



Kit de PCR para Viruela de Mono (MPXV)

CE

IVD

Catálogo Número KD919167- 100

Advanced Molecular Diagnostics Ltd es una empresa de diagnóstico especializada en la fabricación y suministro de biología molecularinstrumentos, reactivos y consumibles.

info@am-diagnostics.co.uk

+44(0)115 969 9934

biocidad

nottinghamCalle

Pennyfoot

Nottingham

NG1 1GF

Unido Reino



Mesa de Contenido

Contenido del kit	3
Destinado Usa	3
Resumen	3
Principios del prueba	4
Reactivo almacenamiento y manejo	5
ADN extracción:	5
PCR Instrumento	5
Consumibles	5
Otros equipos requeridos	5
Advertencias y precauciones	5
Instrumento compatibilidad	5
Ensayo Procedimiento	6
Muestra colección	6
Muestra Almacenamiento	6
Muestra transporte	6
Conjunto PCR hasta	6
Térmico Perfil	7
Datos Análisis	7
Interpretación de resultados	7
Actuación Características	8
Referencias	8
Producto Limitaciones	8
Adicional Información	8
Contacto	9



Contenido del kit

Artículo	KD919167- 100
MPXV qPCR Maestro Mezcla	2x 1ml
MPXV Positivo control	1 X 0.1 ml
Libre de nucleasas agua	1 X 1 ml

Destinado Usar

Este producto debe ser utilizado por personal especialmente instruido y capacitado en el *in-vitro* procedimientos de diagnóstico, como la manipulación correcta de muestras de pacientes, el uso de equipos de protección personal, el uso de qPCR máquinas e interpretación de datos asociados.

Este ensayo es una prueba de PCR *in vitro* para la identificación cualitativa de la viruela humana del mono. Virus. Las muestras deben tomarse de muestras humanas como sangre entera, plasma K2EDTA, Suero y Lesión exudado muestras de la piel Eso es establecido en la hidrólisis Investigación detección método y es un altamente sensible equipo qPCR.

Para *in vitro* diagnóstico usar.

Visión general

El virus de la viruela del mono (MPXV) es una especie de virus zoonótico del subconjunto del género Orthopoxvirus (OPX), de la familia Poxviridae. MPXV cae en la misma categoría de género que Cowpox (CPX), Variola (VARV) y Vaccinia (VACV). Su nombre, “monkeypox”, se remonta hasta 1958, cuando se registraron los primeros casos de la enfermedad en monos de laboratorio mantenidos para la investigación en Dinamarca. MPXV causa la enfermedad tanto en animales como en humanos. Puede ser transmitido a través del contacto de animales a humanos, por ejemplo, mordeduras de animales, contacto con cuerpos de animales fluidos, etc., contacto de persona a persona, por ejemplo, tocar lesiones infectadas, inhalación de gotitas y comer carne infectada que no ha sido bien cocinada. El período de incubación por MPXV es típicamente 7-14 días, pero pueden rango de 5-21 días. Temprano comienzo síntomas de la enfermedad son: ganglios linfáticos inflamados, dolores y molestias, fiebre y escalofríos, dolores de cabeza y extrema fatiga. Después 1-3 días, pacientes desarrollar erupciones, cual Progreso a lesiones, finalmente costras sobre y cayendo los enfermedad por lo general dura alrededor 2-4 semanas.



Principios de la prueba

El kit ZenaMax Human Monkeypox Virus (MPXV) está diseñado para la detección de todos los genotipos contra secuencias disponibles públicamente de MPXV por reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real (PCR). Amplificación de genes diana conservados únicos del genoma MPXV marcados con colorantes indicadores fluorescentes, es seguido por la detección por el método de sonda de hidrólisis de qPCR. MPXV presencia es indicado por la **FAM** fluoróforo.

Para el control de calidad del aislamiento de ADN y posible control de inhibición de PCR existen cebadores y sondas para la amplificación del gen de control interno presente en la mezcla de reacción. Ampliación del control interno el gen se indica en el canal de fluorescencia del fluoróforo **HEX**. Estos cebadores y sondas son incorporado dentro la listo para usar PCR Maestro mezcla.

El punto en el que la fluorescencia se vuelve detectable sobre el fondo, la cuantificación ciclo (Cq), es proporcional a la cantidad de blanco presente en la muestra. Cuanto menor sea el Cq, mayor es la cantidad de objetivo presente. Si el virus en cuestión no está presente, la señal no será producido.

El kit de detección utiliza la tecnología de "arranque en caliente", minimizando las reacciones no específicas y asegurando máxima sensibilidad.

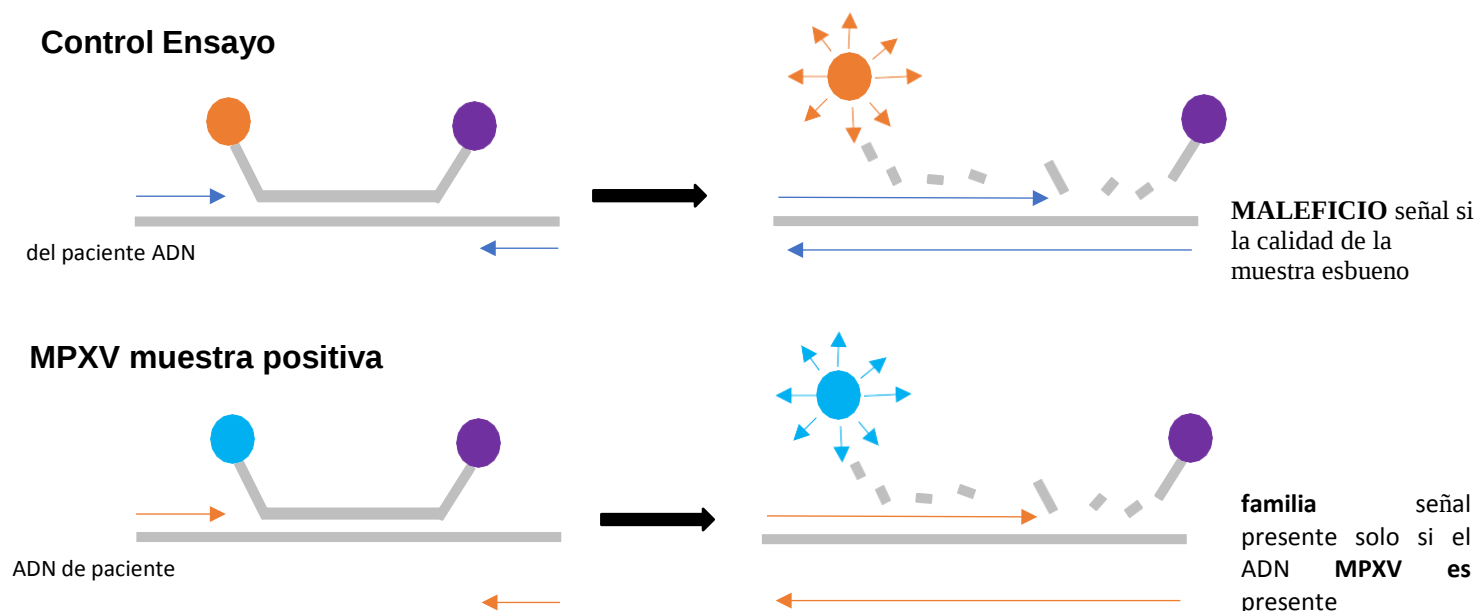


Figura 1. El principio de qPCR con detección de sonda de hidrólisis para identificar la presencia de ADN viral. El ensayo de control en la mezcla maestra producirá una señal HEX si el ADN calidad es aceptable.



Si se analiza una muestra **positiva para el virus**, el ensayo del virus MPXV producirá una luz fluorescente FAM, señal que indica que el ADN viral es presente en la muestra.

Debido a la competencia del ensayo, la señal HEX puede reducirse o desaparecer cuando se detectan otras señales fuertes.

Si a virus **negativo** muestra es probado, solamente la MALEFICIO señal voluntaria será detectada.

Reactivo almacenamiento y manejo

Los kits deben transportarse y almacenarse a temperaturas entre -18°C y -10°C. El kit permanecerá estable al menos hasta la fecha de caducidad impresa en el paquete, si el almacenamiento se mantiene la temperatura. La congelación y descongelación repetida de los componentes del kit puede resultar en una menor calidad de detección. Se recomienda dividir la mezcla maestra en alícuotas para evitar esto. Evitar exposición a la luz. Asegúrese de que todos los reactivos estén completamente descongelados, mezclados y pulsados, centrifugado antes de usar.

Extracción de ADN: para obtener resultados óptimos, utilice un kit de extracción de ADN adecuado para eluir el ADN de la muestra. Otros kits líderes o métodos internos son aceptables para su uso con este kit de diagnóstico, proporcionar que eso posea sido validado previo a usar en muestras de paciente.

Instrumento de PCR: este kit debe usarse con sistemas qPCR que pueden detectar FAM y MALEFICIO fluorescentes.

Consumibles: Usar nucleasa libre PCR consumibles adecuados a la qPCR instrumentación.

Otros equipos de laboratorio: Vortex, microcentrífuga, micropipetas y puntas, tubo de microcentrífuga estante, PCR tubo/placa estante.

Advertencias y Precauciones

Cuando trabaje con productos químicos, use siempre una bata de laboratorio adecuada, guantes desechables y gafas protectoras. Para obtener más información, consulte las fichas de datos de seguridad correspondientes. (SDS). Deseche los residuos de muestras y ensayos de acuerdo con las normas de seguridad locales. Es esencial seguir con precisión las instrucciones de este manual para garantizar resultados precisos. Por favor familiarícese con este manual del producto y su instrumento qPCR antes de usar el AMD MPXV Kit de detección PCR.

Instrumento compatibilidad

El kit de detección AMD MPXV qPCR es compatible con las pruebas qPCR en tiempo real.



más comunes equipo con la capacidad de detectar tintes fluorescentes FAM y HEX como Biorad CFX96, Aplicado Biosistemas 7500 Rápido, QuantStudio 3,5,7, Paso uno Más, aglient MX3000,



3005P, Rotorgene Q, Cepheid Smartcycler, Analytik Jena qTower y Roche Lightcycler 480, 96.

Ensayo Procedimiento

Muestra Recopilación

La muestra para el kit de detección qPCR del virus de la viruela del simio humano de AMD (MPXV) debe recolectados a través de muestras humanas, como sangre completa , plasma con EDTA K2 y exudado de lesiones muestras de la piel. Asegúrese de que las muestras se almacenen correctamente y se mantengan alejadas deningún contaminación.

Muestra Almacenamiento

Como regla general, se deben evitar múltiples congelaciones y descongelaciones. La forma más práctica deDirección esta preocupación es por alicuotar muestras después recopilación.

Muestra transporte

El material de muestra debe transportarse en un contenedor de transporte irrompible como cuestión de principio. Por lo tanto, se puede evitar un peligro potencial de infección debido a una fuga de muestra. Las muestras deben transportarse siguiendo las instrucciones locales y nacionales para la transporte de material patógeno. Las muestras deben enviarse dentro de las 6 horas. No lo es recomienda almacenar las muestras donde han sido recolectadas. Es posible enviar elmuestras por correo, siguiendo las instrucciones legales para el transporte de material patógeno. Nosotrosrecomendar la muestra transporte con un mensajero.

PCR Establecer arriba

Asegúrese de que todos los reactivos y muestras estén completamente descongelados, mezclados y centrifugados brevemente.Mantener todos los reactivos y muestras en hielo durante este procedimiento.

Establecer arriba la reacciones usando la mesa abajo.

Producto	Volumen
ADN mezcla maestra	20µl
ADN Muestra/control	5µl

Agregue las muestras de ADN y al menos una réplica del control MPXV a los tubos/placas de PCR. como un noControl de plantilla (NTC), agregue 5 µ l de agua libre de nucleasas en lugar de ADN.



Selle los tubos o la placa de PCR y brevemente girar a asegurar que la reactivos son a la abajo y no aire burbujas son presente.

Lugar la placa/tubos en la qPCR térmico ciclista y usar la siguiendo térmico perfil:



Térmico Perfil:

Etapas/Paso	La temperatura	Tiempo
Escenario 1: Paso 1	40 °C _	5 min
Escenario 1: Paso 2	95 °C _	5 min
40 Ciclos		
Escenario 2: Paso 1	95 °C _	10 Segundo
Escenario 2: Paso 2	58 °C _	30 Segundo

Cuando finalice la serie, deseche los tubos/placas de reacción de PCR de forma adecuada en conformidad con locales y nacionales reglamentos

Datos Análisis

Analice los datos si el software no lo hace automáticamente al final de la ejecución. Exportarlos datos a Excel o un informe en PDF, según el instrumento de qPCR utilizado, y ver el resultados.

Interpretación de Resultados

Este es un ensayo cualitativo que indica la presencia o ausencia de viruela humana del mono.Virus.

los resultados debería ser interpretado como sigue:

Si hay una señal en el canal **HEX** y no hay señal en **FAM** , la muestra es negativa para MPXV.

Si allá es un entrada de señal el **maleficio** y **FAM** canales, el muestra es positivo por MPXV. La señal del ensayo de control interno en el canal **HEX** debe estar presente, pero puede estar ausente otienen un valor alto de Cq (señal baja) cuando la señal del ensayo de diagnóstico (**FAM**) es fuerte. Esto es un poco concluyente resultado. Si allá es no señal en o canal, la resultado es también poco concluyente.

Poco concluyente o ambiguo muestra resultados debería ser repetido.

MALEFICIO (Interno control)	familia (MPXV)	Interpretación
+	-	Muestra Negativo por MPXV
+	+	Muestra Positivo por MPXV
-	+	Muestra Positivo por MPXV
-	-	Resultado poco



		concluyente
--	--	-------------



Actuación Características

Calidad: Todos los kits de AMD se fabrican con métodos estándar de alta calidad y exclusivos precisión, comparable con otros kits de detección de PCR de MPXV humano comerciales líderes. **Sensibilidad:** El kit de detección de PCR AMD MPXV es altamente sensible, capaz de detectar un mínimo 10 copias/rxn “rxn volumen 25µl” por debajo nuestra validación métodos y dispositivos.

Especificidad: El kit MPXV humano de Advanced Molecular Diagnostics es muy específico hasta en un 100 % para humanos y virus del simio Virus ADN por debajo nuestra validación métodos y dispositivos.

Referencias

Durski, KN et al. Aparición de la viruela del simio: África occidental y central, 1970 - 2017. MMWR Morb.Mortal. Semanal. Reps. 67 ,306–310 (2018).

Oliveira, G., Rodrigues, R., Lima, M., Drumond, B. & Abrahão, J. Poxvirus, genes del rango de huéspedes y virus-anfitrión espectro: a crítica revisión. virus 9, 331 (2017).

Oldal, M. et al. Encuesta serológica de infección por ortopoxvirus entre roedores en Hungría. Transmitido por vectores zoonótico Dis. 15, 317–322 (2015).

Producto Limitaciones

Este kit es para procedimientos de diagnóstico in vitro y solo debe ser utilizado por laboratorios específicamente capacitados. personal. los expiración fecha de todos componentes deber ser comprobado antes de usar y dispuesto de si Caducado.

Ocasionalmente, pueden surgir mutaciones en la región del genoma a la que se dirigen los cebadores y las sondas de este ensayo, lo que conduce a una subcuantificación o falla en la detección de la presencia del virus en estos casos. Ensayo diseño y eficacia es revisados periódicamente.

Adicional Información

AMD produce kits de PCR en tiempo real con una amplia gama de aplicaciones para investigadores de análisis de expresión génica, cDNA y estudios de genotipado poblacional hasta la detección multiplex de varias enfermedades objetivas en tiempo real PCR con excelente





Contacto

Ningún consultas, comentarios o quejas por favor referirse a nuestro sitio web a:

www.am-diagnostics.co.uk

info@am-diagnostics.co.uk