

# AMPLIRUN® MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS DNA CONTROL

**REF**

**MBC034**

**CE**

**Produto para diagnóstico *in vitro***

## FINALIDADE PREVISTA

ADN purificado de *Mycobacterium tuberculosis* a utilizar para controlo de técnicas com base na amplificação de ácidos nucleicos.

O dispositivo é um controlo ensaiado.

## INTRODUÇÃO

*Mycobacterium tuberculosis* é uma bactéria bacilar estritamente aeróbia, não cromogénea, de crescimento lento, álcool-ácido resistente. Os humanos são o único reservatório da *M. tuberculosis*, um patogénico obrigatório que é transmitido por partículas transportadas pelo ar e pode permanecer latente durante anos antes de causar uma tuberculose ativa.

## CARACTERÍSTICAS

VIRCELL DNA CONTROL está incluído num saco em folha de alumínio termicamente selado, que contém um saco de gel de sílica.

VIRCELL DNA CONTROL é liofilizado. É necessário reconstituí-lo antes de ser usado (consulte a secção "Tratamento preparatórios do dispositivo").

Preparação: Cultivada em meio Middlebrook 7H9 Broth.

Preparação para a extração: Método de extração comercial de ADN genómico.

## MATERIAIS FORNECIDOS

[1] VIRCELL MTU DNA CONTROL: 1 frasco com ADN liofilizado do *Mycobacterium tuberculosis*, (H37Rv (estirpe tipo)), (10000-20000 cópias/µl após reconstituição (a concentração do lote vem descrita na Ficha de Dados do Produto (Product Datasheet)). A quantificação de ADN foi realizada por uma PCR em tempo real.

[2] VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 µl de água de grau de biologia molecular, sem DNase e RNase.

Materiais especiais exigidos mas não fornecidos:

Kit de diagnóstico adicional.

## CONDIÇÕES ESPECIAIS DE ARMAZENAMENTO E DE MANUSEAMENTO

Não são necessárias condições de transporte especiais.

Conservar o frasco liofilizado entre 2 e 8 °C dentro do saco em folha de alumínio.

## ESTABILIDADE DURANTE A UTILIZAÇÃO

VIRCELL DNA CONTROL reconstituído: conservar de -40 °C a -5 °C e utilizar até à data de validade. Evitar mais de 3 ciclos de congelação - descongelação durante este período. Conservar de 2 °C a 8 °C e utilizar no prazo de 30 min.

VIRCELL DNA CONTROL uma vez reconstituído deve ser aliquoteado para evitar a congelação e descongelação repetidas. O produto está estável até à data de validade indicada na etiqueta, se as instruções de utilização forem seguidas.

A 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. A utilização deste produto deve estar limitada apenas a pessoal com formação em técnicas moleculares.

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. Os componentes deste kit poderiam incluir ácidos nucleicos. Preste atenção aos regulamentos locais para eliminação de resíduos.

13. Eliminar os reagentes não utilizados e resíduos de acordo com todos os regulamentos aplicáveis.

14. As amostras devem ser manuseadas como no caso de amostras infetadas utilizando procedimentos laboratoriais de segurança. Limpe e desinfete todas as superfícies de trabalho com uma solução preparada na hora de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada.

15. As diluições inferiores a 1000 cópias/µl devem ser realizadas imediatamente antes da utilização. O congelamento de diluições do produto com menos de 1000 cópias/µl não é recomendado, pois pode ocorrer a degradação parcial de ADN.

16. 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. Rasgue o saco em folha de alumínio que contém o VIRCELL DNA CONTROL [1].

2. Centrifugue o VIRCELL DNA CONTROL [1] durante 1 minuto a 1000 g.

3. Adicione 100 µl de VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION [2] e misture até estar completamente reconstituída. A concentração será de 10000-20000 cópias/µl após reconstituição (a concentração do lote vem descrita na Ficha de Dados do Produto (Product Datasheet)).

4. Agite com o vórtex durante 30 segundos para dissolver e homogeneizar completamente.

5. É recomendável preparar alíquotas do VIRCELL DNA CONTROL. No caso de preparação de diluições, utilize VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION [2] para este efeito.

## PROCEDIMENTO DE ENSAIO

Após a reconstituição do ácido nucleico, utilize-o de acordo com as indicações do kit de diagnóstico adicional. Utilize VIRCELL CONTROL ressuspendido como uma amostra clínica extraída adicionando-a diretamente a reagentes de amplificação.

## CONTROLO DE QUALIDADE INTERNO

Cada lote encontra-se sujeito a um teste de controlo de qualidade interno, antes do seu envio. A análise do controlo de qualidade é realizada por uma PCR em tempo real. Os resultados finais do controlo de qualidade para cada lote particular encontram-se disponíveis.

## VALIDAÇÃO DO TESTE

Consulte as indicações do kit de diagnóstico adicional.

## INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS

Consulte as indicações do kit de diagnóstico adicional.

## LIMITAÇÕES DE UTILIZAÇÃO

1. O dispositivo não se destina à deteção de anticorpos a partir de imunoensaio de secreções linfocitárias para detetar a infeção ativa por *Mycobacterium tuberculosis*.

2. Este reagente destina-se a ser utilizado com métodos de diagnóstico humano. Outros métodos não foram verificados.

3. Este controlo de funcionamento externo não substitui os controlos internos do kit de diagnóstico.

4. AMPLIRUN® não foi concebido para ser usado com um kit de diagnóstico específico. É utilizado para controlar a amplificação de um procedimento funcional de um laboratório de diagnóstico.

5. O teste de identidade foi executado por alguns iniciadores específicos de acordo com as sequências publicamente disponíveis do micro-organismo. As alterações nas sequências dos iniciadores da reação podem produzir resultados diferentes.

6. A quantificação foi executada pela qPCR da nossa própria marca em relação a um padrão usado como calibrador. Os resultados podem variar com as condições de amplificação do utilizador final.

7. Está disponível um resumo da segurança e desempenho na EUDAMED ou pode ser solicitado através do endereço eletrónico [customerservice@vircell.com](mailto:customerservice@vircell.com).

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 termocicladores, CFX96 (Bio-Rad)). Determinou-se a precisão na mesma determinação, a precisão entre determinações, a precisão entre dias e a precisão interlaboratorial. Foram obtidos os seguintes resultados:

Versão atual nº: L-MBC034-PT-02

Data: 2024/12/30

Versão anterior nº: L-MBC034-PT-01

Atualizações: Atualização geral-Regulamento (UE) 2017/746

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

CV: Coeficiente de variação

TESTE DE IDENTIDADE

A análise PCR foi efetuada utilizando um par de oligonucleótidos específico para a identificação de *Mycobacterium tuberculosis*, previamente descrito na literatura. As reações produziram uma amplificação específica.

TESTE DE QUANTIFICAÇÃO

A quantificação é baseada em qPCR em Tempo Real usando o método da curva de calibração. A concentração é determinada pela interpolação do valor Ct obtido na curva de calibração previamente obtida, efetuada com o padrão de quantificação correspondente.

Foram obtidos os seguintes resultados:

A concentração estava dentro da faixa de 10000-20000 cópias/µl

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



Não abrir até usar



Fabricante

BIBLIOGRAFIA

1. Bustin, S. A. 2000. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. J Mol Endocrinol, 25(2), 169-93.

2. Bustin, S. A. 2002. Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. J Mol Endocrinol, 29(1), 23-39.

3. Freeman, W. M. et al. 1999. Quantitative RTPCR: pitfalls and potential. Biotechniques, 26(1), 112-122, 124-125.

4. Larionov, A. et al. 2005. A standard curve based method for relative real time PCR data processing. BMC Bioinformatics, 6, 62.

5. Xiong, L. et al. 2006. Use of PCR and reverse line blot hybridization microarray based on 16S-23S rRNA gene internal transcribed spacer sequences for rapid identification of 34 Mycobacterium species. J Clin Microbiol, 44, 3544-3550.