

AMPLIRUN® TOTAL RESPIRATORY VIRAL PANEL CONTROL (SWAB)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

MBTC020: un pannello di dieci virus respiratori purificati in pool, inattivati per renderli non infettivi e formulati in terreno di trasporto virale. La tabella 1 elenca il tipo di virus e la linea cellulare usati nella coltura di ogni virus respiratorio incluso in questo controllo. Questo kit è destinato a convalidare e controllare l'elaborazione, l'amplificazione e il rilevamento dei campioni nei dosaggi degli acidi nucleici basati sull'identificazione molecolare dei virus respiratori, utilizzando il prodotto come controllo esterno dell'analisi.

INTRODUCTION:

Le infezioni del tratto respiratorio sono una delle cause principali di ricovero ospedaliero. Negli umani, gran parte di queste infezioni può essere dovuta a un gruppo eterogeneo di virus che produce presentazioni cliniche simili. I focolai recenti associati ai virus respiratori evidenziano l'importanza di una diagnosi di laboratorio rapida e accurata.

CARATTERISTICHE:

Il contenuto è liofilizzato. È necessario ricostituirlo prima dell'uso (vedere "Preparazione dei reagenti"). I controlli totali sono progettati per uso singolo, il materiale in eccesso deve essere eliminato. La rilevazione dell'acido nucleico richiede una fase di estrazione che rilascia DNA/RNA per l'amplificazione e la rilevazione.

Descrizione del prodotto:

Le particelle virali sono state purificate da surnatanti di cellule infettate tramite centrifugazione differenziale (consultare la Tabella 1 per la linea cellulare usata). I virus sono stati inattivati per renderli non infettivi e sono stati diluiti in terreno di trasporto virale che conteneva cellule ottenute da linee cellulari epiteliali umane.

VIRUS	LINEA CELLULARE
ADENOVIRUS 4	HEp-2
CORONAVIRUS	MRC-5
INFLUENZA A H3N2	MDCK
INFLUENZA B	MDCK
NUOVA INFLUENZA A H1N1	MDCK
PARAINFLUENZA 1	LLC-MK2
PARAINFLUENZA 2	LLC-MK2
PARAINFLUENZA 3	LLC-MK2
VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE (sottotipo A)	HEp-2
VIRUS RESPIRATORIO SINCIZIALE (sottotipo B)	HEp-2

Tabella 1.

COMPOSIZIONE DEL KIT:

1 VIRCELL TOTAL RESPIRATORY VIRAL PANEL CONTROL (SWAB): 10 fiale con un pool di virus respiratori liofilizzati che simulano un campione respiratorio clinico. La concentrazione di ogni virus è compresa tra 4.000 e 10.000 copie/fiala. La concentrazione del lotto è fornita nel Certificato di analisi.

La convalida della quantificazione è stata eseguita tramite PCR in tempo reale.

Materiali specifici necessari ma non forniti:

Acqua di grado molecolare.

Kit aggiuntivo di estrazione e rilevamento.

CONSERVAZIONE:

Non sono richieste condizioni di trasporto speciali. Conservare la fiala liofilizzata a 2-8°C. Dopo la ricostituzione, la sospensione deve essere utilizzata il giorno stesso. Il prodotto inutilizzato deve essere eliminato.

STABILITÀ E UTILIZZO DEI REAGENTI:

Maneggiare i reagenti in condizioni aseptiche per evitare contaminazioni microbiologiche.

Utilizzare solo la quantità di reagente necessaria per il test.

Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se si seguono le istruzioni per l'uso.

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

RACCOMANDAZIONI E PRECAUZIONI:

- Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* e da parte di personale qualificato e professionale.
- I puntali sterili con filtro per aerosol sono essenziali per prevenire la contaminazione.
- I campioni devono essere manipolati come se fossero infettivi utilizzando procedure di laboratorio per la sicurezza. Pulire e disinfettare accuratamente tutti i piani di lavoro con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua deionizzata o distillata preparata al momento.
- Per eseguire il test è essenziale disporre di aree di lavoro separate.
- Smaltire i reagenti e i rifiuti non utilizzati in conformità alle normative vigenti.
- Il componente VIRCELL TOTAL CONTROL può comprendere materiale genetico o sostanze di origine animale e/o umana. VIRCELL TOTAL CONTROL contiene microrganismi inattivati, tuttavia, deve essere considerato potenzialmente infettivo e maneggiato con cura. L'inattivazione è stata verificata dall'assenza di crescita nelle stesse condizioni di coltura utilizzate per ciascun microrganismo. Nessun metodo attuale può dare la completa sicurezza che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Tutti i materiali devono essere maneggiati ed eliminati come potenzialmente infetti. Osservare la regolamentazione locale per l'eliminazione dei rifiuti.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI:

- Aggiungere 200 µl di acqua di grado per biologia molecolare alla fiala 1 e miscelare fino alla ricostituzione completa. Dopo la ricostituzione, la concentrazione sarà di circa 35.000 copie/ml per ogni virus nel pannello.
- Agitare con il vortex per 30 secondi per sciogliere e omogeneizzare completamente.
- Seguire le istruzioni del kit diagnostico trattando TOTAL CONTROL allo stesso modo di un campione clinico, utilizzando la quantità raccomandata per l'estrazione e la rilevazione.

CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO:

Ogni lotto viene sottoposto a test interni di controllo qualità prima del rilascio. L'analisi del controllo qualità viene eseguita utilizzando un kit per la preparazione del campione e un kit PCR in tempo reale per la quantificazione. I risultati finali del controllo di qualità sono disponibili per ogni lotto.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E PROTOCOLLO DI CONVALIDA PER GLI UTENTI:

Fare riferimento alle indicazioni del kit aggiuntivo di estrazione e rilevazione.

LIMITI DEL METODO:

- Questo reagente è destinato ad essere utilizzato con metodi di diagnostica umana. Questo test non è stato verificato con altri metodi.
- Prima di utilizzare il kit leggere attentamente la scheda tecnica. Per ottenere risultati attendibili è importante attenersi rigorosamente al protocollo.
- Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale esperto di tecniche molecolari.
- Questo controllo esterno non sostituisce i controlli del kit diagnostico interno.
- Non è possibile trarre conclusioni quantitative da un singolo campione a concentrazione nota. Una precisa quantificazione del campione clinico può essere ottenuta solo con il metodo della curva standard utilizzando un calibratore.
- AMPLIRUN® TOTAL non è stato progettato per essere utilizzato con alcun kit diagnostico specifico di un determinato produttore. Viene



utilizzato per convalidare e controllare l'elaborazione dei campioni, l'analisi e la rilevazione di una procedura funzionale del laboratorio diagnostico.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE:

• TEST D'IDENTITÀ

L'analisi PCR è stata eseguita dopo l'estrazione con una coppia oligonucleotidica specifica per ogni virus presente nel pannello. Le reazioni hanno prodotto frammenti delle dimensioni previste.

• TEST DI QUANTIFICAZIONE

La quantificazione si basa sulla qPCR Real-Time utilizzando il metodo della curva standard. Questo metodo comporta l'uso di più replicati di diluizioni seriali diverse del prodotto e dello standard di quantificazione.






• PRECISIONE INTRA-DOSAGGIO

Sono state estratte 3 fiale di prodotto in condizioni di estrazione identiche e sono state amplificate 3 repliche da parte dello stesso operatore in condizioni identiche di qPCR. È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 15% tra tutti i test.

• PRECISIONE INTER-DOSAGGIO

È stata estratta 1 fiala di prodotto e sono state amplificate 3 repliche da parte di 2 operatori diversi in 3 giorni consecutivi. È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 15% tra tutti i test.

SIMBOLI USATI SULLE ETICHETTE:

	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Usare fino a (data di scadenza)
	Conservare a x-°C
	Codice del lotto
	Codice del prodotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Ricostituire in x µl
	Temperatura di spedizione
	Temperatura di stoccaggio

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. Chen Y1, Cui D, Zheng S, Yang S, Tong J, Yang D, Fan J, Zhang J, Lou B, Li X, Zhuge X, Ye B, Chen B, Mao W, Tan Y, Xu G, Chen Z, Chen N, Li L. (2009). Simultaneous detection of influenza A, influenza B, and respiratory syncytial viruses and subtyping of influenza A H3N2 virus and H1N1 virus by multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol.* 49(4):1653-6.
4. de-Paris F, Beck C, Machado AB, Paiva RM, da Silva Menezes D, de Souza Nunes L, Kuchenbecker R, Barth AL (2012). Optimization of one-step duplex real-time RT-PCR for detection of influenza and respiratory syncytial virus in nasopharyngeal aspirates. *J Virol Methods.* 186(1-2):189-92
5. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE. (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. *Biotechniques.* 1999 26(1):112-122, 124-125.
6. Gaunt ER, Hardie A, Claas EC, Simmonds P, Templeton KE (2010). Epidemiology and clinical presentations of the four human coronaviruses 229E, HKU1, NL63, and OC43 detected over 3 years using a novel multiplex real-time PCR method. *J Clin Microbiol.* Aug;48(8):2940-7.
7. Gunson RN1, Collins TC, Carman WF (2005). Real-time RT-PCR detection of 12 respiratory viral infections in four triplex reactions. *J Clin Virol.* 33(4):341-4.
8. Hartmann NM1, Dartscht M, Szewzyk R, Selinka HC (2013). Monitoring of adenovirus serotypes in environmental samples by combined PCR and melting point analyses. *Virol J.* Jun 10;10:190.
9. Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics.* 6:62.
10. Osioy C (1998). Direct detection of respiratory syncytial virus, parainfluenza virus, and adenovirus in clinical respiratory specimens by a multiplex reverse transcription-PCR assay. *J Clin Microbiol.* 36(11):3149-54.
11. Selvaraju SB1, Selvarangan R (2010). Evaluation of three influenza A and B real-time reverse transcription-PCR assays and a new 2009 H1N1 assay for detection of influenza viruses. *J Clin Microbiol.* 48(11):3870-5.
12. Syrmis MW, Whitley DM, Thomas M, Mackay IM, Williamson J, Siebert DJ, Nissen MD, Sloots TP (2004). A sensitive, specific, and cost-effective multiplex reverse transcriptase-PCR assay for the detection of seven common respiratory viruses in respiratory samples. *J Mol Diagn.* 6(2):125-31

Per ulteriori informazioni contattare:
customerservice@vircell.com

EDIZIONE: 2019-01-15
L-MBTC020-IT-01

