

## AMPLIRUN® TOTAL FLUA/FLUB/RSV CONTROL (SWAB)

### Producto para diagnóstico *in vitro*

**MBTC028:** Un panel con la mezcla de 3 virus respiratorios inactivados y formulados en medio de transporte viral. La Tabla 1 recoge la información referente al tipo de virus, cepa y línea celular a partir de la cual se obtuvieron cada uno de los virus respiratorios que componen el control. Dicho control se ha desarrollado con el propósito de validar y controlar el procesamiento de muestra, amplificación y detección de ácidos nucleicos en ensayos basados en la identificación molecular de virus respiratorios, utilizando el producto como un control externo.

#### INTRODUCCIÓN:

Las infecciones del tracto respiratorio son una de las principales causas de hospitalización. En el hombre estas infecciones están provocadas, en un gran porcentaje de los casos, por un grupo heterogéneo de virus que producen manifestaciones clínicas semejantes. Brotes recientes asociados a algunos de estos virus respiratorios ponen de manifiesto la importancia de un diagnóstico clínico rápido y preciso.

#### CARACTERÍSTICAS:

El contenido está liofilizado. Es necesario reconstituirlo antes de usarlo (Ver "Preparación de los reactivos"). Los Controles Totales están diseñados para un solo uso, el material no utilizado debe ser desechado. La detección de ácidos nucleicos requiere de un paso de extracción que permita la liberación del ADN/ARN para la amplificación y detección.

#### Descripción del producto:

Las partículas virales se purificaron de líneas celulares infectadas mediante centrifugación diferencial (ver Tabla 1 línea celular empleada). Todos los virus fueron inactivados y diluidos en medio de transporte viral, al cual se añadieron células eucariotas obtenidas a partir de líneas celulares epiteliales humanas.

VIRUS	CEPA	LINEA CELULAR
INFLUENZA A H3N2	A/Perth/16/2009 (H3N2)	MDCK
INFLUENZA B	B/Brisbane/60/2008	MDCK
RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (subtype B)	9320	HEp-2

Tabla 1.

#### CONTENIDO DEL KIT:

1 VIRCELL TOTAL FLU A/FLU B/RSV CONTROL (SWAB): 10 viales con una mezcla de virus respiratorios liofilizados simulando una muestra clínica respiratoria. Cada uno de los virus se encuentra en un rango de concentración de 10000-25000 copias/vial. La concentración del lote se indica en el Certificado de Análisis.

La validación de la cuantificación fue realizada mediante PCR en tiempo real.

#### Material necesario no contenido en el kit:

Agua de grado molecular.

Kit adicional de extracción y detección.

#### CONSERVACIÓN:

No requiere condiciones especiales de transporte. Conservar en estado liofilizado a 2-8°C. Tras reconstitución, la suspensión debe ser utilizada en el mismo día. El producto no utilizado debe ser desechado.

#### 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.

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 TOTAL CONTROL podrá contener material genético o sustancias de origen animal y/o humano. VIRCELL TOTAL CONTROL contiene 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.

#### PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS:

1. Añadir 500 µl de agua de grado molecular a cada vial 1 y mezclar hasta una total reconstitución. La concentración de cada virus será aproximadamente de 35000 copias/ml tras la reconstitución.
2. Agitar con vortex durante 30 segundos para disolver y homogeneizar completamente.
3. Seguir las instrucciones del kit de diagnóstico tratando el TOTAL CONTROL del mismo modo que una muestra clínica utilizando la cantidad recomendada para la extracción y detección.

#### CONTROL DE CALIDAD INTERNO:

Cada lote se somete a control de calidad interno antes de su liberación. El control de calidad se realiza utilizando un kit de preparación de muestras y un ensayo de PCR en tiempo real para la cuantificación. Los resultados finales del control de calidad de cada lote están disponibles.

#### INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y PROTOCOLO DE VALIDACIÓN PARA USUARIOS:

Seguir indicaciones de kit adicional de extracción y detección.

#### 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 uso de este control externo no sustituye al de los controles del kit de diagnóstico empleado.
5. Conclusiones sobre cuantificación no pueden ser obtenidas mediante un único punto de concentración conocida. Una cuantificación precisa de la muestra clínica requiere del método de la recta estándar utilizando un calibrador.
6. AMPLIRUN® TOTAL no ha sido diseñado para ser utilizado con un kit de diagnóstico particular proveniente de un determinado fabricante. Se utiliza para validar y controlar el procesamiento de muestras, el análisis y la detección de un procedimiento funcional de laboratorio de diagnóstico.



**PRESTACIONES:****• TEST DE IDENTIDAD**

Un análisis de PCR fue realizado después de la extracción con una pareja de cebadores específicos para cada uno de los virus presentes en el panel. Las reacciones produjeron fragmentos de los tamaños esperados.

**• TEST DE CUANTIFICACIÓN**

La cuantificación se realiza mediante qPCR a tiempo real empleando una curva de calibrado. Este método implica el uso de múltiples réplicas de diferentes diluciones seriadas tanto del producto como del estándar de cuantificación.







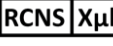


**• PRECISIÓN INTRAENSAYO**

3 viales del producto fueron extraídos bajo idénticas condiciones y 3 réplicas de cada extracción fueron amplificadas por el mismo operador bajo las mismas condiciones de qPCR. El coeficiente de variación fue menor del 15% entre todos los ensayos.

**• PRECISIÓN INTERENSAYO**

1 vial del producto fue extraído y 3 réplicas de este vial fueron amplificadas por 2 operadores diferentes en 3 días consecutivos. El coeficiente de variación fue menor del 15% entre todos los ensayos.

**SÍMBOLOS UTILIZADOS EN EL PRODUCTO:**

	Producto para el diagnóstico <i>in vitro</i>
	Fecha de caducidad
	Conservar entre x- $y^{\circ}\text{C}$
	Lote
	Referencia (catálogo)
	Consultar instrucciones de uso
	Reconstituir en x µl
	Temperatura de transporte
	Temperatura de almacenamiento

**BIBLIOGRAFÍA:**

- Bustin SA. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol*, 25(2):169-193.
- Bustin SA. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *J Mol Endocrinol*, 29(1):23-39.
- Chen, Y., D. Cui, S. Zheng, S. Yang, J. Tong, D. Yang, J. Fan, J. Zhang, B. Lou, X. Li, X. Zhuge, B. Ye, B. Chen, W. Mao, Y. Tan, G. Xu, Z. Chen, N. Chen, L. Li. (2011). Simultaneous detection of influenza A, influenza B, and respiratory syncytial viruses and subtyping of influenza A H3N2 virus and H1N1 (2009) virus by multiplex real-time PCR. *J Clin Microbiol*, 49(4):1653-1656.
- Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE. (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. *Biotechniques*, 26(1):112-122, 124-125.
- Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics*, 6:62.
- Templeton, K. E., Scheltinga, S. A., Beersma, M. F. C., Kroes, A. C. M., & Claas, E. C. J. (2004). Rapid and Sensitive Method Using Multiplex Real-Time PCR for Diagnosis of Infections by Influenza A and Influenza B Viruses, Respiratory Syncytial Virus, and Parainfluenza Viruses 1, 2, 3, and 4. *J Clin Microbiol*, 42(4): 1564–1569.
- Ye, F., Chen, X. J., Guan, W. D., Pan, S. H., Yang, Z. F., & Chen, R. C. (2018). Analysis of influenza B virus lineages and the HA1 domain of its hemagglutinin gene in Guangzhou, southern China, during 2016. *Virology*, 15(1):175. doi:10.1186/s12985-018-1085-5

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

**REVISADO: 2019-04-12**  
**L-MBTC028-ES-01**

