

GeneProof Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit

Producto médico para diagnóstico *in vitro*

Este kit ha sido fabricado de conformidad con la Directiva EC 98/79EC 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	HSV/ISEX/025 25 rxn	HSV/ISEX/100 100 rxn
MasterMix HSV	1x750 µl	4x750 µl
Calibrator HSV 10 ⁴ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator HSV 10 ³ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator HSV 10 ² cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
Calibrator HSV 10 ¹ cp/µl	1x200 µl	1x200 µl
Internal Standard HSV	1x1000 µl	2x1000 µl

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El kit debe ser transportado a una temperatura de -20°C o inferior. El kit permanecerá estable hasta la fecha de caducidad impresa en el paquete, si la temperatura de almacenamiento se mantiene (-20 ± 5°C). Los componentes son estables durante un máximo de 15 ciclos repetidos de congelación/descongelación.

ESPECIFICACIONES TÉCNICAS

Secuencia Diana	Secuencia específica de ADN conservada de un gen de copia única que codifica la glicoproteína B (gB)
Especificidad Analítica	Herpes simplex virus type 1 (HSV-1), 100 %, Herpes simplex virus type 2 (HSV-2), 100 %
Sensibilidad Analítica	para HSV-1 alcanza hasta 122,124 cp/ml (en AcroMetrix™ HSV-1 Plasma Panel usando extracción manual GeneProof
(LoD con una probabilidad de 95 %)	PathogenFree DNA Isolation Kit) para HSV-2 alcanza hasta 194,49 cp/ml (en AcroMetrix™ HSV-2 Plasma Panel usando extracción manual GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit)
Especificidad Diagnóstica	99,24 % (CI _{95%} : 95,23 % - 99,96 %)
Sensibilidad Diagnóstica	100 % (CI _{95%} : 97,08 % - 100 %)
Rango Lineal	10 ¹⁰ - 10 ^{2.5} cp/ml (con una precisión de ± 0.5 log)
Rango Dinámico	HSV-1: 10 ¹⁰ – 122,124 cp/ml, HSV-2: 10 ¹⁰ – 194,49 cp/ml
Trazabilidad metrológica	AcroMetrix HSV-1 Plasma Panel (AcroMetrix HSV-1) AcroMetrix HSV-2 Plasma Panel (AcroMetrix HSV-2)
Tipos de muestras validadas	LCR, plasma, orina, sangre entera
Control de calidad	regularmente testado por los paneles de evaluación de calidad externos 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

El kit de PCR está diseñado para la detección y diferenciación de ambos tipos del virus del herpes simple (HSV-1 y HSV-2) mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR dúplex). La detección y diferenciación consiste en la amplificación de una secuencia específica de ADN conservada de un gen de copia única que codifica la glicoproteína B (gB) y en la medición del aumento de fluorescencia. La presencia de HSV-1 está indicada por el crecimiento de fluorescencia del fluoróforo FAM y la presencia de HSV-2 está indicada por el crecimiento de fluorescencia del fluoróforo Cy5. Un Éstandar Interno (Internal Standard, IS) controlando así la posible inhibición de la PCR y la calidad del proceso de extracción de ADN. La amplificación positiva del IS 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 Master Mix lista para usar contiene uracil-ADN-glicosilasa (UDG), que elimina la posible contaminación de la PCR por productos de amplificación. El kit está diseñado para diagnósticos *in vitro* y proporciona detección cualitativa y cuantitativa.

PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

El muestreo de todos los tipos de muestras (plasma, líquido cefalorraquídeo - LCR, orina), excepto sangre, debe realizarse en tubos estériles sin ningún medio de transporte y las muestras deben transportarse dentro de las 12 horas a una temperatura entre +2°C y +8°C. La sangre periférica no coagulante debe tomarse en EDTA y transportarse al laboratorio a una temperatura entre +2 y +8°C en un plazo de 24 horas. En caso de un almacenamiento más prolongado, mantenga todas las muestras congeladas a una temperatura por debajo de -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 los siguientes kits de extracción:

croBEE 201A Nucleic Acid Extraction Kit

GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit

Éstandar Interno (Internal Standard, IS) 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 IS:

Volumen de Elución	25 µl	50 µl	100 µl	200 µl
Éstandar Interno (Internal Standard, IS)	2,5 µl	5 µl	10 µl	20 µl

PREPARACIÓN DE LA PCR

1. Añada 30 µl de Master Mix en tubos de PCR.

2. Añada 10 µl de la muestra de ácido nucleico aislada o 10 µl de calibrador / *calibrator* en los tubos de PCR individuales y mézclelos pipeteando. El volumen total de la mezcla de reacción será de 40 µl. *Es necesario mantener todos los componentes entre +2°C y +8°C durante la preparación de la PCR.*

3. Cierre los tubos, centrifugue brevemente, insértelo en el dispositivo y deje que se amplifiquen según el siguiente perfil de PCR. *Tenga mucho cuidado al manipular los calibradores o el material clínico; una manipulación incorrecta podría provocar contaminación y el consiguiente deterioro de los componentes del kit! El fabricante no se hace responsable del deterioro del kit debido a una manipulación incorrecta.*

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 Herpes Simplex Virus (HSV-1/2) PCR Kit está diseñado para su uso con dispositivos real-time 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 Cyclor
 QuantStudio™ 5 Real-Time PCR System
 Rotor-Gene 3000 / Q
 SLAN® Real-Time PCR System

Canales Requeridos: FAM, HEX, Cy5

Los kits de diagnóstico GeneProof se verifican continuamente con varios tipos de dispositivos. La lista actual está disponible en www.geneproof.com o solicite la lista en support@geneproof.com.

EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

Canal FAM	Canal Cy5	Canal HEX	Resultado	Interpretación
			Válido	HSV-1 positivo
			Válido	HSV-2 positivo
			Válido	HSV-1+HSV-2 positivo
			Válido	negativo
			Inválido	
			Inválido	

EVALUACIÓN DE DETECCIÓN CUANTITATIVA

Utilice la siguiente fórmula para el cálculo de la concentración del virus (**HSV-1**) en cp/ml para la extracción **manual** (utilizando GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit):

$$cp/ml = \frac{SC \times EV}{IV} \times CF1$$

SC – Concentración de la Muestra (cp/μl)

EV – Volumen de Elución (μl)

IV – Volumen de Aislamiento (ml)

CF1 – Factor de corrección HSV-1, CF1 = 0,501

Utilice la siguiente fórmula para el cálculo de la concentración del virus (**HSV-2**) en cp/ml para la extracción **manual** (utilizando GeneProof PathogenFree DNA Isolation Kit):

$$cp/ml = \frac{SC \times EV}{IV} \times CF2$$

SC – Concentración de la Muestra (cp/μl)

EV – Volumen de Elución (μl)

IV – Volumen de Aislamiento (ml)

CF2 – Factor de corrección HSV-2, CF2 = 1

Para calcular de forma fácil y sencilla las concentraciones de patógenos mediante extracción manual o automática, puede utilizar la calculadora en www.geneproof.com.

ADVERTENCIA

En el paquete se incluye un único manual de uso válido para un kit específico o se puede solicitar al fabricante para un lote en particular. Utilice solo la combinación de componentes del kit de PCR específico. El kit debe eliminarse 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 estarían sujetos a normas especiales de seguridad, y los materiales de embalaje están hechos de papel y polipropileno. Si tiene alguna pregunta, comuníquese con nuestro Servicio de atención al cliente.

Servicio de 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

Version: IFU_0010_A03_1.0, Vigente desde: 16. 6. 2021

