

AMPLIRUN® TOTAL SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV CONTROL (SWAB)

REF

MBTC031



Producto para diagnóstico *in vitro*

FINALIDAD PREVISTA

Un panel de cuatro virus respiratorios purificados agrupados, inactivados para hacerlos no infecciosos y formulados en un medio de transporte viral. Esta referencia está destinada a validar y controlar el procesamiento de muestras, la amplificación y la detección en ensayos de ácidos nucleicos basados en la identificación molecular de virus respiratorios, utilizando el producto como control de ejecución externo.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones del tracto respiratorio son una de las principales causas de hospitalización. En el ser humano, estas infecciones están causadas en una proporción mayoritaria por un grupo heterogéneo de virus con síntomas clínicos similares, entre los que se encuentran la gripe (Flu), la parainfluenza, el rinovirus, el adenovirus, el virus sincitial respiratorio (VSR), el metapneumovirus humano (hMPV) y el coronavirus. Tradicionalmente, el virus de la gripe y el VRS han producido brotes anuales durante los meses de otoño e invierno, ambos altamente estacionales y que afectan a millones de individuos cada año. Además, el SARS-CoV-2 (SC2), coronavirus del síndrome respiratorio agudo severo 2, fue identificado como la causa de un brote de enfermedad respiratoria detectado por primera vez en Wuhan (China) en diciembre de 2019. La OMS, el 11 de marzo de 2020 declaró la enfermedad producida por el SARS-CoV-2, una pandemia.

CARACTERÍSTICAS

VIRCELL TOTAL CONTROL están liofilizados. Es necesario reconstituirlos antes de usarlos (Ver «Preparación del producto»).

VIRCELL TOTAL CONTROL 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.

MATERIALES SUMINISTRADOS

[1] VIRCELL TOTAL SARS-CoV-2/ FluA/FluB/RSV CONTROL (SWAB): 10 viales con un pool de virus respiratorios liofilizados que simulan una muestra clínica respiratoria. Cada virus tiene una concentración que oscila entre 10000-25000 copias/vial. La concentración del lote se indica en el certificado de análisis.

La validación de la cuantificación se realizó mediante PCR en tiempo real.

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

VIRUS	CEPA	LÍNEA CELULAR
SARS-COV-2	Aislado clínico	VERO E6
INFLUENZA A H3N2	A/Perth/16/2009 (H3N2)	MDCK
INFLUENZA B	B/Brisbane/60/2008	MDCK
VIRUS SINCITAL RESPIRATORIO	9320	HEP-2

Tabla 1

Materiales específicos necesarios no suministrados:

-Agua de grado molecular.

-Kit adicional de extracción y detección.

CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y MANIPULACIÓN

Conservar entre 2 y 8°C. No utilizar los componentes del kit después de la fecha de caducidad. La caducidad indicada será válida siempre que los componentes se mantengan cerrados y conservados entre 2 y 8°C.

ESTABILIDAD DURANTE EL USO

VIRCELL TOTAL CONTROL reconstituido: utilizarlo en el mismo día. El producto no utilizado debe ser desechado.

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

ADVERTENCIAS Y PRECAUCIONES

1. Este producto es solo para diagnóstico *in vitro* y está destinado al uso por personal sanitario cualificado.
2. El producto está indicado únicamente para personal con formación para la técnica.
3. 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.
4. Use equipamiento de protección individual cuando se manipulen las muestras y los reactivos. Lávese las manos adecuadamente tras la manipulación de las muestras y los reactivos. Todos los procedimientos deben llevarse a cabo de acuerdo con las normas de seguridad aprobadas.
5. El uso de puntas de pipeta con filtro es esencial para evitar contaminaciones.
6. No pipetear con la boca.
7. No utilizar en caso de deterioro del envase.
8. No use el kit tras su fecha de caducidad.
9. No dejar los reactivos a temperatura diferente a la recomendada más tiempo del absolutamente necesario.
10. Mantenga los recipientes para muestras y reactivos cerrados mientras no se estén utilizando.
11. Usar en condiciones asépticas para evitar contaminaciones microbianas.
12. Todo el material no usado debe ser desechado de acuerdo a la regulación aplicable.
13. Los componentes de este equipo contienen microorganismos inactivados y podrán contener material genético o sustancias de origen animal y/o humano. A pesar de no ser infeccioso, este material debería ser manipulado como potencialmente infeccioso. Todos los materiales deberían manipularse y eliminarse como potencialmente infecciosos. Observe la regulación local en materia de residuos.
14. El kit contiene elementos de vidrio que en caso de rotura podrían provocar lesiones físicas. Manipular con precaución.
15. Cualquier incidente grave relacionado con el producto deberá comunicarse al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en el que estén establecidos el usuario y/o el paciente.

PREPARACIÓN DEL PRODUCTO

1. Añadir 500 µl de agua de grado molecular a cada vial [1] y mezclar hasta una total reconstitución. La concentración será de aproximadamente 35000 copias/ml una vez reconstituido.
2. Agitar con vórtex durante 30 segundos para disolver y homogeneizar completamente.

PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO

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. Los resultados de control final de cada lote están disponibles.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN POR EL USUARIO

Seguir indicaciones de kit adicional de extracción y detección.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Seguir indicaciones de kit adicional de extracción y detección.

LIMITACIONES DE USO

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 control externo no sustituye al de los controles del kit de diagnóstico empleado.
3. 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 como MBC137 AMPLIRUN® SARS-CoV-2 RNA CONTROL, MBC029 AMPLIRUN® INFLUENZA A

H3 RNA CONTROL, MBC030 AMPLIRUN® INFLUENZA B RNA CONTROL o MBC083 AMPLIRUN® RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (B) RNA CONTROL.
4. 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.

CARACTERÍSTICAS DEL FUNCIONAMIENTO

PRECISIÓN

El análisis de PCR a tiempo real incluye 2 réplicas de cada vial, que se ensayaron 2 veces por día durante 20 días (con distintos operadores y distintos termocicladores). Se analizaron los % CV de la precisión intraensayo, precisión interensayo, precisión entre días y precisión entre laboratorios.
Se obtuvieron los siguientes resultados:

SARS-CoV-2

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Vircell Total Control	1,6	1,5	0,5	2,3

CV: Coeficiente de variación

Influenza A H3N2

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Vircell Total Control	1,8	0,5	0,8	2,0

CV: Coeficiente de variación

Influenza B

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Vircell Total Control	2,1	1,6	1,0	2,8

CV: Coeficiente de variación

Respiratory syncytial virus

Muestra	Precisión intraensayo %CV	Precisión interensayo %CV	Precisión entre días %CV	Precisión entre laboratorios %CV
Vircell Total Control	1,8	1,2	1,5	2,6

CV: Coeficiente de variación

TEST DE IDENTIDAD

SARS-CoV-2

Se realizó un análisis de PCR después de la extracción con una pareja de cebadores específicos para SARS-CoV-2 previamente descritos en la literatura. La reacción produjo amplificación específica.

Influenza A H3N2

Se realizó un análisis de PCR después de la extracción con una pareja de cebadores específicos para Influenza A H3N2 previamente descritos en la literatura. La reacción produjo amplificación específica.

Influenza B

Se realizó un análisis de PCR después de la extracción con una pareja de cebadores específicos para Influenza B previamente descritos en la literatura. La reacción produjo amplificación específica.

Respiratory syncytial virus

Se realizó un análisis de PCR después de la extracción con una pareja de cebadores específicos para el virus sincitial respiratorio previamente descritos en la literatura. La reacción produjo amplificación específica.

TEST DE CUANTIFICACIÓN

La cuantificación se realiza mediante qPCR a tiempo real empleando una curva de calibrado. Se analizan 3 réplicas de cada vial. La concentración (Log copias/vial) se determina interpolando el valor Ct obtenido para cada réplica en la curva de calibrado obtenida previamente, realizada con el correspondiente estándar de cuantificación.

Se obtuvieron los siguientes resultados:

SARS-CoV-2

% Coeficiente de variación: 0,5

Influenza A H3N2

% Coeficiente de variación: 0,8

Influenza B

% Coeficiente de variación: 1,7

Respiratory syncytial virus

% Coeficiente de variación: 1,3

SÍMBOLOS UTILIZADOS EN LA ETIQUETA



Producto para el diagnóstico *in vitro*



Usar antes de (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



Fabricante

BIBLIOGRAFÍA

1. Corman, V. M. et al. 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill, 25(3), 2000045.
2. Chen, Y. et al. 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.
3. Symis, M. W. et al. 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.
4. Wang, W. et al. 2020. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. JAMA, 323(18), 1843-44.
5. Ye, F. et al. 2018. Analysis of influenza B virus lineages and the HA1 domain of its hemagglutinin gene in Guangzhou, southern China, during 2016. Virol J, 15(1), 175.
6. Zhu, N. et al. 2020. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med, 382(8), 727-733.

Nº de la versión actual: L-MBTC031-ES-01

Fecha: 2022/05/25

Actualizaciones: Nueva referencia