

AMPLIRUN® TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL)

Solo per uso diagnostico *in vitro*

MBTC021: un pannello di sei batteri enterici patogeni comuni in pool, inattivati per renderli non infettivi e formulati in una matrice che imita i campioni di feci. La tabella 1 elenca i ceppi e i terreni di coltura usati per ogni batterio incluso in questo controllo. Questo kit è destinato a convalidare e controllare l'elaborazione, l'amplificazione e il rilevamento del campione nei test degli acidi nucleici basati sull'identificazione molecolare dei batteri gastrointestinali, utilizzando il prodotto come controllo esterno dell'esecuzione.

INTRODUZIONE:

La gastroenterite batterica è una patologia comune in tutto il mondo, che uccide milioni di persone ogni anno. Di solito è il risultato di un'intossicazione alimentare e di misure igieniche e di un'igiene dell'acqua di scarso livello. I sintomi tipici sono vomito, diarrea e dolori addominali. L'identificazione dell'agente eziologico della gastroenterite batterica mediante procedure diagnostiche convenzionali, come la coltura e la microscopia, è laboriosa e richiede molto tempo. Un vantaggio importante dei metodi molecolari è la riduzione dei tempi di rilevamento.

CARATTERISTICHE:

Il contenuto è liofilizzato. È necessario ricostituirlo prima dell'uso (vedere "Preparazione dei reagenti"). I controlli totali sono progettati per uso singolo, il materiale in eccesso deve essere eliminato. La rilevazione dell'acido nucleico richiede una fase di estrazione che rilascia DNA/RNA per l'amplificazione e la rilevazione.

DESCRIZIONE DEL PRODOTTO:

I batteri sono stati coltivati in laboratorio (consultare la Tabella 1 per il terreno di coltura usato in ogni caso), inattivati e diluiti in una matrice fecale sintetica. Tale matrice è stata formulata per imitare i campioni reali di feci in base alla scala delle feci di Bristol. Tale matrice è stata formulata in base alla scala di Bristol, in cui 7 indica le feci acquose.

BATTERIO	CEPPO	TERRENO DI COLTURA
<i>Campylobacter jejuni</i>	Martin AS-83-79	Agar selettivo per <i>Campylobacter</i>
<i>Clostridium difficile</i>	Ceppo tipo	Agar per sangue
<i>Escherichia coli</i>	EHEC	Agar per sangue
<i>Salmonella enteritidis</i>	CDC K-1891	Agar per sangue
<i>Shigella flexneri</i>	Sv 2b Gp B	Agar per sangue
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Billups-1803-68	Agar per sangue

Tabella 1.

COMPOSIZIONE DEL KIT:

1 VIRCELL TOTAL GASTROINTESTINAL BACTERIAL PANEL CONTROL (STOOL): 10 fiale con batteri gastrointestinali liofilizzati in pool in un campione di feci. La concentrazione di

ogni batterio è compresa tra 10.000 e 25.000 copie/fiala. La concentrazione del lotto è fornita nel Certificato di analisi.

La convalida della quantificazione è stata eseguita tramite PCR in tempo reale.

Materiali specifici necessari ma non forniti:

Acqua di grado molecolare.

Kit aggiuntivo di estrazione e rilevamento.

CONSERVAZIONE:

Non sono richieste condizioni di trasporto speciali. Conservare la fiala liofilizzata a 2-8°C. Dopo la ricostituzione, la sospensione deve essere utilizzata il giorno stesso. Il prodotto inutilizzato deve essere eliminato.

STABILITÀ E UTILIZZO DEI REAGENTI:

Maneggiare i reagenti in condizioni asettiche per evitare contaminazioni microbiologiche.

Utilizzare solo la quantità di reagente necessaria per il test.

Il prodotto è stabile fino alla data di scadenza indicata sull'etichetta, se si seguono le istruzioni per l'uso.

VIRCELL, S.L. non risponde del cattivo utilizzo dei reagenti inclusi nel kit.

RACCOMANDAZIONI E PRECAUZIONI:

- Questo prodotto è destinato esclusivamente all'uso diagnostico *in vitro* e da parte di personale qualificato e professionale.
- I puntali sterili con filtro per aerosol sono essenziali per prevenire la contaminazione.
- I campioni devono essere manipolati come se fossero infettivi utilizzando procedure di laboratorio per la sicurezza. Pulire e disinfettare accuratamente tutti i piani di lavoro con una soluzione di ipoclorito di sodio allo 0,5% in acqua deionizzata o distillata preparata al momento.
- Per eseguire il test è essenziale disporre di aree di lavoro separate.
- Smaltire i reagenti e i rifiuti non utilizzati in conformità alle normative vigenti.
- Il componente VIRCELL TOTAL CONTROL può comprendere materiale genetico o sostanze di origine animale e/o umana. VIRCELL TOTAL CONTROL contiene microrganismi inattivati, tuttavia, deve essere considerato potenzialmente infettivo e maneggiato con cura. L'inattivazione è stata verificata dall'assenza di crescita nelle stesse condizioni di coltura utilizzate per ciascun microrganismo. Nessun metodo attuale può dare la completa sicurezza che questi o altri agenti infettivi siano assenti. Tutti i materiali devono essere maneggiati ed eliminati come potenzialmente infetti. Osservare la regolamentazione locale per l'eliminazione dei rifiuti.

PREPARAZIONE DEI REAGENTI:

- Aggiungere 500 µl di acqua di grado per biologia molecolare alla fiala **1** e miscelare fino alla ricostituzione completa. Dopo la ricostituzione, la concentrazione sarà di circa 35.000 copie/ml per ogni batterio nel pannello.
- Agitare con il vortex per 30 secondi per sciogliere e omogeneizzare completamente.
- Seguire le istruzioni del kit diagnostico trattando TOTAL CONTROL allo stesso modo di un campione clinico, utilizzando la quantità raccomandata per l'estrazione e la rilevazione.



CONTROLLO DI QUALITÀ INTERNO:

Ogni lotto viene sottoposto a test interni di controllo qualità prima del rilascio. L'analisi del controllo qualità viene eseguita utilizzando un kit per la preparazione del campione e un kit PCR in tempo reale per la quantificazione. I risultati finali del controllo di qualità sono disponibili per ogni lotto.

INTERPRETAZIONE DEI RISULTATI E PROTOCOLLO DI CONVALIDA PER GLI UTENTI:

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

LIMITI DEL METODO:

1. Questo reagente è destinato ad essere utilizzato con metodi di diagnostica umana. Questo test non è stato verificato con altri metodi.
2. Prima di utilizzare il kit leggere attentamente la scheda tecnica. Per ottenere risultati attendibili è importante attenersi rigorosamente al protocollo.
3. Questo prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale esperto di tecniche molecolari.
4. Questo controllo esterno non sostituisce i controlli del kit diagnostico interno.
5. Non è possibile trarre conclusioni quantitative da un singolo campione a concentrazione nota. Una precisa quantificazione del campione clinico può essere ottenuta solo con il metodo della curva standard utilizzando un calibratore.
6. AMPLIRUN® TOTAL non è stato progettato per essere utilizzato con alcun kit diagnostico specifico di un determinato produttore. Viene utilizzato per convalidare e controllare l'elaborazione dei campioni, l'analisi e la rilevazione di una procedura funzionale del laboratorio diagnostico.

CARATTERISTICHE SPECIFICHE:**• TEST D'IDENTITÀ**

L'analisi PCR è stata eseguita dopo l'estrazione con una coppia oligonucleotidica specifica per ogni batterio presente nel pannello. Le reazioni hanno prodotto frammenti delle dimensioni previste.

• TEST DI QUANTIFICAZIONE

La quantificazione si basa sulla qPCR Real-Time utilizzando il metodo della curva standard. Questo metodo comporta l'uso di più replicati di diluizioni seriali diverse del prodotto e dello standard di quantificazione.










• PRECISIONE INTRA-DOSAGGIO

Sono state estratte 3 fiale di prodotto in condizioni di estrazione identiche e sono state amplificate 3 repliche da parte dello stesso operatore in condizioni identiche di qPCR. È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 15% tra tutti i test.

• PRECISIONE INTER-DOSAGGIO

È stata estratta 1 fiala di prodotto e sono state amplificate 3 repliche da parte di 2 operatori diversi in 3 giorni consecutivi. È stato osservato un coefficiente di varianza inferiore al 15% tra tutti i test.

SIMBOLI USATI SULLE ETICHETTE:

	Dispositivo medico per uso diagnostico <i>in vitro</i>
	Usare fino a (data di scadenza)
	Conservare a x-y°C
	Codice del lotto
	Codice del prodotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Ricostituire in x µl
	Temperatura di spedizione
	Temperatura di stoccaggio

BIBLIOGRAFIA:

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.

Per ulteriori informazioni contattare:

customerservice@vircell.com

EDIZIONE: 2019-06-07

L-MBTC021-IT-02

