29 IU/ml (para Parvovirus B19 NIBSC 12/208 con el GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit)
(LoD con probabilidad del 95 %)	156,7 IU/ml (para Parvovirus B19 NIBSC 12/208 con croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit)
Rango lineal	10 ⁸ – 10 ^{2.5} IU/ml con una exactitud de ± 0.5 log
Rango dinámico	10 ⁸ – 90,29 IU/ml (con extracción manual GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit) 10 ⁸ – 156,7 IU/ml (con extracción automática con croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit)
Factor de conversión	1 IU = 1,6 cp
Tipos de muestras validadas	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.

INTERFERENCIA

Las pruebas de interferencias se realizaron utilizando las muestras negativas de plasma con un nivel establecido de los marcadores bioquímicos que podían ser posibles interferencias endógenas. Las muestras clínicas negativas se enriquecieron con control positivo de Parvovirus B19 de una concentración de 3x LoD (límite de detección). Niveles elevados de bilirrubina (342 µmol/L), albúmina (60 g/L), hemoglobina (2 g/L), urea (42,9 mmol/L), ácido úrico (1,4 mmol/L), D-glucosa (55 mmol/L) y citrato (190 g/L) han sido probados en presencia y ausencia del ADN de Parvovirus B19 en las muestras de plasma. La evaluación y la configuración de los valores patológicos para las pruebas de interferencias se realizaron de acuerdo con las directrices EP7-A2 de CLSI y con las recomendaciones de la Sociedad Checa de Bioquímica Clínica.

PLASMA

Sustancia probada	Concentración probada	Inhibición observada	Sustancia probada	Concentración probada	Inhibición observada
Albúmina	60 g/L	Ninguna	Hemoglobina	2 g/L	Ninguna
Bilirrubina	342 µmol/L	Ninguna	Urea	42.9 mmol/L	Ninguna
Glucosa	55 mmol/L	Ninguna	Ácido úrico	1,4 mmol/L	Ninguna
Citrato	190 g/L	Ninguna	-	-	-

Los niveles probados de las sustancias endógenas interferentes no influyen de manera significativa en la sensibilidad de la detección de Parvovirus B19 realizada con el GeneProof Parvovirus B19 PCR Kit.

PRINCIPIOS DEL MÉTODO

El kit de PCR está destinado a la detección del ADN de Parvovirus B19 mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) real-time. El método consiste en la medición del crecimiento de la fluorescencia mediante las sondas marcadas con fluoróforo. La detección del Parvovirus B19 se basa en la amplificación de la secuencia conservada de ADN del gen de copia única que codifica la proteína VP1 (cápside). La presencia del Parvovirus B19 se indica por el crecimiento de la fluorescencia del fluoróforo FAM. La amplificación positiva de estándar interno (Internal standard, 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), eliminando 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.

El estándar interno (Internal Standard, IS) se proporciona como elemento independiente dentro del kit. IS se puede utilizar tanto para controlar la inhibición de la reacción de PCR como para el control de la eficacia del aislamiento de los ácidos nucleicos.

PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

La sangre entera y el plasma son materiales clínicos utilizados normalmente para la detección de Parvovirus B19. Es necesario seguir las instrucciones del laboratorio durante el transporte. No conviene congelar las muestras de la sangre entera antes del aislamiento del ADN. Conviene mantener estas muestras a una temperatura entre +2 °C y +8 °C. La muestra de la sangre periférica incoagulable con EDTA deberá transportarse al laboratorio en 24 horas.

AISLAMIENTO 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 kits de extracción:

croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit

GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit

El estándar interno (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
Estándar interno (Internal Standard, IS)	2,5 µl	5 µl	10 µl	20 µl

PREPARACIÓN DE LA PCR

1. Adicione 30 µl de la muestra maestra en los tubos de PCR.

2. Agregue 10 µl de la muestra de ácido nucleico extraído o 10 µl del calibrador 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. El cliente tiene que usar su propio control negativo en forma de agua, tampón o aislamiento de material clínico negativo en cada prueba. Los 4 calibradores deben usarse para configurar la curva estándar para la detección cuantitativa.*

3. 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
	95 °C	5 s		
PCR	60 °C	40 s	FAM + HEX	45
	72 °C	20 s		

INSTRUMENTOS

El Kit GeneProof Parvovirus B19 PCR está diseñado para su uso en dispositivos de PCR en real-time de varios fabricantes:

croBEE Real-Time PCR System

Applied Biosystems 7300 / 7500 Real-Time PCR System

Mic qPCR Cycler

AriaMx Real-Time PCR System

QuantStudio™ 3 Real-Time PCR system

CFX Connect™ / CFX96™/ Dx Real-Time PCR Detection System

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR system

LightCycler® 480

Rotor-Gene 3000 / 6000 / Q

LineGene 9600 Plus


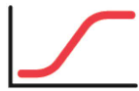



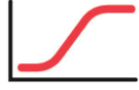


SLAN® Real-Time PCR System

StepOne™/ StepOne Plus™ Real-Time PCR System

Canales requeridos: FAM, HEX

La compañía GeneProof comprueba regularmente los kits de diagnóstico en distintos tipos de instrumentos. La lista actualizada está disponible en www.geneproof.com o puede solicitarla escribiendo a la siguiente dirección de correo electrónico support@geneproof.com.

EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

Canal FAM	Canal HEX	Resultado	Interpretación
		Válido	B19 Positivo
		Válido	B19 Positivo
		Válido	B19 Negativo
		Inválido	

EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE LA DETECCIÓN

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

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

SC - Concentración de la muestra (IU/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_0071_A03_1.0, Vigente desde: 23.6.2021

