

GeneProof BK/JC Virus (BK/JC) 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

IS suministrado en un tubo separado
 Control de extracción y de inhibición de la PCR

| REF | BKJC/ISEX/025 25 rxn | BKJC/ISEX/050 50 rxn | BKJC/ISEX/100 100 rxn |
|-------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------|
| MasterMix | | | |
| BKJCV | 1 x750 µl | 2 x750 µl | 4 x750 µl |
| Calibrator | | | |
| BKJC 10 ⁴ cp/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| BKJC 10 ³ cp/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| BKJC 10 ² cp/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| BKJC 10 ¹ cp/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| Internal Standard | | | |
| BKJC | 1x1000 µl | 1x1000 µl | 2x1000 µl |

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El kit debe transportarse a una temperatura inferior a -20°C. 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 conservada específica del ADN que traslapa el límite del gen para la proteína VP1 y VP2 |
| Especificidad analítica | Virus BK 100 % Virus JC 100% |
| Sensibilidad analítica (LoD) | Hasta 0.684 cp/µl con una probabilidad del 95 % |
| Rango lineal | 10 ¹⁰ cp/ml - 10 ² cp/ml, exactitud de ± 0.5 log |
| Tipos de muestras validadas | LCR, plasma, orina, sangre entera |
| Evaluación externa de calidad | Pruebas realizadas con regularidad en paneles de evaluación externa de calidad QCMD e Instand e.V |

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 destinado a la detección y diferenciación de los virus BK y JC por el método de la reacción en cadena de la polimerasa (ensayo de PCR duplex) en tiempo real. La detección y diferenciación de los virus BK/JC se basan en el principio de la amplificación de una secuencia de ADN conservada específica que se superpone al límite entre el gen para las proteínas VP1 y VP2 y en la medición del aumento de fluorescencia. La presencia del virus BK se indica por el aumento de fluorescencia del fluoróforo FAM y la presencia del virus JV se indica por el aumento de fluorescencia del fluoróforo Cy5. El Control Interno (CI) que controla la posible inhibición de la PCR y controla también la calidad del aislamiento del ADN. La amplificación positiva de CI 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.

Limitación de uso para pacientes no trasplantados:

Con concentraciones altas simultáneas de BKV, el kit no se puede utilizar para el control de una infección por JCV para determinar una contraindicación para los siguientes tratamientos farmacológicos: rituximab (Rituxan), natalizumab (Tysabri), efalizumab (Raptiva), fingolimod (Gilenya), dimetilfumarato (Tecfidera) o brentuximab vedonin (Adcetris) u otra sugerencia, si queremos tratar la inhibición parcial más discreta. Este kit no se puede utilizar para el seguimiento de la infección por JCV a fin de determinar una posible contraindicación para el siguiente tratamiento farmacológico: rituximab (Rituxan), natalizumab (Tysabri), efalizumab (Raptiva), fingolimod (Gilenya), dimetilfumarato (Tecfidera) o brentuximab vedonin (Adcetris).

Versión ISEX

En esta versión del kit, el control interno (CI) se proporciona como elemento independiente dentro del kit. Esta versión del kit 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, el plasma, el líquido cefalorraquídeo (LCR) y la orina corresponden a material relevante para la detección de BKV y JCV. Al trabajar con la orina conviene realizar, antes del propio aislamiento del ADN para la prueba de amplificación de ácido nucleico, una centrifugación (al menos 1000 g durante 20 minutos) para la sedimentación de las células en las que se encuentra el virus. No conviene congelar las muestras para el aislamiento del ADN, lo mejor es mantenerlas a temperatura de ambiente (la muestra de sangre periférica no coagulante debe tomarse en EDTA y ser transportada al laboratorio en 24 horas a una temperatura entre +2 °C y +8 °C). Las muestras de LCR se pueden congelar a una temperatura inferior a -20 °C, haciendo el análisis mediante el aislamiento directo del ácido nucleico.

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 productos:

GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit

croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit

Al usar las versiones ISEX de los kits de, el CI 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 CI:

| Volumen de elución | 25 µl | 50 µl | 100 µl | 200 µl |
|-------------------------------------|--------|-------|--------|--------|
| Control Interno (Internal Standard) | 2.5 µl | 5 µl | 10 µl | 20 µl |

PREPARACIÓN DE LA PCR

1. Adicione 30 µl de la MasterMix en los tubos de PCR.

2. 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.*

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 |
| PCR | 95 °C | 5 s | | |
| | 60 °C | 40 s | FAM + HEX + Cy5 | 45 |
| | 72 °C | 20 s | | |

INSTRUMENTOS

GeneProof BK/JC Virus (BK/JC) PCR Kit está diseñado para su uso en dispositivos de PCR en tiempo real de varios fabricantes:

croBEE Real-Time PCR System

Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System

AriaMx Real-Time PCR System

CFX96™/ Dx Real-Time PCR Detection System

LightCycler® 480

LineGene 9600 / 9600 Plus

Mic qPCR Cycler

QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System

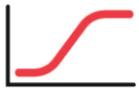
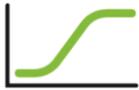
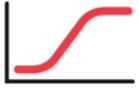
Rotor-Gene 3000 / Q

SLAN® Real-Time PCR System

Canales requeridos: FAM, HEX, Cy5

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 Cy5 | Canal HEX | Resultado | Interpretación |
|---|---|---|-----------|------------------|
|  |  |  | Válido | BKV positivo |
|  |  |  | Válido | JCV positivo |
|  |  |  | Válido | BKV+JCV positive |
|  |  |  Ct<38 | Válido | negativo |
|  |  |  Ct>38 | No válido | |
|  |  |  | No válido | |

EVALUACIÓN CUANTITATIVA DE LA DETECCIÓN

Utilice la siguiente fórmula para el cálculo de la concentración del virus en copias/ml, tomando en cuenta la cantidad del material extraído:

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

SC - Concentración de la muestra (cp/μl)

EV - Volumen de elución (μl)

IV - Volumen de extracción (ml)

Puede usar la calculadora para la conversión de la concentración de patógenos en www.geneproof.com para facilitar el cálculo.

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 del kit de PCR específico. 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_0012_A03_1.0, Vigente desde: 11. 1. 2021

