

# AMPLIRUN® VARICELLA-ZOSTER VIRUS DNA CONTROL

Solo per uso diagnostico *in vitro*

**MBC048:** DNA purificato di Virus della varicella-zoster da utilizzarsi per il controllo delle tecniche diagnostiche *in vitro* basate sull'amplificazione degli acidi nucleici.

## INTRODUZIONE:

Il virus varicella-zoster (VVZ) è un virus a doppio filamento di DNA, icosaedrico, dotato di pericapside, con un diametro di circa 150-200 nm. La varicella (l'infezione primaria) si verifica con maggior frequenza nei bambini ed è caratterizzata da un esantema vescicolare generalizzato. Lo zoster, causato dalla riattivazione del virus latente, si verifica negli adulti e consiste in un'eruzione dolorosa di lesioni vescicolari accompagnata dall'infiammazione dei gangli nervosi.

## CARATTERISTICHE:

L'acido nucleico liofilizzato è inserito in un sacchetto di alluminio termosaldato contenente una sacca di gel di silice. È necessario procedere alla sua ricostituzione prima dell'uso (fare riferimento alla sezione "Preparazione dei reagenti").

**Preparazione:** Coltivare in MRC-5 cellule infettate

**Preparazione dell'estratto:** Metodo commerciale di estrazione del DNA genomico.

## COMPOSIZIONE DEL KIT:

**1** VIRCELL VZV DNA CONTROL: 1 flaconcino con DNA liofilizzato di Virus della varicella-zoster, (Ellen ceppo), (10000-20000 copie/μl una volta ricostituito (vedere Tabella 1)). La quantificazione del DNA è stata eseguita mediante PCR in tempo reale.

**2** VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl di acqua per biologia molecolare, priva di DNasi e RNasi.

Numero di lotto	
Concentrazione	copie/μl

Tabella 1.

## Materiale richiesto ma non fornito:

Kit per diagnosi supplementare.

## STABILITA' E CONSERVAZIONE:

Non sono necessarie particolari condizioni di trasporto. Conservare il flaconcino liofilizzato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C all'interno del sacchetto di alluminio. Una volta aperto il sacchetto, ricostituire immediatamente il flaconcino liofilizzato e, dopo la ricostituzione, conservarlo a una temperatura compresa tra -5°C e -40°C (temperatura indicata sull'etichetta).

## STABILITA' E UTILIZZO DEI REAGENTI:

Maneggiare i reagenti in condizioni asettiche per evitare contaminazioni microbiologiche.

Utilizzare solo la quantità di reagente necessaria per il test.

Dopo la risospensione di controllo, la soluzione di DNA deve essere aliquotata per evitare cicli multipli di

congelamento/scongelamento. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se vengono rispettate le Istruzioni per l'uso.

La VIRCELL, S.L. non risponde del cattivo utilizzo dei reagenti inclusi nel kit.

## RACCOMANDAZIONI E PRECAUZIONI:

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale.
2. L'uso di puntali per pipette filtranti è essenziale per evitare la contaminazione.
3. I campioni devono essere maneggiati come se fossero infettivi seguendo le procedure di sicurezza del laboratorio. Mantenere pulite e disinfettare tutte le superfici di lavoro con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% preparata al momento, in acqua deionizzata o distillata.
4. Per eseguire il test è essenziale disporre di aree di lavoro separate.
5. Smaltire i reagenti e i rifiuti non utilizzati in conformità alle normative vigenti.
6. Il componente VIRCELL DNA CONTROL può includere materiale genetico o sostanze di origine animale e/o umana. VIRCELL DNA CONTROL contiene acidi nucleici di Virus della varicella-zoster. VIRCELL DNA CONTROL contiene acidi nucleici purificati ottenuti da microrganismi inattivati, tuttavia deve essere considerato come potenzialmente infettivo e maneggiato con cura. Nessun metodo attuale può garantire con certezza l'assenza di questi o altri agenti infettivi. Tutti i materiali devono essere maneggiati e smaltiti come potenzialmente infettivi. Attenersi alle normative locali per lo smaltimento dei rifiuti clinici.
7. Le diluizioni inferiori a 1000 copie/μl devono essere effettuate immediatamente prima dell'uso. Non si raccomanda il congelamento di diluizioni di prodotto contenenti meno di 1000 copie/μl poiché potrebbe verificarsi una degradazione parziale del DNA.

## PREPARAZIONE DEI REAGENTI:

1. Aprire il sacchetto di alluminio contenente VIRCELL DNA CONTROL **1**.
2. Centrifugare VIRCELL DNA CONTROL **1** per 1 minuto a 1000 g.
3. Aggiungere 100 μl di VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2** e miscelare fino a ottenere la ricostituzione completa. La concentrazione sarà pari a 10000-20000 copie/μl una volta ricostituito (vedere Tabella 1).
4. Agitare su vortex per 30 secondi per disciogliere e omogeneizzare completamente.
5. Si raccomanda la preparazione di aliquote di VIRCELL DNA CONTROL. Nel caso in cui sia necessario preparare delle diluizioni, utilizzare a tale scopo VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2**.

## PROCEDURA:

Una volta ricostituito l'acido nucleico, utilizzarlo secondo le indicazioni riportate nel kit per diagnosi supplementare. Utilizzare VIRCELL CONTROL risospeso come un campione clinico estratto, aggiungendolo direttamente ai reagenti di amplificazione.

## CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO:

Ogni lotto viene sottoposto a una verifica interna della qualità prima del suo rilascio. L'analisi per il controllo della qualità



viene eseguita mediante PCR in tempo reale. Sono disponibili i risultati finali del controllo della qualità di ogni singolo lotto.

#### INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E PROTOCOLLO DI VALIDAZIONE PER GLI UTENTI:

Fare riferimento alle indicazioni del kit per diagnosi supplementare.

#### LIMITI:

1. Questo reagente è destinato a essere utilizzato con metodi di diagnostica umana. Altri metodi non sono stati verificati.
2. Si raccomanda all'utilizzatore di leggere attentamente e comprendere la scheda tecnica. Per ottenere dei risultati attendibili è importante attenersi rigorosamente al protocollo.
3. L'utilizzo di questo prodotto deve essere limitato solo al personale esperto in tecniche molecolari.
4. Il test di identificazione è stato eseguito con alcuni primer specifici in base alle sequenze del microrganismo disponibili pubblicamente. Modifiche nelle sequenze dei primer della reazione possono produrre un intervallo di dimensioni differenti o possono non mostrare l'amplificazione del prodotto.
5. Questo controllo di marcia esterno non sostituisce i controlli interni del kit di diagnostica.
6. La quantificazione è stata eseguita mediante qPCR di marca propria rispetto a uno standard utilizzato come calibratore. I risultati possono variare a seconda delle condizioni di amplificazione dell'utente finale.
7. AMPLIRUN® non è stato progettato per l'uso con un particolare kit diagnostico di un determinato produttore. È utilizzato per controllare l'amplificazione di una procedura diagnostica di laboratorio.

#### CARATTERISTICHE SPECIFICHE:

##### • TEST DI IDENTIFICAZIONE

**Analisi PCR del DNA di controllo:** L'analisi PCR è stata eseguita con una coppia di oligonucleotidi specifici sul DNA purificato di virus della varicella-zoster. La reazione ha prodotto un frammento delle dimensioni previste.

##### • TEST DI QUANTIFICAZIONE

È stato eseguito un test di correlazione tra il DNA estratto dalla coltura dei microrganismi e il DNA estratto da virus della varicella-zoster. È stata osservata una varianza inferiore a 0,5 log tra entrambi i test.

##### • PRECISIONE INTRA-TEST:

Sono state eseguite dallo stesso operatore 3 repliche di 5 diluizioni seriali di 3 diversi flaconcini del prodotto in condizioni qPCR identiche.











È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 5% tra tutti i test.

##### • PRECISIONE INTER-TEST:

Sono state amplificate individualmente da 2 diversi operatori 3 repliche differenti di 5 diverse diluizioni seriali di 1 flaconcino del prodotto in 3 giorni consecutivi.

È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 5% tra tutti i test.

#### SIMBOLI USATI SULL'ETICHETTE:

	In Vitro Diagnostico
	Usare fino a (data di scadenza)
	Conservare a x-y°C
	Codice di lotto
	Codice del prodotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Ricostituire in <X> µl
	Temperatura di spedizione
	Temperatura di stoccaggio
	Non aprire prima dell'uso

#### BIBLIOGRAFIA:

1. Bustin SA. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. J Mol Endocrinol. 25(2):169-193.
2. Bustin SA. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. J Mol Endocrinol. 29(1):23-39.
3. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE. (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. Biotechniques. 1999 26(1):112-122, 124-125.
4. Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. BMC Bioinformatics. 6:62.
5. McIver CJ, Jacques CF, Chow SS, Munro SC, Scott GM, Roberts JA, Craig ME, Rawlinson WD. (2005). Development of multiplex PCRs for detection of common viral pathogens and agents of congenital infections. J Clin Microbiol. 43(10):5102-5110.

Per ulteriori informazioni contattare:

[customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com)

EDIZIONE: 2019-01-15

L-MBC048-IT-01

