

GeneProof HIV type 1 (HIV-1) PCR Kit

Producto médico para diagnóstico *in vitro*

Este kit ha sido fabricado de conformidad con la Directiva EC 98/79/EC 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

Versión ISEX
 IS detectado a partir de la muestra
 Control de extracción y de inhibición de la PCR

| REF | HIV1/ISEX/025 | HIV1/ISEX/050 | HIV1/ISEX/100 |
|---|---------------|---------------|---------------|
| | 25 rxn | 50 rxn | 100 rxn |
| MasterMix HIV-1 | 1x750 µl | 2x750 µl | 4x750 µl |
| Calibrator HIV-1 10 ⁵ IU/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| Calibrator HIV-1 10 ⁴ IU/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| Calibrator HIV-1 10 ³ IU/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |
| Calibrator HIV-1 10 ² IU/µl | 1x200 µl | 1x200 µl | 1x200 µl |

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

El kit debe transportarse a una temperatura de -20°C o inferior. El kit permanece estable al menos 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 4 ciclos repetidos de congelación/descongelación después del primer uso de un vial concreto. Los componentes del kit deben usarse antes de la fecha de caducidad ó 25 días después del primer uso de un vial concreto (lo que suceda primero).

CARACTERÍSTICAS TÉCNICAS

| | |
|---|--|
| Secuencia diana | Secuencia LTR y gen GaG |
| Especificidad analítica | HIV genotipos A - D, AE, F, AG-GH, Grupo N, Grupo O, BF, H, K, CRF03_AB, 100% |
| Sensibilidad analítica (LoD) (con una probabilidad del 95%) | Alcanza hasta 273.971 IU/ml i.e. 153.424 cp/ml (en HIV-1 NIBSC 16/194 usando GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit) Alcanza hasta 548.121 IU/ml i.e. 306.948 cp/ml (en HIV-1 NIBSC 16/194 usando croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System) Alcanza hasta 98.59 IU/ml i.e. 55.21 cp/ml (en Acrometrix HIV-1 Panel UI/ml usando SpinStar Viral Nucleic Acid Kit 1.0 con SpinStar Pretreatment Solution) |
| Especificidad diagnóstica | 100% (CI _{95%} : 99.10% - 100%) |
| Sensibilidad diagnóstica | 93.53% (CI _{95%} : 87.71% - 96.81%) |
| Rango Linear (con precisión de ± 0.5 log) | 10 ⁹ - 10 ^{2.5} IU/ml (GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit) 10 ⁹ - 10 ³ IU/ml (croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System) |
| Rango Dinámico | 10 ⁹ - 273.971 IU/ml (GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit) 10 ⁹ - 548.121 IU/ml (croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System) |
| Unidades de Reporte | IU/µl (1 IU = 0.56 cp) |
| Tipos de muestras validadas | Plasma |
| Evaluación externa de calidad | Regularmente testado por los paneles de evaluación de calidad externos QCMD e Instand e.V. |
| Estatuto regulador | CE ₁₀₂₃ IVD |

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

INTERFERENCIAS

La prueba de interferencias se realizó utilizando plasma negativo con un nivel establecido de marcadores bioquímicos, que pueden ser posibles interferencias endógenas. El plasma negativo se enriqueció con material HIV positivo a 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) en muestras se han probado en presencia y ausencia de ADN del HIV. La evaluación y la configuración de los valores patológicos para las pruebas de interferencia se realizaron de acuerdo con las directrices CLSI EP7-A2.

PLASMA

| Sustancia probada | Nivel probado | Inhibición observada | Sustancia probada | Nivel probado | 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 |

Se demostró que las interferencias endógenas probadas no interfieren con el análisis de GeneProof HIV type 1 (HIV-1) PCR Kit en un nivel significativo.

PRINCIPIOS DEL MÉTODO

La detección del HIV-1 se basa en la amplificación de una región específica de la secuencia LTR y una región de la secuencia del gen *GaG* y la medición del aumento de fluorescencia. El kit proporciona la máxima sensibilidad y especificidad para todas las variantes del virus HIV-1 del grupo M (incluidos los grupos N y O) y para las variantes CRF del virus. La presencia de HIV-1 está indicada por el aumento de la fluorescencia de fluoróforo FAM. El ARNm de GAPDH humano se usa como un estándar interno (IS), sirve 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 (inhibición de PCR). La amplificación positiva de IS se detecta en el canal de fluorescencia de fluoróforo HEX. El kit de PCR está diseñado como Ready to Use MasterMix para el diagnóstico *in vitro* para la detección cualitativa y cuantitativa y utiliza la tecnología "hot start", minimizando las reacciones no específicas y asegurando la máxima sensibilidad.

Versión ISEX

El control interno se detecta a partir de la muestra. Esta versión del kit de PCR permite el control de la inhibición de la PCR y el control de la eficiencia del proceso de purificación de ácidos nucleicos.

PROCEDIMIENTO DE TRABAJO

TOMA Y CONSERVACIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de sangre total deben centrifugarse y el plasma se debe extraer al vial secundario dentro de las cuatro horas siguientes 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°C o -70°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:

GeneProof PathogenFree RNA Isolation Kit
croBEE NA16 Nucleic Acid Extraction System

PREPARACIÓN DE LA PCR

1. Agregue 30 µl de MasterMix en viales de PCR.

2. Agregue 20 µl de la muestra de ácido nucleico aislado ó 20 µl de Calibrador / *calibrator* en los viales de PCR individuales. El volumen final de la mezcla de reacción será de 50 µl. *Es necesario mantener todos los componentes a +2°C hasta +8°C durante la preparación de la PCR. El cliente debe usar su propio control negativo en la forma de aislado de material clínico negativo, en cada prueba. Los 4 calibradores / calibrators deben usarse para establecer la curva estándar para la detección cuantitativa.*

3. Cierre los viales, centrifugue brevemente, insértelos en el dispositivo y deje que se amplifiquen de acuerdo con el siguiente perfil de PCR.
¡Tenga mucho cuidado al manipular los calibradores o el material clínico, un manejo incorrecto podría provocar la contaminación y el consiguiente deterioro de los componentes del kit! El fabricante no es responsable por el deterioro del kit debido a un manejo incorrecto.

PROGRAMA DE AMPLIFICACIÓN

| Paso | Temperatura | Tiempo | Dato Recopilado | Ciclos |
|------|-------------|--------|-----------------|--------|
| Hold | 37 °C | 2 min | | 1 |
| Hold | 50 °C | 5 min | | 1 |
| Hold | 95 °C | 20 s | | 1 |
| PCR | 55 °C | 20 s | | |
| | 72 °C | 5 s | | 3 |
| | 95 °C | 5 s | | |
| PCR | 95 °C | 5 s | | 45 |
| | 58 °C | 35 s | FAM+HEX | |

INSTRUMENTOS

GeneProof HIV type 1 (HIV-1) PCR Kit está diseñado para usar con dispositivos en real-time de varios fabricantes:

croBEE Real-Time PCR System

Applied Biosystems 7300 / 7500 Real-Time PCR System

AriaMx Real-Time PCR System

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

LightCycler® 480

Canales Requeridos: FAM, HEX

LineGene 9600 Plus

Mic qPCR Cyclor


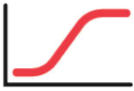



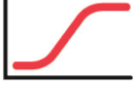


QuantStudio™ 3/5 Real-Time PCR System

Rotor-Gene 6000 / Q

SLAN® Real-Time PCR System

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

EVALUACIÓN DEL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS CLÍNICAS

| Canal FAM | Canal HEX | Resultado | Interpretación |
|--|---|-----------|-----------------------|
|  |  | Válido | HIV-1 Positivo |
|  |  | Válido | HIV-1 Positivo |
|  |  | Válido | HIV-1 Negativo |
|  |  | Inválido | |

EVALUACIÓN DE DETECCIÓN CUANTITATIVA

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

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

SC – Concentración de Muestra (IU/μl)

EV – Volumen de Elución (μl)

IV – Volumen de aislamiento (ml)

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

ADVERTENCIA

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

Atención al cliente y soporte técnico

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

Pedidos

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

