

## GeneProof Kit de PCR de diagnóstico del virus de la hepatitis C (VHC)



Dispositivo de diagnóstico *in vitro* médico de diagnóstico

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

### CONTENIDO DEL EQUIPO

ARBITRO	Versión ISEX		
	HCVD/ISEX/025	HCVD/ISEX/050	VHC/ISEX/100
	25 rxn	50 rxn	100 rxn
<b>mezcla maestra</b>			
VHCD	1x750 µl	2x750 µl	4x750 µl
<b>Calibrador</b>			
VHCD	1x400 µl	1x400 µl	1x400 µl
10 <sup>5</sup> UI/µl			
<b>Calibrador</b>			
VHCD	1x400 µl	1x400 µl	1x400 µl
10 <sup>4</sup> UI/µl			
<b>Calibrador</b>			
VHCD	1x400 µl	1x400 µl	1x400 µl
10 <sup>3</sup> UI/µl			
<b>Calibrador</b>			
VHCD	1x400 µl	1x400 µl	1x400 µl
10 <sup>2</sup> UI/µl			
<b>Control interno</b>			
VHCD	1x500 µl	1x500 µl	2x500 µl

### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El kit se puede transportar a una temperatura inferior a -20 °C. El kit se mantendrá estable al menos hasta la fecha de caducidad impresa en el envase, si se mantiene la temperatura de almacenamiento (-20 ± 5 °C). Los componentes son estables durante un máximo de 6 ciclos repetidos de congelación/descongelación después del primer uso de un vial en particular. El componente debe usarse antes de la fecha de caducidad o 30 días después del primer uso de un vial en particular (lo que ocurra primero).

### ESPECIFICACIÓN TÉCNICA

<b>Secuencia objetivo</b>	región conservativa de la secuencia UTR 5'
<b>Especificidad Analítica</b>	genotipo 1-8 del VHC, 100 %
<b>Sensibilidad analítica (LoD)</b> (con probabilidad del 95%)	alcanza hasta 53,505 UI/ml (en HCV NIBSC 14/150 con el kit de aislamiento de ARN libre de patógenos GeneProof), 170,062 UI/ml (en HCVNIBSC 14/150 con el sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16), 33,473 UI/ml (en el panel Acrometrix HCV-S usando el extractor automático de NA MagCore), 7,95 UI/ml (en el panel Acrometrix HCV-S usando el kit de ácido nucleico viral SpinStar 1.0 con solución de pretratamiento SpinStar)
<b>Especificidad diagnóstica</b>	100% (IC <sub>95%</sub> : 99,07% - 100%)
<b>Sensibilidad de diagnóstico</b>	100% (IC <sub>95%</sub> : 95,39% - 100%)
<b>Rango lineal</b> (con precisión de ± 0,5 log)	10 <sup>8.5</sup> - 10 <sup>2</sup> UI/ml (Kit de aislamiento de ARN libre de patógenos GeneProof), 10 <sup>8.5</sup> - 170.062 UI/ml (sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16), 10 <sup>8.5</sup> - 10 <sup>1.7</sup> UI/ml (Extractor de NA automatizado MagCore)
<b>Gama dinámica</b>	10 <sup>8.5</sup> - 53.505 UI/ml (GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit), 10 <sup>8.5</sup> - 170.062 UI/ml (sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16), 10 <sup>8.5</sup> - 33.473 UI/ml (Extractor de NA automatizado MagCore) UI/µl
<b>Unidades de informes</b>	
<b>Muestra validada</b>	plasma (EDTA, citrato), suero
<b>Estado regulatorio de la evaluación externa de la calidad</b>	probado regularmente por QCMD e Instand eV Paneles de evaluación de calidad externa CE <sub>1023</sub> IVD

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



## INTERFERENCIAS

La prueba de interferencia se realizó utilizando plasma y suero negativos con un nivel establecido de marcadores bioquímicos que pueden ser posibles interferencias endógenas. El plasma y el suero negativos se enriquecieron con un control positivo de VHC a un nivel de 3x LoD. 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) y D-glucosa (55 mmol/L) /L) en muestras analizadas en presencia y ausencia de ADN del VHC. La evaluación y la configuración de los valores patológicos para las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con las directrices CLSI EP7-A2.

La prueba ha sido validada para su uso con plasma humano recogido en EDTA o citrato como sustancias anticoagulantes. La validación se realizó de acuerdo con la directiva 2009/108/EC sobre muestras positivas y negativas. Las muestras positivas se prepararon enriqueciendo con muestras positivas para VHC a 3x LoD.

### PLASMA

Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada	Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada
Albúmina	60g/L	Ninguna	Hemoglobina	2g/L	Ninguna
bilirrubina	342 µmol/L	Ninguna	Urea	42,9 mmol/L	Ninguna
Glucosa	55mmol/L	Ninguna	Ácido úrico	1,4 mmol/L	Ninguna

### SUERO

Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada	Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada
Albúmina	60g/L	Ninguna	Hemoglobina	2g/L	Ninguna
bilirrubina	342 µmol/L	Ninguna	Urea	42,9 mmol/L	Ninguna
Glucosa	55mmol/L	Ninguna	Ácido úrico	1,4 mmol/L	Ninguna

Se demostró que las interferencias endógenas probadas no interfieren con el ensayo de PCR de diagnóstico del virus de la hepatitis C (VHC) GeneProof con un nivel significativo.

## PRINCIPIOS DEL MÉTODO

La detección del VHC se basa en la amplificación de una secuencia de ARN UTR 5' de una sola copia y la medición del aumento de la fluorescencia. El mecanismo de direccionamiento dúplex garantiza la máxima sensibilidad y especificidad y permite la detección del virus en una muestra antes de la seroconversión. La especificidad se probó para los seis genotipos de virus identificados, incluido el análisis in-silico que demostró la detección correcta de un genotipo 7 y un genotipo 8 recientemente descubierto. La presencia de VHC se indica por el aumento de la fluorescencia del fluoróforo FAM. Un control interno (IC), que forma parte del kit de PCR, se utiliza como control para todo el proceso de diagnóstico, es decir, la eficiencia de extracción de ARN, la eficiencia del paso de transcripción inversa (transcripción de ARN en ADNc) y la eficiencia de amplificación de PCR (PCR). inhibición). La amplificación positiva de IC se detecta en el canal de fluorescencia del fluoróforo HEX. El kit de PCR está diseñado *parain vitro* diagnósticos tanto para la detección cualitativa como cuantitativa y utiliza la tecnología de "arranque en caliente" que minimiza las reacciones no específicas y garantiza la máxima sensibilidad. Listo para usar MasterMix contiene uracil-DNA-glicosilasa (UDG) que elimina la posible contaminación de la PCR con productos de amplificación.

### versión ISEX

El control interno se proporciona como 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 purificación de ácidos nucleicos.



## MANUAL DE USUARIO

### TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

Las muestras de sangre completa deben centrifugarse y el plasma debe retirarse a un tubo secundario dentro de las cuatro horas posteriores a la extracción de sangre. Si no hay posibilidad de procesar la muestra dentro de las cuatro horas, se recomienda centrifugar la sangre entera y congelar la muestra de plasma a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $-70^{\circ}\text{C}$ . El suero debe enviarse congelado en hielo seco para análisis de ADN o ARN. Para el almacenamiento a largo plazo, el suero se puede almacenar a  $-20^{\circ}\text{C}$  o  $-70^{\circ}\text{C}$  o menos. La separación del suero debe realizarse dentro de las 4 horas posteriores a la extracción de sangre.

### PURIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

La extracción de ácido nucleico 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:

Sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16 Kit  
de aislamiento de ARN libre de patógenos GeneProof  
Extractor automático de NA MagCore

Cuando se utilizan las versiones ISEX de los kits de PCR, el IC debe agregarse directamente a la muestra al comienzo del proceso de aislamiento para que, al final, 1  $\mu\text{l}$  del volumen de elución resultante contenga 0,1  $\mu\text{l}$  de IC:

Volumen de elución	25 $\mu\text{l}$	50 $\mu\text{l}$	100 $\mu\text{l}$	200 $\mu\text{l}$
Control interno	2,5 $\mu\text{l}$	5 $\mu\text{l}$	10 $\mu\text{l}$	20 $\mu\text{l}$

#### CONFIGURACIÓN DE PCR

1. Agregue 30  $\mu\text{l}$  de MasterMix en tubos PCR.

2. Agregue 20  $\mu\text{l}$  de la muestra de ácido nucleico aislado o 20  $\mu\text{l}$  de Calibrador en los tubos de PCR individuales. El volumen final de la mezcla de reacción será de 50  $\mu\text{l}$ .  
*¡ADVERTENCIA! El volumen de reacción debe establecerse en 40  $\mu\text{l}$ . Es necesario mantener todos los componentes entre  $+2^{\circ}\text{C}$  y  $+8^{\circ}\text{C}$  durante la preparación de la PCR. En cada prueba se debe utilizar el aislado de control de aislamiento negativo con Control Interno. El material clínico negativo, el agua o el tampón se pueden utilizar como control de aislamiento negativo. El cliente tiene que utilizar su propio control negativo. Los 4 calibradores deben usarse para establecer la curva estándar para la detección cuantitativa.*

3. Cerrar los tubos, centrifugar brevemente, introducirlos en el dispositivo y dejar amplificar según el siguiente perfil de PCR.  
*Tenga mucho cuidado al manipular los Calibradores o el material clínico; ¡una manipulación incorrecta podría provocar la contaminación y el consiguiente deterioro de los componentes del kit! El fabricante no se responsabiliza del deterioro del kit debido a una manipulación incorrecta.*

### PERFIL DE AMPLIFICACIÓN

Paso	Temperatura	Hora	Recopilación de datos	Ciclos
Sostener	42 $^{\circ}\text{C}$	15 minutos		1
Sostener	95 $^{\circ}\text{C}$	10 minutos		1
PCR	95 $^{\circ}\text{C}$	5 segundos	FAM + HEX	45
	60 $^{\circ}\text{C}$	40s		
	72 $^{\circ}\text{C}$	20 segundos		

## INSTRUMENTOS

GeneProof Hepatitis C Virus (HCV) Diagnostic PCR Kit está diseñado para usarse con dispositivos en tiempo real de varios fabricantes:

Sistema de PCR en tiempo real croBEE

Applied Biosystems 7300/7500 Sistema de PCR en tiempo real CFX

Connect™/CFX96™/ Dx Sistema de detección de PCR en tiempo real

LineGene 9600 Plus

Ciclador MIC qPCR

Rotor-Gene 3000/6000/Q

Canales requeridos: FAM, HEX

Los kits de diagnóstico GeneProof se verifican continuamente con varios tipos de dispositivos. La lista actual está disponible en [www.geneproof.com](http://www.geneproof.com) o solicite la lista en [support@geneproof.com](mailto:support@geneproof.com).



## ANÁLISIS DE MUESTRAS CLÍNICAS EVALUACIÓN

Canal FAM	canal hexadecimal	Resultado	Interpretación
		Válido	VHC <b>positivo</b>
		Válido	VHC <b>positivo</b>
		Válido	VHC <b>negativo</b>
		Inválido	

## EVALUACIÓN DE DETECCIÓN CUANTITATIVA

Utilice la siguiente fórmula para calcular la concentración de virus en UI/ml teniendo en cuenta el volumen de material que entra en la extracción:

$$UI/ml = \frac{SC \times VE}{IV}$$

SC - Concentración de la muestra (UI/μl)

EV - Volumen de elución (μl)

IV - Volumen de aislamiento (ml)

Puede utilizar la calculadora para la conversión de la concentración de patógenos en [www.geneproof.com](http://www.geneproof.com) para facilitar el cálculo.

## ADVERTENCIA

En el paquete se incluye una única instrucción de uso válida para un kit específico o se debe solicitar al fabricante para el lote en particular. El kit debe desecharse después de su uso de acuerdo con la normativa legal vigente teniendo en cuenta que el kit no contiene componentes peligrosos, infecciosos o tóxicos que estén sujetos a normas especiales de seguridad y que los materiales de embalaje son de papel y polipropileno. Si tiene alguna pregunta, póngase en contacto con nuestro Servicio de Atención al Cliente.

### Atención al cliente y soporte técnico

Teléfono: + 420543211679  
 Fax: + 420516770824  
 Email: [support@geneproof.com](mailto:support@geneproof.com)

### Pedidos

Teléfono: + 420543211679  
 Fax: + 420516770824  
 Email: [sales@geneproof.com](mailto:sales@geneproof.com)



GeneProof como

Vídeňská 101/119 / Dolní Heršpice / CZ-619 00 Brno / +420 543 211 679 / [info@geneproof.com](mailto:info@geneproof.com)

Versión: DOK\_616\_19\_02 Válido desde: 29.10.2019



Instrucciones de uso

© GeneProof como

4 / 4 [www.geneproof.es](http://www.geneproof.es)