

AMPLIRUN® TOTAL CT/NG CONTROL (URINE)

REF

MBTC003

CE 0318

Solo per uso diagnostico *in vitro*

SCOPO PREVISTO

Cellule inattivate di *Chlamydia trachomatis* (CT) e *Neisseria gonorrhoeae* (NG) formulate per imitare i campioni di urina umana e destinate a convalidare e controllare il trattamento, l'analisi e la rilevazione dei campioni nei test dell'acido nucleico utilizzando il prodotto come controllo esterno.

INTRODUZIONE

I batteri appartenenti al genere *Chlamydia* sono batteri intracellulari obbligati non mobili con un ciclo di vita unico che comprende due fasi: corpi reticolari e corpi elementari. La *Chlamydia trachomatis* (CT) comprende due biovarianti umane: il linfogranuloma venereo, che si contraddistingue per il suo tropismo per le cellule linfoidi e la capacità di causare malattie sistemiche, e la biovariante tracoma, limitata principalmente alle cellule epiteliali della mucosa delle membrane e in grado di causare tracoma, malattia sessualmente trasmessa e inclusione, congiuntivite e polmonite neonatali.

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 DEL KIT

VIRCELL TOTAL CONTROL sono liofilizzati. È necessario ricostituirli prima dell'uso (vedere la sezione "Preparazione del prodotto").

VIRCELL TOTAL CONTROL sono progettati per un solo utilizzo, il materiale non utilizzato deve essere scartato.

La rilevazione degli acidi nucleici richiede una fase di estrazione che consenta di liberare il DNA/RNA per l'amplificazione e la rilevazione.

MATERIALI FORNITI

[1] VIRCELL TOTAL CT/NG CONTROL (URINE): 10 fiale con cellule liofilizzate di *Chlamydia trachomatis* (20000-50000 copie/fiala) e *Neisseria gonorrhoeae* (20000-50000 copie/fiala). La concentrazione del lotto è indicata nel Certificato di Analisi.

La validazione della quantificazione è stata effettuata utilizzando uno strumento di PCR in tempo reale.

Materiali specifici necessari ma non forniti:

- Acqua di grado molecolare.
- Kit aggiuntivo di estrazione e rilevamento.

CONDIZIONI SPECIFICHE DI CONSERVAZIONE E MANIPOLAZIONE

Conservare a 2-8°C. Non usare i reagenti del kit dopo la data di scadenza. Questo è valido solo se i reagenti sono conservati chiusi e a 2-8°C.

STABILITÀ DURANTE L'USO

VIRCELL TOTAL CONTROL ricostituito: utilizzarlo in giornata, conservare in frigorifero per un massimo di 12 ore. Il prodotto non utilizzato deve essere gettato. La VIRCELL, S.L. non risponde del cattivo utilizzo dei reagenti inclusi nel kit.

AVVERTIMENTI E PRECAUZIONE

1. Solo per uso diagnostico *in vitro*. Per uso professionale.
2. L'uso del prodotto deve essere limitato al personale addestrato nella tecnica.
3. Si raccomanda all'utilizzatore di leggere attentamente e comprendere la scheda tecnica. Per ottenere dei risultati attendibili è importante attenersi rigorosamente al protocollo.
4. Indossare dispositivi di protezione individuale durante la manipolazione dei campioni e dei reagenti. Lavarsi le mani correttamente dopo aver maneggiato i campioni e i reagenti. Tutte le procedure devono essere eseguite in conformità con gli standard di sicurezza approvati.
5. L'uso di puntali per pipette filtranti è essenziale per evitare la contaminazione.
6. Non pipettare con la bocca.
7. Non usare qualora la confezione sia danneggiata.
8. Non usare il kit oltre la data di scadenza.

9. Non lasciare i reagenti a una temperatura diversa da quella consigliata più del necessario.

10. Tenere chiusi i contenitori per i campioni e i reagenti mentre non vengono manipolati.

11. Maneggiare in condizioni aseptiche per evitare contaminazioni microbiologiche.

12. Smaltire i reagenti e i rifiuti non utilizzati in conformità alle normative vigenti.

13. I reagenti di questo kit contengono microrganismi inattivati e potrebbero includere materiale genetico o sostanze di origine animale e/o umana. Anche se non è infettivo, questo materiale deve essere manipolato come potenzialmente infettivo. Tutti i materiali devono essere manipolati ed eliminati come potenzialmente infettivi. Osservare attentamente il regolamento vigente a livello locale in materia di rifiuti.

14. Il kit contiene parti in vetro che, in caso di rottura, potrebbero causare lesioni fisiche. Maneggiare con cura.

15. È necessario segnalare qualsiasi incidente grave verificatosi in relazione al dispositivo sia al fabbricante che all'autorità competente dello Stato membro in cui l'utilizzatore e/o il paziente è stabilito.

PREPARAZIONE DEL PRODOTTO

1. Aggiungere 1000 µl di acqua per biologia molecolare a ciascuna fiala [1] e mescolare fino a completa ricostituzione. La concentrazione cellulare sarà di circa 35000 copie/ml una volta ricostituita.

2. Agitare con vortex per 30 secondi per sciogliere e omogeneizzare completamente.

PROCEDURA DI ANALISI

Seguire le istruzioni del kit diagnostico trattando TOTAL CONTROL in modo identico a un campione clinico, utilizzando la quantità raccomandata per l'estrazione e la rilevazione.

CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO

Ogni lotto è sottoposto a controllo di qualità interno che esamina prima della liberazione del lotto. I risultati finali di controllo di qualità per ogni lotto particolare sono disponibili.

PROTOCOLLO DI VALIDAZIONE PER GLI UTENTI

Seguire le istruzioni per il kit di estrazione e rilevamento aggiuntivo.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI

Fare riferimento alle indicazioni del kit di estrazione e rilevamento aggiuntivo.

LIMITI DI UTILIZZO

1. Questo reagente è destinato a essere utilizzato con metodi di diagnostica umana. Altri metodi non sono stati verificati.
2. Questo controllo di marcia esterno non sostituisce i controlli interni del kit di diagnostica.
3. Non è possibile trarre conclusioni quantitative da un singolo campione a concentrazione nota. La quantificazione precisa dei campioni clinici può essere ottenuta solo con il metodo della curva standard usando un calibratore come MBC075 AMPLIRUN® NEISSERIA GONORRHOEAE DNA CONTROL o MBC012 AMPLIRUN® CHLAMYDIA TRACHOMATIS DNA CONTROL.
4. AMPLIRUN® TOTAL non è stato progettato per essere utilizzato con uno specifico kit diagnostico di un determinato produttore. Viene utilizzato per convalidare e controllare il trattamento, l'analisi e la rilevazione dei campioni di una procedura operativa di laboratorio diagnostico.

CARATTERISTICHE DELLE PRESTAZIONI

PRECISIONE

L'analisi PCR in tempo reale comprende 2 repliche di ciascuna fiala, che sono state analizzate 2 volte al giorno per 20 giorni (con operatori diversi e termociclatori diversi). Sono state analizzate le CV % della precisione intra-test, della precisione inter-test, della precisione inter-giornaliera e della precisione inter-laboratorio. I risultati ottenuti sono i seguenti:

Chlamydia trachomatis

Campione	Precisione intra-test %CV	Precisione inter-test %CV	Precisione tra giorni %CV	Precisione tra i laboratori %CV
Vircell Total Control	2,1	0,8	0,6	2,3

CV: Coefficiente di variazione

Campione	Precisione intra-test %CV	Precisione inter-test %CV	Precisione tra giorni %CV	Precisione tra i laboratori %CV
Vircell Total Control	1,5	0,9	1,1	2,1

CV: Coefficiente di variazione

TEST DI IDENTIFICAZIONE*Chlamydia trachomatis*

Dopo l'estrazione, è stata eseguita l'analisi PCR utilizzando una coppia di oligonucleotidi specifica per l'identificazione del *Chlamydia trachomatis*, precedentemente descritta in letteratura. Le reazioni hanno prodotto un'amplificazione specifica.

Neisseria gonorrhoeae

Dopo l'estrazione, è stata eseguita l'analisi PCR utilizzando una coppia di oligonucleotidi specifica per l'identificazione del *Neisseria gonorrhoeae*, precedentemente descritta in letteratura. Le reazioni hanno prodotto un'amplificazione specifica.

TEST DI QUANTIFICAZIONE

La quantificazione si basa sulla qPCR Real-Time utilizzando il metodo della curva standard. Analisi di PCR Real-Time di 3 repliche di ciascuna provetta. La concentrazione (Log copie/provetta) è determinata interpolando il valore di Ct per ciascuna replica sulla curva standard precedentemente ottenuta, realizzata con lo standard di quantificazione corrispondente.

I risultati ottenuti sono i seguenti:

Chlamydia trachomatis

% Coefficiente di variazione: 1,5

Neisseria gonorrhoeae

% Coefficiente di variazione: 1,1

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



Produttore

BIBLIOGRAFIA

1. Boel, C. H. et al. 2005. Evaluation of conventional and real-time PCR assays using two targets for confirmation of results of the COBAS AMPLICOR Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae test for detection of Neisseria gonorrhoeae in clinical samples. J Clin Microbiol, 43(5), 2231-5.
2. Hjeltnes, S. O. et al. 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.
3. Jatón, K. et al. 2006. A novel real-time PCR to detect Chlamydia trachomatis in first-void urine or genital swabs. J Med Microbiol, 55(12), 1667-1674.