

Instrucciones de uso

RealStar[®] Malaria PCR Kit 1.0

01/2017 ES

RealStar®

Malaria PCR Kit 1.0

Para utilizar con

Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
LightCycler® 480 Instrument II (Roche)



341013



96



01 2017



altona Diagnostics GmbH • Mörkenstr. 12 • D-22767 Hamburg

Contenido

1. Uso indicado.....	6
2. Componentes del kit.....	6
3. Almacenamiento	6
4. Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados	7
5. Información general	8
6. Descripción del producto.....	9
6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real.....	10
7. Advertencias y precauciones	11
8. Procedimiento	12
8.1 Preparación de las muestras	12
8.2 Preparación de la Master Mix	14
8.3 Preparación de la reacción	15
9. Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real.....	16
9.1 Configuración	16
9.2 Detectores de fluorescencia	17
9.3 Perfil de temperatura y detección de fluorescencia	17
10. Análisis de datos.....	18
10.1 Validez de las series de pruebas diagnósticas	18
10.1.1 Serie válida de pruebas diagnósticas	18
10.1.2 Serie no válida de pruebas diagnósticas	19
10.2 Interpretación de los resultados	19
10.2.1 Análisis cualitativo.....	19

11. Evaluación de rendimiento	20
11.1 Sensibilidad analítica	20
11.2 Especificidad analítica.....	21
11.3 Precisión	22
11.4 Evaluación del diagnóstico	24
12. Limitaciones	25
13. Control de calidad.....	26
14. Servicio técnico.....	26
15. Bibliografía	26
16. Marcas comerciales e información legal	27
17. Explicación de los símbolos	28

1. Uso indicado

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección del ADN específico de *Plasmodium* especies, lo que incluye las cinco especies patógenas humanas, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*.

2. Componentes del kit

Color tapa	Componente	Número de viales	Volumen[μl/vial]
Azul	Master A	8	60
Violeta	Master B	8	180
Verde	Internal Control	1	1000
Rojo	Positive Control	1	250
Blanco	Water (PCR grade)	1	500

Internal Control = Control interno

Positive Control = Control positivo

Water (PCR grade) = Agua indicada para PCR

3. Almacenamiento

- El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se envía en hielo seco. Los componentes del kit deben llegar congelados. Si uno o más componentes no estuvieran congelados en el momento de la recepción, o si la integridad de los tubos se ha puesto en peligro durante el envío, póngase en contacto con Altona Diagnostics GmbH para obtener ayuda.
- Todos los componentes deben almacenarse entre -25 y -15 °C tras su llegada.
- Debe evitarse la descongelación y congelación reiterada de los reactivos Master (más de dos veces), ya que podría repercutir en el rendimiento del producto. Los reactivos deben congelarse en alícuotas si se van a utilizar de manera intermitente.

- El almacenamiento entre +2 y +8 °C no debe superar un período de dos horas.
- Proteja Master A y Master B de la luz.

4. Material y dispositivos necesarios pero no proporcionados

- Instrumento adecuado de PCR en tiempo real (ver capítulo 6.1, Instrumentos de PCR en tiempo real)
- Sistema o kit de extracción de ácido nucleico adecuados
- Centrífuga de mesa con rotor para tubos de reacción de 2 ml
- Centrífuga con rotor para placas de microtitulación, si se utilizan placas de reacción de 96 pocillos
- Agitador vortex
- Placas de reacción de 96 pocillos adecuadas o tubos de reacción con el material de cierre (óptico) correspondiente
- Pipetas (ajustables)
- Puntas de pipetas con filtro (desechables)
- Guantes sin talco (desechables)

NOTA

i

Asegúrese de que todos los instrumentos utilizados se instalen, se calibren, se comprueben y se mantengan conforme a las instrucciones y recomendaciones del fabricante.

i

Se recomienda encarecidamente utilizar el rotor de 72 pocillos con los tubos de reacción de 0,1 ml adecuados, si se utiliza el Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research) o el Rotor-Gene® Q 5/6 plex (QIAGEN).

5. Información general

La malaria es una de las enfermedades infecciosas más importantes en todo el mundo. Cada año se infectan unos 250 millones de personas, y la mayoría de los casos se producen en África, Asia y Sudamérica. Cada año mueren de 800 000 a 1,2 millones de personas como consecuencia de la malaria (fuente RKI, 2012).

La malaria es una enfermedad infecciosa transmitida por vectores y provocada por parásitos eucariotas del género *Plasmodium*. Los parásitos se transmiten a las personas por las picaduras de mosquitos *Anopheles* infectados. También pueden producirse infecciones en el interior y en los alrededores de aeropuertos por la importación no reconocida de mosquitos infectados o equipaje de pasajeros (malaria de aeropuertos y equipaje). La infección por donación de sangre también es posible.

Hay cinco especies patógenas para los humanos: *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*. La malaria es una enfermedad febril aguda. En un individuo no inmune, los síntomas aparecen de 7 a 15 días después de la infección. Los primeros síntomas (fiebre, cefalea, escalofríos y vómitos) pueden ser leves y difíciles de reconocer. EN muchas ocasiones los síntomas se confunden con los propios de resfriado común o una infección gastrointestinal. Si no se proporciona tratamiento, la malaria puede avanzar, agravando la enfermedad y provocando, en muchas ocasiones, la muerte. Tanto en los casos de infección por *P. vivax* como para *P. ovale*, pueden producirse recaídas clínicas semanas y meses después de la primera infección. Estos nuevos episodios surgen de formas hepáticas latentes conocidas como hipnozoitos. En zonas endémica de malaria, las personas pueden desarrollar inmunidad parcial frente a la enfermedad, lo que permite que se produzcan infecciones asintomáticas.

El mejor tratamiento disponible contra la malaria, especialmente para infecciones por *P. falciparum*, es la terapia de combinación de artemisinina (ACT, por sus siglas en inglés).

6. Descripción del producto

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 es un test diagnóstico *in vitro*, basado en tecnología de PCR en tiempo real, para la detección del ADN específico de *Plasmodium* especies, lo que incluye las cinco especies patógenas humanas, *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax*, *Plasmodium malariae*, *Plasmodium ovale* y *Plasmodium knowlesi*.

El test incluye un sistema de amplificación heterólogo (Control interno) para identificar una posible inhibición de PCR y para confirmar la integridad de los reactivos del kit.

La tecnología de PCR utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para la amplificación de secuencias de objetivo específicas y sondas específicas de objetivos para la detección del ADN amplificado. Las sondas se marcan con fluoróforos Reporter y Quencher.

Las sondas específicas para el ADN de *Plasmodium* spp. están marcadas con el fluorocromo FAM™. La sonda específica para el Control interno está marcada con el fluorocromo JOE™.

El uso de sondas unidas a diferentes fluorocromos permite la detección paralela del ADN específico de *Plasmodium* spp. y del Control interno en los canales de detección correspondientes del instrumento de PCR en tiempo real.

El test consta de tres procesos en un solo tubo:

- Amplificación de PCR del ADN diana y del Control interno
- Detección simultánea de amplicones de PCR mediante sondas marcadas con fluoróforos

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se compone de:

- Dos reactivos Master (Master A y Master B)
- Control interno
- Control positivo
- Agua indicada para PCR

Master A y Master B contienen todos los componentes (tampón de PCR, ADN polimerasa, sal de magnesio cebadores y sondas) para permitir la amplificación mediante la PCR y la detección del ADN específico de *Plasmodium* spp., y el Control interno en una configuración de reacción.

6.1 Instrumentos de PCR en tiempo real

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se desarrolló y se validó para su uso con los siguientes instrumentos de PCR en tiempo real:

- Mx 3005P™ QPCR System (Stratagene)
- VERSANT® kPCR Molecular System AD (Siemens Healthcare)
- ABI Prism® 7500 SDS (Applied Biosystems)
- ABI Prism® 7500 Fast SDS (Applied Biosystems)
- Rotor-Gene® 6000 (Corbett Research)
- Rotor-Gene® Q5/6 plex Platform (QIAGEN)
- CFX96™ Real-Time PCR Detection System (Bio-Rad)
- LightCycler® 480 Instrument II (Roche)

7. Advertencias y precauciones

Lea las instrucciones de uso detenidamente antes de utilizar el producto.

- Antes del primer uso, compruebe los siguientes puntos respecto al producto y sus componentes:
 - Integridad
 - Si está completo en cuanto a número, tipo y volumen (ver capítulo 2. Componentes del kit)
 - Etiquetaje correcto
 - Si está congelado al llegar
- El uso de este producto está limitado al personal instruido especialmente y formado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Las muestras deben tratarse siempre como si fueran infecciosas o biopeligrosas conforme a los procedimientos de seguridad en el laboratorio.
- Utilice guantes protectores desechables sin talco, bata de laboratorio y protección ocular cuando manipule muestras.
- Evite la contaminación microbiana y con nucleasas (DNasas/RNasas) de la muestra y de los componentes del kit.
- Utilice siempre puntas de pipetas desechables libres de DNasas/RNasas con barreras de aerosol.
- Utilice siempre guantes protectores desechables sin talco cuando manipule los componentes del kit.
- Utilice áreas de trabajo separadas para (i) la preparación de las muestras, (ii) la configuración de reacción y (iii) las actividades de amplificación/detección. El flujo de trabajo en el laboratorio debe realizarse de manera unidireccional. Utilice siempre guantes desechables en cada área y cámbieselos antes de acceder a un área distinta.
- Utilice suministros y equipamiento en cada área de trabajo separada y no los translade de un área a otra.

- Almacene el material positivo o presuntamente positivo separadamente de todos los demás componentes del kit.
- No abra los tubos o placas de reacción después de la amplificación, para evitar la contaminación con amplicones.
- Pueden utilizarse controles adicionales utilizando de acuerdo con las pautas o requisitos de las regulaciones locales, estatales y/o federales, o de organizaciones de acreditación.
- No esterilice en el autoclave los tubos de reacción después de la PCR, ya que no degradará el ácido nucleico amplificado y conllevará el riesgo de contaminar la zona del laboratorio.
- No utilice componentes del kit cuya fecha de caducidad.
- Descarte muestras y residuos del test conforme a las regulaciones locales de seguridad.

8. Procedimiento

8.1 Preparación de las muestras

El ADN extraído es el material inicial para el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0.

La calidad del ADN extraído tiene una repercusión fundamental en el rendimiento del test. Debe garantizarse que el sistema utilizado para la extracción de ácido nucleico sea compatible con la tecnología de PCR en tiempo real. Los siguientes kits y sistemas son adecuados para la extracción de ácido nucleico:

- QIAamp® ADN Mini Kit (QIAGEN)
- QIAamp® DNA Blood Mini Kit (QIAGEN)
- QIASymphony® (QIAGEN)
- NucliSENS® easyMag® (bioMérieux)
- MagNA Pure 96 System (Roche)
- m2000sp (Abbott)
- Maxwell® 16 IVD Instrument (Promega)

- VERSANT® kPCR Molecular System SP (Siemens Healthcare)

También pueden resultar adecuados sistemas alternativos de extracción de ácido nucleico.

La idoneidad del procedimiento de extracción de ácido nucleico para su uso con el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 debe validarla el usuario.

Si utiliza un procedimiento de preparación de muestras basado en centrifugación (spin column, en inglés) que incluya tampones de lavado que contengan etanol, se recomienda encarecidamente seguir un paso de centrifugación adicional durante 10 minutos a aproximadamente 17 000 x g (~13 000 rpm), utilizando un tubo de recogida nuevo, antes de la elución del ácido nucleico.

PRECAUCIÓN



Si su sistema de preparación de pruebas utiliza tampones de lavado que contengan etanol, asegúrese de eliminar cualquier resto de etanol antes de la elución del ácido nucleico. El etanol es un potente inhibidor de la PCR en tiempo real.



El uso de ARN portador es crucial para la eficiencia de la extracción y para la estabilidad del ácido nucleico extraído.

Si necesita más información o asistencia técnica en relación con el pretratamiento y la preparación de muestras, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

8.2 Preparación de la Master Mix

Todos los reactivos y muestras deben descongelarse completamente, mezclarse (pipeteando o aplicando un vortex suave) y centrifugarse brevemente antes de su uso.

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 contiene un Control interno heterólogo, que puede utilizarse como control de inhibición de PCR o para controlar el procedimiento de preparación de muestras (extracción de ácido nucleico) y como control de inhibición de PCR.

- ▶ Si se utiliza el Control interno como control de inhibición de PCR, pero no como control para el procedimiento de preparación de muestras, prepare la Master Mix de acuerdo con el siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Internal Control	1 µl	12 µl
Volumen de Master Mix	21 µl	252 µl

- ▶ Si se utiliza el Control interno como control para el procedimiento de preparación de muestras y como control de inhibición de PCR, añada el Control interno durante el procedimiento de extracción de ácido nucleico.
- ▶ Sin importar que método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, el Control interno **no debe** añadirse directamente a la muestra. El Control interno debe añadirse siempre a la mezcla de muestra y tampón de lisis. El volumen del Control interno que debe añadirse dependerá siempre y únicamente del volumen de la elución. Representa el 10 % del volumen de la elución. Por ejemplo, si se va a eluir el ácido nucleico en 60 µl de tampón de elución o agua, deberán añadirse 6 µl de Control interno por muestra a la mezcla de muestra/tampón de lisis.

- ▶ Si se añadió el Control interno durante el procedimiento de preparación de muestras, configure la Master Mix conforme al siguiente esquema de pipeteo:

Número de reacciones (rxns)	1	12
Master A	5 µl	60 µl
Master B	15 µl	180 µl
Volumen de Master Mix	20 µl	240 µl

PRECAUCIÓN



Si se añadió el Control interno durante el procedimiento de preparación, al menos el control negativo debe incluir el Control interno.



Sin importar que método o sistema se utilice para la extracción de ácido nucleico, no añada nunca el Control interno directamente a la muestra.

8.3 Preparación de la reacción

- ▶ Pipetee 20 µl de la Master Mix en cada pocillo necesario de una placa de reacción óptica de 96 pocillos o un tubo de reacción óptica.
- ▶ Añada 10 µl de la muestra (eluido de la extracción de ácido nucleico) o 10 µl de los controles (control positivo o negativo).

Configuración de reacción	
Master Mix	20 µl
Muestra o control	10 µl
Volumen total	30 µl

- ▶ Asegúrese de que al menos se utilicen un control positivo y uno negativo por serie.
- ▶ Mezcle a fondo las muestras y los controles con la Master Mix pipeteando hacia arriba y hacia abajo.
- ▶ Cierre la placa de reacción de 96 pocillos con las tapas adecuadas o una lámina adhesiva óptica y los tubos de reacción con las tapas adecuadas.
- ▶ Centrifugue la placa de 96 pocillos en una centrífuga con un rotor de placa de microtitulación durante 30 segundos a aproximadamente 1000 x g (~3000 rpm).

9. Programación de los instrumentos de PCR en tiempo real

Para obtener información básica sobre la preparación y la programación de los diferentes instrumentos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para obtener instrucciones detalladas para la programación en relación con el uso del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 en instrumentos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con nuestro servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

9.1 Configuración

- ▶ Defina la siguiente configuración:

Configuración	
Volumen de reacción	30 µl
Índice de aumento	Predeterminado
Referencia pasiva	ROX™

9.2 Detectores de fluorescencia

- ▶ Defina los detectores de fluorescencia (colorantes):

Objetivo	Nombre de detector	Reporter	Quencher
ADN específico de <i>Plasmodium</i> spp.	<i>Plasmodium</i> spp.	FAM™	(Ninguno)
Internal Control (Control interno)	IC	JOE™	(Ninguno)

9.3 Perfil de temperatura y detección de fluorescencia

- ▶ Defina el perfil de temperatura y la detección de fluorescencia:

	Modo de análisis	Ciclo Repeticiones	Obtención	Temperatura [°C]	Tiempo [min:s]
Desnaturalización	Retención	1	-	95	10:00
Amplificación	Ciclo	45	-	95	0:15
			sí	58	0:45
			-	72	0:15

10. Análisis de datos

Para ver información básica en relación con el análisis de datos en instrumentos específicos de PCR en tiempo real, consulte el manual de usuario del instrumento en cuestión.

Para ver instrucciones sobre el análisis de los datos generados con el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 en diferentes instrumentos específicos de PCR en tiempo real, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico (ver capítulo 14. Servicio técnico).

10.1 Validez de las series de pruebas diagnósticas

10.1.1 Serie válida de pruebas diagnósticas

Para que una serie de pruebas diagnósticas sea **válida**, deben cumplirse las siguientes condiciones de control:

Id. de control	Canal de detección	
	FAM™	JOE™
Control positivo	+	+/*
Control negativo	-	+

* La presencia o ausencia de una señal en el canal JOE™ no es relevante para la validez de la prueba.

10.1.2 Serie no válida de pruebas diagnósticas

Una serie de pruebas diagnósticas es **no válida**(i) si la serie no se ha completado o (ii) si no se cumple cualquiera de las condiciones de control para una serie de pruebas diagnósticas **válida**.

En caso de que obtenga una serie de pruebas diagnósticas **no válida**, repita las pruebas utilizando el resto de ácidos nucleicos purificados o empiece de nuevo con las muestras originales.

10.2 Interpretación de los resultados

10.2.1 Análisis cualitativo

Canal de detección		Interpretación del resultado
FAM™	JOE™	
+	+*	Se ha detectado ADN específico de <i>Plasmodium</i> spp..
-	+	No se ha detectado ADN específico de <i>Plasmodium</i> spp.. La muestra no contiene cantidades detectables de ADN específico de <i>Plasmodium</i> spp..
-	-	Inhibición de la PCR o fallo del reactivo. Repita el test con la muestra original o recoja y someta a pruebas una nueva muestra.

* La detección del Control interno en el canal de detección JOE™ no es necesaria para resultados positivos en el canal de detección FAM™. Una carga alta de ADN de *Plasmodium* spp. en la muestra puede provocar señales reducidas o ausentes de Control interno.

11. Evaluación de rendimiento

La evaluación de rendimiento analítico del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se realizó utilizando el «1.º estándar internacional de la OMS para ADN de *Plasmodium falciparum* para técnicas de amplificación de ácido nucleico» (código NIBSC: 04/176).

11.1 Sensibilidad analítica

La sensibilidad analítica (límite de detección; en inglés Limit of Detection, LoD) del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se define como la concentración (IU por µl del eluido) de moléculas de ADN específico de *Plasmodium* spp. que pueden detectarse con un índice positivo del 95 %. La sensibilidad analítica se determinó mediante el análisis de series de dilución de «1.º estándar internacional de la OMS para pruebas de valoración de amplificación de ácido nucleico (NAT) de ADN de *Plasmodium falciparum*».

Tabla 1: Resultados de PCR utilizados para el cálculo de la sensibilidad analítica con respecto a la detección específica del ADN de *Plasmodium* spp.

Conc. [IU/µl]	Número de replicados	Número de positivos	Índice de éxito [%]
10,000	12	12	100
3,160	12	12	100
1,000	12	12	100
0,316	12	8	67
0,100	12	4	33
0,032	12	4	33
0,010	12	1	8
0,003	12	0	0

La sensibilidad analítica del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se determinó mediante análisis Probit:

- Para la detección de ADN específico de *Plasmodium* spp., la sensibilidad analítica es de 1,27 IU/µl [95 % de intervalo de confianza (CI): 0,57 - 5,42 IU/µl]

11.2 Especificidad analítica

La especificidad analítica del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se garantiza mediante la selección exhaustiva de los oligonucleótidos (cebadores y sondas). Los oligonucleótidos se comprobaron mediante un análisis de comparación con secuencias disponibles públicamente para asegurar que se detectarán todos los genotipos relevantes de *Plasmodium* spp..

Se analizaron más de 100 muestras diferentes de sangre total negativas en *plasmodium* con el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0, después de la extracción de ADN, utilizando el QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen). Ninguna de ellas mostró una señal específica positiva en *plasmodium* (FAM™), pero todas dieron positivo en señal de Control interno (JOE™).

Además, la especificidad del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se evaluó probando diferentes especies de *plasmodium*, así como un panel de ADN/ARN genómico extraído de especies relacionadas con *plasmodium*, otros patógenos de transmisión sanguínea y patógenos que causan síntomas similares.

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 no mostró reacciones cruzadas con ninguno de los siguientes patógenos:

- Virus BK
- Citomegalovirus
- Virus del dengue
- Virus de Epstein-Barr
- Virus de la hepatitis A
- Virus de la hepatitis B
- Virus de la hepatitis C
- Virus de la hepatitis E
- Herpesvirus humano 6A
- Herpesvirus humano 6B
- Herpesvirus humano 7
- Herpesvirus humano 8
- Parvovirus humano B19
- Virus de la inmunodeficiencia humana 1
- Virus del herpes simple 1
- Virus del herpes simple 2
- Virus de la gripe A
- Virus de la gripe B
- Virus JC
- Virus varicela-zóster
- Virus del Nilo Occidental
- *Leishmania infantum*
- *Leishmania major*
- *Leishmania donovani*
- *Trypanosoma cruzi*
- *Toxoplasma gondii*

11.3 Precisión

La precisión para el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se determinó como variabilidad de intratest (variabilidad dentro de un experimento), variabilidad de intertest (variabilidad entre diferentes experimentos) y variabilidad interlote (variabilidad entre diferentes lotes de producción). La variabilidad total se calculó combinando los tres análisis.

Los datos de variabilidad se expresan en términos de desviación estándar y de coeficiente de variación en la concentración para ADN específico de *Plasmodium* spp. y se basan en valores del ciclo de umbral de (C_t) en términos del Control interno. Se analizaron al menos seis replicados por muestra para variabilidad intratest, intertest e interlote.

Tabla 2: Datos de precisión para la detección específica del ADN de *Plasmodium* spp.

<i>Plasmodium</i> spp.	Ciclo de umbral medio (C_t)	Desviación estándar	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intratest	29,05	0,18	0,63
Variabilidad intertest	30,77	0,16	0,51
Variabilidad interlote	29,14	0,64	2,21
Variabilidad total	29,65	0,27	0,92

Tabla 3: Datos de precisión para la detección del Control interno

Control interno	Ciclo de umbral medio (C_t)	Desviación estándar	Coefficiente de variación [%]
Variabilidad intratest	23,45	0,14	0,61
Variabilidad intertest	25,87	0,33	1,26
Variabilidad interlote	23,46	0,14	0,62
Variabilidad total	24,26	0,11	0,43

11.4 Evaluación del diagnóstico

El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se evaluó en un estudio prospectivo comparándolo con microscopia de «frotis grueso», patrón de oro para el diagnóstico de la malaria. Se analizaron 118 muestras, que entraron para su diagnóstico rutinario de malaria, utilizando microscopia de «frotis grueso» y, además, tras la extracción del ácido nucleico (QIAamp® DNA Blood Mini Kit; QIAGEN), utilizando el RealStar® Malaria PCR Kit 1.0.

Tabla 4: Resultados de la sensibilidad y la especificidad del diagnóstico del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0

		RealStar® Malaria PCR Kit 1.0	
		+	-
Método de referencia	+	17	0
	-	3	98

* Todas las muestras discrepantes dieron positivo en *Plasmodium* spp. humano por análisis secuencial

12. Limitaciones

- Se requiere el cumplimiento estricto de las instrucciones de uso para obtener unos resultados óptimos.
- El uso de este producto se limita a personal instruido especialmente y formado en las técnicas de PCR en tiempo real y procedimientos de diagnóstico *in vitro*.
- Unas buenas prácticas de laboratorio son esenciales para que esta test tenga un rendimiento adecuado. Deben extremarse las precauciones para preservar la pureza de los componentes del kit y las configuraciones de reacción. Todos los reactivos deben supervisarse atentamente para saber si tienen impurezas y contaminación. Los reactivos sospechosos deben descartarse.
- Es necesario realizar procedimientos correctos de recolección, transporte, almacenamiento y procesamiento para que esta prueba tenga un rendimiento óptimo.
- Esta el test no debe utilizarse directamente en la muestra. Deben llevarse a cabo métodos adecuados de extracción de ácido nucleico antes de utilizar esta prueba de valoración.
- La presencia de inhibidores de la PCR (p.ej. heparina) puede provocar falsos negativos o resultados no válidos.
- Las posibles mutaciones dentro de las regiones diana del genoma de *Plasmodium* spp. cubiertas por los cebadores o las sondas utilizados en el kit pueden provocar fallos al detectar la presencia del patógeno.
- Como con cualquier prueba diagnóstica, los resultados del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 deben interpretarse teniendo en consideración todos los hallazgos clínicos y de laboratorio.

13. Control de calidad

De acuerdo con el sistema de control de calidad con certificación ISO 13485 de Altona Diagnostics GmbH, cada lote del RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 se somete a pruebas con especificaciones predeterminadas para asegurar la calidad consistente del producto.

14. Servicio técnico

Si necesita asesoramiento técnico, póngase en contacto con nuestro Servicio técnico:

E-mail: support@altona-diagnostics.com
Teléfono: +49-(0)40-5480676-0

15. Bibliografía

Versalovic, James, Carroll, Karen C., Funke, Guido, Jorgensen, James H., Landry, Marie Louise y David W. Warnock (ed). Manual of Clinical Microbiology. 10.^a edición. ASM Press, 2011.

Cohen, Jonathan, Powderly, William G. and Steven M.O. Infectious Diseases, tercera edición. Mosby, 2010.

16. Marcas comerciales e información legal

RealStar® (Altona Diagnostics); ABI Prism® (Applied Biosystems); ATCC® (American Type Culture Collection); CFX96™ (Bio-Rad); Cy® (GE Healthcare); FAM™, JOE™, ROX™ (Life Technologies); LightCycler® (Roche); Maxwell® (Promega); Mx 3005P™ (Stratagene); NucliSENS®, easyMag® (bioMérieux); Rotor-Gene®, QIAamp®, QIASymphony® (QIAGEN); VERSANT® (Siemens Healthcare).

No debe considerarse que los nombres registrados, las marcas comerciales, etc. utilizados en este documento, incluso aunque no se marquen específicamente como tales, carecen de protección legal.




El RealStar® Malaria PCR Kit 1.0 es un kit de diagnóstico con marcado CE conforme a la directiva europea de diagnóstico *in vitro* 98/79/EC.

Producto sin licencia con Health Canada y sin autorización ni aprobación de la FDA.

No disponible en todos los países.

© 2017 Altona Diagnostics GmbH; reservados todos los derechos.

17. Explicación de los símbolos

	Dispositivo médico de diagnóstico <i>in vitro</i>
	Código de lote
	Color del tapón
	Número de producto
	Contenido
	Número
	Componente
	Número mundial de artículo comercial
	Consultar instrucciones de uso
	Contiene suficiente para «n» pruebas/reacciones (rxns)
	Límite de temperatura
	Fecha de vencimiento
	Fabricante
	Precaución
	Nota
	Versión

Notas:

always a drop ahead.

altona Diagnostics GmbH
Mörkenstr. 12
22767 Hamburg, Germany

phone +49 40 548 0676 0
fax +49 40 548 0676 10
e-mail info@altona-diagnostics.com

www.altona-diagnostics.com

