

AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL

Solo per uso diagnostico *in vitro*

MBC075: DNA purificato di *Neisseria gonorrhoeae* da utilizzarsi per il controllo delle tecniche diagnostiche *in vitro* basate sull'amplificazione degli acidi nucleici.

INTRODUZIONE:

La *Neisseria gonorrhoeae* (NG) o gonococco è un batterio Gram-negativo, ossidasi-positivo, aerobico, nutrizionalmente esigente, coccale, che si presenta al microscopio con una disposizione in diplococchi. Gli esseri umani sono gli unici ospiti naturali del gonococco, che si trasmette attraverso i rapporti sessuali. Le infezioni sono generalmente limitate alle superfici mucose rivestite da cellule epiteliali colonnari, e interessano l'uretra, la cervice, il retto, la faringe e la congiuntiva.

CARATTERISTICHE:

L'acido nucleico liofilizzato è inserito in un sacchetto di alluminio termosaldato contenente una sacca di gel di silice. È necessario procedere alla sua ricostituzione prima dell'uso (fare riferimento alla sezione "Preparazione dei reagenti").

Preparazione: Coltivare in terreno di coltura agar cioccolato

Preparazione dell'estratto: Metodo commerciale di estrazione del DNA genomico.

COMPOSIZIONE DEL KIT:

1 VIRCELL NGO DNA CONTROL: 1 flaconcino con DNA liofilizzato di *Neisseria gonorrhoeae*, (ceppo (ceppo tipo)), (10.000–20.000 copie/μl una volta ricostituito (vedere Tabella 1)). La quantificazione del DNA è stata eseguita mediante PCR in tempo reale.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl di acqua per biologia molecolare, priva di DNasi e RNasi.

Numero di lotto	
Concentrazione	copie/μl

Tabella 1.

Materiale richiesto ma non fornito:

Kit per diagnosi supplementare.

STABILITA' E CONSERVAZIONE:

Non sono necessarie particolari condizioni di trasporto. Conservare il flaconcino liofilizzato a una temperatura compresa tra 2 e 8 °C all'interno del sacchetto di alluminio. Una volta aperto il sacchetto, ricostituire immediatamente il flaconcino liofilizzato e, dopo la ricostituzione, conservarlo a una temperatura compresa tra -5 °C e -40 °C (temperatura indicata sull'etichetta).

STABILITA' E UTILIZZO DEI REAGENTI:

Maneggiare i reagenti in condizioni asettiche per evitare contaminazioni microbiologiche.

Utilizzare solo la quantità di reagente necessaria per il test.

Dopo la risospensione di controllo, la soluzione di DNA deve essere aliquotata per evitare cicli multipli di congelamento/scongelamento. Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se vengono rispettate le Istruzioni per l'uso.

La VIRCELL, S.L. non risponde del cattivo utilizzo dei reagenti inclusi nel kit.

RACCOMANDAZIONI E PRECAUZIONI:

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale.
2. L'uso di puntali per pipette filtranti è essenziale per evitare la contaminazione.
3. I campioni devono essere maneggiati come se fossero infettivi seguendo le procedure di sicurezza del laboratorio. Mantenere pulite e disinfettare tutte le superfici di lavoro con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% preparata al momento, in acqua deionizzata o distillata.
4. Per eseguire il test è essenziale disporre di aree di lavoro separate.
5. Smaltire i reagenti e i rifiuti non utilizzati in conformità alle normative vigenti.
6. Il componente VIRCELL DNA CONTROL può includere materiale genetico o sostanze di origine animale e/o umana. VIRCELL DNA CONTROL contiene acidi nucleici di *Neisseria gonorrhoeae*. VIRCELL DNA CONTROL contiene acidi nucleici purificati ottenuti da microrganismi inattivati, tuttavia deve essere considerato come potenzialmente infettivo e maneggiato con cura. Nessun metodo attuale può garantire con certezza l'assenza di questi o altri agenti infettivi. Tutti i materiali devono essere maneggiati e smaltiti come potenzialmente infettivi. Attenersi alle normative locali per lo smaltimento dei rifiuti clinici.
7. Le diluizioni inferiori a 1000 copie/μl devono essere effettuate immediatamente prima dell'uso. Non si raccomanda il congelamento di diluizioni di prodotto contenenti meno di 1000 copie/μl poiché potrebbe verificarsi una degradazione parziale del DNA.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI:

1. Aprire il sacchetto di alluminio contenente VIRCELL DNA CONTROL **1**.
2. Centrifugare VIRCELL DNA CONTROL **1** per 1 minuto a 1000 g.
3. Aggiungere 100 μl di VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2** e miscelare fino a ottenere la ricostituzione completa. La concentrazione sarà pari a 10.000–20.000 copie/μl una volta ricostituito (vedere Tabella 1).
4. Agitare su vortex per 30 secondi per disciogliere e omogeneizzare completamente.
5. Si raccomanda la preparazione di aliquote di VIRCELL DNA CONTROL. Nel caso in cui sia necessario preparare delle diluizioni, utilizzare a tale scopo VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2**.

PROCEDURA:

Una volta ricostituito l'acido nucleico, utilizzarlo secondo le indicazioni riportate nel kit per diagnosi supplementare. Utilizzare VIRCELL CONTROL risospeso come un campione clinico estratto, aggiungendolo direttamente ai reagenti di amplificazione.



CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO:

Ogni lotto viene sottoposto a una verifica interna della qualità prima del suo rilascio. L'analisi per il controllo della qualità viene eseguita mediante PCR in tempo reale. Sono disponibili i risultati finali del controllo della qualità di ogni singolo lotto.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E PROTOCOLLO DI VALIDAZIONE PER GLI UTENTI:

Fare riferimento alle indicazioni del kit per diagnosi supplementare.

LIMITI:

1. Questo reagente è destinato a essere utilizzato con metodi di diagnostica umana. Altri metodi non sono stati verificati.
2. Si raccomanda all'utilizzatore di leggere attentamente e comprendere la scheda tecnica. Per ottenere dei risultati attendibili è importante attenersi rigorosamente al protocollo.
3. L'utilizzo di questo prodotto deve essere limitato solo al personale esperto in tecniche molecolari.
4. Il test di identificazione è stato eseguito con alcuni primer specifici in base alle sequenze del microrganismo disponibili pubblicamente. Modifiche nelle sequenze dei primer della reazione possono produrre un intervallo di dimensioni differenti o possono non mostrare l'amplificazione del prodotto.
5. Questo controllo di marcia esterno non sostituisce i controlli interni del kit di diagnostica.
6. La quantificazione è stata eseguita mediante qPCR di marca propria rispetto a uno standard utilizzato come calibratore. I risultati possono variare a seconda delle condizioni di amplificazione dell'utente finale.
7. AMPLIRUN® non è stato progettato per l'uso con un particolare kit diagnostico di un determinato produttore. È utilizzato per controllare l'amplificazione di una procedura diagnostica di laboratorio.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE:**• TEST DI IDENTIFICAZIONE**

Analisi PCR del DNA di controllo: L'analisi PCR è stata eseguita con una coppia di oligonucleotidi specifici sul DNA purificato di *Neisseria gonorrhoeae*. La reazione ha prodotto un frammento delle dimensioni previste.

• TEST DI QUANTIFICAZIONE

È stato eseguito un test di correlazione tra il DNA estratto dalla coltura dei microrganismi e il DNA estratto da *Neisseria gonorrhoeae*. È stata osservata una varianza inferiore a 0,5 log tra entrambi i test.

• PRECISIONE INTRA-TEST:

Sono state eseguite dallo stesso operatore 3 repliche di 5 diluizioni seriali di 3 diversi flaconcini del prodotto in condizioni qPCR identiche.







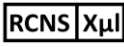



È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 5% tra tutti i test.

• PRECISIONE INTER-TEST:

Sono state amplificate individualmente da 2 diversi operatori 3 repliche differenti di 5 diverse diluizioni seriali di 1 flaconcino del prodotto in 3 giorni consecutivi.

È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 5% tra tutti i test.

SIMBOLI USATI SULL'ETICHETTE:

	In Vitro Diagnostico
	Usare fino a (data di scadenza)
	Conservare a x-y°C
	Codice di lotto
	Codice del prodotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Ricostituire in <X> µl
	Temperatura di spedizione
	Temperatura di stoccaggio
	Non aprire prima dell'uso

BIBLIOGRAFIA:

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 RTPCR: pitfalls and potential. *Biotechniques.* 1999 26(1):112-122, 124-125.
4. Hjelmevoll SO, Olsen ME, Sollid JU, Haaheim H, Unemo M, Skogen V. (2006). A fast real-time polymerase chain reaction method for sensitive and specific detection of the *Neisseria gonorrhoeae* porA pseudogene. *J Mol Diagn* 8(5):574-581.
5. Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics.* 6:62.

Per ulteriori informazioni contattare:

customerservice@vircell.com

EDIZIONE: 2019-01-15
L-MBC075-IT-01

