

GenePruebaKit PCR múltiplex CT/NG/MG



in vitro dispositivo 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

| Versión ISEX | | | |
|---|-------------------------|-----------------------------|------------------------------|
| Se suministra en un tubo separado Extracción de ácidos nucleicos y control de inhibición de PCR | | | |
| ARBITRO | CNMX/ISEX/025 25 rxn | CNMX / ISEX / 050 50 rxn | CNMX / ISEX / 100 100 rxn |
| mezcla maestra | | | |
| CNMX | 1x750 µl | 2x750 µl | 4x750 µl |
| Control positivo | | | |
| CNMX | 1x200 µl | 1x200 µl | 2x200 µl |
| Estándar Interno | | | |
| CNMX MUPX | 1x1000 µl | 1x1000 µl | 2x1000 µl |

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El kit podría transportarse 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 3 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

| | |
|--|---|
| Secuencia objetivo | la secuencia críptica del plásmido y el gen 16S rRNA para <i>Chlamydia trachomatis</i> el gen 16S rRNA <i>ypor</i> Apseudogen para <i>Neisseria gonorrhoeae</i> el gen 16S rRNA para <i>Mycoplasma genitalium</i> |
| Especificidad Analítica | <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> y <i>Mycoplasma genitalium</i> , 100% |
| Sensibilidad analítica (LoD) | alcanza hasta 0,177 cp/µl con una probabilidad del 95% (en Amplirun® <i>Chlamydia trachomatis</i> control de ADN, Vircell) alcanza hasta 0,22 cp/µl con una probabilidad del 95% (en Amplirun® <i>Neisseria gonorrhoeae</i> control de ADN, Vircell) alcanza hasta 1.129 cp/µl con una probabilidad del 95% (en Amplirun® <i>Mycoplasma genitalium</i> control de ADN, Vircell) |
| Especificidad diagnóstica | 96,89% (IC _{95%} : 93,04% - 98,73%) |
| Sensibilidad de diagnóstico | 97,67% (IC _{95%} : 86,20% - 99,88%) |
| Muestra validada | hisopo, orina |
| Estado regulatorio de la evaluación externa de la calidad | probado regularmente por QCMD e Instand eV Paneles de evaluación de calidad externa CE ₁₀₂₃ IVD |

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

INTERFERENCIAS

La prueba de interferencia se realizó utilizando muestras de orina positivas y negativas. Las muestras positivas se prepararon enriqueciendo con controles positivos de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Mycoplasma genitalium* 3x LoD en material clínico negativo. Los niveles probados de interferencias endógenas en la orina (bilirrubina, urea, ácido úrico, albúmina, pH bajo, nivel de pH alto y D-glucosa) se han establecido de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Checa de Bioquímica Clínica y las recomendaciones y directrices del hospital (http://www.southend.nhs.uk/media/180421/pf_biochemistry_reference_intervals.pdf).

ORINA

| Sustancia probada | Nivel(es) probado(s) | Interferencia observada | Sustancia probada | Nivel(es) probado(s) | Interferencia observada |
|-------------------|------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------------|-------------------------|
| Albúmina | 5% | Ninguna | pH | Condición básica (pH 9) | Parcial |
| bilirrubina | 1% (p/v) | Ninguna | Urea | 300 mM; 600 mm | Parcial |
| Glucosa | 0,1% (p/v); 1% (p/v) | Parcial | Ácido úrico | 5 mmol / L | Parcial |
| pH | Condición ácida (pH 4) | Parcial | | | |

Los resultados indican que no hay interferencia con respecto a la sensibilidad del GeneProof CT / NG / MG Multiplex PCR Kit; sin embargo, se reconoció la inhibición parcial debido a la falta de un estándar interno en las muestras negativas. No hay riesgo de resultados falsos negativos. Sin embargo, existe la posibilidad de un mayor número de resultados no válidos en términos de inhibición.

Se analizó el nivel de concentración de rutina de las sustancias endógenas que interfieren en hisopos cervicales durante el estudio de validación clínica. No se observaron interferencias significativas en un conjunto de muestras clínicas con respecto a la sensibilidad y validez del examen.

Las sustancias endógenas que interfieren se analizaron para el nivel de concentración de rutina en hisopos cervicales. Según CLSI EP07-A2 y CLSI MM3-A3 las sustancias interferentes propuestas son sangre en concentración de 2%, mucina en concentración de 60 µl/mL y ADN humano en concentración de 1-2000 µg/L.

Las glicoproteínas y los polisacáridos complejos también se describieron como posibles inhibidores de la PCR (Schrader et al., 2012).

PRINCIPIO DEL MÉTODO

El kit de PCR está diseñado para *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* y *Mycoplasma genitalium* detección mediante el método de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real. Los *C. trachomatis* La detección consiste en la amplificación tanto de la secuencia multicopia del plásmido críptico como del gen 16S rRNA específico para *C. trachomatis* y en la medición del aumento de la fluorescencia. Los *N. gonorrhoeae* la detección consiste en la amplificación de la secuencia multicopia del gen que codifica el 16S rRNA y el pseudogen *porA* y en la medición del aumento de la fluorescencia. Los *M. genitalium* la detección consiste en la amplificación de una secuencia multicopia del gen que codifica el rRNA 16S y en la medida del aumento de la fluorescencia. Los *C. trachomatis* la presencia está indicada por el fluoróforo FAM, *N. gonorrhoeae* por el fluoróforo Cy5 y *M. genitalium* por crecimiento de fluorescencia de fluoróforo rojo de Texas. Un patrón interno (IS), que forma parte del kit de PCR, se utiliza como control para todo el proceso de diagnóstico, es decir, la eficiencia de extracción de ADN y la eficiencia de amplificación de PCR (inhibición de PCR). La amplificación positiva de IS se detecta en el canal de fluorescencia del fluoróforo HEX. El kit de detección aprovecha la tecnología de "arranque en caliente", minimizando las reacciones no específicas y asegurando la máxima sensibilidad. Listo para usar MasterMix contiene uracil-DNA glicosilasa (UDG), lo que elimina la posible contaminación de la PCR por productos de amplificación. El equipo está diseñado para *in vitro* diagnósticos y proporciona detección cualitativa.

versión ISEX

El estándar interno se proporciona como un 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

En caso de almacenamiento a largo plazo, el ADN extraído debe mantenerse a -20 ± 5 °C para minimizar la actividad degradante de las ADNasas. El ADN debe almacenarse en un tubo de plástico (polipropileno) hidrofóbico, bien tapado, preferiblemente con una junta de goma para evitar la evaporación. El ADN extraído se puede almacenar de forma segura en tampón TE (Tris-EDTA, pH de 7,2) a temperatura de laboratorio (20 ± 5 °C) durante 26 semanas, a 2 - 8 °C durante al menos un año si no hay ADNasas contaminantes, y hasta siete años a -20 °C y al menos siete años a -70 °C o menos. Las muestras de pureza dudosa deben almacenarse a -20 °C o menos para garantizar la integridad del ADN. Los ciclos repetitivos de congelación y descongelación dan como resultado la degradación del ADN.

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 ADN libre de patógenos GeneProof

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

| Volumen de elución | 25 años | 50 µl | 100 µl | 200 µl |
|-------------------------|---------|-------|---------|--------|
| Estándar Interno | 2,5 µl | 5 µl | 10 años | 20 µl |

CONFIGURACIÓN DE PCR

1. Agitar suavemente y centrifugar brevemente los tubos MasterMix y Positive Control.

2. Agregue 30 ofl de MasterMix en tubos PCR.

Añada 10 µl de la muestra de ácido nucleico aislada o 10 µl de control positivo en los tubos de PCR individuales y mezcle pipeteando. El volumen total de la mezcla de reacción será de 40 l. *Es necesario mantener todos los componentes entre +2 °C y +8 °C durante la preparación de la PCR. En cada prueba se debe utilizar el aislado de control de aislamiento negativo con Patrón 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.*

4. Cerrar los tubos, centrifugar brevemente, introducirlos en el dispositivo y dejar amplificar según el siguiente perfil de PCR.

Tenga mucho cuidado al manipular el Control Positivo 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 | 37°C | 2 minutos | | 1 |
| Sostener | 95 °C | 10 minutos | | 1 |
| | 95 °C | 5 segundos | | |
| PCR | 60 °C | 40s | FAM + HEX + Cy5 + TexRed | 45 |
| | 72 °C | 20 segundos | | |

INSTRUMENTOS

GeneProof CT / NG / MG Multiplex PCR Kit está diseñado para usarse con dispositivos en tiempo real de varios fabricantes:

Sistema de PCR en tiempo real croBEE

Applied Biosystems 7500 Sistema de PCR en tiempo real
CFX96™ / Dx Sistema de detección de PCR en tiempo real
LineGene 9600 Plus
Micrófono qPCR Cyclcr
QuantStudio™5 Sistema de PCR en tiempo real
Rotor-Gene 3000 / Q

| CHT | CI | NG | mg |
|---------|-----------|-----|---------|
| familia | MALEFICIO | Cy5 | TexRojo |
| familia | JOSÉ | Cy5 | TexRojo |
| familia | MALEFICIO | Cy5 | TexRojo |
| familia | MALEFICIO | Cy5 | TexRojo |
| familia | MALEFICIO | Cy5 | TexRojo |
| familia | VIC | Cy5 | ROX |
| familia | JOSÉ | Cy5 | ROX |

Canales requeridos: FAM, HEX, Cy5, TexRed

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.



CANÁLISIS DE MUESTRAS LÍNICAS EVALUACIÓN EN

| familia | Cy5 | TEX / TexRojo / ROX | HEX / JOE / VIC |
|---------|-----|---------------------|-----------------|
| + | + | + | + / - |
| + | - | + | + / - |
| + | + | - | + / - |
| + | - | - | + / - |
| - | + | + | + / - |
| - | - | + | + / - |
| - | + | - | + / - |
| - | - | - | + |
| - | - | - | - |

Interpretación

C. trachomatis, N. gonorrhoeae y M. genitalium positivos

C. trachomatis y M. genitalium positivo

C. trachomatis y N. gonorrhoeae positivo

Clamidia trachomatis positiva

N. gonorrhoeae y M. genitalium positivos

Mycoplasma genitalium positivo

Neisseria gonorrhoeae positivo

Negativo

Inválido

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. Utilice únicamente una combinación de componentes del kit de PCR específico. El kit debe desecharse después de su uso de acuerdo con las normas legales vigentes 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

Contar.: + 420543211679
 Fax: + 420516770824
 Email: support@geneproof.com

Pedidos

Contar.: + 420543211679
 Fax: + 420516770824
 Email: sales@geneproof.com



GeneProof como

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

Versión: DOK_582_19_02 Válido desde: 18.12.2019

