

AMPLIRUN® SARS-CoV-2 RNA CONTROL

Usage *in vitro* uniquement

MBC137 : ARN purifié de coronavirus SARS-CoV-2 pour une utilisation en tant que contrôle lors des techniques de diagnostic *in vitro* basées sur l'amplification des acides nucléiques.

INTRODUCTION :

Le SARS-CoV-2 (coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère) a été identifié comme la cause du foyer de maladie respiratoire détecté, en premier lieu, à Wuhan, en Chine, en décembre 2019. La maladie provoquée par le SARS-CoV-2 est appelée Covid-19 ou maladie à coronavirus 2019. Elle est associée à des infections des voies respiratoires inférieures. Les symptômes répertoriés chez les patients atteints par le SARS-CoV-2 sont une infection respiratoire modérée à grave, de la fièvre, de la toux et des difficultés respiratoires. Le 11 mars 2020, l'OMS a déclaré que le COVID-19 était une pandémie.

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 Vero E6 infectées.

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

COMPOSITION DU COFFRET :

1 VIRCELL SARS-CoV-2 RNA CONTROL : 1 ampoule avec de l'ARN lyophilisé de coronavirus SARS-CoV-2, (isolat clinique espagnol), (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, exempt 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'aliqoter 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 coronavirus SARS-CoV-2. 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.

INTERPRÉTATION DES RÉSULTATS 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 de l'ARN : Le contrôle de l'ARN a été analysé par RT-PCR en utilisant la dilution 1:1000 avec une paire d'oligonucléotides spécifiques. La réaction de RT-PCR était positive. L'amplification de l'ARN a été réalisée en utilisant des oligonucléotides décrits dans la littérature (voir le certificat d'analyse).

• TEST DE QUANTIFICATION







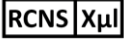



La quantification est basée sur la qPCR en temps réel utilisant la méthode de la courbe standard. Analyse par PCR en temps réel de trois réplicats d'un ampoule. La concentration est déterminée en interpolant la valeur Ct obtenue pour chaque réplicat sur la courbe standard obtenue précédemment et réalisée avec l'étalon de quantification correspondant. La concentration était dans la gamme acceptable : 12500 - 20000 copies/ μ l.

• PRÉCISION

Analyse PCR en temps réel comprenant 2 répliques d'un flacon, deux passages par jour (avec différents opérateurs et différents thermocycleurs) pendant 20 jours. Les CV% de la précision à l'intérieur d'une même série, une précision entre les séries, une précision entre les jours et une précision entre les laboratoires ont été déterminées.

Un coefficient de variation inférieur à 10 % a été observé entre tous les essais.

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

Pour toute information complémentaire contacter :

customerservice@vircell.com

RÉVISION: 2022-05-20

L-MBC137-FR-01

