

AMPLIRUN® SARS-CoV-2 RNA CONTROL

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

MBC137: ARN purificado de coronavírus SARS-CoV-2 para ser utilizado como controlo de técnicas de diagnóstico *in vitro* com base na amplificação de ácidos nucleicos.

INTRODUÇÃO:

O SARS-CoV-2 (Coronavírus da Síndrome Respiratória Aguda Grave 2) foi identificado como a causa de um surto de doença respiratória detetado pela primeira vez em Wuhan, China, em Dezembro de 2019.

A COVID-19, a doença produzida pelo SARS-CoV-2, está associada a infeções do trato respiratório inferior. Os sintomas relatados para doentes com SARS-CoV-2 incluem doença respiratória leve a grave com febre, tosse, e dificuldade em respirar. A 11 de Março de 2020, a OMS declarou a COVID-19 uma pandemia.

CARACTERÍSTICAS:

O ácido nucleico liofilizado está incluído num invólucro de alumínio termicamente selado, que contém um saco de sílica gel. É necessário proceder à reconstituição antes da utilização (consulte "Preparação dos reagentes").

Preparação: Cultivado em células Vero E6 infetadas.

Preparação do extrato: Método comercial de extração de ARN genómico.

CONTEÚDO DO KIT:

1 VIRCELL SARS-CoV-2 RNA CONTROL: 1 frasco com ARN liofilizado de coronavírus SARS-CoV-2, (isolado clínico espanhol), (12500-20000 cópias/μl após reconstituição (consulte a Tabela 1)). A quantificação do ARN foi realizada por PCR em tempo real.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl de água purificada para biologia molecular, sem DNase e RNase.

Número de lote	
Concentração	cópias/μl

Tabela 1.

Materiais necessários mas não fornecidos:

Kit de diagnóstico adicional.

REQUISITOS DE CONSERVAÇÃO:

Não são necessárias condições de transporte especiais. Conservar o frasco liofilizado entre 2 e 8 °C dentro do invólucro de alumínio. Depois de aberto o saco, reconstituir imediatamente o frasco liofilizado e conservar entre -70 °C e -90 °C após a reconstituição (temperatura indicada na etiqueta).

ESTABILIDADE E UTILIZAÇÃO DOS REAGENTES:

Utilizar todos os reagentes em condições de assepsia, de modo a evitar contaminações microbianas.

Utilizar apenas a quantidade de reagente necessária para o teste.

Após a ressuspensão de controlo, a solução de ARN deve ser dividida em alíquotas para evitar múltiplos ciclos de congelação e descongelação. O produto está estável até à data de validade indicada na etiqueta, se as instruções de utilização forem seguidas.

A VIRCELL, S.L. não se responsabiliza pela utilização inadequada dos reagentes contidos no kit.

RECOMENDAÇÕES E PRECAUÇÕES:

1. Este produto destina-se apenas à utilização em diagnóstico *in vitro* e por profissionais qualificados.
2. As pontas esterilizadas com proteção contra aerossóis são essenciais para evitar a contaminação.
3. As amostras devem ser manuseadas como se se tratassem de amostras infecciosas utilizando procedimentos laboratoriais de segurança. Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho com uma solução acabada de preparar de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada.
4. Para realizar o teste é essencial ter áreas de trabalho separadas.
5. Elimine reagentes e resíduos não utilizados de acordo com os regulamentos aplicáveis.
6. O componente VIRCELL RNA CONTROL poderá incluir material genético ou substâncias de origem animal e/ou humana. VIRCELL RNA CONTROL contém ácidos nucleicos de coronavírus SARS-CoV-2 inativado. VIRCELL RNA CONTROL contém ácidos nucleicos purificados obtidos de microrganismos inativados, devendo, mesmo assim, ser considerado potencialmente infeccioso e manuseado com cuidado. Nenhum método atual pode oferecer uma garantia total de que estes ou outros agentes infecciosos não estão presentes. Todos os materiais devem ser utilizados e eliminados como potencialmente infecciosos. Cumpra os regulamentos legais relativamente à eliminação de resíduos clínicos.
7. As diluições inferiores a 1000 cópias/μl devem ser feitas imediatamente antes de serem utilizadas. O congelamento de diluições do produto com menos de 1000 cópias/μl não é recomendado, pois pode ocorrer a degradação parcial do ARN.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES:

1. Rasgue o invólucro de alumínio que contém o VIRCELL RNA CONTROL **1**.
2. Centrifugue o VIRCELL DNA CONTROL **1** durante 1 minuto a 1000 g.
3. Adicione 50 μl de VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2** e misture até estar completamente reconstituída. A concentração será de 12500-20000 cópias/μl após reconstituição (consulte a Tabela 1).
4. Agite no vórtex durante 30 segundos para dissolver e homogeneizar completamente.
5. É recomendável preparar alíquotas do VIRCELL RNA CONTROL. No caso de preparação de diluições, utilize o VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2** para este efeito.

EXECUÇÃO DO TESTE:

Após a reconstituição do ácido nucleico, utilize-o de acordo com as indicações do kit de diagnóstico adicional. Utilize o VIRCELL CONTROL ressuspensionado como uma amostra clínica



extraída adicionando-a diretamente aos reagentes de amplificação.

CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO:

Cada lote encontra-se sujeito a um teste de controlo de qualidade interno, antes do seu envio. A análise do controlo de qualidade é realizada por PCR em tempo real. Os resultados finais do controlo de qualidade para cada lote particular encontram-se disponíveis.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO PARA UTILIZADORES:

Consulte as indicações do kit de diagnóstico adicional.

LIMITAÇÕES DE MÉTODO:

1. Este reagente destina-se a ser utilizado com métodos de diagnóstico humano. Este teste não foi verificado com outros métodos.
2. O utilizador deste kit é aconselhado a ler cuidadosamente e a compreender o folheto incluso. É necessário cumprir rigorosamente o protocolo para obter resultados de teste fiáveis.
3. A utilização deste produto deve estar limitada apenas a pessoal com formação em técnicas moleculares.
4. O teste de identidade foi executado por alguns iniciadores específicos de acordo com as sequências publicamente disponíveis do micro-organismo. As alterações nas sequências dos iniciadores da reação podem produzir uma gama de tamanhos diferentes ou podem não apresentar amplificação do produto.
5. Este controlo não substitui os controlos do kit de diagnóstico interno.
6. A quantificação foi executada pela qPCR da nossa própria marca em relação a um padrão usado como calibrador. Os resultados podem variar com as condições de amplificação do utilizador final.
7. AMPLIRUN® não foi concebido para ser usado com qualquer kit de diagnóstico de um certo fabricante. É utilizado para controlar a amplificação de um procedimento funcional de um laboratório de diagnóstico.

PERFORMANCES:

• TESTE DE IDENTIDADE

Análise RT-PCR do controlo do ARN: O controlo de ARN foi analisado por RT-PCR utilizando a diluição 1:1000 com um par de oligonucleótidos específico. A reação de RT-PCR foi positiva. A amplificação do ARN foi realizada utilizando oligonucleótidos descritos na literatura (ver Certificado de Análise).

• TESTE DE QUANTIFICAÇÃO

A quantificação é baseada em Real-Time qPCR usando o método da curva padrão. Análise por PCR em tempo real de três réplicas de uma frasco. A concentração é determinada por interpolação do valor Ct obtido para cada réplica na curva padrão previamente obtida, realizada com o correspondente padrão de quantificação. A concentração estava no intervalo aceitável: 12500 - 20000 cópias/μl.

• PRECISÃO










Análise por PCR em tempo real, incluindo 2 réplicas de um frasco, dois ensaios por dia (com operadores diferentes e termocicladores diferentes) durante 20 dias. Foram analisados o CV% de precisão na mesma determinação, a precisão entre

determinações, a precisão entre dias e a precisão interlaboratorial.

Foi observado um coeficiente de variação inferior a 10% entre todos os ensaios.

•

SÍMBOLOS UTILIZADOS NAS ETIQUETAS:

	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Utilizar até (data de validade)
	Conservar entre X-Y °C
	Código do lote
	Número de catálogo
	Consultar as instruções de utilização
	Reconstituir em x μl
	Temperatura de envio
	Temperatura de conservação
	Não abrir até usar

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. Zhu N et al.(2020) A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* Jan 24.

Para mais esclarecimentos, contactar:

customerservice@vircell.com

EDIÇÃO 2022-05-20
L-MBC137-PT-01

