

AMPLIRUN® TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL)

Für die *In-vitro*-Diagnostik

MBTC021: Eine Gruppe von sechs geläufigen gereinigten pathogenen enterischen Bakterien, die inaktiviert wurden, um nicht infektiös zu sein und die so zusammengesetzt sind, dass sie Stuhlproben nachahmen. Tabelle 1 listet Stämme und Nährmedien auf, die für jede in dieser Kontrolle enthaltene Bakterie verwendet werden. Dieser Kit dient zur Validierung und Kontrolle der Probenverarbeitung, -amplifikation und -nachweis in Nukleinsäure-Assays, die auf der molekularen Identifizierung von gastrointestinalen Bakterien basieren und das Produkt als externe Verlaufskontrolle verwenden.

EINLEITUNG:

Die bakterielle Gastroenteritis ist eine weltweit verbreitete Krankheit, die jedes Jahr Millionen von Menschen tötet. Sie ist in der Regel die Folge von Lebensmittelvergiftungen und unzureichender sanitärer Anlagen und Wasserhygiene. Die typischen Symptome sind Erbrechen, Durchfall und Bauchbeschwerden. Die Identifizierung des ätiologischen Wirkstoffs der bakteriellen Gastroenteritis durch konventionelle Diagnoseverfahren wie Kulturen und Mikroskopie ist mühsam und zeitaufwendig. Ein großer Vorteil molekularer Methoden ist die verkürzte Nachweiszeit.

MERKMALE:

Der Inhalt wird lyophilisiert. Vor Gebrauch muss die Nukleinsäure rekonstituiert werden (siehe „Vorbereitung der Reagenzien“). Gesamtkontrollen sind für den einmaligen Gebrauch ausgelegt, überschüssiges Material sollte entsorgt werden. Der Nachweis von Nukleinsäure erfordert einen Extraktionsschritt, der DNA/RNA zur Amplifikation und zum Nachweis freisetzt.

PRODUKTBESCHREIBUNG:

Die Bakterien wurden im Labor gezüchtet (siehe jeweils Tabelle 1 für das verwendete Nährmedium), inaktiviert und in einer synthetischen Stuhlmatrix verdünnt. Diese Matrix wurde zusammengesetzt, um reale Stuhlproben nach der Bristol-Skala nachzuahmen. Diese Matrix wurde gemäß einer Bristolskala von 7 zusammengesetzt, was zu einem wässrigen Stuhl führt.

BAKTERIE	ERREGERSTAMM	NÄHRMEDIUM
<i>Campylobacter jejuni</i>	Martin AS-83-79	Campylobacter selektiver Agar
<i>Clostridium difficile</i>	Art des Erregerstamms	Blutagar
<i>Escherichia coli</i>	EHEC	Blutagar
<i>Salmonella enteritidis</i>	CDC K-1891	Blutagar
<i>Shigella flexneri</i>	Sv 2b Gp B	Blutagar
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Billups-1803-68	Blutagar

Tabelle 1.

BESTANDTEILE DES KITS:

1 VIRCELL TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL): 10 Fläschchen mit einem Pool von lyophilisierten gastrointestinalen Bakterien in einer Stuhlprobe. Jede Bakterie befindet sich in einer Konzentration, die von 10000 bis 25000 Kopien/Fläschchen reicht. Die Chargenkonzentration ist im Analysezertifikat angegeben.

Die RNA-Quantifizierung erfolgte durch Real Time-PCR.

Zusätzlich benötigte Materialien, die nicht im Kit enthalten sind:

Wasser in Molekularbiologiequalität.

Zusätzliches Extraktions- und Diagnosekit.

LAGERBEDINGUNGEN:

Keine besonderen Transportbedingungen erforderlich. Lagern Sie das lyophilisierte Fläschchen bei 2-8°C. Nach der Rekonstitution sollte die Suspension noch am selben Tag angewendet werden. Das nicht verwendete Produkt sollte entsorgt werden.

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.

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 und nur für den professionellen Einsatz geeignet.
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. Die Bestandteile des VIRCELL TOTAL CONTROL Kit können möglicherweise genetisches Material oder genetische Substanzen tierischen und/oder humanen Ursprungs enthalten. VIRCELL TOTAL CONTROL enthält inaktivierte Mikroorganismen. Dennoch sollte das Produkt als potenziell infektiös angesehen und mit der nötigen Vorsicht behandelt werden. Die Inaktivierung wurde durch das Fehlen von Wachstum unter den gleichen Anzuchtbedingungen verifiziert, die für jeden Mikroorganismus gelten. 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 von Abfällen.

VORBEREITUNG DER REAGENZIEN:

1. Geben Sie 500 µl Wasser in Molekularbiologiequalität in das Fläschchen mit der Nummer 1 und mischen Sie es, bis es vollständig rekonstituiert ist. Die Konzentration wird ca. 35000 Kopien/ml für jede Bakterie in der Gruppe nach der Rekonstitution betragen.
2. 30 Sekunden lang bis zur vollständigen Auflösung und Homogenisierung vortexen.
3. Befolgen Sie die Anweisungen des Diagnostik-Kits, um die TOTAL CONTROL auf die gleiche Weise wie eine klinische Probe



zu behandeln, wobei die empfohlene Menge für die Extraktion und den Nachweis verwendet wird.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE:

Jede Charge wird internen Qualitätskontrollen unterzogen, bevor sie freigegeben wird. Die Qualitätskontrollanalyse wird mit einem Probenvorbereitung Kit und Real Time-PCR für die Quantifizierung durchgeführt. Für jede einzelne Charge sind abschließende Ergebnisse der Qualitätskontrolle verfügbar.

INTERPRETATION DER ERGEBNISSE UND TESTVALIDIERUNG FÜR ANWENDER:

Siehe Angaben des zusätzlichen Extraktions- und 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. Diese externe Verlaufskontrolle ersetzt nicht die internen Diagnosekit-Kontrollen.
5. Quantifizierungsergebnisse können nicht aus einer einzigen Punktprobe bekannter Konzentration gezogen werden. Eine genaue Quantifizierung der klinischen Proben konnte nur mit der Standardkurvenmethode mit einem Kalibrator erreicht werden.
6. AMPLIRUN® TOTAL wurde nicht entwickelt, um mit einem speziellen Diagnose-Kit eines bestimmten Herstellers verwendet zu werden. Es dient zur Validierung und Kontrolle der Probenverarbeitung, Analyse und Detektion eines diagnostischen Laborbetriebsverfahrens.

LEISTUNGSFÄHIGKEIT:

• IDENTITÄTSTEST

Die PCR-Analyse wurde nach der Extraktion mit einem spezifischen Oligonukleotidpaar für jede in der Gruppe vorhandene Bakterie durchgeführt. Die Reaktion ergab Fragmente in der zu erwartenden Größe.

• QUANTIFIZIERUNGSTEST

Die Quantifizierung beruht auf der Echtzeit-qPCR mithilfe von Standardkurven. Dieses Verfahren beinhaltet die Anwendung mehrerer Wiederholungen verschiedener serieller Verdünnungen sowohl des Produkts als auch des Quantifizierungsstandards.







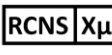


• INTRA-ASSAY-PRÄZISION

3 Probengefäße des Produkts wurden unter identischen Extraktionsbedingungen extrahiert und 3 Replikate jeder Extraktion wurden von demselben Bediener unter identischen qPCR-Bedingungen amplifiziert. Bei allen Assays wurde ein Variationskoeffizient von weniger als 15% festgestellt.

• INTER-ASSAY-PRÄZISION

Ein Fläschchen des Produkts wurde entnommen und 3 Replikate dieses Fläschchens wurden von 2 verschiedenen Anwendern an 3 aufeinander folgenden Tagen amplifiziert. Bei allen Assays wurde ein Variationskoeffizient von weniger als 15% festgestellt.

BENUTZTE ETIKETTEN-SYMBOLS:

	In-vitro-Diagnostikum: Medizinprodukt
	Verwendbar bis (Verfallsdatum)
	Bei x-y °C lagern
	Chargennummer
	Bestellnummer
	Gebrauchsanleitung beachten
	In x µl rekonstituieren
	Versandtemperatur
	Lagertemperatur

LITERATUR:

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.

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an:
customerservice@vircell.com

DURCHGESEHEN: 2019-06-07
L-MBTC021-DE-02

