

AMPLIRUN® NOVEL INFLUENZA A H1N1 RNA CONTROL

Usage *in vitro* uniquement

MBC082 : ARN purifié de virus de la grippe A H1N1 pour une utilisation en tant que contrôle lors des techniques de diagnostic *in vitro* basées sur l'amplification des acides nucléiques.

INTRODUCTION :

Les virus grippaux sont des virus à enveloppe, hélicoïdaux, à ARN monocaténaire de polarité négative (-) dont le diamètre est compris entre 80 et 120 nm. En règle générale, l'infection provoque une maladie des voies respiratoires accompagnée de fièvre et de symptômes systémiques.

CARACTÉRISTIQUES DE LA TROUSSE :

L'acide nucléique lyophilisé se trouve dans un sachet en aluminium thermoscellé qui contient un sachet de gel de silice à l'intérieur. Il est nécessaire de le reconstituer avant de l'utiliser (voir «Préparation des réactifs»).

Préparation : Culture sur cellules MDCK infectées.

Préparation de l'extrait : Extraction de l'ARN génomique par une méthode commerciale.

COMPOSITION DU COFFRET :

1 VIRCELL INAH1N1 RNA CONTROL : 1 ampoule avec de l'ARN lyophilisé de virus de la grippe A H1N1, (souche A/California/7/2009), (12500-20000 copies/μl une fois reconstitué (voir Tableau 1)). La quantification de l'ARN a été réalisée par PCR en temps réel.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION : 500 μl d'eau de qualité biologie moléculaire, exempte de DNase et de RNase.

| | |
|---------------|-----------|
| Numéro de lot | |
| Concentration | copies/μl |

Tableau 1.

Matériel nécessaire non fourni :

Kit de diagnostic complémentaire.

CONSERVATION :

Aucune condition particulière de transport n'est nécessaire. Conserver l'ampoule sous forme lyophilisée dans le sachet en aluminium à 2-8 °C. Une fois le sachet ouvert, reconstituer l'ampoule lyophilisée immédiatement et conserver entre -70°C et -90°C après reconstitution (température indiquée sur l'étiquette).

STABILITÉ ET MANIPULATION DES RÉACTIFS :

Utiliser tous les réactifs dans des conditions aseptiques afin d'éviter toute contamination microbienne. N'utiliser que la quantité de réactif nécessaire à la réalisation de l'essai.

Il est recommandé d'aliquoter la solution d'ARN afin d'éviter des congélations et des décongélations répétées. Le produit

est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette à condition de suivre le mode d'emploi.

VIRCELL, S.L. dégage toute responsabilité en cas d'utilisation inappropriée des réactifs contenus dans le kit.

RECOMMANDATIONS ET PRÉCAUTIONS :

1. Ce produit est destiné uniquement au diagnostic *in vitro* et à un personnel qualifié.
2. L'utilisation de pointes de pipette à filtre est essentielle pour éviter toute contamination.
3. Les échantillons doivent être traités comme s'ils étaient infectieux en respectant les procédures de sécurité du laboratoire. Maintenir toutes les surfaces de travail propres et désinfectées à l'aide d'une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5% dans de l'eau déionisée ou distillée.
4. Pour la réalisation du test, il est essentiel de disposer de zones de travail indépendantes.
5. Tout le matériel non utilisé doit être éliminé conformément à la réglementation applicable.
6. El composant VIRCELL RNA CONTROL pourra contenir du matériel génétique ou des substances d'origine animale et/ou humaine. VIRCELL RNA CONTROL contient des acides nucléiques de virus de la grippe A H1N1. VIRCELL RNA CONTROL contient des acides nucléiques purifiés obtenus à partir de micro-organismes inactivés. Toutefois, il doit être considéré potentiellement infectieux et manipulé avec précaution. Aucune méthode actuelle ne peut garantir complètement l'absence d'agents infectieux. Tout le matériel doit être manipulé et éliminé comme s'il était potentiellement infectieux. Respecter la réglementation locale en matière de résidus.
7. Il est recommandé de préparer les dilutions inférieures à 1000 copies/μl extemporanément. La congélation de dilutions avec une concentration inférieure à 1000 copies/μl peut entraîner une dégradation partielle de l'ARN.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS :

1. Déchirer le sachet en aluminium contenant VIRCELL RNA CONTROL 1.
2. Centrifuger VIRCELL RNA CONTROL 1 pendant une minute à 1000 g.
3. Ajouter 50 μl de VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2, puis mélanger jusqu'à obtenir une reconstitution totale. La concentration sera de 12500-20000 copies/μl une fois reconstitué (voir Tableau 1).
4. Agiter au vortex pendant 30 secondes pour dissoudre et homogénéiser complètement.
5. Il est recommandé de préparer des aliquotes de VIRCELL RNA CONTROL. En cas de préparation de dilutions, utiliser VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2.

PROCÉDURE :

Une fois reconstitué, l'utiliser selon les indications fournies dans le kit de diagnostic supplémentaire. Une fois remis en suspension, utiliser VIRCELL CONTROL comme un échantillon clinique en l'ajoutant directement aux réactifs d'amplification.

CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE :

Chaque lot est soumis à un contrôle de qualité interne avant sa commercialisation. L'analyse du contrôle de qualité est réalisée



par une PCR en temps réel. Les résultats du contrôle de qualité final de chaque lot sont disponibles.

INTERPRETATION DES RESULTATS ET PROTOCOLES DE VALIDATION POUR LES UTILISATEURS :

Voir les indications fournies dans le kit de diagnostic supplémentaire.

LIMITES DU TEST :

1. Ce réactif est destiné à être utilisé avec des méthodes de diagnostic humain. Ce test n'a pas été vérifié avec d'autres méthodes.
2. Il est conseillé à l'utilisateur de ce kit de lire attentivement et de comprendre la notice. Le strict respect du protocole est nécessaire pour obtenir des résultats fiables.
3. L'utilisation de ce produit doit être réservée au personnel qualifié en biologie moléculaire.
4. Le test d'identité a été réalisé avec des amorces spécifiques, selon les séquences du microorganisme accessibles au public. Les modifications dans les séquences des amorces de la réaction peuvent produire des amplicons de différentes tailles ou inhiber l'amplification.
5. Ce contrôle ne peut pas se substituer aux contrôles internes de la trousse.
6. La quantification a été réalisée par notre propre qPCR en se comparant à un standard utilisé comme calibrateur. Les résultats peuvent varier selon les conditions d'amplification de l'utilisateur final.
7. AMPLIRUN® n'a pas été conçu pour être utilisé avec le kit de diagnostic d'un fabricant en particulier. Il est utilisé pour contrôler l'amplification d'une procédure opérationnelle en laboratoire de diagnostic.

PERFORMANCES :

• TEST D'IDENTITÉ

Analyse de RT-PCR du contrôle d'ARN : L'analyse de RT-PCR a été réalisée avec un couple d'amorces spécifiques sur de l'ARN purifié de virus de la grippe A H1N1. La réaction produit un fragment de la taille espérée.

• TEST DE QUANTIFICATION

Un test de corrélation a été effectué entre une culture du microorganisme et de l'ARN extrait de virus de la grippe A H1N1. Un écart inférieur à 0,5 log entre les deux essais a été observé.

• PRÉCISION INTRA-ASSAY

3 réplicats de 5 dilutions en série de 3 flacons différents du produit ont été réalisés par le même opérateur dans des conditions identiques de qPCR.







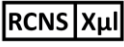



Un coefficient de variation inférieur à 5% a été observé.

• PRÉCISION INTER-ASSAY

3 réplicats différents de 5 différentes dilutions en série de 1 flacon de produit ont été amplifiés individuellement par 2 opérateurs différents sur 3 jours consécutifs.

Un coefficient de variation inférieur à 5% a été observé.

SYMBOLES UTILISÉS SUR LES ÉTIQUETTES :

| | |
|---|--|
|  | Usage <i>in vitro</i> |
|  | Utiliser avant le : (date de péremption) |
|  | Conserver à x- y° C |
|  | Numéro de lot |
|  | Code produit |
|  | Consulter la notice d'utilisation |
|  | Reconstituer dans x μ l |
|  | Température de transport |
|  | Température de conservation |
|  | Ne pas ouvrir avant utilisation |

BIBLIOGRAPHIE :

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. Pérez-Ruiz M, Navarro-Marí JM, Bautista-Marín MF, Pedrosa-Corral I, Sanbonmatsu-Gámez S, Camacho AG, Rojas J, Ruiz-Ortiz J, Rodríguez-Granger J, Carrillo JA. (2010). Development and preliminary evaluation of a rapid oligonucleotide assay for specific detection of new human influenza A H1N1 virus. *J Clin Microbiol.* 48(5):1801-1805.

Pour toute information complémentaire contacter :

customerservice@vircell.com

RÉVISION: 2019-01-15

L-MBC082-FR-01

