

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

REF

MBTC031



Produto para diagnóstico *in vitro*

FINALIDADE PREVISTA

Um painel de quatro vírus respiratórios purificados agrupados, inativados para os tornar não infeccioso e concebidos num meio de transporte viral. Esta referência destina-se a validar e controlar o processamento, amplificação e deteção de amostras em ensaios de ácido nucleico baseados na identificação molecular de vírus respiratórios, utilizando o produto como um controlo de execução externa.

INTRODUÇÃO

As infeções das vias respiratórias são uma das principais causas de hospitalização. Em seres humanos, estas infeções são provocadas, maioritariamente, por um grupo heterogéneo de vírus com sintomas clínicos semelhantes, grupo esse que abrange influenza (gripe), parainfluenza, rinovírus, adenovírus, vírus sincicial respiratório (VSR), metapneumovírus humano (hMPV) e coronavírus. Habitualmente, o vírus da influenza e o VSR têm vindo a produzir surtos anuais, durante os meses de outono e inverno, sendo que ambos se caracterizam pela elevada sazonalidade e afetam milhões de indivíduos todos os anos. Além disso, o SARS-CoV-2 (SC2), ou coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave, foi identificado como a causa de um surto de doença respiratória, inicialmente detetada em Wuhan (China), em dezembro de 2019. A 11 de março de 2020, a OMS declarou a doença produzida pelo SARS-CoV-2 como pandemia.

CARACTERÍSTICAS

VIRCELL TOTAL CONTROL são concebidos apenas para uso único, o material não utilizado deve ser descartado.

VIRCELL TOTAL CONTROL estão liofilizados. É necessário reconstituí-los antes de serem usados (consulte a secção "Tratamento preparatórios do dispositivo").

A deteção de ácidos nucleicos requer uma etapa de extracção que permita a libertação de ADN/RNA para amplificação e deteção.

MATERIAIS FORNECIDOS

[1] VIRCELL TOTAL SARS-CoV-2/ FluA/FluB/RSV CONTROL (SWAB): 10 frascos com um conjunto de vírus respiratórios liofilizados que simulam uma amostra clínica respiratória. Cada vírus encontra-se numa concentração que varia de 10000–25000 cópias/frasco. A concentração do lote vem descrita no Certificado de Análise.

A validação da quantificação foi realizada por PCR em tempo real.

As partículas virais foram purificadas a partir de sobrenadantes de células infectadas por centrifugação diferencial (ver Quadro 1). Os vírus foram inativados, tornando-os não infecciosos, e diluídos em meio de transporte viral contendo células obtidas a partir de linhas epiteliais de células humanas.

Vírus	Estirpe	Linha de células
SARS-COV-2	isolado clínico	VERO E6
VÍRUS DA GRIPE A H3N2	A/Perth/16/2009 (H3N2)	MDCK
VÍRUS DA GRIPE B	B/Brisbane/60/2008	MDCK
VÍRUS SINCIAL RESPIRATÓRIO	9320	HEP-2

Tabela 1

Materiais especiais exigidos mas não fornecidos:

-Água de grau molecular.

-Kit de extracção e deteção adicional

CONDIÇÕES ESPECIAIS DE ARMAZENAMENTO E DE MANUSEAMENTO

Conservar entre 2 e 8°C. Não utilizar os componentes do kit uma vez ultrapassada a data de validade. O prazo de validade indicado será válido sempre que os componentes se mantenham embalados e conservados entre 2 e 8°C.

ESTABILIDADE DURANTE A UTILIZAÇÃO

VIRCELL TOTAL CONTROL reconstituído: utilizá-lo no mesmo dia. O produto não utilizado deve ser descartado.

VIRCELL, S.L. não se responsabiliza pela utilização inadequada dos reagentes contidos no kit.

ADVERTÊNCIAS E PRECAUÇÕES

1. Este produto destina-se ao diagnóstico *in vitro*, sendo indicado para utilização por profissionais de saúde qualificados.
2. O produto é indicado apenas para pessoal com treinamento para a técnica.
3. A utilização deste kit exige uma leitura cuidadosa e compreensão do folheto informativo. É necessário seguir com rigor as indicações para se obter resultados fiáveis.
4. Use equipamento de proteção individual ao manusear as amostras e reagentes. Lave as mãos adequadamente após manusear as amostras e reagentes. Todos os procedimentos devem ser realizados de acordo com as normas de segurança aprovadas.
5. A utilização de pontas de pipeta com filtro é essencial para evitar contaminações.
6. Não pipetar com a boca.
7. Não utilizar em caso de deterioração da embalagem.
8. Não use o kit após o prazo de validade.
9. Não deixe os reagentes em temperatura diferente da recomendada por mais tempo do que o absolutamente necessário.
10. Mantenha os recipientes para amostras e reagentes fechados enquanto não estiverem a ser manuseados.
11. Utilizar todos os reagentes em condições de assépsia, de modo a evitar contaminações microbianas.
12. Eliminar os reagentes não utilizados e resíduos de acordo com todos os regulamentos aplicáveis.
13. Os componentes deste kit contêm microorganismos inativados e podem incluir material genético ou substâncias de origem animal e/ou humano. Embora o material não seja infeccioso, deve ser manuseado como sendo potencialmente infeccioso. É necessário manipular e eliminar todos os materiais como potencialmente patogénicos. Preste atenção aos regulamentos locais para eliminação de resíduos.
14. O kit contém elementos de vidro que, em caso de se partirem, poderão provocar lesões físicas. Manipular com precaução.
15. Qualquer incidente grave que ocorra em relação ao dispositivo deve ser relatado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente pertencem.

TRATAMENTO PREPARATÓRIOS DO DISPOSITIVO

1. Adicionar 500 µl de água de grau molecular a cada ampola [1] e misturar até à reconstituição completa. A concentração será de aproximadamente 35000 exemplares/ml uma vez reconstituída.
2. Agitar com vortex durante 30 segundos para dissolver e homogeneizar completamente.

PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Seguir as instruções do kit de diagnóstico tratando o TOTAL CONTROL de forma idêntica a uma amostra clínica utilizando a quantidade recomendada para extracção e deteção.

CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

Cada lote encontra-se sujeito a um controlo de qualidade interno, anteriormente ao seu envio. Os resultados finais do controlo de qualidade para cada lote particular encontram-se disponíveis.

VALIDAÇÃO DO TESTE

Seguir instruções para extracção e kit de deteção adicional.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Consultar as indicações de kit adicional de extracção e deteção.

LIMITAÇÕES DE UTILIZAÇÃO

1. Este reagente destina-se a ser utilizado com métodos de diagnóstico humano. Outros métodos não foram verificados.
2. Este controlo de funcionamento externo não substitui os controlos do kit de diagnóstico interno.
3. Não podem ser retiradas conclusões de quantificação a partir de uma concentração conhecida num único ponto amostral. A quantificação exata de

amostras clínicas apenas pode ser conseguida através do método da curva de calibração usando um calibrador como MBC137 AMPLIRUN® SARS-CoV-2 RNA CONTROL, MBC029 AMPLIRUN® INFLUENZA A H3 RNA CONTROL, MBC030 AMPLIRUN® INFLUENZA B RNA CONTROL ou MBC083 AMPLIRUN® RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS (B) RNA CONTROL.

4. AMPLIRUN® TOTAL não é concebido para ser utilizado com um kit de diagnóstico específico de um fabricante específico. É utilizado para validar e controlar o processamento, análise e detecção de amostras de um procedimento de funcionamento de um laboratório de diagnóstico.

CARACTERÍSTICAS DO DESEMPENHO

PRECISÃO

A análise PCR em tempo real inclui 2 réplicas de cada frasco, que foram ensaiadas 2 vezes por dia durante 20 dias (com diferentes operadores e diferentes termocicladores). A % CV de precisão intra-ensaio, precisão inter-ensaio, precisão inter-dia e precisão inter-laboratorial foram analisadas.

Foram obtidos os seguintes resultados:

SARS-CoV-2

Amostra	Precisão no mesmo ensaio %CV	Precisão entre ensaios %CV	Precisão entre dias %CV	Precisão entre laboratórios %CV
Vircell Total Control	1,6	1,5	0,5	2,3

CV: Coeficiente de variação

vírus da gripe A H3N2

Amostra	Precisão no mesmo ensaio %CV	Precisão entre ensaios %CV	Precisão entre dias %CV	Precisão entre laboratórios %CV
Vircell Total Control	1,8	0,5	0,8	2,0

CV: Coeficiente de variação

vírus da gripe B

Amostra	Precisão no mesmo ensaio %CV	Precisão entre ensaios %CV	Precisão entre dias %CV	Precisão entre laboratórios %CV
Vircell Total Control	2,1	1,6	1,0	2,8

CV: Coeficiente de variação

vírus sincicial respiratório

Amostra	Precisão no mesmo ensaio %CV	Precisão entre ensaios %CV	Precisão entre dias %CV	Precisão entre laboratórios %CV
Vircell Total Control	1,8	1,2	1,5	2,6

CV: Coeficiente de variação

TESTE DE IDENTIDADE

SARS-CoV-2

Após a extração, a análise PCR foi realizada usando um par oligonucleótidos específicos para a identificação do SARS-CoV-2 anteriormente descritos na literatura. A reação produziu uma amplificação específica.

vírus da gripe A H3N2

Após a extração, a análise PCR foi realizada usando um par oligonucleótidos específicos para a identificação do Influenza A H3N2 anteriormente descritos na literatura. A reação produziu uma amplificação específica.

Influenza B

Após a extração, a análise PCR foi realizada usando um par oligonucleótidos específicos para a identificação do Influenza B anteriormente descritos na literatura. A reação produziu uma amplificação específica.

vírus sincicial respiratório

Após a extração, a análise PCR foi realizada usando um par oligonucleótidos específicos para a identificação do vírus sincicial respiratório anteriormente descritos na literatura. A reação produziu uma amplificação específica.

TESTE DE QUANTIFICAÇÃO

A quantificação é baseada em qPCR em Tempo Real usando o método da curva de calibração. Analisam-se de 3 réplicas de cada frasco. A concentração (cópias [log]/frasco) é determinada pela interpolação do valor Ct obtido para cada réplica na curva de calibração previamente obtida, efetuada com o padrão de quantificação correspondente.

Foram obtidos os seguintes resultados:

SARS-CoV-2

% Coeficiente de variação: 0,5

vírus da gripe A H3N2

% Coeficiente de variação: 0.8

Influenza B

% Coeficiente de variação: 1.7

vírus sincicial respiratório

% Coeficiente de variação: 1.3

SÍMBOLOS UTILIZADOS NA ETIQUETA



Produto para diagnóstico *in vitro*



Data de validade



Conservar entre x-y°C



Lote



Referência (catálogo)



Consultar instruções de utilização



Reconstituir em <X> µl



Temperatura de envio



Temperatura de conservação



Fabricante

BIBLIOGRAFIA

- Corman, V. M. et al. 2020. Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) by real-time RT-PCR. Euro Surveill, 25(3), 2000045.
- 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.
- Syrmis, 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.
- Wang, W. et al. 2020. Detection of SARS-CoV-2 in different types of clinical specimens. JAMA, 323(18), 1843-44.
- 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.
- Zhu, N. et al. 2020. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. N Engl J Med, 382(8), 727-733.

Versão atual n°: L-MBTC031-PT-01

Data: 2022/05/25

Atualizações: Nova referência