

# AMPLIRUN® CHLAMYDIA TRACHOMATIS DNA CONTROL

Pro diagnostické použití *in vitro*

**MBC012:** Vyčištěná DNA *Chlamydia trachomatis* pro použití ke kontrole diagnostických technik *in vitro* založených na amplifikaci nukleových kyselin.

## ÚVOD:

Chlamydie jsou nepohyblivé, obligátně intracelulární bakterie s jedinečným životním cyklem, který zahrnuje dvě fáze: retikulární a elementární tělíka. *Chlamydia trachomatis* (dále jen CT) se skládá ze dvou lidských biovarů: lymphogranuloma venereum, který je pozoruhodný svým tropismem k lymfoidním buňkám a schopností způsobovat systémová onemocnění, a trachoma biovar, který se omezuje především na epitelové buňky sliznic a je schopen způsobovat trachom, sexuálně přenosné choroby a novorozenecké inkluze, konjunktivitidy a pneumonie.

## VLASTNOSTI:

Lyofilizovaná nukleová kyselina je zabalená v zataveném foliovém sáčku obsahujícím silikagel. Před použitím je nutné ji rekonstituovat (viz „Příprava reagensí“).

**Příprava:** Purifikováno z buněk infikovaných McCoy sonikací a diferenciální centrifugací.

**Příprava extraktu:** Komerční metoda genomické extrakce DNA.

## OBSAH SOUPRAVY:

1 VIRCELL CTR DNA CONTROL: 1 ampule s lyofilizovanou DNA *Chlamydia trachomatis*, (Lymphogranuloma venereum (LGV II) kmen 434), (10 000 - 20 000 kopií/μl po rekonstituci (viz Tabulka 1)). Kvantifikace DNA byla provedena v reálném čase nástrojem PCR.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl destilované vody pro použití v molekulární biologii, bez DNázy, RNázy.

Číslo šarže	Počet kopií/μl

Tabulka 1.

## Potřeby neobsažené v soupravě:

Souprava pro další diagnostiku.

## POŽADAVKY NA SKLADOVÁNÍ:

Při přepravě není vyžadováno speciální zacházení. Lyofilizovanou ampuli skladujte při teplotě 2 - 8 °C ve foliovém sáčku. Po otevření sáčku neprodleně rekonstituuje lyofilizovanou ampuli a po rekonstituci skladujte při teplotě -5 °C až -40 °C (teplota je uvedena na štítku).

## TRVANLIVOST A ZACHÁZENÍ S REAGENCIEMI:

Při práci s reagensiemi zachovávejte aseptické podmínky zabraňující mikrobiální kontaminaci. Užívejte reagensie jen v množství nutném pro vykonání testu.

Po kontrolní resuspenzi musí být roztok DNA pro zabránění opakovaného zmrazování a roztahování alikvotován. Při dodržení návodu k použití je trvanlivost produktu do data expirace uvedeného na štítku.

VIRCELL SL neodpovídá za následky nesprávného zacházení s reagensiemi obsaženými v soupravě.

## DOPORUČENÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ:

1. Produkt je určen výhradně pro diagnostiku *in vitro* a pro použití kvalifikovaným odborným personálem.
2. Pro zabránění kontaminaci je nezbytné užívat sterilní pipetovací špičky s aerosolovou bariérou.
3. Se vzorky je nutné zacházet podle příslušných bezpečnostních postupů, jako kdyby byly infekční. Pečlivě vyčistěte a vydezinfikujte veškeré pracovní povrchy čerstvě připraveným roztokem 0,5% chlornanu sodného v deionizované nebo destilované vodě.
4. Pro provedení testu je nezbytné disponovat oddělenými pracovními plochami.
5. Nepoužité reagensie a odpad odstraňte v souladu se všemi příslušnými opatřeními.
6. VIRCELL DNA CONTROL může obsahovat genetický materiál nebo látku živočišného a/nebo lidského původu. VIRCELL DNA CONTROL může obsahovat nukleové kyseliny *Chlamydia trachomatis*. VIRCELL DNA CONTROL obsahuje vyčištěné nukleové kyseliny získané z inaktivovaných mikroorganismů, nicméně je nutné jej považovat za potenciální zdroj infekce a zacházet s ním opatrně. Žádná ze známých metod nemůže s úplnou jistotou zajistit nepřítomnost těchto nebo jiných infekčních agens. Se všemi materiály je nezbytné zacházet a likvidovat je, jako by byly potenciálně infekční. Dodržujte místní předpisy pro likvidaci klinického odpadu.
7. Roztok pod 1 000 kopií/μl musí být připraven bezprostředně před použitím. Zmrazování roztoků produktu obsahujících méně než 1 000 kopií/μl se kvůli možnému výskytu částečné degradace DNA nedoporučuje.

## PŘÍPRAVA REAGENCIÍ:

1. Roztrhněte foliový sáček s VIRCELL DNA CONTROL 1.
2. Odstředte VIRCELL DNA CONTROL 1 1 minutu na 1 000 g.
3. Přidejte 100 μl VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2 a míchejte do úplné rekonstituce. Koncentrace po rekonstituci bude 10 000 - 20 000 kopií/μl po rekonstituci (viz Tabulka 1).
4. Pro úplné rozpuštění a homogenizaci protřeste s vířením po dobu 30 vteřin.
5. Doporučujeme připravit alikvoty VIRCELL DNA CONTROL. V případě potřeby připravit roztok doporučujeme k tomuto účelu použít VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION 2.

## POSTUP TESTOVÁNÍ:

Po rekonstituci nukleovou kyselinu užíjte podle indikací soupravy pro další diagnostiku. Resuspendovanou VIRCELL CONTROL použijte jako extrahovaný klinický vzorek přidáním přímo do amplifikačních reagensí.

## VNITŘNÍ KONTROLA KVALITY:

Každá šarže byla před uvolněním podrobena interní kontrole kvality. Kontrola kvality byla provedena v reálném čase PCR. Výsledky kontroly kvality jsou k dispozici pro každou šarži.

## INTERPRETACE VÝSLEDKŮ A VALIDACE PROTOKOLU PRO UŽIVATELE:

Viz indikace soupravy pro další diagnostiku.

## OMEZENÍ METODY:

1. Reagensia jsou určena pro použití společně s metodami lidské diagnostiky. Test nebyl verifikován dalšími metodami.



2. Uživatelům této soupravy doporučujeme pozorně se seznámit s obsahem příbalového letáku. Pro získání spolehlivých výsledků je nezbytné přesně dodržovat předepsaný postup.
3. Produkt je určen výhradně pro použití osobami vyškolenými v molekulárních technikách.
4. Test identity byl proveden podle veřejně dostupných sekvencí mikroorganismu. Jejich změny mohou způsobit odlišnosti ve velikosti nebo zabránit objevení amplifikace produktu.
5. Tato kontrola nenahrazuje interní kontroly diagnostickou soupravou.
6. Kvantifikace byla provedena vlastním qPCR proti standardům užívaným jako kalibrátor. Výsledky se mohou lišit v závislosti na okolnostech amplifikace u koncového uživatele.
7. AMPLIRUN® nebyl navržen pro použití s konkrétní diagnostickou sadou pocházející od určitého výrobce. Používá se k řízení zesílení diagnostického laboratorního postupu.

#### VLASTNOSTI FUNKCE:

##### • TEST IDENTITY

**PCR analýza kontroly DNA:** PCR analýza byla provedena se specifickým oligonukleotidovým párem na purifikované DNA *Chlamydia trachomatis*. Reakce poskytla fragment očekávané velikosti.

##### • KVANTIFIKAČNÍ TEST

Byl proveden korelační test mezi kulturou mikroorganismů a extrahovanou DNA z *Chlamydia trachomatis*. Mezi oběma testy byl pozorován rozptyl menší než 0,5 log.









##### • PŘESNOST V RÁMCI DANÉHO TESTU

3 repliky 5 sériových ředění 3 různých lahviček produktu byly provedeny stejným operátorem za stejných podmínek qPCR. Mezi všemi testy byl pozorován koeficient rozptylu méně než 5 %.

##### • PŘESNOST MEZI TESTY

3 různé repliky 5 různých sériových ředění 1 lahvičky produktu byly individuálně amplifikovány 2 různými operátory ve 3 po sobě jdoucích dnech. Mezi všemi testy byl pozorován koeficient rozptylu méně než 5 %.

#### SYMBOLY POUŽITÉ NA ETIKETÁCH:

	Diagnostické lékařské zařízení <i>in vitro</i>
	Spotřebujte do (datum expirace)
	Skladujte při X-Y °C
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Před použitím se seznamte s pokyny
	Rekonstituuje v x µl
	Teplota při přepravě
	Teplota skladování
	Neotvírejte před použitím

#### LITERATURA:

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. Jatón K., Bille J., and Greub G. (2006). A novel real-time PCR to detect *Chlamydia trachomatis* in first-void urine or genital swabs. *Journal of Medical Microbiology*, 55,1667-1674.
5. Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics.* 6:62.
6. Madico G, Quinn TC, Boman J, Gaydos CA. (2000). Touchdown enzyme time release-PCR for detection and identification of *Chlamydia trachomatis*, *C. pneumoniae*, and *C. psittaci* using the 16S and 16S-23S spacer rRNA genes. *J Clin Microbiol.* 2000 38(3):1085-10.

S případnými dotazy se můžete obrátit na:

[customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com)

REVIZE: 2019-01-15  
L-MBC012-CS-01

