

AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL

Für die *In-vitro*-Diagnostik

MBC075: Isolierte DNA des *Neisseria gonorrhoeae* zur Anwendung als Kontrolle von *In-vitro*-Diagnostiktechniken auf Basis der Nukleinsäureamplifikation.

EINLEITUNG:

Neisseria gonorrhoeae oder Gonococcus ist ein gramnegatives, Oxidase-positives, aerobes, kokkales Bakterium, das bezüglich der Wachstumsbedingungen anspruchsvoll ist und unter dem Mikroskop zu Diplokokken angeordnet erscheint. Der Mensch ist der einzige natürliche Wirt des Gonococcus, der durch Geschlechtsverkehr übertragen wird. Infektionen sind in der Regel auf Schleimhäute mit Zylinderepithel begrenzt, darunter den Harnleiter, den Gebärmutterhals, das Rektum, den Rachen und die Konjunktiva.

EIGENSCHAFTEN:

Die lyophilisierte Nukleinsäure ist in einem mit Trockenmittel versehenen Folienbeutel enthalten. Vor Gebrauch muss die Nukleinsäure rekonstituiert werden (siehe „Vorbereitung der Reagenzien“).

Herstellung: Anzucht auf Schokoladenagar als Nährmedium

Extrakterstellung: Kommerzielles Extraktionsverfahren für genomische DNA.

BESTANDTEILE DES KITS:

1 VIRCELL NGO DNA CONTROL: 1 Fläschchen mit lyophilisierter DNA des *Neisseria gonorrhoeae*, (Modellstamm), (10000-20000 Kopien/μl nach Rekonstitution (siehe Tabelle 1)). Die DNA-Quantifizierung erfolgte durch Echtzeit-PCR.

2 VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION: 500 μl hochreines Wasser für die Molekularbiologie, DNase- und RNase-frei.

Chargennummer	
Konzentration	Kopien/μl

Tabelle 1.

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten sind:

Zusätzliches Diagnose-Kit.

LAGERBEDINGUNGEN:

Keine besonderen Transportbedingungen erforderlich. Lyophilisat bei 2-8 °C im Folienbeutel lagern. Nach Anbruch des Beutels ist das Lyophilisat sofort zu rekonstituieren und nach der Rekonstitution bei -5 °C bis -40 °C zu lagern (Temperaturangabe auf dem Etikett).

STABILITÄT UND HANDHABUNG DER REAGENZIEN:

Die Handhabung aller Reagenzien sollte unter aseptischen Bedingungen erfolgen, um mikrobielle Kontaminationen zu vermeiden.

Nur die für den Test tatsächlich benötigte Menge an Reagenzien einsetzen.

Nach der Resuspension der Kontrolle sollte die DNA-Lösung in Aliquote aufgeteilt werden, um ein wiederholtes Auftauen und Einfrieren zu vermeiden. Das Produkt ist bis zu dem auf dem Etikett angegebenen Verfallsdatum stabil, wenn die Gebrauchsanleitung beachtet wird.

VIRCELL, S.L. ist nicht verantwortlich für Fehler, die durch eine falsche Handhabung der Reagenzien dieses Kits verursacht wurden.

EMPFEHLUNGEN UND VORSICHTSMASSNAHMEN:

1. Einsatz ausschließlich zur *In-vitro*-Diagnose. Nur für den professionellen Einsatz.
2. Zur Vermeidung von Kontaminationen sind sterile Pipettenspitzen mit Aerosolbarriere erforderlich.
3. Die Proben sollten als infektiöse Proben unter Einsatz von Sicherheitslaborverfahren behandelt werden. Alle Arbeitsflächen sind mit einer frisch zubereiteten Lösung aus 0,5 %igem Natriumhypochlorit und deionisiertem bzw. destilliertem Wasser gründlich zu reinigen und zu desinfizieren.
4. Für die Durchführung des Tests sind unbedingt getrennte Arbeitsbereiche erforderlich.
5. Die Entsorgung ungebrauchter Reagenzien und Abfälle sollte entsprechend den geltenden Vorschriften erfolgen.
6. Der Bestandteil VIRCELL DNA CONTROL kann möglicherweise genetisches Material oder genetische Substanzen tierischen und/oder humanen Ursprungs enthalten. VIRCELL DNA CONTROL enthält *Neisseria gonorrhoeae* Nukleinsäuren. VIRCELL DNA CONTROL enthält gereinigte Nukleinsäuren von inaktivierten Mikroorganismen. Dennoch sollte das Produkt als potenziell infektiös angesehen und mit der nötigen Vorsicht behandelt werden. Gegenwärtig kann keine Methode eine vollständige Abwesenheit dieser oder anderer infektiöser Bestandteile versichern. Alle Materialien sollten wie potenziell infektiöse Stoffe behandelt und entsorgt werden. Beachten Sie die örtlichen Bestimmungen für die Entsorgung klinischen Materials.
7. Verdünnungen von weniger als 1000 Kopien/μl sollten unmittelbar vor Gebrauch hergestellt werden. Vom Einfrieren von Produktverdünnungen mit weniger als 1000 Kopien/μl wird abgeraten, da dies zum partiellem Abbau der DNA führen könnte.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

1. Den Folienbeutel mit VIRCELL DNA CONTROL **1** aufreißen.
2. VIRCELL DNA CONTROL **1** 1 Minute bei 1000 g zentrifugieren.
3. 100 μl der VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2** hinzufügen und bis zur vollständigen Rekonstitution vermischen. Nach der Rekonstitution beträgt die Konzentration 10000-20000 Kopien/μl nach Rekonstitution (siehe Tabelle 1).
4. 30 Sekunden lang bis zur vollständigen Auflösung und Homogenisierung vortexen.
5. Es ist empfehlenswert, aliquote Teile von VIRCELL DNA CONTROL vorzubereiten. Verwenden Sie zur Herstellung von Verdünnungen VIRCELL CONTROL RECONSTITUTION SOLUTION **2**.



TESTDURCHFÜHRUNG:

Nach der Rekonstitution der Nukleinsäure ist sie entsprechend den Angaben des zusätzlichen Diagnosekits zu verwenden. Verwenden Sie resuspendiertes VIRCELL CONTROL als extrahierte klinische Probe und fügen Sie diese direkt den Amplifikationsreagenzien hinzu.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

Jede Charge wird internen Qualitätskontrollen unterzogen, bevor sie freigegeben wird. Die Qualitätskontrollanalyse erfolgt durch Echtzeit-PCR. Für jede einzelne Charge sind abschließende Ergebnisse der Qualitätskontrolle verfügbar.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE UND TESTVALIDIERUNG FÜR ANWENDER:

Siehe Angaben des zusätzlichen Diagnosekits.

EINSCHRÄNKUNGEN:

1. Dieses Reagens ist zur Anwendung bei Verfahren zur Humandiagnostik bestimmt. Dieser Test wurde nicht mit anderen Verfahren verifiziert.
2. Dem Anwender des Tests wird empfohlen, diese Gebrauchsanleitung sorgfältig zu lesen und die einzelnen Schritte nachzuvollziehen. Die strikte Einhaltung der Gebrauchsanleitung ist notwendig, um verlässliche Ergebnisse zu erlangen.
3. Nur Personen, die über Erfahrung mit molekularen Verfahren verfügen, sollten dieses Produkt anwenden.
4. Der Identitätstest wurde mit einigen spezifischen Primern entsprechend öffentlich zugänglichen Sequenzen des Mikroorganismus durchgeführt. Modifizierungen der Reaktionsprimer-Sequenzen können zu unterschiedlichen Größen führen oder keine Produktamplifikation zeigen.
5. Diese Kontrolle ersetzt nicht die internen Diagnosekit-Kontrollen.
6. Die Quantifizierung wurde mittels qPCR mit der Eigenmarke gegenüber einem als Standard verwendeten Kalibrator durchgeführt. Die Ergebnisse können je nach Amplifikationsbedingungen des Endbenutzers variieren.
7. AMPLIRUN® wurde nicht entwickelt, um mit einem speziellen Diagnose-Kit eines bestimmten Herstellers verwendet zu werden. Es wird verwendet, um die Amplifikation eines diagnostischen Laborverfahrens zu kontrollieren.

LEISTUNGSDATEN:**• IDENTITÄTSTEST**

PCR-Analyse der DNA-Kontrolle: Die PCR-Analyse wurde mit einem spezifischen Oligonukleotidpaar an aufgereinigter *Neisseria gonorrhoeae*-DNA durchgeführt. Die Reaktion ergab ein Fragment in der zu erwartenden Größe.

• QUANTIFIZIERUNGSTEST

Es wurde ein Test auf Korrelation zwischen Mikroorganismuskultur und der aus dem *Neisseria gonorrhoeae* extrahierten DNA durchgeführt. Bei beiden Assays wurde eine log-Varianz von weniger als 0,5 beobachtet.

• INTRA-ASSAY-GENAUIGKEIT





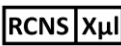

Es wurden 3 Wiederholungen von 5 seriellen Verdünnungen von 3 verschiedenen Fläschchen des Produkts von der gleichen Person unter identischen qPCR-Bedingungen durchgeführt. Bei

allen Assays wurde ein Variationskoeffizient von weniger als 5 % festgestellt.

• INTER-ASSAY-GENAUIGKEIT

Es wurden 3 Wiederholungen von 5 seriellen Verdünnungen von 1 Fläschchen des Produkts von 2 verschiedenen Personen an 3 aufeinanderfolgenden Tagen individuell amplifiziert. Bei allen Assays wurde ein Variationskoeffizient von weniger als 5 % festgestellt.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLLE:

	In-vitro-Diagnostikum
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x-γ °C lagern
	Chargennummer
	Bestellnummer
	Gebrauchsanleitung beachten
	In x µl rekonstituieren
	Versandtemperatur
	Lagertemperatur
	Erst unmittelbar vor Gebrauch öffnen

LITERATUR:

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. Hjelmvoll 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.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:

customerservice@vircell.com

ÜBERPRÜFT: 2019-01-15
L-MBC075-DE-01

