

## GenePruebaKit de PCR *Treponema pallidum*



*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

IC suministrado en un tubo separado Extracción de ácido nucleico y control de inhibición de PCR

	TP/GP/025 25 rxn	TP/GP/050 50 rxn	TP / PG / 100 100 rxn
<b>mezcla maestra</b>			
<i>Treponema pallidum</i>	1x750 µl	2x750 µl	4x750 µl
<b>Control positivo</b>			
<i>Treponema pallidum</i>	1x200 µl	1x200 µl	2x200 µl
<b>Control interno</b>			
<i>Gardnerella vaginalis</i>	1x1000 µl	1x1000 µl	2x1000 µl
<i>Treponema pallidum</i>			
<i>tricomonas vaginalis</i>			

### 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 5 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>	gene <i>po1A</i> que codifica la ADN polimerasa I
<b>Especificidad Analítica</b>	<i>Treponema pallidum</i> , 100%
<b>Sensibilidad analítica (LoD)</b>	alcanza hasta 0,61 cp/µl con una probabilidad del 95 % (en el control ultramérico de ADN sintético <i>Treponema pallidum</i> )
<b>Muestra validada</b>	hisopado de úlcera genital, orina, medio de transporte: UTM®Transporte viral * (COPAN Diagnostics Inc.) Probado
<b>Estado regulatorio de la evaluación externa de la calidad</b>	regularmente por QCMD e Instand eV Paneles de evaluación de calidad externos CE DIV

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

\*UTM®El transporte viral está validado solo en combinación con el sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16

## INTERFERENCIAS

### PRUEBAS DE INTERFERENCIA ENDÓGENA

La prueba de interferencia endógena se realizó utilizando orina negativa y positiva y muestras de hisopos simulados. Las muestras positivas se prepararon enriqueciendo con un control positivo de *Treponema pallidum* 3x LoD en material negativo. Se han analizado los niveles establecidos de interferencias endógenas en la orina (bilirrubina, urea, ácido úrico, albúmina, pH bajo, nivel de pH alto y D-glucosa) y en muestras de hisopos (sangre total y mucina). En todas las muestras de orina el pH de la orina se ajustó a pH 4.

#### ORINA

Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada	Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada
Albúmina	5%	Ninguna	pH	Condición ácida (pH 4)	Ninguna
bilirrubina	20 mg/dL	Ninguna	pH	Condición básica (pH 9)	Ninguna
Glucosa	1%	Ninguna	Ácido úrico	3,8 mmol / L	Ninguna
Urea	880 mmol / L	Ninguna			

#### TORUNDA

Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada	Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada
Sangre pura	2%	Ninguna	mucina	0,33%	Ninguna

### PRUEBAS DE INTERFERENCIA EXÓGENA

La prueba de interferencia exógena se realizó utilizando muestras de hisopos simuladas negativas y positivas. Las muestras positivas se prepararon enriqueciendo con un control positivo de *Treponema pallidum* 3x LoD en material negativo. Como sustancias exógenas que interfieren, se han probado los niveles establecidos de productos vaginales de venta libre (crema de clotrimazol, gel lubricante).

#### TORUNDA

Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada	Sustancia probada	Nivel(es) probado(s)	Interferencia observada
Crema de clotrimazol	0,25%	Ninguna	Gel lubricante	0,25%	Ninguna

Se demostró que las sustancias interferentes endógenas y exógenas probadas no interfieren con el kit de PCR GeneProof *Treponema pallidum*. Los niveles probados de todos los interferentes se han establecido de acuerdo con la literatura, las recomendaciones y pautas del hospital, FDA, CLSI EP07-A2 y CLSI MM3-A3.

## PRINCIPIO DEL MÉTODO

los *Treponema pallidum* la detección consiste en la amplificación de una secuencia de ADN conservadora específica del gen de copia única *polA* que codifica la ADN polimerasa I y en la medición del aumento de la fluorescencia. los *Treponema pallidum* la presencia se indica mediante el crecimiento de la fluorescencia del fluoróforo FAM. Un control interno (IC) es parte del kit de PCR, controlando la posible inhibición de la PCR y también la calidad del proceso de extracción de ADN. La amplificación positiva de IC 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 uracilo ADN glicosilasa (UDG), lo que elimina la posible contaminación de la PCR con productos de amplificación. El equipo está diseñado para *in vitro* diagnósticos y proporciona detección cualitativa.

## MANUAL DE USUARIO

### TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS

**hisopos:** Se debe obtener una muestra de los hisopos genitales de las lesiones ulcerosas con hisopos de algodón secos o ESwabs (COPAN Diagnostics Inc.).

**Orina:** Se pueden usar muestras de orina, pero el hisopo genital es la muestra preferida.

**Conservación y transporte:** Las muestras deben conservarse a una temperatura entre +2 °C y +8 °C y transportarse dentro de las 24 horas. En caso de un período de almacenamiento más prolongado, congele las muestras a una temperatura inferior a -20 °C. Si se utiliza el medio de transporte validado, siga las instrucciones del fabricante.

### PURIFICACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEICOS

El aislamiento de ácidos nucleicos debe realizarse con kits de aislamiento disponibles en el mercado de acuerdo con los protocolos para el aislamiento de material clínico en particular.

Sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16 \* Kit de aislamiento de ADN libre de patógenos GeneProof

Cuando se utiliza el kit de PCR, el IC debe agregarse directamente a la muestra al comienzo del proceso de extracción para que, al final, 1 l del volumen de elución resultante contenga 0,1 µl del IC:

Volumen de elución	25 años	50 µl	100 µl	200 µl
<b>Control interno</b>	2,5 µl	5 µl	10 años	20 µl

\* En el caso de la extracción de orina con el sistema de extracción de ácido nucleico croBEE NA16, se recomienda ajustar el pH de la orina con HCl a pH 4 antes de la extracción para evitar resultados no válidos.

### 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 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.*

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	45
	72 °C	20 segundos		

## INSTRUMENTOS

GeneProof Treponema pallidum PCR Kit está diseñado para usarse con los dispositivos en tiempo real enumerados:

### Sistema de PCR en tiempo real croBEE

Applied Biosystems 7300/7500 Sistema de PCR en tiempo real CFX  
Connect CF / CFX96™ / Dx Sistema de detección de PCR en tiempo real  
LightCycler®480  
LineGene 9600 Plus

Micrófono qPCR Cyclor  
Rotor-Gene 3000 / Q SLAN® Sistema de PCR en tiempo real  
Paso uno™ / StepOne Plus™ Sistema de PCR en tiempo real

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	<i>Treponema pallidum</i>	positivo
		Válido	<i>Treponema pallidum</i>	positivo
		Válido	<i>Treponema pallidum</i>	negativo
		Inválido		

## ANÁLISIS DE CONTROL EVALUACIÓN

	Canal FAM	canal hexadecimal	Resultado
Control positivo		0	Válido
Control negativo		0	Válido
Control positivo		0	Inválido
Control negativo		0	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 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

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

#### Pedidos

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

