

AMPLIRUN® SARS-CoV-2 RNA CONTROL

Producto para diagnóstico *in vitro*

MBC137: ARN purificado de coronavirus SARS-CoV-2 para ser usado como control en técnicas de diagnóstico *in vitro* basadas en amplificación de ácidos nucleicos.

INTRODUCCIÓN:

El SARS-CoV-2 (Coronavirus 2 del Síndrome Respiratorio Agudo Severo) fue identificado como la causa de un brote de enfermedad respiratoria, detectado por primera vez en Wuhan, China en diciembre de 2019. COVID-19, la enfermedad producida por este SARS-CoV-2, está asociada con infecciones del tracto respiratorio inferior. Los síntomas informados para pacientes con SARS-CoV-2 incluyen enfermedad respiratoria leve a grave con fiebre, tos y dificultad para respirar. La OMS, el 11 de marzo de 2020, declaró pandémica la COVID-19.

CARACTERÍSTICAS:

El ácido nucleico liofilizado se encuentra dentro de un sobre de aluminio termosellado que contiene una bolsa de silica gel en su interior. Es necesario reconstituirlo antes de usarlo (Ver «Preparación de los reactivos»).

Preparación: Cultivo en células Vero E6 infectadas

Preparación de extracto: Extracción de ARN genómico por método comercial.

CONTENIDO DEL KIT:

1 VIRCELL SARS-CoV-2 RNA CONTROL: 1 vial con ARN liofilizado de coronavirus SARS-CoV-2, (aislado clínico español), (12500-20000 copias/μl una vez reconstituido (ver Tabla 1)). La cuantificación de ARN ha sido realizada mediante PCR en tiempo real.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl de agua grado biología molecular, libre de DNasa y RNasa.

Número de lote	
Concentración	copias/μl

Tabla 1.

Material necesario no contenido en el kit:

Kit de diagnóstico complementario.

CONSERVACIÓN:

No requiere condiciones especiales de transporte. Conservar el vial en estado liofilizado dentro del sobre de aluminio a 2-8°C. Una vez abierto el sobre, reconstituir el vial liofilizado inmediatamente y almacenar entre -70°C y -90°C tras su reconstitución (temperatura indicada en la etiqueta).

ESTABILIDAD Y USO DE LOS REACTIVOS:

Usar todos los reactivos en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas. Utilizar solo la cantidad de reactivo necesaria para la realización de la prueba.

Tras la resuspensión del control, la solución de ARN debería ser alícuoteada para evitar congelaciones y descongelaciones repetidas. El producto es estable hasta la fecha de caducidad

indicada en la etiqueta siempre que se sigan las instrucciones de uso.

VIRCELL, S.L. no se responsabiliza de la inadecuada utilización de los reactivos contenidos en el kit.

RECOMENDACIONES Y PRECAUCIONES:

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. El uso de puntas de pipeta con filtro es esencial para evitar contaminaciones.
3. Las muestras deben ser tratadas como si fuesen infecciosas utilizando procedimientos de seguridad del laboratorio. Mantener limpias y desinfectadas todas las superficies de trabajo con una solución recién preparada de hipoclorito sódico 0,5% en agua desionizada o destilada.
4. Para la realización del test es esencial tener áreas de trabajo independientes.
5. Todo el material no usado debe ser desechado de acuerdo a la regulación aplicable.
6. El componente VIRCELL RNA CONTROL podrá contener material genético o sustancias de origen animal y/o humano. VIRCELL RNA CONTROL contiene ácidos nucleicos de coronavirus SARS-CoV-2. VIRCELL RNA CONTROL contiene ácidos nucleicos purificados obtenidos de microorganismos inactivados; no obstante, debería ser considerado potencialmente infeccioso y manipulado con cuidado. Ningún método actual puede asegurar por completo la ausencia de éstos u otros agentes infecciosos. Todo el material debe ser manipulado y desechado como potencialmente infeccioso. Observe la regulación local en materia de residuos clínicos.
7. Diluciones por debajo de 1000 copias/μl deberían prepararse extemporáneamente. La congelación de diluciones con una concentración menor a 1000 copias/μl puede producir una degradación parcial del ARN.

PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

1. Rasgar el sobre de aluminio que contiene VIRCELL RNA CONTROL 1.
2. Centrifugar VIRCELL RNA CONTROL 1 durante un minuto a 1000 g.
3. Añadir 50 μl de VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2 y mezclar hasta una total reconstitución. La concentración será de 12500-20000 copias/μl una vez reconstituido (ver Tabla 1).
4. Agitar con vortex durante 30 segundos para disolver y homogeneizar completamente.
5. Se recomienda preparar alícuotas de VIRCELL RNA CONTROL. En el caso de que se preparen diluciones utilizar para este propósito VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2.

PROCEDIMIENTO DEL TEST:

Una vez reconstituido el ácido nucleico usar siguiendo indicaciones del kit complementario de diagnóstico. Tratar VIRCELL CONTROL resuspendido como una muestra clínica extraída añadiéndola directamente a los reactivos de amplificación.

CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación. El control de calidad se realiza mediante PCR en



tiempo real. Los resultados finales del control de calidad de cada lote están disponibles.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO:

Ver indicaciones del kit de diagnóstico complementario.

LIMITACIONES DEL MÉTODO:

1. Este reactivo está diseñado para ser utilizado con métodos de diagnóstico humano. No ha sido verificado con otro tipo de método.
2. El uso de este kit requiere la cuidadosa lectura y comprensión del folleto de instrucciones. Es necesario seguir estrictamente el protocolo para obtener resultados fiables.
3. Este producto está indicado para ser usado solo por personal formado en técnicas de biología molecular.
4. El test de identidad ha sido realizado con unos cebadores específicos de acuerdo con las secuencias disponibles públicamente del microorganismo. Cambios en las secuencias de los cebadores de la reacción podrán generar una banda de diferente tamaño o no producir amplificación.
5. El uso de este control no sustituye al de los controles del kit de diagnóstico empleado.
6. La cuantificación se ha llevado a cabo mediante una qPCR propia frente a un estándar usado como calibrador. Los resultados pueden variar con las condiciones de la reacción del usuario final.
7. AMPLIRUN® no ha sido diseñado para ser utilizado con un kit de diagnóstico particular proveniente de un determinado fabricante. Se utiliza para controlar la amplificación de un procedimiento funcional de laboratorio de diagnóstico.

PRESTACIONES:

• TEST DE IDENTIDAD

Análisis por RT-PCR del ARN control: El control de ARN se analizó por RT-PCR utilizando la dilución 1:1000 con un par de oligonucleótidos específicos. La reacción de RT-PCR fue positiva. La amplificación del ARN se realizó utilizando los oligonucleótidos descritos en la bibliografía (véase el certificado de análisis).


• TEST DE CUANTIFICACIÓN






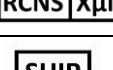



La cuantificación se basa en la qPCR en tiempo real utilizando el método de la curva estándar. Análisis de PCR en tiempo real de tres réplicas de un vial. La concentración se determina interpolando el valor Ct obtenido para cada réplica en la curva estándar previamente obtenida y realizada con el estándar de cuantificación correspondiente. La concentración estaba en el rango aceptable: 12500 - 20000 copias/μl.

• PRECISIÓN

Análisis de la PCR en tiempo real, incluyendo 2 réplicas de un vial, dos ejecuciones por día (con diferentes operadores y diferentes termocicladores) durante 20 días. Se analizó el CV% de la precisión dentro de una misma serie, la precisión entre series, la precisión entre días y la precisión entre laboratorios. Se observó un coeficiente de varianza inferior al 10% entre todos los ensayos.

SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
---	--

	Fecha de caducidad
	Conservar entre x-y°C
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	Reconstituir en x μl
	Temperatura de transporte
	Temperatura de almacenamiento
	No abrir hasta su uso

BIBLIOGRAFÍA:

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 cualquier aclaración o consulta, contactar con:
customerservice@vircell.com

REVISADO: 2022-05-20
 L-MBC137-ES-01

