

AMPLIRUN® TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL)

Usage *in vitro* uniquement

MBTC021 : Un panel constitué du mélange de 6 bactéries pathogènes gastro-intestinales inactivées et formulées dans une matrice qui simule un échantillon réel de selles. Le tableau 1 présente les informations relatives au type de bactérie, de souche et de milieu de culture utilisé pour chacune de ces bactéries. Ce contrôle a été développé afin de valider et contrôler le traitement de l'échantillon, l'amplification et la détection des acides nucléiques lors d'essais fondés sur l'identification moléculaire de bactéries gastro-intestinales, en utilisant le produit comme un contrôle externe.

INTRODUCTION :

La gastroentérite bactérienne est une maladie fréquente et largement répandue dans le monde, qui provoque des millions de morts chaque année. Elle est généralement causée par une intoxication alimentaire et de faibles niveaux d'assainissement de l'eau. Les symptômes les plus fréquents sont des vomissements, une diarrhée et un inconfort abdominal. L'identification de l'agent étiologique responsable de la gastroentérite bactérienne par les méthodes diagnostiques conventionnelles, telles que la culture et la microscopie, est lente et laborieuse. Les méthodes moléculaires ont l'avantage d'être des méthodes de détection plus précoces.

CARACTÉRISTIQUES DE LA TROUSSE :

Le contenu est lyophilisé. Il doit être reconstitué avant utilisation (voir « Préparation des réactifs »). Les composants Total Control sont destinés à un seul usage. Le matériel non utilisé doit être éliminé. La détection des acides nucléiques nécessite une étape d'extraction permettant la libération de l'ADN/ARN pour l'amplification et la détection.

DESCRIPTION DU PRODUIT :

Les différentes bactéries ont été mises en culture au sein du laboratoire (voir le tableau 1 pour le milieu de culture utilisé dans chaque cas), inactivées et diluées dans une matrice synthétique de selles. Cette matrice a été formulée pour imiter les échantillons réels selon l'échelle de Bristol. Cette matrice a été ajustée au type 7 de l'échelle de Bristol, qui correspond à des selles aqueuses.

BACTÉRIE	SOUCHE	MILIEU DE CULTURE
<i>Campylobacter jejuni</i>	Martin AS-83-79	Gélose sélective de <i>Campylobacter</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Souche type	Gélose au sang
<i>Escherichia coli</i>	EHEC	Gélose au sang
<i>Salmonella enteritidis</i>	CDC K-1891	Gélose au sang
<i>Shigella flexneri</i>	Sv 2b Gp B	Gélose au sang
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Billups-1803-68	Gélose au sang

Tableau 1.

COMPOSITION DU COFFRET :

1 VIRCELL TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL) : 10 ampoules avec un mélange de bactéries gastro-intestinales simulant un échantillon clinique de selles. Chacune des bactéries est présente à une concentration allant de 10 000 à 25 000 copies/ampoule. La concentration du lot est indiquée dans le Certificat d'analyse.

La validation de la quantification a été réalisée par une PCR en temps réel.

Matériel nécessaire non fourni :

Eau pour biologie moléculaire

Kit de extraction et diagnostic complémentaire

CONSERVATION :

Aucune condition particulière de transport n'est nécessaire. Conserver l'ampoule sous forme lyophilisée à 2-8 °C. Après reconstitution, la suspension doit être utilisée le jour même. Le produit non utilisé doit être éliminé.

STABILITÉ ET MANIPULATION DES RÉACTIFS :

Utiliser tous les réactifs dans des conditions aseptiques afin d'éviter toute contamination microbienne.

N'utiliser que la quantité de réactif nécessaire à la réalisation de l'essai.

Le produit est stable jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette à condition de suivre le mode d'emploi.

VIRCELL, S.L. dégage toute responsabilité en cas d'utilisation inappropriée des réactifs contenus dans le kit.

RECOMMANDATIONS ET PRÉCAUTIONS :

1. Ce produit est destiné uniquement au diagnostic *in vitro* et à un personnel qualifié.
2. L'utilisation de pointes de pipette à filtre est essentielle pour éviter toute contamination.
3. Les échantillons doivent être traités comme s'ils étaient infectieux en respectant les procédures de sécurité du laboratoire. Maintenir toutes les surfaces de travail propres et désinfectées à l'aide d'une solution fraîchement préparée d'hypochlorite de sodium à 0,5% dans de l'eau déionisée ou distillée.
4. Pour la réalisation du test, il est essentiel de disposer de zones de travail indépendantes.
5. Tout le matériel non utilisé doit être éliminé conformément à la réglementation applicable.
6. El composant VIRCELL TOTAL CONTROL pourra contenir du matériel génétique ou des substances d'origine animale et/ou humaine. VIRCELL TOTAL CONTROL pourra contenir un antigène inactivé, toutefois, il doit être considéré potentiellement infectieux et manipulé avec précaution. L'inactivation a été vérifiée par l'absence de croissance dans les mêmes conditions de culture utilisées pour chaque microorganisme. Aucune méthode actuelle ne peut garantir complètement l'absence d'agents infectieux. Tout le matériel doit être manipulé et éliminé comme s'il était potentiellement infectieux. Respecter la réglementation locale en matière de résidus.

PRÉPARATION DES RÉACTIFS :

1. Ajouter 500 µl d'eau pour biologie moléculaire à chaque ampoule 1 puis mélanger jusqu'à obtenir une reconstitution totale. La concentration sera d'environ 35000 copies/ml une fois reconstitué.
2. Agiter au vortex pendant 30 secondes pour dissoudre et homogénéiser complètement.
3. Suivre le mode d'emploi du kit de diagnostic en traitant le TOTAL CONTROL de la même manière qu'un échantillon clinique, et en utilisant la quantité recommandée pour l'extraction et la détection.

CONTRÔLE DE QUALITÉ INTERNE :

Chaque lot est soumis à un contrôle de qualité interne avant sa commercialisation. Le contrôle de qualité est effectué à l'aide d'un kit de préparation d'échantillons et d'un essai de PCR en temps réel pour la quantification. Les résultats finaux du contrôle de qualité de chaque lot sont disponibles.

INTERPRÉTATION DES RESULTATS ET PROTOCOLES DE VALIDATION POUR LES UTILISATEURS :

Voir les indications fournies dans les kits d'extraction et diagnostic supplémentaires.



LIMITES DU TEST :

1. Ce réactif est destiné à être utilisé avec des méthodes de diagnostic humain. Ce test n'a pas été vérifié avec d'autres méthodes.
2. Il est conseillé à l'utilisateur de ce kit de lire attentivement et de comprendre la notice. Le strict respect du protocole est nécessaire pour obtenir des résultats fiables.
3. L'utilisation de ce produit doit être réservée au personnel qualifié en biologie moléculaire.
4. L'utilisation de ce contrôle externe ne peut pas se substituer aux contrôles internes de la trousse.
5. Des conclusions sur la quantification ne peuvent pas être obtenues à partir d'un seul point de concentration connue. Une quantification précise de l'échantillon clinique requiert la méthode de la droite standard en utilisant un calibrateur.
6. AMPLIRUN® TOTAL n'a pas été conçu pour être utilisé avec le kit de diagnostic d'un fabricant en particulier. Il est utilisé pour valider et contrôler le traitement des échantillons, l'analyse et la détection d'une procédure opérationnelle en laboratoire de diagnostic.

PERFORMANCES :**• TEST D'IDENTITÉ**

Une analyse PCR a été réalisée après extraction avec un couple d'amorces spécifiques pour chacune des bactéries présentes dans le panel. Les réactions ont produit des fragments des tailles espérées.

• TEST DE QUANTIFICATION

La quantification est réalisée par une qPCR en temps réel en utilisant une courbe d'étalonnage. Cette méthode implique l'utilisation de multiples réplicats de différentes dilutions sérielles tant du produit que du standard de quantification.

• PRÉCISION INTRA-ASSAY










3 ampoules de produit ont été extraites dans des conditions identiques et 3 réplicats de chaque extraction ont été amplifiés par le même opérateur dans les mêmes conditions de qPCR.

Un coefficient de variation inférieur à 15% a été observé entre tous les essais.

• PRÉCISION INTER-ASSAY

1 ampoule de produit a été extraite et 3 réplicats de cette ampoule ont été amplifiés par 2 opérateurs différents pendant 3 jours consécutifs. Un coefficient de variation inférieur à 15% a été observé entre tous les essais.

SYMBOLES UTILISÉS SUR LES ÉTIQUETTES :

	Usage <i>in vitro</i>
	Utiliser avant le : (date de péremption)
	Conserver à x-y°C
	Numéro de lot
	Code produit
	Consulter la notice d'utilisation
	Reconstituer dans x µl
	Température de transport
	Température de conservation

BIBLIOGRAPHIE :

1. Alonso R, Martín A, Peláez T, Marín M, Rodríguez-Creixéms M and Bouza E. (2005). Toxigenic status of *Clostridium difficile* in a large Spanish teaching hospital. *J Med Microbiol.* 54, 159–162.
2. Bustin SA. (2000). Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *J Mol Endocrinol.* 25(2):169-193.
3. Bustin SA. (2002). Quantification of mRNA using real-time reverse transcription PCR (RT-PCR): trends and problems. *J Mol Endocrinol.* 29(1):23-39.
4. Freeman WM, Walker SJ, Vrana KE. (1999). Quantitative RT-PCR: pitfalls and potential. *Biotechniques.* 1999 26(1):112-122, 124-125.
5. Larionov A, Krause A, Miller W. (2005). A standard curve based method for relative real time PCR data processing. *BMC Bioinformatics.* 6:62.
6. Hsu, B.-M., Wu, S.-F., Huang, S.-W., Tseng, Y.-J., Ji, D.-D., Chen, J.-S. and Shih, F.-C. (2010) Differentiation and identification of *Shigella* spp. and enteroinvasive *Escherichia coli* in environmental waters by a molecular method and biochemical test. *Water Res* 44, 949–955.
7. Lee SH, Jung BY, Rayamahji N, Lee HS, Jeon WJ, Choi KS, Kweon CH, Yoo HS (2009). A multiplex real-time PCR for differential detection and quantification of *Salmonella* spp., *Salmonella enterica* serovar Typhimurium and *Enteritidis* in meats. *J Vet Sci.* 10(1):43-51.
8. Lewis SJ, Heaton KW. (1997). Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand J Gastroenterol.* 32(9):920-4.
9. O'Hanlon KA, Catarama TM, Duffy G, Blair IS, McDowell DA (2004). RAPID detection and quantification of *E. coli* O157/O26/O111 in minced beef by real-time PCR. *J Appl Microbiol.* 96(5):1013-23.
10. Randall L. (2010) Development and evaluation of internal amplification controls for use in a real-time duplex PCR assay for detection of *Campylobacter coli* and *Campylobacter jejuni*. *J Med Microbiol* 59:172-8.

Pour toute information complémentaire contacter :

customerservice@vircell.com

REVISION: 2019-06-07

L-MBTC021-FR-02

