

AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL

Para utilização em diagnóstico *in vitro*

MBC075: ADN purificado de *Neisseria gonorrhoeae* a utilizar para controlo de técnicas de diagnóstico *in vitro* com base na amplificação de ácidos nucleicos.

INTRODUÇÃO:

Neisseria gonorrhoeae ou gonococo é uma bactéria cocóide Gram-negativa, oxidase-positiva, aeróbia, nutricionalmente exigente que aparece microscopicamente num arranjo de diplococos. Os humanos são o único hospedeiro natural do gonococo, que é transmissível sexualmente. As infeções estão geralmente limitadas às superfícies mucosas que são revestidas por células do epitélio colunar, que envolvem a uretra, o colo do útero, o reto, a faringe e a conjuntiva.

CARACTERÍSTICAS:

O ácido nucleico liofilizado está incluído num saco em folha de alumínio termicamente selado, que contém um saco de gel de sílica. É necessário proceder à reconstituição antes da utilização (consulte "Preparação dos reagentes").

Preparação: Cultivada em meio de cultura ágar chocolate.

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

CONTEÚDO DO KIT:

1 VIRCELL NGO DNA CONTROL: 1 frasco com ADN liofilizado do *Neisseria gonorrhoeae*, (estirpe tipo), (10000-20000 cópias/μl após reconstituição (consulte a Tabela 1)). 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.

Número de lote	
Concentração	cópias/μl

Tabela 1.

Materiais necessários mas não fornecidos:

Kit de diagnóstico adicional.

REQUISITOS DE CONSERVAÇÃO:

Não são necessárias condições de transporte especiais. Conservar o frasco liofilizado entre 2 e 8 °C dentro do saco em folha de alumínio. Depois de aberto o saco, reconstituir imediatamente o frasco liofilizado e conservar entre -5 °C e -40 °C após a reconstituição (temperatura indicada na etiqueta).

ESTABILIDADE E UTILIZAÇÃO DOS REAGENTES:

Utilizar todos os reagentes em condições de assepsia, de modo a evitar contaminações microbianas.

Utilizar apenas a quantidade de reagente necessária para o teste.

Após a ressuspensão de controlo, a solução de ADN deve ser dividida em alíquotas para evitar múltiplos ciclos de congelação e descongelação. 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.

RECOMENDAÇÕES E PRECAUÇÕES:

1. Este produto destina-se apenas à utilização em diagnóstico *in vitro* e por profissionais qualificados.
2. As pontas esterilizadas com proteção contra aerossóis são essenciais para evitar a contaminação.
3. As amostras devem ser manuseadas como se se tratassem de amostras infecciosas utilizando procedimentos laboratoriais de segurança. Limpe e desinfete cuidadosamente todas as superfícies de trabalho com uma solução acabada de preparar de hipoclorito de sódio a 0,5% em água desionizada ou destilada.
4. Para realizar o teste é essencial ter áreas de trabalho separadas.
5. Elimine reagentes e resíduos não utilizados de acordo com os regulamentos aplicáveis.
6. O componente VIRCELL DNA CONTROL poderá incluir material genético ou substâncias de origem animal e/ou humana. VIRCELL DNA CONTROL contém ácidos nucleicos de *Neisseria gonorrhoeae* inativado. VIRCELL DNA CONTROL contém ácidos nucleicos purificados obtidos de microrganismos desativados, devendo, mesmo assim, ser considerado potencialmente infeccioso e manuseado com cuidado. Nenhum método atual pode oferecer uma garantia total de que estes ou outros agentes infecciosos não estão presentes. Todos os materiais devem ser utilizados e eliminados como potencialmente infecciosos. Cumpra os regulamentos legais relativamente à eliminação de resíduos clínicos.
7. 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.

PREPARAÇÃO DOS REAGENTES:

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 (consulte a Tabela 1).
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.

EXECUÇÃO DO TESTE:

Após a reconstituição do ácido nucleico, utilize-o de acordo com as indicações do kit de diagnóstico adicional. Utilize VIRCELL CONTROL ressuspensionado 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.

INTERPRETAÇÃO DOS RESULTADOS E PROTOCOLO DE VALIDAÇÃO PARA UTILIZADORES:

Consulte as indicações do kit de diagnóstico adicional.

LIMITAÇÕES DE MÉTODO:

1. Este reagente destina-se a ser utilizado com métodos de diagnóstico humano. Este teste não foi verificado com outros métodos.
2. O utilizador deste kit é aconselhado a ler cuidadosamente e a compreender o folheto incluso. É necessário cumprir rigorosamente o protocolo para obter resultados de teste fiáveis.
3. A utilização deste produto deve estar limitada apenas a pessoal com formação em técnicas moleculares.
4. 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 uma gama de tamanhos diferentes ou podem não apresentar amplificação do produto.
5. Este controlo não substitui os controlos do kit de diagnóstico interno.
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. AMPLIRUN® não foi concebido para ser usado com qualquer kit de diagnóstico de um certo fabricante. É utilizado para controlar a amplificação de um procedimento funcional de um laboratório de diagnóstico.

PERFORMANCES:

• TESTE DE IDENTIDADE

Análise PCR de controlo de ADN: A análise PCR foi executada com um oligopar específico em ADN do *Neisseria gonorrhoeae* purificado. A reação produziu um fragmento de tamanho igual ao esperado.

• TESTE DE QUANTIFICAÇÃO

Realizou-se um teste de correlação entre a cultura do micro-organismo e o ADN extraído do *Neisseria gonorrhoeae*. Observou-se uma variação do registo menor que 0,5 log entre ambos ensaios.











• PRECISÃO INTRAENSAIO

3 réplicas de 5 diluições em série de 3 frascos diferentes do produto foram realizadas pelo mesmo operador em condições de qPCR idênticas. Observou-se um coeficiente de variação inferior a 5% entre todos os ensaios.

• PRECISÃO INTERENSAIO

3 réplicas diferentes de 5 diluições em série de 1 frasco do produto foram amplificadas individualmente por 2 operadores diferentes em 3 dias consecutivos. Observou-se um coeficiente de variação inferior a 5% entre todos os ensaios.

SÍMBOLOS UTILIZADOS NAS ETIQUETAS:

	Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	Utilizar até (data de validade)
	Conservar entre X-Y °C
	Código do lote
	Número de catálogo
	Consultar instruções de utilização
	Reconstituir em x µl
	Temperatura de envio
	Temperatura de conservação
	Não abrir até usar

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 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.

Para mais esclarecimentos, contactar:
customerservice@vircell.com

EDIÇÃO 2019-15-01
L-MBC075-PT-01

