



SZABO SCANDIC

Part of Europa Biosite

Produktinformation



Forschungsprodukte & Biochemikalien



Zellkultur & Verbrauchsmaterial



Diagnostik & molekulare Diagnostik



Laborgeräte & Service

Weitere Information auf den folgenden Seiten!
See the following pages for more information!



Lieferung & Zahlungsart

siehe unsere [Liefer- und Versandbedingungen](#)

Zuschläge

- Mindermengenzuschlag
- Trockeneiszuschlag
- Gefahrgutzuschlag
- Expressversand

SZABO-SCANDIC HandelsgmbH

Quellenstraße 110, A-1100 Wien

T. +43(0)1 489 3961-0

F. +43(0)1 489 3961-7

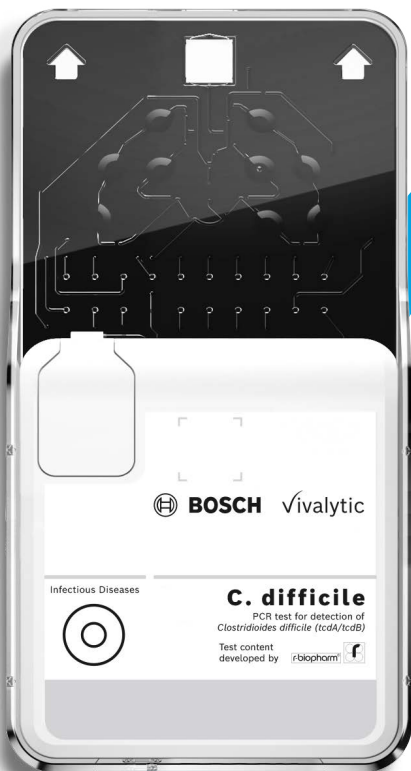
mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

[linkedin.com/company/szaboscandic](https://www.linkedin.com/company/szaboscandic) 



BOSCH



vivalytic

C. difficile

PCR test for detection of
Clostridioides difficile (tcdA/tcdB)

Instructions for Use
Gebrauchsanweisung

Table of contents

English	2
Deutsch	8
Nederlands	14
Français	20
Italiano	26
Norsk	32
Svenska	38
Suomi	44
Dansk	50
Eestlane	56
Latviski	62
Polski	68
Čeština	74
Slovenský	80
Magyar	86
Română	92
Hrvatski	98
Slovenščina	104
Български	110
Ελληνικά	116
Español	123
Português	129
Annex	135

Introduction

Clostridioides difficile (*C. difficile*) is a gram-positive, spore-forming anaerobic bacillus consisting of toxigenic and non-toxigenic strains.

C. difficile is one of the most common pathogens of nosocomial diarrhea, especially in patients with antibiotic-associated diarrhea. In recent years, the number and severity of cases has increased in Europe and worldwide.¹

The symptoms of *C. difficile* infection (CDI) ranges from mild diarrhea to severe life-threatening pseudomembranous colitis, although colonization of *C. difficile* does not necessarily lead to a symptomatic infection. The disruption of the balance of gut microorganisms e.g. due to antibiologically treatment may cause toxigenic *C. difficile* to establish, dominate colonization and might be the start of CDI.²

Factors involved in the pathogenesis of *C. difficile*, are the genes *tcdA* and *tcdB* that code for toxin A (enterotoxin) and toxin B (cytotoxin) which are located in a 19.6 kb chromosomal region called the pathogenicity locus (PaLoc). Most pathogenic strains are toxin A and B positive (A+B+), but some pathogenic variant isolates may be toxin A negative and B positive (A-B+). They are the cause of *C. difficile*-associated diseases.³

Some strains of toxigenic *C. difficile* also produce a toxin called *C. difficile* transferase (CDT), or binary toxin.⁴

Package Contents

15 Vivalytic *C. difficile* test cartridges for the qualitative detection of *Clostridioides difficile* specific *tcdA/tcdB* toxin gene sequences.

Intended Use

The Vivalytic *C. difficile* test is an automated qualitative *in vitro* diagnostic test based on real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of nucleic acids from toxigenic *C. difficile* (toxin genes *tcdA/tcdB*) from liquid or soft human stool swabs to aid in the diagnosis of acute gastrointestinal infections of symptomatic individuals.

Results should not be used as the sole basis for diagnosis, treatment, or other patient management decisions. Positive results do not exclude co-infection with other pathogens. The agent(s) detected may not be the definite cause of disease. Negative results do not exclude a *C. difficile* infection or another gastrointestinal infection. Results must be clinically correlated with patient history, clinical observations, and epidemiological information. Other diagnostic information is necessary to determine patient infection status. Intended for use with a Vivalytic *one* analyser by healthcare professionals only in laboratory settings such as hospital laboratories and reference laboratories.

Safety Information

These Instructions for Use contain test-specific information only. For additional warnings and instructions refer to the Instructions for Use provided with your Vivalytic *one* analyser (chapter device safety information). Only use Vivalytic cartridges and accessories approved for the Vivalytic *one* analyser. Take care to avoid any contamination when handling patient samples and cartridges. When sample was spilled on the cartridge, do not use the cartridge, and dispose it.

For *in vitro* diagnostic use by trained healthcare professional.

**WARNING**

- Always follow good laboratory practice to ensure the proper performance of this test.
- Make sure to wear appropriate personal protective equipment (PPE).
- Do not use a cartridge if the sealed pouch or the cartridge itself is visibly damaged.
- Do not touch or scratch the detection area of the cartridge.
- Do not reuse a cartridge.
- Do not use expired cartridges. The expiration date can be found on the packaging and the cartridge label.
- Do not wait longer than 15 minutes after opening the cartridge pouch to begin the test. This maintains hygiene and avoids performance loss due to humidity. Prolonged exposure to humidity has a negative impact on test performance.
- Do not shake a cartridge that contains a sample.
- Do not turn the cartridge upside down.
- Place the cartridge on a clean and flat surface only.
- Do not use sample types, media and volumes that are not approved for the test.
- Always follow good laboratory practice to ensure the proper performance of this test.
- Biological specimens, transfer devices, and used cartridges should be considered capable of transmitting infectious agents requiring standard precautions. Handle potentially infectious patient samples and cartridges according to national laboratory standards and dispose samples and cartridges according to regional and laboratory standards.
- Be compliant with the national safety regulations and practices.

Note: Further information can be found in the safety data sheet (SDS) of the product. Please contact the customer support of your local distributor.

Additional Equipment & Consumables Required but not Provided

- Bosch Vivalytic *one* analyser (reference number F 09G 300 115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile filter pipette tips 100 – 1000 µl
- Swab collection kits
 - Regular Flocked Swab FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transport medium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Suitable protective clothing

Test Principle

Vivalytic C. difficile is a qualitative real-time PCR based test.

Storage und Usage Conditions

Product is stable until the expiry date if stored at +15 °C to +25 °C. Storage and usage conditions can be taken either from the cartridge, pouch, or box label. Cartridge has to be used at +15 °C to +25 °C, relative humidity <65 %, within 15 min upon pouch opening. This maintains hygiene and avoids performance loss due to humidity. Prolonged exposure to humidity has a negative impact on test performance.

Reagents

All reagents necessary for the sample processing are integrated into the cartridge. The processing includes cell lysis, nucleic acid extraction, DNA amplification and detection.

Reagents are PCR bead, binding buffer, washing buffer, and elution buffer. The PCR bead contains the DNA polymerase, primers, and probes. Binding buffer facilitates binding of nucleic acids during the purification process. Washing buffer is a formulation of different salts and solvents to remove impurities e. g. proteins during the extraction process. Elution Buffer is a low-salt buffer and contains the purified nucleic acids at the end of the extraction process.

Sample Types / Medium

The test is intended for use with stool swab samples in eNAT® medium (Regular Flocked Swab FLOQSwabs® 552C, eNAT® transport medium Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Collect and store samples as indicated in the manufacturer's instructions.

In case the sample is not processed immediately after sample collection, nucleic acids will be preserved in eNAT® transport medium for up to 4 weeks at room temperature and at 4°C and up to 6 months at -20° C to -80° C (see Instructions for Use eNAT® transport medium⁵).

Sample Preparation

Use a Regular Flocked Swab FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) to collect a small amount of stool by inserting the tip of the flocked swab into the stool sample and rotate it. Bloody, slimy, or watery area of stools should be selected and collected. After collection, examine the swab to make sure there is fecal material visible on the tip. In case it is not, again insert the flocked swab into the stool sample and rotate taking care that all the area of the swab tip is in contact with the sample. After collection transfer the swab into the 2 ml Copan eNAT® tube with eNAT® transport medium. Hold the swab shaft between thumb and finger, mash and mix the stool specimen against the side of the tube to evenly disperse and suspend the specimen in the preservation medium. Hold the swab shaft close to the rim of the tube, bend it at a 180 degrees angle to break it off at the marked breakpoint. Discard the broken upper part of the swab shaft and tighten the cap. Shake the sample tube containing the swab sample and eNAT® medium (COPAN Italia s.p.a.) thoroughly for homogenization and use a pipettor in order to fill 300 µl of homogenized patient sample in the sample input of the cartridge. Do not use viscous samples that are difficult to pipette.

Test Result

After automatic processing of the sample with the Vivalytic *one* analyser the test result is shown on the screen of the Vivalytic *one* analyser. The time to result is about 50 min. For high titer specimens results are available after less than 35 min and the test run can be terminated earlier (see Chapter Test Termination).

The sample is classified either as *C. difficile* positive, *C. difficile* negative or invalid. In case of a positive detection of *C. difficile*, the test is considered valid even if the Human Control is negative.

Detection of the human cell based whole process control (Human Control) in negative samples shows a successful extraction procedure and excludes an inhibition of the PCR reaction. Interpretation of results is shown in the table below.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validity	Result
+	+/-	valid	Sample is considered positive for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB toxin gene detected).
-	+	valid	Sample is considered negative for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB toxin gene not detected)
-	-	invalid	Not evaluable. ¹

¹ Retesting is recommended.

PCR – Curve and C_q Value

Real-time PCR curves (software-modified) are shown and classified as positive or negative by the software. In case of positive curves, the respective C_q value is displayed. Inconclusive results are marked by the software (△). Retesting is advised.

Vivalytic *C. difficile* – Instructions for Use

Invalid or Failed Tests

A test is rated as invalid if neither target DNA nor Human Control is detected. Possible reasons for an invalid run might be poor sample quality due to a partial or complete absence of human cellular material in the sample. Results are displayed for an invalid test but are not allowed to be used for diagnostic interpretation. Pay attention to use the correct sample type, sample collection and storage of the sample and cartridges prior to the test run. If required, repeat the analysis with a new sample.

In case of a failed test, first check for correct operating conditions of the Vivalytic *one* analyser (refer to Vivalytic *one* analyser's Instructions for Use). Restart the Vivalytic *one* analyser. If the problem persists, contact the customer support of your local distributor.

Test Termination

As soon as a valid, positive *C. difficile* result is shown on the screen, the user has the option to finish the test.

Test Report

In the printed test report, pathogen, results, control and information on user, patient and Vivalytic *one* analyser are listed with a signature field.

Quality Control

If required by your local or laboratory standards, quality control testing must be performed.

In case a reference testing method for quality control is needed the following reference materials can be used:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Please follow the manufacturer's instructions.

In case of unexpected results, repeat the analysis with another sample. If the result of a negative quality control sample e. g. pure eNAT® medium remains positive, the Vivalytic *one* analyser or its environment might be contaminated. Stop using the Vivalytic *one* analyser and clean the device as described in the Instructions for Use of the Vivalytic *one* analyser.

In case of repeated false results for quality control samples please contact the customer support of your local distributor.

Notice to Users in EU

Any serious incident that has occurred in relation to the device, should be reported to the manufacturer and the competent authority of the Member State in which the user and/or patient is established.

Limitations

The results of the Vivalytic *C. difficile* test must be interpreted by a trained healthcare professional only. The results of the Vivalytic *C. difficile* test must not be used as the sole parameter for diagnosis.

- A negative result does not exclude pathogens being present in the sample at a level below assay sensitivity or other pathogens being present not covered by this assay.
- There is a risk of false negative or false positive results due to improperly collected, transported, or handled samples.
- In borderline cases atypical PCR characteristics (e. g. flat curve with low or high C_q -value) can occur. In case of atypical characteristics results are not allowed to be used for diagnostic interpretation. Inconclusive results are marked by the software. Retesting is advised.
- Vivalytic *C. difficile* is a qualitative real-time PCR test and does not provide a quantitative result.
- A positive result does not necessarily mean that viable pathogens are present.
- The test detects *C. difficile* carrying *tcdA/tcdB* genes, but does not differentiate between toxin producing and non-toxin producing strains
- A negative result does not preclude *C. difficile* infection. It is recommended that negative tested samples are interpreted in the context with additional laboratory data
- An excess amount of stool may have inhibitory effects on the assay performance.

Analytical Performance Evaluation

Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The limit of detection of the Vivalytic C. difficile test was determined as the lowest concentration of analyte that can be consistently detected ($\geq 95\%$ of samples tested under routine laboratory conditions using a defined type of sample).

Inclusivity

To evaluate inclusivity, an *in silico* analysis (BLAST alignment) of the genomic sequence of various relevant C. difficile strains against the sequence of the PCR primers and hydrolysis probe used in the Vivalytic C. difficile test for amplification and detection of the respective pathogens was performed. Inclusivity could be shown for strains listed in [Table 2](#).

Exclusivity / Analytical Specificity

To exclude cross-reactivity (exclusivity), an *in silico* analysis (BLAST alignment) of the target region of C. difficile against the genomic sequence of various other pathogens representing common gastrointestinal pathogens or closely related species was conducted. There was no evidence of an interference ([Table 3](#)).

Reproducibility

The reproducibility of the Vivalytic C. difficile test was established using a panel with 3 different concentrations of C. difficile. At 3 test sites, each mix was tested on the same set of Vivalytic instruments by the same operator with 3 LOTs in 4 replicates on 3 days, respectively, yielding in a total of 324 observations per target pathogen. The obtained positivity rates for the different combinations were correlated to the expected positivity rate ([Table 4a](#)).

Repeatability

The repeatability of the Vivalytic C. difficile test was established using a panel with 1 concentration (3x c95) of C. difficile. At 1 test site, the mix was tested on the same set of Vivalytic instruments by the same operator with 3 LOTs in 20 replicates on 1 day, respectively, yielding in a total of 60 observations per target pathogen. The obtained positivity rates for the different combinations were correlated to the expected positivity rate ([Table 4b](#)).

Interferences

Interferences were evaluated for endogenous and exogenous substances, that are potentially present in the patient sample. Refer to [Table 5](#) for substances that have the potential to interfere with the test.

Clinical Performance Evaluation

Sensitivity and specificity results derived from native liquid and soft human stool samples. Samples were collected in a clinical setting and compared with results of reference methods.

Samples for testing with Vivalytic C. difficile cartridges were freshly used or frozen for storage and prepared as describe above in eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

In case of reference testing samples were prepared according to recommendations of used reference methods. In total, 124 samples were analysed. Sensitivity or Positive Percent Agreement (PPA) was calculated as $100\% \times TP / (TP+FN)$. Specificity or Negative Percent Agreement was calculated as $100\% \times TN / (TN+FP)$. The results of the clinical performance evaluation are shown in [Table 6](#).

Technical Support

In case of questions please contact your local distributor or send a message to the customer service of Vivalytic (email: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Vivalytic C. difficile – Instructions for Use

References

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbols



Manufacturer



Serial number



Date of manufacture



Temperature limit



Expiry date



Do not use if package is damaged



Lot number



For single use only



Reference number



Consult Instructions for Use



Contains <n> tests



in vitro diagnostic medical device



CE mark



Pipette the indicated sample volume in the sample input of the cartridge as marked by the black triangle.

Einleitung

Clostridioides difficile (*C. difficile*) ist ein gram-positives, sporenbildendes, anaerobes Bakterium, das toxische und nicht-toxische Stämme umfasst.

C. difficile ist einer der häufigsten Erreger nosokomialer Durchfallerkrankungen, insbesondere bei Patienten mit antibiotikaassoziiierter Diarrhö. In den letzten Jahren haben Anzahl und Schwere der Fälle in Europa und weltweit zugenommen.¹

Die Symptome einer Infektion mit *C. difficile* reichen von leichtem Durchfall bis hin zu einer schweren, lebensbedrohlichen pseudomembranösen Kolitis, wobei eine Kolonisierung mit *C. difficile* nicht zwangsläufig zu einer symptomatischen Infektion führt. Die Störung des Gleichgewichts der Darmmikroorganismen, z. B. durch eine Antibiotikabehandlung, kann dazu führen, dass sich toxische *C. difficile*-Stämme ansiedeln, die die Besiedlung dominieren und eine Infektion auslösen.²

Krankheitsrelevant sind bei *C. difficile* die Gene *tcdA* und *tcdB*, die für Toxin A (Enterotoxin) und Toxin B (Cytotoxin) codieren und sich in einer 19,6 Kilobasenpaare (kb) umfassenden chromosomalen Region befinden, die als Pathogenitätslocus (PaLoc) bezeichnet wird. Die meisten pathogenen Stämme sind Toxin-A- und -B-positiv (A+B+), einige pathogene Isolate können jedoch Toxin-A-negativ und -B-positiv (A-B+) sein. Sie sind die Auslöser von *C. difficile*-assoziierten Erkrankungen.³

Einige toxische *C. difficile*-Stämme produzieren zusätzlich das binäre Toxin *C. difficile*-Transferase (CDT).⁴

Inhalt

15 Vivalytic *C. difficile* Testkartuschen für den qualitativen Nachweis von *Clostridioides difficile*-spezifischen *tcdA/tcdB*-Toxin-Gensequenzen.

Zweckbestimmung

Der Vivalytic *C. difficile* Test ist ein automatisierter qualitativer *in-vitro*-Diagnostiktest basierend auf der Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis der Nukleinsäuren in toxischen *C. difficile*-Stämmen (Toxische *tcdA/tcdB*) in Abstrichproben aus flüssigem oder ungeformtem humanem Stuhl zur Unterstützung der Diagnose von akuten gastrointestinalen Infektionen bei symptomatischen Personen.

Die Ergebnisse dürfen nicht als alleinige Grundlage für die Diagnose, Behandlung oder andere Entscheidungen zum Patientenmanagement verwendet werden. Positive Ergebnisse schließen eine Co-Infektion mit anderen Erregern nicht aus. Nachgewiesene Erreger sind nicht zwangsläufig die eindeutige Ursache der Erkrankung. Negative Ergebnisse schließen eine Infektion mit *C. difficile* oder eine andere gastrointestinale Infektion nicht aus. Die Ergebnisse müssen klinisch mit der Patientenanamnese, klinischen Beobachtungen und epidemiologischen Informationen korreliert werden. Weitere diagnostische Informationen sind notwendig, um den Infektionsstatus des Patienten zu bestimmen. Vorgesehen für die Verwendung mit einem Vivalytic *one* Analyser und ausschließlich durch medizinisches Fachpersonal in Laboreinrichtungen, wie Krankenhaus- und Referenzlaboren.

Sicherheitsinformationen

Diese Gebrauchsanweisung enthält ausschließlich testspezifische Informationen. Für generelle Warnungen und Hinweise zum Vivalytic *one* System ist die Bedienungsanleitung des Analysers zurate zu ziehen (Kapitel „Gerätesicherheit“). Nur Vivalytic Kartuschen und für den Vivalytic *one* Analyser zugelassene Zubehörteile für die Nutzung verwenden. Bei der Handhabung von Patientenproben und Kartuschen ist darauf zu achten, Kontaminationen zu vermeiden. Wenn auf einer Kartusche Probe ausgelaufen ist, die Kartusche nicht verwenden und die Kartusche entsorgen.

Für die Anwendung als *in-vitro*-Diagnostikum durch geschulte medizinische Fachkräfte.

**WARNUNG**

- Beachten Sie die Grundsätze der guten Laborpraxis.
- Geeignete persönliche Schutzausrüstung tragen.
- Bei sichtbarer Beschädigung der Kartusche oder der versiegelten Umverpackung bitte die Kartusche nicht benutzen.
- Den Detektionsbereich der Kartusche nicht berühren oder verkratzen.
- Die Kartusche nicht wiederverwenden.
- Keine abgelaufenen Kartuschen benutzen. Das Ablaufdatum befindet sich auf der Verpackung.
- Den Test nach dem Öffnen des Kartuschenbeutels innerhalb von 15 Minuten starten. Dies beugt Verunreinigungen vor und verhindert einen Performanceverlust aufgrund von Feuchteeinwirkung. Längere Verarbeitungszeiten im geöffneten Zustand können die Testperformance beeinträchtigen.
- Die mit einer Probe befüllte Kartusche nicht schütteln.
- Drehen Sie die Kartusche nicht kopfüber.
- Die Kartusche nur auf saubere und ebene Oberflächen legen.
- Nur zugelassene Probentypen, -medien und Probenvolumina nutzen.
- Beachten Sie die Grundsätze der guten Laborpraxis.
- Biologische Proben, Transportmedien und verwendete Kartuschen sollten als potentiell infektiös behandelt und entsprechende Schutzmaßnahmen angewendet werden. Potenziell infektiöses Probenmaterial und Kartuschen sind gemäß entsprechender Laborpraxis zu handhaben. Proben und Kartuschen sind gemäß regionaler und laborspezifischer Standards zu entsorgen.
- Halten Sie sich an nationale Sicherheitsvorschriften und -praktiken.

Hinweis: Weitere Informationen sind dem Sicherheitsdatenblatt (SDB) des Produkts zu entnehmen. Kontaktieren Sie diesbezüglich Ihren lokalen Kundensupport.

Zusätzlich benötigte Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien (nicht mitgeliefert)

- Bosch Valytic *one* Analyser (Referenznummer F 09G 300 115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile Filterpipettenspitzen 100–1000 µl
- Probenabstrichsysteme
 - FLOQSwabs® 552C, beflockte Tupfer, regulär (COPAN Italia S.p.A.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geeignete Schutzkleidung

Testprinzip

Valytic C. difficile ist ein qualitativer Test auf Real-Time-PCR-Basis.

Lager- und Gebrauchstemperatur

Bei einer Lagerung zwischen +15 °C und +25 °C ist das Produkt bis zum Verfallsdatum stabil. Lager- und Gebrauchstemperatur können dem Kartuschen-, Umverpackungs- oder Verpackungsetikett entnommen werden. Kartuschen müssen bei +15 °C bis +25 °C, bei einer maximalen relativen Luftfeuchtigkeit von < 65 % und innerhalb von 15 Minuten nach dem Öffnen der Umverpackung verwendet werden. Dies beugt Verunreinigungen vor und verhindert einen Performanceverlust aufgrund von Feuchteeinwirkung. Längere Verarbeitungszeiten im geöffneten Zustand können die Testperformance beeinträchtigen.

Reagenzien

Alle Reagenzien, die für die Probenprozessierung benötigt werden, sind in der Kartusche integriert. Das Prozessieren umfasst die Zellyse, die Nukleinsäureextraktion, Amplifikation der DNA und Detektion.

Die Kartusche enthält die Reagenzien PCR-Bead, Bindepuffer, Waschpuffer und Elutionspuffer. Das PCR-Bead enthält die DNA-Polymerase sowie Primer und Sonden. Der Bindepuffer erleichtert die Bindung von Nukleinsäuren während des Aufreinigungsprozesses. Der Waschpuffer ist eine Formulierung aus verschiedenen Salzen und Lösungsmitteln, um Verunreinigungen

wie z. B. Proteine während des Extraktionsprozesses zu entfernen. Der Elutionspuffer ist ein salzarmer Puffer und enthält die aufgereinigten Nukleinsäuren am Ende des Extraktionsprozesses.

Probentypen/-medium

Der Test ist zur Verwendung mit Stuhlabstrichproben in eNAT® Medium (reguläre beflockte Tupfer FLOQSwabs® 552C, eNAT® Transportmedium 606C, COPAN Italia S.p.A.) vorgesehen.

Die Proben sind gemäß Herstelleranleitung zu entnehmen und zu lagern.

Falls die Probe nicht sofort nach der Probengewinnung analysiert wird, sind die Nukleinsäuren in eNAT® Transportmedium bei Raumtemperatur und bei 4 °C bis zu 4 Wochen bzw. bei -20 °C bis -80 °C bis zu 6 Monate haltbar (siehe Gebrauchsanweisung des eNAT® Transportmediums⁵).

Probenvorbereitung

Nehmen Sie mit einem regulären beflockten Tupfer (FLOQSwabs®, COPAN Italia S.p.A.) eine kleine Menge Stuhl auf, indem Sie die Spitze des beflockten Tupfers in die Stuhlprobe eintauchen und drehen. Es sollten gezielt blutige, schleimige oder wässrige Bereiche der Stuhlprobe ausgewählt und aufgenommen werden. Vergewissern Sie sich nach der Probengewinnung, dass an der Tupferspitze Stuhlprobenmaterial sichtbar ist. Ist dies nicht der Fall, tauchen Sie den beflockten Tupfer erneut in die Stuhlprobe ein und drehen Sie ihn. Achten Sie darauf, dass alle Bereiche der Tupferspitze mit der Probe in Kontakt kommen. Geben Sie den Tupfer nach der Probengewinnung in das Copan eNAT® 2-ml-Röhrchen mit eNAT® Transportmedium. Halten Sie den Stiel des Tupfers zwischen Daumen und Zeigefinger und drücken Sie den Tupfer in drehenden Bewegungen gegen die Röhrchenwand, sodass die Stuhlprobe gleichmäßig im Konservierungsmedium verteilt und gelöst wird. Halten Sie den Stiel des Tupfers nahe am Röhrchenrand fest, biegen Sie ihn um 180 Grad und brechen Sie ihn an der markierten Bruchstelle ab. Entsorgen Sie den abgebrochenen oberen Teil des Tupfers und verschließen Sie das Röhrchen mit dem Deckel. Das Probenröhrchen mit der Abstrichprobe und dem eNAT® Medium (COPAN Italia s.p.a.) zur Homogenisierung gründlich schütteln und mit einem Pipettor 300 µl homogenisierte Probe in die Probeneingabe der Kartusche pipettieren.

Nutzen Sie keine viskosen Proben, die schwierig zu pipettieren sind.

Testergebnis

Nach der automatischen Verarbeitung der Probe mit dem Vivalytic *one* Analyser wird das Testergebnis auf dem Bildschirm des Vivalytic *one* Analysers angezeigt. Das Ergebnis wird nach ca. 50 Minuten angezeigt. Für Proben mit hohem Titer liegen die Ergebnisse nach weniger als 35 Minuten vor und der Testlauf kann vorzeitig beendet werden (siehe Abschnitt „Beendigung des Tests“).

Die Probe wird entweder als *C. difficile*-positiv, *C. difficile*-negativ oder invalide klassifiziert. Bei einem positiven Nachweis von *C. difficile* wird der Test als valide gewertet, selbst wenn die Human Control negativ ist.

Die Detektion der humanzellbasierten Gesamtprozesskontrolle (Human Control) in negativen Proben zeigt eine erfolgreiche Extraktion an und schließt eine Inhibierung der PCR-Reaktion aus. Die Interpretation der Ergebnisse ist in der folgenden Tabelle zusammengefasst.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validität	Ergebnis
+	+/-	valide	Die Probe gilt als positiv für <i>C. difficile</i> (Nachweis des tcdA/tcdB-Toxingens).
-	+	valide	Die Probe gilt als negativ für <i>C. difficile</i> (kein Nachweis des tcdA/tcdB-Toxingens).
-	-	invalide	Nicht auswertbar. ¹

¹ Ein erneutes Testen wird empfohlen.

PCR – Kurve und C_q-Wert

Die Real-Time-PCR-Kurven (softwaremodifiziert) werden von der Software als positiv oder negativ bewertet. Im Falle einer positiven Kurve werden die entsprechenden C_q-Werte angezeigt. Nicht eindeutige Ergebnisse werden von der Software markiert (Δ). Eine erneute Testung wird empfohlen.

Invalide oder fehlgeschlagene Tests

Ein Test wird als invalide eingestuft, wenn weder Ziel-DNA noch Human Control detektiert werden. Mögliche Ursache für einen invaliden Testlauf ist eine schlechte Probenqualität aufgrund von zu wenig oder keinem humanen Zellmaterial in der Probe. Ergebnisse werden auch für invalide Läufe angezeigt, dürfen jedoch nicht für eine diagnostische Interpretation verwendet werden. Achten Sie auf die Verwendung des korrekten Probentyps, die richtige Probenentnahme und Lagerung von Proben und Kartuschen. Wiederholen Sie bei Bedarf den Test mit einer neuen Probe.

Bei einem fehlgeschlagenen Test ist zunächst zu prüfen, ob die Betriebsbedingungen des Vivalytic *one* Analysers korrekt sind (siehe Bedienungsanleitung des Vivalytic *one* Analysers). Starten Sie den Vivalytic *one* Analyser neu. Besteht das Problem weiterhin, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Kundensupport.

Beendigung des Tests

Sobald ein valides, positives *C. difficile*-Ergebnis auf dem Bildschirm angezeigt wird, hat der Anwender die Möglichkeit, den Test zu beenden.

Testbericht

Im gedruckten Testbericht sind Erreger, Ergebnisse, Kontrolle und Informationen über Anwender, Patient und Vivalytic *one* Analyser sowie ein Unterschriftenfeld aufgeführt.

Qualitätskontrolle

Sofern Qualitätskontrollen von lokalen oder laborspezifischen Standards gefordert werden, müssen regelmäßige Qualitätstests durchgeführt werden. Falls eine Referenzmethode für Tests zur Qualitätskontrolle benötigt wird, können die folgenden Referenzmaterialien verwendet werden:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain.

Die Anweisungen des Herstellers sind zu befolgen.

Im Fall unerwarteter Ergebnisse wiederholen Sie die Qualitätskontrolle mit einer weiteren Probe. Ist das Ergebnis einer negativen Qualitätskontrolle, z. B. reines eNAT® Medium, wiederholt positiv, könnten der Vivalytic *one* Analyser oder die Umgebung kontaminiert sein. In diesem Fall ist der Gebrauch des Vivalytic *one* Analysers einzustellen und das Gerät ist gemäß den Anweisungen in der Bedienungsanleitung des Vivalytic *one* Analysers zu reinigen. Im Fall wiederholter falscher Ergebnisse für die Qualitätskontrollen kontaktieren Sie Ihren lokalen Kundensupport.

Hinweis an Anwender in der EU

Alle im Zusammenhang mit dem Produkt aufgetretenen schwerwiegenden Vorfälle müssen dem Hersteller und der zuständigen Behörde des Mitgliedstaats, in dem der Anwender und/oder der Patient niedergelassen ist, gemeldet werden.

Einschränkungen

Die Ergebnisse des Vivalytic *C. difficile* Tests dürfen ausschließlich durch geschulte Mitarbeiter mit entsprechendem medizinischem Hintergrund interpretiert werden. Das Ergebnis des Vivalytic *C. difficile* Tests darf nicht als alleiniger Parameter zur Diagnose genutzt werden.

- Ein negatives Ergebnis schließt nicht die Anwesenheit des Pathogens unterhalb der Nachweisgrenze oder das Vorkommen eines anderen Pathogens aus, das nicht durch diesen Test abgedeckt ist.
- Unsachgemäß entnommene, transportierte oder gelagerte Proben bergen das Risiko falsch-negativer oder falsch-positiver Ergebnisse.

- In Grenzfällen können atypische PCR-Merkmale (z. B. flache Kurve mit niedrigem oder hohem C_q -Wert) auftreten. Bei atypischen Merkmalen dürfen die Ergebnisse nicht für eine diagnostische Interpretation verwendet werden. Nicht eindeutige Ergebnisse werden von der Software markiert. Eine erneute Testung wird empfohlen.
- Beim Vivalytic C. difficile handelt es sich um einen qualitativen Real-Time-PCR-Test, der kein quantitatives Ergebnis bereitstellt.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit infektiöser Erreger an.
- Der Test weist C. difficile-Stämme mit den Genen *tcdA/tcdB* nach, differenziert jedoch nicht zwischen toxischen und nicht-toxischen Stämmen.
- Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit C. difficile nicht aus. Es wird empfohlen, negativ getestete Proben im Zusammenhang mit weiteren Labordaten zu interpretieren.
- Eine zu große Stuhlmenge kann die Leistung des Tests beeinträchtigen.

Analytische Validierung

Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze)

Die Nachweisgrenze des Vivalytic C. difficile Tests wurde als niedrigste Analytkonzentration definiert, die konsistent nachgewiesen werden kann (≥ 95 % der unter Routinelaborbedingungen und bei Verwendung eines definierten Probentyps getesteten Proben).

Inklusivität

Um die Inklusivität zu untersuchen, wurde eine *in-silico*-Analyse (BLAST-Abgleich) der Genomsequenz verschiedener relevanter C. difficile-Stämme zum Abgleich mit der Sequenz der PCR-Primer und Hydrolyse-Sonde aus dem Vivalytic C. difficile Test zur Amplifikation und Detektion der jeweiligen Erreger durchgeführt. Für die in [Tabelle 2](#) aufgeführten Stämme konnte die Inklusivität belegt werden.

Exklusivität / analytische Spezifität

Um eine Kreuzreaktivität (Exklusivität) auszuschließen, wurde eine *in-silico*-Analyse (BLAST-Abgleich) der Zielregion von C. difficile zum Abgleich mit der Genomsequenz verschiedener anderer Erreger durchgeführt, die häufige gastrointestinale Erreger bzw. eng verwandte Arten darstellen. Es gab keine Hinweise auf eine Interferenz ([Tabelle 3](#)).

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Vivalytic C. difficile Tests wurde anhand eines Panels mit 3 unterschiedlichen Konzentrationen von C. difficile ermittelt. An 3 Standorten wurde jede Mischung auf denselben Vivalytic Instrumenten von demselben Anwender mit 3 Chargen in 4 Wiederholungen an 3 Tagen getestet, was insgesamt 324 Beobachtungen pro Zielerreger ergab. Die ermittelten Positivitätsraten für die einzelnen Kombinationen korrelierten mit der erwarteten Positivitätsrate ([Tabelle 4a](#)).

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit des Vivalytic C. difficile Tests wurde anhand eines Panels mit 1 Konzentration ($3 \times c95$) von C. difficile ermittelt. An 1 Standort wurde die Mischung auf denselben Vivalytic Instrumenten von demselben Anwender mit 3 Chargen in 20 Wiederholungen an 1 Tag getestet, was insgesamt 60 Beobachtungen pro Zielerreger ergab. Die ermittelten Positivitätsraten für die einzelnen Kombinationen korrelierten mit der erwarteten Positivitätsrate ([Tabelle 4b](#)).

Interferenzen

Es wurden die Interferenzen endogener und exogener Substanzen untersucht, die potenziell in Patientenproben vorkommen können. Weitere Informationen zu Substanzen, die den Test potenziell stören könnten, sind [Tabelle 5](#) zu entnehmen.

Klinische Validierung

Die Sensitivitäts- und Spezifitätsergebnisse wurden aus nativen flüssigen und ungeformten humanen Stuhlproben abgeleitet. Die Proben wurden in einer klinischen Umgebung gesammelt und mit den Ergebnissen von Referenzmethoden verglichen.

Die Proben für den Test mit Vivalytic C. difficile Kartuschen wurden frisch verwendet oder zur Lagerung eingefroren und wie oben beschrieben in eNAT® (COPAN Italia S.p.A.) aufbereitet.

Für die Referenztests wurden die Proben entsprechend den Empfehlungen der verwendeten Referenzmethoden vorbereitet. Insgesamt wurden 124 Proben analysiert. Sensitivität oder positive prozentuale Übereinstimmung in Prozent (PPA) wurden wie folgt berechnet: $100\% \times TP / (TP+FN)$. Spezifität oder negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) wurden wie folgt berechnet: $100\% \times TN / (TN+FP)$. Die Ergebnisse der klinischen Validierung sind in Tabelle 6 zusammengefasst.

Technischer Support

Bei Fragen wenden Sie sich bitte an Ihren Händler vor Ort oder senden Sie eine Nachricht an den Kundendienst von Vivalytic (E-Mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Literatur

Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct; 12 Suppl 6: 2-18.

²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.

³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.

⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.

⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbole



Hersteller



Seriennummer



Herstellungsdatum



Temperaturbegrenzung



Verfallsdatum



Bei beschädigter Verpackung nicht verwenden



Chargenbezeichnung



Nicht zur Wiederverwendung



Referenznummer



Bedienungsanleitung beachten



Enthält <n> Tests



In-vitro-Diagnostikum



CE-Kennzeichnung



Angegebenes Probenvolumen in die Probeneingabe der Kartusche pipettieren wie durch das schwarze Dreieck angegeben.

Inleiding

Clostridioides difficile (*C. difficile*) is een grampositieve, sporenvormende anaerobe bacil die bestaat uit toxigene en niet-toxigene stammen.

C. difficile is een van de meest voorkomende verwekkers van nosocomiale diarree, vooral bij patiënten met antibiotica-geassocieerde diarree. In de afgelopen jaren is het aantal en de ernst van de gevallen in Europa en wereldwijd toegenomen.¹

De symptomen van een *C. difficile*-infectie (CDI) variëren van milde diarree tot ernstige levensbedreigende pseudomembraneuze colitis, hoewel kolonisatie van *C. difficile* niet noodzakelijkerwijs tot een symptomatische infectie leidt. De verstoring van het evenwicht van micro-organismen in de darmen, bijvoorbeeld door behandeling met antibiotica, kan ervoor zorgen dat de toxigene *C. difficile* zich vestigt, de kolonisatie domineert en het begin vormen van CDI.²

Factoren die betrokken zijn bij de pathogenese van *C. difficile*, zijn de genen *tcdA* en *tcdB*, die coderen voor toxine A (enterotoxine) en toxine B (cytotoxine) en die zich bevinden in een chromosomaal gebied van 19,6 kb dat de pathogeniciteitslocus (PaLoc) wordt genoemd. De meeste pathogene stammen zijn toxine A en B positief (A+B+), maar sommige pathogene variantisolaten kunnen toxine A negatief en B positief (A-B+) zijn. Ze zijn de oorzaak van *C. difficile*-geassocieerde ziekten.³

Sommige stammen van toxigene *C. difficile* produceren ook een toxine met de naam *C. difficile*-transferase (CDT) of binair toxine.⁴

Inhoud van de verpakking

15 Vivalytic *C. difficile*-testcassettes voor de kwalitatieve detectie van *Clostridioides difficile*-specifieke *tcdA/tcdB* toxinegenesequenties.

Beoogd gebruik

De Vivalytic *C. difficile*-test is een geautomatiseerde kwalitatieve *in-vitro* diagnostische test op basis van een real-time polymerasekettingreactie (PCR) voor de detectie van nucleïnezuren van toxigene *C. difficile* (toxigenen *tcdA/tcdB*) uit vloeibare of zachte menselijke ontlastingsmonsters als hulpmiddel bij de diagnose van acute gastro-intestinale infecties van symptomatische personen.

Resultaten mogen niet worden gebruikt als de enige basis voor diagnose, behandeling of andere beslissingen over het beheer van de patiënt. Positieve resultaten sluiten co-infectie met andere pathogenen niet uit. Het gedetecteerde agens/de gedetecteerde agentia is/zijn mogelijk niet de definitieve oorzaak van de ziekte. Negatieve resultaten sluiten een *C. difficile*-infectie of een andere gastro-intestinale infectie niet uit. Resultaten moeten klinisch worden gecorreleerd met de voorgeschiedenis van de patiënt, klinische observaties en epidemiologische informatie. Andere diagnostische informatie is nodig om de infectiestatus van de patiënt te bepalen. Beoogd voor gebruik met een Vivalytic *one*-analysator door professionelen in de gezondheidszorg in laboratoriumomgevingen, zoals ziekenhuislaboratoria en referentielaboratoria.

Veiligheidsinformatie

Deze gebruiksaanwijzing bevat alleen testspecifieke informatie. Raadpleeg voor aanvullende waarschuwingen en instructies de gebruiksaanwijzing die bij uw Vivalytic *one*-analysator is meegeleverd (hoofdstuk Apparaatgerelateerde veiligheidsinformatie). Gebruik alleen Vivalytic-cassettes en accessoires die zijn goedgekeurd voor de Vivalytic *one*-analysator. Zorg ervoor dat u geen besmetting veroorzaakt bij het hanteren van patiëntmonsters en cassettes. Als er monster op de cassette is gemorst, gebruik de cassette dan niet en gooi deze weg.

Voor *in-vitro* diagnostisch gebruik door opgeleide gezondheidswerkers.



WAARSCHUWING

- Volg altijd goede laboratoriumpraktijken om de juiste uitvoering van deze test te garanderen.
- Zorg ervoor dat u geschikte persoonlijke beschermingsmiddelen (PBM) draagt.
- Gebruik geen cassette als het verzegelde zakje of de cassette zelf zichtbaar beschadigd is.
- Raak het detectiegebied van de cassette niet aan en maak er geen krassen op.
- Gebruik een cassette niet opnieuw.
- Gebruik geen cassettes waarvan de houdbaarheidsdatum is overschreden. De houdbaarheidsdatum vindt u op de verpakking en het label van de cassette.
- Wacht niet langer dan 15 minuten na het openen van het zakje met de cassette om de test te beginnen. Zo wordt hygiëne gehandhaafd en prestatieverlies door vochtigheid voorkomen. Langdurige blootstelling aan vochtigheid heeft een negatieve invloed op de testprestaties.
- Een cassette met een monster niet schudden.
- Draai de cassette niet ondersteboven.
- Plaats de cassette uitsluitend op een schoon en vlak oppervlak.
- Gebruik geen monstertypes, media en volumes die niet zijn goedgekeurd voor de test.
- Volg altijd goede laboratoriumpraktijken om de juiste uitvoering van deze test te garanderen.
- Biologische monsters, overdrachtshulpmiddelen en gebruikte cassettes moeten worden beschouwd als bronnen van mogelijk infectieuze agentia, waarvoor standaard voorzorgsmaatregelen zijn vereist. Behandel mogelijk infectieuze patiëntmonsters en cassettes volgens de nationale laboratoriumnormen en voer de monsters en cassettes af volgens de regionale en laboratoriumnormen.
- Volg de nationale veiligheidsvoorschriften en -procedures.

Opmerking: Meer informatie is te vinden op het veiligheidsinformatieblad (VIB) van het product. Neem contact op met de klantenondersteuning van uw plaatselijke distributeur.

Aanvullende vereiste, maar niet meegeleverd verbruiksartikelen

- Bosch Valytic *one*-analysator (referentienummer F 09G 300 115)
- Pipet (100–1000 µl)
- Steriele filterpipetpunten 100 –1000 µl
- Verzamelkits voor uitstrijkjes
 - FLOQSwabs® normaal gevlokt wattenstaafje 552C (COPAN Italia S.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geschikte beschermende kleding

Testprincipe

Valytic C. difficile is een kwalitatieve real-time PCR-test.

Opslag- en gebruiksvoorwaarden

Het product is stabiel tot de vervaldatum indien het wordt bewaard bij +15 °C tot +25 °C. De opslag- en gebruiksvoorwaarden staan vermeld op het etiket van de cassette, het zakje of de doos. De cassette moet worden gebruikt bij +15 °C tot +25 °C, relatieve vochtigheid < 65 %, binnen 15 min na opening van het zakje. Zo wordt hygiëne gehandhaafd en prestatieverlies door vochtigheid voorkomen. Langdurige blootstelling aan vochtigheid heeft een negatieve invloed op de testprestaties.

Reagentia

Alle voor de monsterverwerking benodigde reagentia zijn in de cassette geïntegreerd. De verwerking omvat cellyse, nucleïnezuurextractie, DNA-amplificatie en -detectie.

Reagentia zijn PCR-bead, bindingsbuffer, wasbuffer en elutiebuffer. De PCR-bead bevat de DNA-polymerase, primers en probes. Bindingsbuffer vergemakkelijkt de binding van nucleïnezuren tijdens het zuiveringsproces. Wasbuffer is een formulering van verschillende zouten en oplosmiddelen

om onzuiverheden, zoals eiwitten, tijdens het extractieproces te verwijderen. Elutiebuffer is een zoutarme buffer en bevat de gezuiverde nucleïnezuren aan het einde van het extractieproces.

Monstertypes/medium

De test is bedoeld voor gebruik met ontlastingsmonsters in eNAT® medium (FLOQSwabs® normaal gevlokt wattenstaafje 552C, eNAT® transportmedium Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Verzamel en bewaar monsters zoals aangegeven in de instructies van de fabrikant.

Als het monster niet onmiddellijk na de monsterafname wordt verwerkt, worden de nucleïnezuren in eNAT®-transportmedium maximaal 4 weken bij kamertemperatuur en 4 °C en maximaal 6 maanden bij -20 °C tot -80 °C bewaard (zie gebruiksaanwijzing van eNAT®-transportmedium⁵).

Monstervoorbereiding

Gebruik een FLOQSwabs® normaal gevlokt wattenstaafje (COPAN Italia s.p.a.) om een kleine hoeveelheid ontlasting te verzamelen door de punt van het gevlokte wattenstaafje in het ontlastingsmonster te steken en te draaien. Bloederige, slijmerige of waterige delen van de ontlasting moeten worden geselecteerd en verzameld. Na het afnemen onderzoekt u het wattenstaafje om te controleren of er fecaal materiaal zichtbaar is op de punt. Als dit niet het geval is, steek dan het wattenstaafje opnieuw in het ontlastingsmonster en draai het rond, waarbij u ervoor zorgt dat de hele punt van het wattenstaafje in contact komt met het monster. Na afname brengt u het wattenstaafje over in de 2 ml Copan eNAT® -buis met eNAT®-transportmedium. Houd de steel van het wattenstaafje tussen duim en vinger en klop en meng het ontlastingsmonster tegen de zijkant van de buis om het monster gelijkmatig te verspreiden en in suspensie te brengen in het preservatiemedium. Houd de steel van het wattenstaafje dicht bij de rand van de buis en buig het in een hoek van 180 graden om het af te breken op het gemarkeerde breekpunt. Gooi het afgebroken bovenste deel van de steel van het wattenstaafje weg en draai de dop vast. Schud de monsterbuis met het wattenstaafjesmonster en eNAT® -medium (COPAN Italia s.p.a.) goed om te homogeniseren en gebruik een pipet om 300 µl gehomogeniseerd patiëntmonster in de monsterringang van de cassette te brengen.

Gebruik geen viskeuze monsters die moeilijk te pipetteren zijn.

Testresultaat

Na automatische verwerking van het monster met de Vivalytic *one*-analysator wordt het testresultaat op het scherm van de Vivalytic *one*-analysator getoond. De tijd tot het resultaat is ongeveer 50 min. Voor specimens met een hoge titer zijn de resultaten na minder dan 35 min beschikbaar en kan de testrun eerder beëindigd worden (zie hoofdstuk Beëindiging van de test).

Het monster wordt geclassificeerd als *C. difficile* positief, *C. difficile* negatief of ongeldig. Bij een positieve detectie van *C. difficile* wordt de test als geldig beschouwd, zelfs als de Human Control negatief is.

Detectie van de op de menselijke cel gebaseerde volledige procescontrole (Human Control) in negatieve monsters toont een succesvolle extractieprocedure aan en sluit een remming van de PCR-reactie uit. Interpretatie van resultaten wordt in de onderstaande tabel vermeld.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Geldigheid	Resultaat
+	+/-	geldig	Monster wordt als positief voor <i>C. difficile</i> beschouwd (tcdA/tcdB-toxinen gedetecteerd).
-	+	geldig	Monster wordt als negatief voor <i>C. difficile</i> beschouwd (tcdA/tcdB-toxinen niet gedetecteerd)
-	-	ongeldig	Niet toetsbaar. ¹

¹ Opnieuw testen wordt aanbevolen.

PCR – Curve en C_q-waarde

Realtime PCR-curven (softwarematig aangepast) worden door de software weergegeven en als positief of negatief geclassificeerd. In geval van positieve curven wordt de betreffende C_q-waarde weergegeven. Twijfelachtige resultaten worden door de software gemarkeerd (Δ). Opnieuw testen wordt aanbevolen.

Ongeldige of mislukte testen

Een test wordt als ongeldig beoordeeld als er noch doel-DNA noch Human Control wordt gedetecteerd. Een mogelijke reden voor een ongeldige test kan een slechte monsterkwaliteit zijn door een gedeeltelijke of volledige afwezigheid van menselijk celmateriaal in het monster. De resultaten worden weergegeven voor een ongeldige test, maar mogen niet worden gebruikt voor diagnostische interpretatie. Let op het gebruik van het juiste monstertype, de monsterafname en de opslag van het monster en de cassettes voorafgaand aan de testrun. Herhaal indien nodig de analyse met een nieuw monster.

Controleer in het geval van een mislukte test eerst de juiste bedrijfsomstandigheden van de Vivalytic *one*-analysator (raadpleeg de gebruiksaanwijzing van de Vivalytic *one*-analysator). Start de Vivalytic *one*-analysator opnieuw op. Als het probleem aanhoudt, neem dan contact op met de klantenondersteuning van uw plaatselijke distributeur.

Beëindiging van de test

Zodra een geldig, positief *C. difficile*-resultaat wordt getoond op het scherm, heeft de gebruiker de optie om de test te voltooien.

Testrapport

In het afgedrukte testrapport worden pathogenen, resultaten, controle en informatie over gebruiker, patiënt en Vivalytic *one*-analysator vermeld met een handtekeningveld.

Kwaliteitscontrole

Indien vereist volgens uw lokale of laboratoriumnormen moeten kwaliteitscontroletests worden uitgevoerd.

Indien een referentietestmethode voor kwaliteitscontrole nodig is, kunnen de volgende referenties worden gebruikt:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Volg de instructies van de fabrikant.

In geval van onverwachte resultaten voert u de analyse opnieuw uit met een ander monster. Als het resultaat van een negatief kwaliteitscontrolemonster, zoals zuiver eNAT®-medium, positief blijft, kan de Vivalytic *one*-analysator of de omgeving verontreinigd zijn. Stop het gebruik van de Vivalytic *one*-analysator en reinig het apparaat zoals beschreven in de gebruiksaanwijzing van de Vivalytic *one*-analysator.

Neem bij herhaalde foutieve resultaten van kwaliteitscontrolemonsters tevens contact op met de klantenondersteuning van uw lokale distributeur.

Kennisgeving aan gebruikers in de EU

Elk ernstig incident dat zich heeft voorgedaan met betrekking tot het hulpmiddel, dient te worden gemeld aan de fabrikant en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waarin de gebruiker en/of patiënt is gevestigd.

Beperkingen

De resultaten van de Vivalytic *C. difficile*-test mogen alleen worden geïnterpreteerd door een getrainde professional in de gezondheidszorg. De resultaten van de Vivalytic *C. difficile*-test mogen niet als enige parameter voor de diagnose worden gebruikt.

- Een negatief resultaat sluit niet uit dat er pathogenen in het monster aanwezig zijn in concentraties die lager liggen dan de gevoeligheidsgrens van de test of dat er pathogenen aanwezig zijn die niet met deze test worden bepaald.
- Er bestaat een risico op fout-negatieve of fout-positieve resultaten als gevolg van onjuist verzamelde, overgebrachte of gehanteerde monsters.

- In grensgevallen kunnen atypische PCR-kenmerken (bijv. vlakke curve met lage of hoge C_q -waarde) voorkomen. Bij atypische kenmerken mogen de resultaten niet worden gebruikt voor diagnostische interpretatie. Twijfelachtige resultaten worden door de software gemarkeerd. Opnieuw testen wordt aanbevolen.
- Vivalytic *C. difficile* is een kwalitatieve real-time PCR-test en geeft geen kwantitatief resultaat.
- Een positief resultaat betekent niet noodzakelijkerwijs dat er levensvatbare ziektekiemen aanwezig zijn.
- De test detecteert *C. difficile* met *tcdA/tcdB*-genen, maar maakt geen onderscheid tussen toxineproducerende en niet-toxineproducerende stammen
- Een negatief resultaat sluit een *C. difficile*-infectie niet uit. Het wordt aanbevolen om negatieve geteste monsters te interpreteren in combinatie met aanvullende laboratoriumgegevens
- Een overmatige hoeveelheid ontlasting kan remmende effecten hebben op de testprestaties.

Evaluatie van de analytische prestaties

Analytische gevoeligheid (detectielimiet)

De detectielimiet van de Vivalytic *C. difficile*-test werd bepaald als de laagste concentratie van de analyt die consistent kan worden gedetecteerd ($\geq 95\%$ van de monsters getest onder routinematige laboratoriumomstandigheden met een gedefinieerd type monster).

Inclusiviteit

Om de inclusiviteit te evalueren werd een *in silico*-analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van de genomische sequentie van verschillende relevante *C. difficile*-stammen tegen de sequentie van de PCR-primers en hydrolyse probe die gebruikt worden in de Vivalytic *C. difficile*-test voor amplificatie en detectie van de respectievelijke pathogenen. Inclusiviteit kon worden aangetoond voor stammen in [tabel 2](#).

Exclusiviteit/analytische specificiteit

Om kruisreactiviteit (exclusiviteit) uit te sluiten, werd er een *in silico*-analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van het doelgebied van *C. difficile* tegen de genomsequentie van verschillende andere pathogenen die veel voorkomende gastro-intestinale pathogenen of nauw verwante soorten vertegenwoordigen. Er is geen interferentie vastgesteld ([tabel 3](#)).

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de Vivalytic *C. difficile*-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 3 verschillende concentraties *C. difficile*. Op 3 testlocaties werd elke mix getest op dezelfde set Vivalytic-instrumenten door dezelfde operator met 3 LOTs in 4 herhalingen op 3 dagen, wat in totaal 324 waarnemingen per doelpathogeen opleverde. De verkregen percentages positieven voor de verschillende combinaties werden gecorreleerd met de verwachte percentages. ([tabel 4a](#)).

Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid van de Vivalytic *C. difficile*-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 1 concentratie ($3 \times c95$) *C. difficile*. Op 1 testlocatie werd de mix getest op dezelfde set Vivalytic-instrumenten door dezelfde operator met 3 LOTs in 20 herhalingen op 1 dag, wat in totaal 60 waarnemingen per doelpathogeen opleverde. De verkregen percentages positieven voor de verschillende combinaties werden gecorreleerd met de verwachte percentages ([tabel 4b](#)).

Interferenties

Interferenties zijn geëvalueerd voor endogene en exogene stoffen, die mogelijk aanwezig zijn in het patiëntmonster. Raadpleeg [tabel 5](#) voor stoffen die de test kunnen verstoren.

Evaluatie van de klinische prestaties

Gevoeligheds- en specificiteitsresultaten op basis van monsters van vloeibare en zachte menselijke ontlasting. De monsters werden in een klinische omgeving verzameld en vergeleken met de resultaten van referentiemethoden. Monsters voor testen met Vivalytic C. difficile-cassettes werden vers gebruikt of ingevroren voor opslag en bereid zoals hierboven beschreven in eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

In het geval van referentietesten werden monsters bereid volgens de aanbevelingen van de gebruikte referentiemethoden. In totaal werden er 124 monsters geanalyseerd. De gevoeligheid of positieve procentuele overeenkomst (PPA) werd berekend als $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificiteit of negatieve procentuele overeenkomst werd berekend als $100\% \times TN / (TN + FP)$. De resultaten van de evaluatie van de klinische prestaties zijn weergegeven in [tabel 6](#).

Technische ondersteuning

Neem bij vragen contact op met uw plaatselijke distributeur of stuur een bericht naar de klantenservice van Vivalytic (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referenties

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbolen



Fabrikant



Serienummer



Fabricagedatum



Temperatuurgrens



Vervaldatum



Niet gebruiken als de verpakking beschadigd is



Lotnummer



Uitsluitend voor eenmalig gebruik



Referentienummer



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



Bevat <n> tests



In vitro diagnostisch medisch hulpmiddel



CE-markering



Pipetteer het aangegeven monstervolume in de monsterringang van de cassette, zoals aangegeven door de zwarte driehoek.

Introduction

Le *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) est un bacille anaérobie sporulé Gram positif constitué de souches toxigènes et non-toxigènes.

C. difficile est l'un des pathogènes les plus répandus des diarrhées nosocomiales, notamment chez les patients atteints de diarrhées associées aux antibiotiques. Au cours des dernières années, le nombre et la gravité des cas a augmenté en Europe et dans le monde entier¹.

Les symptômes de l'infection à *C. difficile* (ICD) vont d'une légère diarrhée à une colite pseudomembraneuse grave potentiellement mortelle, même si la colonisation à *C. difficile* n'entraîne pas nécessairement une infection symptomatique. La perturbation de l'équilibre des micro-organismes intestinaux, en raison d'un traitement antibiotique par exemple, peut entraîner le développement de bactéries *C. difficile* toxigènes, qui dominent alors la colonisation et peuvent provoquer une ICD².

Les facteurs impliqués dans la pathogenèse de *C. difficile* sont les gènes *tcdA* et *tcdB* codant pour la toxine A (entérotoxine) et la toxine B (cytotoxine) qui sont localisés dans une région chromosomique de 19,6 kb appelée le locus de pathogénicité (PaLoc). La plupart des souches pathogènes sont des toxines A et B positives (A+B+), mais certains isolats de variants pathogènes peuvent être des toxines A négative et B positive (A-B+). Elles sont responsables des maladies associées à *C. difficile*³.

Certaines souches de *C. difficile* toxigènes produisent également une toxine appelée *C. difficile* transférase (CDT) ou toxine binaire⁴.

Contenu de l'emballage

15 cartouches de test Vivalytic C. difficile pour la détection qualitative des séquences génétiques de toxines *tcdA/tcdB* spécifiques à *Clostridioides difficile*.

Usage prévu

Le test Vivalytic C. difficile est un test de diagnostic *in vitro* basé sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR) pour la détection des acides nucléiques de *C. difficile* toxigènes (gènes de toxines *tcdA/tcdB*) dans le liquide ou les écouvillons de selles humaines molles pour faciliter le diagnostic d'infections gastro-intestinales aiguës.

Les résultats ne doivent pas être utilisés comme seul fondement pour établir un diagnostic, un traitement ou toute autre décision de gestion des patients. Les résultats positifs n'excluent pas une co-infection due à d'autres agents pathogènes. Les agents détectés peuvent ne pas être la cause exacte de la maladie. Les résultats négatifs n'excluent pas une infection à *C. difficile* ou une autre infection gastro-intestinale. Les résultats doivent être corrélés cliniquement à l'historique du patient, aux observations cliniques et aux informations épidémiologiques. Des informations de diagnostic complémentaires sont nécessaires pour déterminer le statut infectieux du patient. Destiné à une utilisation avec un analyseur Vivalytic *one* par les professionnels de santé uniquement dans des contextes de laboratoires, notamment les laboratoires hospitaliers et spécialisés.

Informations de sécurité

Le présent manuel de l'utilisateur contient uniquement des informations spécifiques au test. Pour obtenir des avertissements et instructions supplémentaires, reportez-vous au manuel de l'utilisateur fourni avec votre analyseur Vivalytic *one* (chapitre relatif aux informations de sécurité de l'appareil). Utilisez uniquement les cartouches et accessoires Vivalytic homologués pour l'analyseur Vivalytic *one*. Prenez soin d'éviter les contaminations lors de la manipulation des échantillons de patients et des cartouches. En cas de déversement d'échantillon sur la cartouche, ne l'utilisez pas et jetez-la. Pour un usage de diagnostic *in vitro* par des professionnels de santé formés.



AVERTISSEMENT

- Veillez toujours à respecter les bonnes pratiques de laboratoire afin de garantir les performances du test.
- Veillez à porter un équipement de protection individuelle (EPI) adapté.
- N'utilisez pas une cartouche si l'emballage scellé ou la cartouche elle-même est visiblement endommagée.
- Ne touchez pas et ne rayez pas la zone de détection de la cartouche.
- Ne réutilisez pas une cartouche.
- N'utilisez pas les cartouches qui ont expiré. La date d'expiration figure sur l'emballage et l'étiquette de la cartouche.
- N'attendez pas plus de 15 minutes après l'ouverture de l'emballage de la cartouche pour commencer le test. Ces conditions permettent de maintenir un niveau d'hygiène correct et d'éviter une baisse de performances due à l'humidité. Une exposition prolongée à l'humidité a un impact négatif sur les performances du test.
- N'agitez pas une cartouche contenant un échantillon.
- Ne mettez pas la cartouche à l'envers.
- Placez la cartouche sur une surface plane et propre uniquement.
- N'utilisez pas des types, milieux et volumes d'échantillon qui ne sont pas approuvés pour l'application de test.
- Veillez toujours à respecter les bonnes pratiques de laboratoire afin de garantir les performances du test.
- Les échantillons biologiques, les appareils de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme potentiellement porteurs d'agents infectieux et les précautions standard sont requises. Manipulez les échantillons de patients potentiellement infectieux et les cartouches conformément aux normes de laboratoire nationales et éliminez les échantillons et les cartouches conformément aux normes régionales et de laboratoire.
- Respectez les réglementations et pratiques nationales en matière de sécurité.

Remarque : Vous trouverez plus d'informations dans la fiche de données de sécurité (FDS) du produit. Veuillez contacter le service client de votre distributeur local.

Équipement et consommables complémentaires et nécessaires mais non fournis

- Analyseur Bosch Vivalytic *one* (numéro de référence F 09G 300 115)
- Pipette (100–1 000 µL)
- Embouts de pipettes de filtres stériles 100–1000 µL
- Kits de prélèvement sur écouvillon
 - Écouvillon floqué ordinaire FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Milieu de transport
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vêtements de protection adaptés

Principe du test

Le test Vivalytic C. difficile est un test qualitatif basé sur la PCR en temps réel.

Conditions de stockage et d'utilisation

Le produit est stable jusqu'à la date de péremption s'il est stocké à une température comprise entre +15 °C et +25 °C. Les conditions de stockage et d'utilisation figurent sur l'étiquette de la cartouche, de l'emballage ou de la boîte. La cartouche doit être utilisée à une température comprise entre +15 °C et +25 °C, à une humidité relative < 65 %, dans les 15 min. après ouverture de l'emballage. Ces conditions permettent de maintenir un niveau d'hygiène correct et d'éviter une baisse de performances due à l'humidité. Une exposition prolongée à l'humidité a un impact négatif sur les performances du test.

Réactifs

Tous les réactifs nécessaires au traitement des échantillons sont intégrés dans la cartouche. Le processus comprend la lyse cellulaire, l'extraction d'acide nucléique, l'amplification et la détection d'ADN.

Les réactifs sont la bille PCR, le tampon de liaison, le tampon de lavage et le tampon d'éluion. La bille PCR contient l'ADN polymérase, les amorces et les sondes. Le tampon de liaison permet de faciliter la liaison des acides nucléiques au cours du processus de purification. Le tampon de lavage est une formulation de différents sels et solvants permettant d'éliminer les impuretés, notamment les protéines au cours du processus d'extraction. Le tampon d'éluion est un tampon à faible teneur en sel contenant les acides nucléiques purifiés au terme du processus d'extraction.

Types/milieu d'échantillon

Le test est destiné à être utilisé avec des échantillons sur écouvillons de selles dans le milieu eNAT® (écouvillon floqué ordinaire FLOQSwabs® 552C, milieu de transport eNAT® réf. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Prélevez et stockez les échantillons comme indiqué dans les instructions du fabricant.

Si jamais l'échantillon n'est pas traité immédiatement après le prélèvement d'échantillon, les acides nucléiques seront conservés dans le milieu de transport eNAT® jusqu'à 4 semaines à température ambiante et à 4 °C et jusqu'à 6 mois entre -20 °C et -80 °C (voir le manuel de l'utilisateur du milieu de transport eNAT®⁵).

Préparation des échantillons

Utilisez un écouvillon floqué ordinaire FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pour prélever une petite quantité de selles en insérant l'embout de l'écouvillon floqué dans l'échantillon de selles et en le faisant tourner. Les zones sanguinolentes, visqueuses ou liquides des selles doivent être sélectionnées et prélevées. Après le prélèvement, examinez l'écouvillon pour vous assurer que de la matière fécale est visible sur l'embout. Si ce n'est pas le cas, insérez à nouveau l'écouvillon floqué dans l'échantillon de selles et faites-le tourner en vous assurant que toute la zone de l'embout de l'écouvillon est en contact avec l'échantillon. Après avoir prélevé l'écouvillon, transférez l'écouvillon sur le tube Copan eNAT® de 2 ml avec le milieu de transport eNAT®. Maintenez la tige de l'écouvillon entre le pouce et l'index, écrasez et mélangez l'échantillon de selles contre le côté du tube pour répartir uniformément et suspendre l'échantillon dans le milieu de conservation. Maintenez la tige de l'écouvillon près du bord du tube, pliez-la à un angle de 180 degrés pour la rompre au niveau du point de rupture marqué. Jetez la partie supérieure rompue de la tige de l'écouvillon et serrez le capuchon. Agitez le tube échantillon contenant l'échantillon prélevé sur écouvillon et le milieu eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) vigoureusement pour homogénéiser le mélange, puis utilisez une pipette pour ajouter 300 µl d'échantillon de patient homogénéisé dans l'entrée échantillon de la cartouche.

N'utilisez pas d'échantillons visqueux difficiles à pipeter.

Résultat du test

Après le traitement automatique des échantillons à l'aide de l'analyseur Vivalytic one, les résultats de test sont affichés à l'écran de l'analyseur Vivalytic one. Le délai d'obtention du résultat est d'environ 50 minutes. Pour les échantillons à titre élevé, les résultats sont disponibles en moins de 35 min. et le test peut être clôturé plus tôt (voir le chapitre Fin du test).

L'échantillon est classé comme étant positif à *C. difficile*, négatif à *C. difficile* ou invalide. En cas de détection positive de *C. difficile*, le test est considéré valide même si le Human Control est négatif.

La détection de la cellule humaine basée sur le contrôle du processus complet (Human Control) dans les échantillons négatifs indique une procédure d'extraction réussie et exclut une inhibition de la réaction PCR. L'interprétation des résultats est fournie dans le tableau ci-dessous.

C. difficile (tcdA / tcdB)	Human Control	Validité	Résultat
+	+/-	valide	L'échantillon est considéré comme étant positif à <i>C. difficile</i> (gènes de toxines tcdA/tcdB détectés).
-	+	valide	L'échantillon est considéré comme étant négatif à <i>C. difficile</i> (gènes de toxines tcdA/tcdB non détectés).
-	-	invalide	Non évaluable ¹ .

¹ Il est recommandé de recommencer le test.

PCR – courbe et valeur C_q

Les courbes de PCR en temps réel (modifiées par logiciel) sont affichées et classées comme étant positives ou négatives par le logiciel. En cas de courbes positives, la valeur C_q respective s'affiche. Les résultats non concluants sont marqués par le logiciel (Δ). Il est recommandé de recommencer le test.

Échecs ou tests invalides

Un test est considéré comme invalide si aucun ADN cible et aucun Human Control n'est détecté. Une raison possible de l'invalidité d'un test peut être la mauvaise qualité de l'échantillon ou due à une absence partielle ou complète de matériel cellulaire humain dans l'échantillon. Les résultats s'affichent pour un test invalide mais ne peuvent pas servir à interpréter le diagnostic. Veuillez à utiliser le type d'échantillon approprié, à prélever correctement l'échantillon et à conserver l'échantillon et les cartouches de manière adaptée avant de réaliser le test. Répétez l'analyse avec un nouvel échantillon si nécessaire.

Dans le cas d'un test ayant échoué, vérifiez en premier lieu que les conditions de fonctionnement de l'analyseur Vivalytic *one* sont respectées (reportez-vous au manuel de l'utilisateur de l'analyseur Vivalytic *one*). Redémarrez l'analyseur Vivalytic *one*. Si le problème persiste, contactez le service client de votre distributeur local.

Fin du test

Dès qu'un résultat positif à *C. difficile* valide est affiché à l'écran, l'utilisateur a la possibilité de finir le test.

Rapport de test

Dans le rapport de test imprimé, les agents pathogènes, résultats, contrôles et informations sur l'utilisateur, le patient et l'analyseur Vivalytic *one* sont énumérés avec un champ de signature.

Contrôle de la qualité

Des tests de contrôle de qualité doivent être effectués si les normes locales ou de laboratoire l'exigent.

Lorsqu'une méthode de test de référence est requise pour le contrôle de qualité, les matériaux de référence suivants peuvent être utilisés :

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Veuillez suivre les instructions du fabricant.

En cas de résultats inattendus, répétez l'analyse avec un autre échantillon. Si le résultat d'un échantillon de contrôle de qualité négatif, par ex. du milieu eNAT® pur, reste positif, il se peut que l'analyseur Vivalytic *one* ou son environnement soient contaminés. Cessez d'utiliser l'analyseur Vivalytic *one* et nettoyez l'appareil comme décrit dans le manuel de l'utilisateur de l'analyseur Vivalytic *one*.

En cas de faux résultats répétés pour des échantillons de contrôle de qualité, veuillez contacter le service client de votre distributeur local.

Avis aux utilisateurs de l'UE

Tout incident grave survenu au niveau du dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi.

Limites

Les résultats du test Vivalytic C. difficile doivent être interprétés exclusivement par un professionnel de santé formé. Les résultats du test Vivalytic C. difficile ne doivent pas être utilisés comme seul paramètre pour un diagnostic.

- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'agents pathogènes dans l'échantillon à un niveau inférieur à la sensibilité du test ou la présence d'autres agents pathogènes non couverts par ce test.
- Il existe un risque de résultats faux négatifs ou faux positifs résultant d'échantillons prélevés, transportés ou manipulés de manière inappropriée.
- Dans les cas limites, des caractéristiques de PCR atypiques peuvent survenir (par ex. courbe plane avec valeur C_q faible ou élevée). En cas de caractéristiques atypiques, les résultats ne peuvent pas être utilisés pour l'interprétation du diagnostic. Les résultats non concluants sont marqués par le logiciel. Il est recommandé de recommencer le test.
- Vivalytic C. difficile est un test PCR qualitatif en temps réel qui ne fournit pas de résultats quantitatifs.
- Un résultat positif n'implique pas forcément la présence de pathogènes viables.
- Le test détecte les souches de *C. difficile* portant les gènes *tcdA/tcdB*, mais ne fait pas la distinction entre les souches produisant des toxines et les souches ne produisant pas de toxines.
- Un résultat négatif n'exclut pas une colonisation à *C. difficile*. Il est recommandé d'interpréter les échantillons présentant des résultats négatifs dans leur contexte avec les données de laboratoire additionnelles.
- Une quantité excessive de selles peut avoir des effets inhibiteurs sur les performances de test.

Évaluation des performances analytiques

Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection du test Vivalytic C. difficile a été déterminée comme étant la concentration la plus faible d'analyte pouvant être régulièrement détectée ($\geq 95\%$ d'échantillons testés dans des conditions de laboratoire de routine à l'aide d'un type d'échantillon défini).

Inclusivité

Pour évaluer l'inclusivité, l'analyse *in silico* (alignement BLAST) de la séquence génomique de différentes souches *C. difficile* pertinentes par rapport à la séquence des amorces PCR et la sonde d'hydrolyse utilisées dans le test Vivalytic C. difficile pour l'amplification et la détection des pathogènes correspondants a été réalisée. L'inclusivité peut être démontrée pour les souches listées dans le [Tableau 2](#).

Exclusivité / Spécificité analytique

Pour exclure la réactivité croisée (exclusivité), une analyse *in silico* (alignement BLAST) de la région cible de *C. difficile* par rapport à la séquence génomique de divers autres pathogènes représentant des pathogènes gastro-intestinaux communs ou des espèces étroitement apparentées a été réalisée. Il n'y a eu aucune preuve d'interférence ([Tableau 3](#)).

Reproductibilité

La reproductibilité du test Vivalytic C. difficile a été établie à l'aide d'un panel présentant 3 concentrations différentes de *C. difficile*. Sur trois sites d'essai, chaque mélange a été testé sur le même ensemble d'instruments Vivalytic par le même opérateur, avec 3 LOTS en 4 réplicats sur 3 jours, respectivement, ce qui a donné un total de 324 observations par agent pathogène cible. Les taux de positivité obtenus pour les différentes combinaisons ont été corrélés au taux de positivité attendus ([Tableau 4a](#)).

Répétabilité

La répétabilité du test Vivalytic C. difficile a été établie à l'aide d'un panel présentant 1 concentration ($3 \times c_{95}$) de *C. difficile*. Sur 1 site d'essai, chaque mélange a été testé sur le même ensemble d'instruments Vivalytic par le même opérateur, avec 3 LOTS en 20 réplicats sur 1 jour, respectivement, ce qui a donné un total de 60 observations par agent pathogène cible. Les taux de positivité obtenus pour les différentes combinaisons ont été corrélés au taux de positivité attendus ([Tableau 4b](#)).

Interférences

Les interférences des substances endogènes et exogènes potentiellement présentes dans l'échantillon de patient ont été évaluées. Consultez le [Tableau 5](#) pour connaître les substances pouvant potentiellement interférer avec le test.

Évaluation des performances cliniques

Les résultats liés à la sensibilité et à la spécificité proviennent d'échantillons de selles humaines molles et liquides endémiques. Les échantillons ont été prélevés dans un cadre clinique et comparés aux résultats de méthodes de référence.

Les échantillons utilisés pour les tests avec les cartouches Vivalytic C. difficile venaient d'être préparés ou avaient été congelés pour le stockage et préparés comme décrit ci-dessus dans le milieu eNAT® (COPAN Italia S.p.A.). Pour les tests de référence, les échantillons ont été préparés conformément aux recommandations des méthodes de référence utilisées. Au total, 124 échantillons ont été analysés. La sensibilité ou le pourcentage de concordance positif (PPA) a été calculé comme étant $100\% \times TP / (TP + FN)$. La spécificité ou le pourcentage de concordance négatif a été calculé comme étant $100\% \times TN / (TN + FP)$. Les résultats de l'évaluation des performances cliniques sont présents dans le [Tableau 6](#).

Assistance technique

En cas de questions, veuillez contacter votre distributeur local ou envoyer un message au service client de Vivalytic (adresse e-mail : support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Références

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboles



Fabricant



Numéro de série



Date de fabrication



Limite de température



Date de péremption



Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé



Numéro de lot



À usage unique seulement



Numéro de référence



Consulter le manuel de l'utilisateur



Contient <n> tests



Appareil médical de diagnostic *in vitro*



Marquage CE



Pipeter le volume échantillon indiqué dans l'entrée échantillon de la cartouche en respectant le marquage du triangle noir.

Introduzione

Clostridioides difficile (*C. difficile*) è un bacillo anaerobio gram-positivo e sporigeno, costituito da ceppi tossigeni e non tossigeni.

C. difficile è uno dei patogeni più comuni della diarrea nosocomiale, soprattutto nei pazienti con diarrea associata ad antibiotici. Negli ultimi anni, il numero e la gravità dei casi sono aumentati in Europa e nel mondo.¹

I sintomi dell'infezione da *C. difficile* (CDI) vanno da una lieve diarrea a una grave colite pseudomembranosa potenzialmente letale, anche se la colonizzazione di *C. difficile* non porta necessariamente a un'infezione sintomatica. L'alterazione dell'equilibrio dei microrganismi intestinali, ad esempio a causa di un trattamento antibiotico, può provocare l'insediamento di *C. difficile* tossigeno, che domina la colonizzazione e potrebbe dare inizio alla CDI.²

I fattori coinvolti nella patogenesi di *C. difficile*, sono i geni *tcdA* e *tcdB* che codificano la tossina A (enterotossina) e la tossina B (citotossina), localizzati in una regione cromosomica di 19,6 kb denominata locus di patogenicità (PaLoc). La maggior parte dei ceppi patogeni è positiva alle tossine A e B (A+B+), ma alcuni isolati patogeni varianti possono essere negativi alla tossina A e positivi alla B (A-B+). Questi sono la causa delle malattie associate a *C. difficile*.³

Alcuni ceppi di *C. difficile* tossigeni producono anche una tossina chiamata *C. difficile* transferasi (CDT), ossia tossina binaria.⁴

Contenuto della confezione

15 cartucce per test Vivalytic C. difficile per il rilevamento qualitativo delle sequenze geniche specifiche della tossina *tcdA/tcdB* di *Clostridioides difficile*.

Destinazione d'uso

Il test Vivalytic C. difficile è un test diagnostico qualitativo *in vitro* automatizzato basato sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale per il rilevamento degli acidi nucleici dei geni tossigeni *C. difficile* (geni della tossina *tcdA/tcdB*) da tamponi di feci umane liquide o molli per aiutare nella diagnosi di infezioni gastrointestinali acute di individui sintomatici.

I risultati non dovrebbero essere utilizzati come unica base per la diagnosi, la terapia e le altre decisioni che riguardano la gestione del paziente. I risultati positivi non escludono la possibilità di co-infezione con altri patogeni. L'agente (o agenti) rilevato potrebbe non essere l'unica causa della patologia. I risultati negativi non escludono un'infezione da *C. difficile* o un'altra infezione gastrointestinale. I risultati potrebbero essere clinicamente correlati alle osservazioni cliniche sull'anamnesi del paziente e alle altre informazioni epidemiologiche. Sono necessarie altre informazioni diagnostiche per determinare lo stato infettivo del paziente. Il test può essere utilizzato solo con un analizzatore Vivalytic *one* da parte di operatori sanitari in contesti medici, come laboratori degli ospedali o di riferimento.

Informazioni di sicurezza

Le presenti istruzioni d'uso contengono solamente le informazioni specifiche per il test. Per le avvertenze e le istruzioni addizionali fare riferimento alle istruzioni d'uso fornite con l'analizzatore Vivalytic *one* (capitolo informazioni di sicurezza sul dispositivo). Utilizzare solo le cartucce e gli accessori Vivalytic omologati per l'analizzatore Vivalytic *one*. Accertarsi di evitare qualsiasi contaminazione quando si maneggiano i campioni dei pazienti e le cartucce. Se è stato versato del campione sulla cartuccia, non utilizzare la cartuccia e smaltirla.

Per l'uso diagnostico *in vitro* da parte di operatori sanitari qualificati.



AVVERTIMENTO

- Per garantire il corretto svolgimento del test, rispettare le buone pratiche di laboratorio.
- Assicurarci di indossare i dispositivi di protezione individuali (DPI) adeguati.
- Non utilizzare la cartaccia se il sacchetto sigillato o la cartucce stessa sono chiaramente danneggiati.
- Non toccare o graffiare l'area di rilevamento della cartuccia.
- Non riutilizzare alcuna cartuccia.
- Non utilizzare le cartucce scadute. La data di scadenza è riportata sulla confezione e sull'etichetta della cartuccia.
- Non aspettare più di 15 minuti dopo l'apertura del sacchetto della cartuccia prima di iniziare il test. In presenza di queste condizioni viene mantenuto l'igiene e si evitano i problemi di rendimento dovuti all'umidità. L'esposizione prolungata all'umidità può avere un impatto negativo sulle prestazioni del test.
- Non agitare la cartuccia quando contiene il campione.
- Non capovolgere la cartuccia.
- Posizionare la cartuccia solo su una superficie piana e pulita.
- Non utilizzare tipi di campioni, liquidi o volumi che non sono stati approvati per il test.
- Per garantire il corretto svolgimento del test, rispettare le buone pratiche di laboratorio.
- Le provette biologiche, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere considerate come in grado di trasferire gli agenti infettivi e quindi devono essere maneggiati con cura. Maneggiare i campioni e le cartucce potenzialmente infettive dei pazienti in base alle norme nazionali di laboratorio e procedere al loro smaltimento secondo le norme regionali e di laboratorio.
- Rispettare le norme e le pratiche di sicurezza nazionali.

Nota: per ulteriori informazioni, consultare la scheda di sicurezza (SDS) del prodotto. Contattare l'assistenza clienti o il distributore locale di riferimento.

Apparecchiatura e consumabili aggiuntivi richiesti ma non forniti

- Analizzatore Bosch Vivalytic *one* (numero di riferimento F 09G 300 115)
- Pipettatore (100-1000 µl)
- Puntali sterili per pipette 100-1000 µl
- Kit tampone di raccolta
 - Tampone floccato standard FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Liquido di trasporto
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Indumenti protettivi adeguati

Principio del test

Vivalytic C. difficile è un test qualitativo basato sulla PCR in tempo reale.

Conservazione e condizioni d'uso

Il prodotto rimane stabile fino alla data di scadenza se viene conservato a +15° C a +25 °C. Le informazioni sulla conservazione e le condizioni d'uso sono riportate sulla cartuccia, il sacchetto o l'etichetta della scatola. La cartuccia deve essere utilizzata a +15 °C a +25 °C, con umidità relativa pari a < 65 % ed entro 15 minuti dall'apertura del sacchetto. In presenza di queste condizioni viene mantenuto l'igiene e si evitano i problemi di rendimento dovuti all'umidità. L'esposizione prolungata all'umidità può avere un impatto negativo sulle prestazioni del test.

Reagenti

Tutti i reagenti necessari per il trattamento del campione sono integrati nella cartuccia. Il trattamento comprende la lisi cellulare, l'estrazione dell'acido nucleico e l'amplificazione e il rilevamento del DNA.

I reagenti sono sfera PCR, tampone legante e tamponi di lavaggio e soluzione. La sfera PCR contiene la DNA polimerasi, i primer e le sonde. Il tampone legante semplifica il legame degli acidi nucleici durante il processo di purificazione. Il tampone di lavaggio comprende una formulazione di sali e solventi diversi per rimuovere le impurità, ad es. le proteine durante il

processo di estrazione. Il tampone di soluzione ha un basso tenore di sale e contiene gli acidi nucleici depurati alla fine del processo di estrazione.

Tipi di campione/Liquido di trasporto

Il test è destinato all'uso con campioni di tamponi di feci in terreno eNAT® (tamponi floccati standard FLOQSwabs® 552C, terreno di trasporto eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Raccogliere e conservare i campioni come indicato nelle istruzioni del produttore.

Se il campione non viene processato immediatamente dopo il prelievo, gli acidi nucleici si conservano nel terreno di trasporto eNAT® fino a 4 settimane a temperatura ambiente e a 4 °C e fino a 6 mesi a una temperatura compresa tra -20 °C e -80 °C (vedere le Istruzioni d'uso del terreno di trasporto eNAT®⁵).

Preparazione del campione

Utilizzare un tampone floccato standard FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) per raccogliere una piccola quantità di feci inserendo la punta del tampone floccato nel campione di feci e ruotandolo. È necessario selezionare e raccogliere le aree sanguinolente, viscidose o acquose delle feci. Dopo la raccolta, esaminare il tampone per assicurarsi che il materiale fecale sia visibile sulla punta. In caso contrario, inserire nuovamente il tampone floccato nel campione di feci e ruotare facendo attenzione che tutta l'area della punta del tampone venga a contatto con il campione. Dopo il prelievo, trasferire il tampone nella provetta Copan eNAT® da 2 ml con il terreno di trasporto eNAT®. Tenendo l'asta del tampone tra pollice e l'indice, schiacciare e mescolare il campione di feci contro il lato della provetta per disperdere e sospendere uniformemente il campione nel terreno di conservazione. Tenere l'asta del tampone vicino al bordo della provetta, piegarla formando un angolo di 180 gradi per romperla nel punto di rottura segnato. Gettare la parte superiore rotta del tampone e chiudere il tappo. Agitare la provetta contenente il campione del tampone e il liquido eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) con attenzione per l'omogeneizzazione e utilizzare un pipettatore per versare 300 µl del campione omogeneizzato del paziente nell'apposito ingresso della cartuccia.

Non utilizzare campioni viscosi perché sono difficili da inserire nella provetta.

Risultato del test

Dopo l'elaborazione automatica del campione effettuata con l'analizzatore Vivalytic one, il risultato del test viene visualizzato sullo schermo dell'analizzatore Vivalytic one. Il tempo al risultato è di circa 50 minuti. Per i campioni ad alto titolo, i risultati sono disponibili entro 35 minuti, dopo i quali è possibile concludere il ciclo di test (vedere il capitolo Fine del test).

Il campione viene classificato come *C. difficile* positivo, *C. difficile* negativo o non valido. In caso di risultato positivo per *C. difficile*, il test è considerato valido anche se Human Control è negativo.

Il rilevamento della cella umana sulla base del processo di controllo (Human Control) nei campioni negativi evidenzia che la procedura di estrazione è stata corretta ed esclude l'inibizione della reazione PCR. L'interpretazione dei risultati è illustrata nella tabella riportata di seguito.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validità	Risultato
+	+/-	valido	Il campione è considerato positivo per <i>C. difficile</i> (gene della tossina tcdA/tcdB rilevato).
-	+	valido	Il campione è considerato negativo per <i>C. difficile</i> (gene della tossina tcdA/tcdB non rilevato).
-	-	non valido	Non valutabile. ¹

¹ È consigliabile ripetere il test.

PCR – Curva e valore C_q

Le curve PCR in tempo reale (modificate dal software) vengono visualizzate e classificate come positive o negative dal software. In caso di curve positive, viene visualizzato il rispettivo valore C_q. I risultati inconcludenti vengono contrassegnati come tali dal software (Δ). Si raccomanda di ripetere il test.

Test non valido o non riuscito

Un test è classificato come non valido se non rileva alcun DNA target o Human Control. Le cause potrebbero essere una qualità scadente del campione dovute all'assenza parziale o completa del materiale cellulare umano. Nonostante vengano visualizzati i risultati, che non potranno essere utilizzati per l'interpretazione diagnostica. Fare attenzione a utilizzare il tipo di campione, raccolta, conservazione e cartucce corrette prima di eseguire il test. Se necessario ripetere l'analisi con un nuovo campione.

In caso di test non riuscito, controllare prima le corrette condizioni di funzionamento dell'analizzatore Vivalytic *one* (vedere le istruzioni d'uso dell'analizzatore Vivalytic *one*). Riavviare l'analizzatore Bosch Vivalytic *one*. Se il problema dovesse persistere, contattare l'assistenza clienti o il distributore locale di riferimento.

Fine del test

Quando sullo schermo viene visualizzato un risultato valido e positivo per *C. difficile*, l'utente ha la possibilità di terminare il test.

Report del test

Il report stampato del test riporta il patogeno, i risultati, il controllo e le informazioni su utente, paziente e analizzatore Vivalytic *one* con un campo per la firma.

Controllo qualità

Se richiesto dalle norme locali o di laboratorio, sarà essere necessario eseguire un test per il controllo qualità.

Se si rende necessario un metodo di analisi di riferimento per il controllo qualità, è possibile utilizzare i seguenti materiali di riferimento:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Seguire le istruzioni del produttore.

In caso di risultati inattesi, ripetere le analisi con un altro campione. Se il risultato di un controllo qualità campione è negativo e, ad es. il terreno eNAT® rimane positivo, probabilmente l'analizzatore Vivalytic *one* o l'ambiente circostante sono contaminati. Interrompere l'uso dell'analizzatore Vivalytic *one* e pulire il dispositivo come descritto nelle istruzioni d'uso dell'analizzatore Vivalytic *one*.

In caso di ripetuti risultati errati del controllo qualità campioni, contattare l'assistenza clienti o il distributore locale di riferimento.

Note per gli utenti nell'UE

Tutti gli incidenti gravi che si verificano in relazione al dispositivo, devono essere comunicati al produttore e all'autorità di vigilanza dello Stato membro dove si trova l'utente e/o il paziente.

Limiti

I risultati del test con Vivalytic C. difficile devono essere interpretati solo da un operatore sanitario qualificato. I risultati del test con Vivalytic C. difficile non devono essere utilizzati come unico parametro per la diagnosi.

- Un risultato negativo non esclude la presenza di patogeni nel campione a un livello inferiore alla soglia di sensibilità o di altri patogeni non coperti dal saggio.
- Se i campioni vengono raccolti, trasportati o maneggiati in modo errato, ciò può dare origine a risultati falsi positivi o falsi negativi.
- In alcuni casi limite si possono verificare delle caratteristiche PCR atipiche (ad es. curva piatta con valore C_q basso o alto). In caso di risultati con caratteristiche atipiche, questi non potranno essere utilizzati per l'interpretazione diagnostica. I risultati inconcludenti vengono contrassegnati come tali dal software. Si raccomanda di ripetere il test.

- Valytic C. difficile è un test PCR qualitativo in tempo reale e non fornisce un risultato quantitativo.
- Un risultato positivo non significa automaticamente che sono presenti patogeni virali.
- Il test rileva *C. difficile* portatore dei geni *tcdA/tcdB*, ma non distingue tra ceppi produttori di tossine e ceppi non produttori di tossine.
- Un risultato negativo non preclude la presenza di infezione da *C. difficile*. Si raccomanda di interpretare i campioni negativi analizzati nel contesto di ulteriori dati di laboratorio.
- Una quantità eccessiva di feci può avere effetti inibitori sulle prestazioni del saggio.

Valutazione delle prestazioni analitiche

Sensibilità analitica (limite di sensibilità)

Il limite di sensibilità del test Valytic C. difficile è stato determinato come la più bassa concentrazione di analita che può essere rilevata in modo coerente ($\geq 95\%$ dei campioni testati in condizioni di laboratorio di routine utilizzando un tipo di campione definito).

Inclusività

Per valutare l'inclusività, è stata eseguita un'analisi *in silico* (allineamento BLAST) della sequenza genomica di vari ceppi *C. difficile* rilevanti rispetto alla sequenza dei primer PCR e della sonda di idrolisi utilizzati nel test Valytic C. difficile per l'amplificazione e il rilevamento dei rispettivi patogeni. È stato possibile dimostrare l'inclusività per i ceppi elencati nella [tabella 2](#).

Esclusività / Specificità analitica

Per escludere la reattività incrociata (esclusività), è stata condotta un'analisi *in silico* (allineamento BLAST) della regione target di *C. difficile* rispetto alla sequenza genomica di vari altri patogeni comuni dell'apparato gastrointestinale o di specie strettamente correlate. Non sono state riscontrate interferenze ([tabella 3](#)).

Riproducibilità

La riproducibilità del test Valytic C. difficile è stata stabilita utilizzando un pannello con 3 diverse concentrazioni di *C. difficile*. Presso tre siti di test, ogni miscela è stata testata sullo stesso set di strumenti Valytic dallo stesso operatore con 3 LOTTI rispettivamente in 4 repliche in 3 giorni, generando un totale di 324 osservazioni per patogeno target. I tassi di positività ottenuti per le diverse combinazioni sono stati correlati al tasso di positività previsto ([tabella 4a](#)).

Ripetibilità

La ripetibilità del test Valytic C. difficile è stata stabilita utilizzando un pannello con 1 concentrazione ($3 \times c95$) di *C. difficile*. In 1 sito di test, la miscela è stata testata sullo stesso set di strumenti Valytic dallo stesso operatore con 3 LOTTI in 20 repliche in 1 giorno, per un totale di 60 osservazioni per patogeno target. I tassi di positività ottenuti per le diverse combinazioni sono stati correlati al tasso di positività previsto ([tabella 4b](#)).

Interferenze

Sono state valutate le interferenze per le sostanze endogene ed esogene che sono potenzialmente presenti nel campione del paziente. Vedere la [tabella 5](#) per informazioni sulle sostanze che possono potenzialmente interferire con il test.

Valutazione delle prestazioni cliniche

Risultati di sensibilità e specificità derivati da campioni di feci umane native liquide e molli. I campioni sono stati raccolti in ambiente clinico e confrontati con i risultati dei metodi di riferimento.

I campioni da analizzare con le cartucce Valytic C. difficile sono stati utilizzati freschi o congelati per la conservazione e preparati come descritto sopra in eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Vivalytic C. difficile – Consultare le istruzioni d'uso

Nel caso di test di riferimento, i campioni sono stati preparati secondo le raccomandazioni dei metodi di riferimento utilizzati. Complessivamente sono stati analizzati 124 campioni. La sensibilità o PPA (concordanza positiva espressa in percentuale) è stata calcolata come $100\% \times TP / (TP + FN)$. La specificità o NPA (concordanza negativa espressa in percentuale) è stata calcolata come $100\% \times TN / (TN + FP)$. I risultati della valutazione delle prestazioni cliniche sono riportati nella [tabella 6](#).

Assistenza tecnica

In caso di domande, contattare il distributore locale o inviare un messaggio al servizio clienti di Vivalytic (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Bibliografia

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct; 12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboli



Produttore



Numero di serie



Data di produzione



Limite di temperatura



Data di scadenza



Non usare se la confezione è danneggiata



Numero di lotto



Esclusivamente monouso



Numero di riferimento



Consultare le istruzioni d'uso



Contiene <n> test



Dispositivo medico-diagnostico *in vitro*



Marchio CE



Pipettare il volume di campione indicato nell'ingresso della cartuccia, come indicato dal triangolo nero.

Innledning

Clostridioides difficile (*C. difficile*) er en grampositiv, sporedannende anaerob stavbakterie som består av toksigene og ikke-toksigene stammer.

C. difficile er et av de vanligste patogenene ved nosokomial diaré, spesielt hos pasienter med antibiotikaassosiert diaré. De siste årene har antallet og alvorlighetsgraden av tilfellene økt i Europa og resten av verden.¹

Symptomene på en *C. difficile*-infeksjon (CDI) varierer fra mild diaré til alvorlig livstruende pseudomembranøs kolitt, selv om kolonisering av *C. difficile* ikke nødvendigvis fører til en symptomatisk infeksjon.

Forstyrrelser i balansen mellom tarmens mikroorganismer, f.eks. på grunn av antibiotikabehandling, kan føre til at toksigen *C. difficile* etablerer seg, dominerer koloniseringen og kan være starten på CDI.²

Faktorer involvert i patogenesen for *C. difficile*, er genene *tcdA* og *tcdB* som koder for toksin A (enterotoksin) og toksin B (cytotoksin), som er lokalisert i et 19,6 kb kromosomalt område kalt patogenitetslokuset (PaLoc). De fleste patogene stammene er toksin A- og B-positive (A+B+), men noen patogene varianter kan være toksin A-negative og B-positive (A-B+). De er årsakene til *C. difficile*-assosierte sykdommer.³

Noen stammer av toksigen *C. difficile* produserer også et toksin som kalles *C. difficile*-transferase (CDT), eller binært toksin.⁴

Pakkens innhold

15 Vivalytic *C. difficile*-testkassetter til kvalitativ påvisning av *Clostridioides difficile*-spesifikke *tcdA/tcdB*-toksin-gensekvenser.

Tiltenkt bruk

Vivalytic *C. difficile*-testen er en automatisert kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test basert på polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid for påvisning av nukleinsyrer fra toksigen *C. difficile* (toksigenene *tcdA/tcdB*) fra prøver med flytende eller myk avføring fra mennesker. Testen skal bidra til diagnostisering av akutte gastrointestinale infeksjoner hos symptomatiske personer.

Resultatene skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose, behandling eller andre beslutninger om pasientbehandling. Positive resultater utelukker ikke samtidig infeksjon med andre patogener. Det/de påviste agenset/-ene er kanskje ikke den definte sykdomsårsaken. Negative resultater utelukker ikke en *C. difficile*-infeksjon eller annen gastrointestinal infeksjon. Resultater må samsvare klinisk med pasienthistorikken, kliniske observasjoner og epidemiologisk informasjon. Andre diagnostiske opplysninger er nødvendig for å fastsette pasientens infeksjonsstatus. Testen er beregnet for bruk med en Vivalytic *one*-analysator av helsepersonell, og den skal kun brukes i laboratoriemiljøer som sykehuslaboratorier og referanselaboratorier.

Sikkerhetsinformasjon

Denne bruksanvisningen inneholder kun testspesifikk informasjon. Du finner ytterligere advarsler og anvisninger i bruksanvisningen som fulgte med Vivalytic *one*-analysatoren (kapitlet med informasjon om enhetssikkerhet). Bruk kun kassetter og tilbehør fra Vivalytic som er godkjent for bruk med Vivalytic *one*-analysatoren. Vær forsiktig for å unngå kontaminering når du håndterer pasientprøver og kassetter. Hvis det søles prøvemateriale på kassetten, skal den ikke brukes. Kast kassetten.

Til *in vitro*-diagnostisk bruk av opplært helsepersonell.



ADVARSEL

- Følg alltid god laboratoriepraksis for å sikre riktig utførelse av denne testen.
- Bruk alltid personlig verneutstyr.
- Ikke bruk kassetten dersom posens forsegling eller selve kassetten har synlige skader.
- Ikke ta på eller skrap opp påvisningsområdet på kassetten.
- Ikke bruk kassetten flere ganger.
- Ikke bruk kassetter som er utgått på dato. Utløpsdatoen er angitt på forpakningen og kassetetiketten.
- Ikke la det gå mer enn 15 minutter fra du åpner kassetten til du starter testen. Dette opprettholder hygiene og unngår tap av ytelse på grunn av fuktighet. Langvarig eksponering for fuktighet har en negativ innvirkning på testytelsen.
- Ikke rist kassetter som inneholder prøver.
- Ikke snu kassetten opp ned.
- Sett kassetten på et rent og flatt underlag.
- Ikke bruk prøvetyper, medier og volumer som ikke er godkjente for testen.
- Følg alltid god laboratoriepraksis for å sikre riktig utførelse av denne testen.
- Biologiske prøver, overføringsenheter og brukte kassetter bør anses å være i stand til å overføre smittestoffer som krever standard forholdsregler. Håndter potensielt infeksjøs pasientprøver og kassetter i henhold til nasjonale laboratoriestandarder, og kasser prøvene i henhold til regionale og laboratorietekniske standarder.
- Følg nasjonale sikkerhetsregler og retningslinjer.

Obs! Du finner mer informasjon i produktets sikkerhetsdatablad. Kontakt kundestøtten til din lokale distributør.

Tilleggsutstyr og forbruksvarer som kreves, men som ikke følger med

- Bosch Vivalytic *one*-analysator (referansenummer F 09G 300 115)
- Pipette (100–1000 µl)
- Sterile filterpipettespisser 100–1000 µl
- Prøvetakingssett
 - Standard flokkt vattpinne FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Egnet verneutstyr

Testprinsipp

Vivalytic C. difficile er en kvalitativ sanntids-PCR-basert test.

Betingelser for lagring og bruk

Produktet er stabilt til utløpsdatoen hvis det lagres fra +15 til +25 °C.

Betingelser for lagring og bruk finner du på etiketten på kassetten, posen eller esken. Kassetten må brukes ved +15 til +25 °C, relativ fuktighet < 65 %, innen 15 minutter etter at posen åpnes. Dette opprettholder hygiene og unngår tap av ytelse på grunn av fuktighet. Langvarig eksponering for fuktighet har en negativ innvirkning på testytelsen.

Reagenser

Alle reagenser som er nødvendige for prøvebehandlingen, er integrert i kassetten. Behandlingen inkluderer cellelysering, ekstraksjon av nukleinsyre, DNA-amplifisering og -påvisning.

Reagenser er PCR-kule, bindingsbuffer, vaskebuffer og elusjonsbuffer. PCR-kulen inneholder DNA-polymerasen, -primerne og -probene. Bindingsbuffer letter bindingen av nukleinsyrer under renseprosessen. Vaskebuffer er en formulering av forskjellige salter og løsningsmidler for å fjerne urenheter, f.eks. proteiner, under ekstraksjonsprosessen. Elusjonsbuffer er en lavsaltbuffer og inneholder de rensede nukleinsyrene på slutten av ekstraksjonsprosessen.

Prøvetyper/medium

Testen er beregnet for bruk med vattpinneprøver for avføring i eNAT®-medium (Standard flokket vattpinne FLOQSwabs® 552C, eNAT® transportmedium ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Prøver skal tas og oppbevares slik det er angitt i produsentens instruksjoner.

Dersom prøven ikke behandles umiddelbart etter prøvetaking, vil nukleinsyrene bli bevart i eNAT®-transportmediet i opptil 4 uker ved romtemperatur og ved 4 °C og opptil 6 måneder ved -20 °C til -80 °C (se bruksanvisningen for eNAT® transportmedium⁵).

Prøveklargjøring

Bruk en Standard flokket vattpinne FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) for å ta prøve av en liten mengde avføring ved å stikke tuppen av den flokkede vattpinnen inn i avføringsprøven og rotere rundt. Se gjerne etter blodig, slimete eller vannaktig avføring, og ta prøve av dette materialet. Når prøven er tatt, må du sjekke at avføring er synlig på tuppen av vattpinnen. Hvis den ikke er det, stikker du den flokkede vattpinnen inn i avføringsprøven igjen. Roter pinnen slik at hele tuppen av vattpinnen kommer i kontakt med prøvematerialet. Etter prøvetaking overføres vattpinnen til 2 ml Copan eNAT®-røret med eNAT®-transportmediet. Hold skaftet på vattpinnen mellom tommelen og fingeren. Mos og bland avføringsprøven mot siden av røret for å spre og suspendere prøven jevnt i konserveringsmiddelet. Før skaftet på vattpinnen nær kanten av røret, og bøy det i en 180 graders vinkel. Knekk pinnen ved det markerte knekkpunktet. Kast den knekte øvre delen av vattpineskaftet, og sett på korken. Rist prøverøret med vattpinneprøven og eNAT®-medium (COPAN Italia s.p.a.) grundig for homogenisering, og overfør 300 µl homogenisert pasientprøve i prøveinntaket på kassetten ved hjelp av en pipette.

Ikke bruk tyktflytende prøver som er vanskelige å pipettere.

Testresultat

Etter automatisk behandling av prøven med Vivalytic *one*-analysatoren vises testresultatet på skjermen til Vivalytic *one*-analysatoren. Det tar cirka 50 minutter før resultatet er klart. Når det gjelder prøver med høye titre, er resultater tilgjengelig etter mindre enn 35 minutter, og testkjøringen kan avsluttes tidligere (se kapitlet om testavslutning).

Prøven klassifiseres enten som *C. difficile*-positiv, *C. difficile*-negativ eller ugyldig. Ved positiv påvisning av *C. difficile* vurderes testen som gyldig selv om Human Control er negativ.

Påvisning av human cellebasert full prosesskontroll (Human Control) i negative humane prøver viser en vellykket ekstraksjonsprosedyre og utelukker hemming av PCR-reaksjonen. Tolkning av resultatene står oppført i tabellen nedenfor.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Gyldighet	Resultat
+	+/-	gyldig	Prøven anses som positiv for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toksingen påvist).
-	+	gyldig	Prøven anses som negativ for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toksingen ikke påvist).
-	-	ugyldig	Kan ikke evalueres. ¹

¹ Gjentatt testing anbefales.

PCR – kurve og C_q-verdi

Sanntids-PCR-kurve (programvaremodifiserte) vises og klassifiseres som positive eller negative av programvaren. Ved positive kurver vises den respektive C_q-verdien. Ikke-entydige resultater er merket av programvaren (Δ). Det anbefales å teste på nytt.

Ugyldige eller mislykkede tester

En test vurderes som ugyldig hvis verken mål-DNA eller Human Control påvises. Mulige årsaker til en ugyldig kjøring kan være dårlig prøve kvalitet på grunn av delvis eller fullstendig fravær av humant cellemateriale i prøven. Resultatene vises for en ugyldig test, men disse kan ikke brukes til diagnostisk tolkning. Vær nøye med å bruke riktig prøvetype, prøvetaking og oppbevaring av prøven og kassetten før testkjøringen. Gjenta om nødvendig analysen med en ny prøve.

Ved en mislykket test må du først kontrollere om driftsbetingelsene for Vivalytic *one*-analysatoren er riktige (se Vivalytic *one*-analysatorens bruksanvisning). Start Vivalytic *one*-analysatoren på nytt. Kontakt kundestøtten til din lokale distributør hvis problemet vedvarer.

Testavslutning

Så fort det vises et gyldig, positivt *C. difficile*-resultat på skjermen, kan brukeren fullføre testen.

Testrapport

I den trykte testrapporten står patogener, resultater, kontroll og informasjon om bruker, pasient og Vivalytic *one*-analysator oppført med et signaturfelt.

Kvalitetskontroll

Hvis det kreves av lokale standarder eller laboratoriestandarder, må kvalitetskontrolltester gjennomføres.

Hvis en referansetestmetode for kvalitetskontroll er nødvendig, kan følgende referansematerialer brukes:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Følg produsentens instruksjoner.

Gjenta analysen med en annen prøve hvis det oppnås uventede resultater. Hvis resultatet av en negativ kvalitetskontrollprøve, f.eks. med rent eNAT[®]-medium, forblir positivt, kan Vivalytic *one*-analysatoren eller dens omgivelser være kontaminert. Ta Vivalytic *one*-analysatoren ut av bruk, og rengjør enheten som beskrevet i bruksanvisningen til Vivalytic *one*-analysatoren.

Hvis det forekommer gjentatte falske resultater av kvalitetskontrollprøver, skal også kundestøtten til den lokale distributøren kontaktes.

Merknad til brukere i EU

Enhver alvorlig hendelse som har skjedd i forbindelse med enheten, skal rapporteres til produsenten og vedkommende myndighet i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten er etablert.

Begrensninger

Resultatene av Vivalytic *C. difficile*-testen skal kun tolkes av helsepersonell som har fått opplæring i dette. Resultatene av Vivalytic *C. difficile*-testen skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose.

- Et negativt resultat utelukker ikke forekomst av patogener i prøven på et nivå under analysens sensitivitet eller forekomst av andre patogener som ikke dekkes av denne analysen.
- Det er en risiko for falskt negative eller falskt positive resultater på grunn av feil innsamlede, transporterte eller håndterte prøver.
- I grensetilfeller kan det oppstå atypiske PCR-egenskaper (f.eks. flat kurve med lav eller høy C_q -verdi). Resultater med atypiske egenskaper skal ikke brukes til diagnostisk tolkning. Ikke-entydige resultater er merket av programvaren. Det anbefales å teste på nytt.
- Vivalytic *C. difficile* er en kvalitativ PCR-test i sanntid og gir ikke et kvantitativt resultat.
- Et positivt resultat betyr ikke nødvendigvis at levedyktige patogener er til stede.
- Testen påviser *C. difficile* med *tcdA/tcdB*-gener, men skiller ikke mellom toksinproduserende og ikke-toksinproduserende stammer
- Et negativt resultat utelukker ikke en *C. difficile*-infeksjon. Det anbefales at negative prøver tolkes i sammenheng med andre laboratoriedata
- For mye avføring kan ha en hemmende effekt på analysen.

Analytisk ytelseevaluering

Analytisk følsomhet (deteksjonsgrense)

Deteksjonsgrensen for Vivalytic C. difficile-testen ble bestemt som den laveste konsentrasjonen av analytten som kan påvises konsekvent ($\geq 95\%$ av prøvene som ble testet under rutinemessige laboratorieforhold med en definert type prøve).

Inklusivitet

Inklusivitet kan evalueres ved å utføre en *in silico*-analyse (BLAST-sammenstilling) av den genomiske sekvensen til ulike relevante C. difficile-stammer mot sekvensen til PCR-primerne og hydrolyseproben som ble brukt i Vivalytic C. difficile-testen, for amplifikasjon og påvisning av de respektive patogenene. Inklusivitet kan vises for stammer som er oppført i [tabell 2](#).

Eksklusivitet / analytisk spesifisitet

For å utelukke kryssreaktivitet (eksklusivitet) ble det utført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenstilling) av målregionen for C. difficile opp mot genomsekvensen til forskjellige andre patogener som utgjør vanlige gastrointestinale patogener eller nært beslektede arter. Det var ingen tegn på interferens ([tabell 3](#)).

Reproduserbarhet

Reproduserbarheten av Vivalytic C. difficile-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 3 ulike konsentrasjoner av C. difficile. På tre teststeder ble hver blanding testet på samme sett av Vivalytic-instrumenter av samme operatør med hhv. 3 partier i 4 replikater på 3 dager, noe som ga totalt 324 observasjoner per målpatogen. De oppnådde positivitetsratene for de forskjellige kombinasjonene var korrelert til den forventede positivitetsraten ([tabell 4a](#)).

Repeterbarhet

Repeterbarheten av Vivalytic C. difficile-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 1 konsentrasjon ($3 \times c95$) av C. difficile. På 1 teststed ble blandingen testet på samme sett av Vivalytic-instrumenter av samme operatør med hhv. 3 partier i 20 replikater på 1 dag, noe som ga totalt 60 observasjoner per målpatogen. De oppnådde positivitetsratene for de forskjellige kombinasjonene var korrelert til den forventede positivitetsraten ([tabell 4b](#)).

Interferenser

Interferenser ble evaluert for endogene og eksogene stoffer som potensielt er til stede i pasientprøven. Se [tabell 5](#) for stoffer som har potensial til å forstyrre testen.

Klinisk ytelseevaluering

Sensitivitets- og spesifisitetsresultater fra prøver av naturlig væske og myk avføring fra mennesker. Prøver ble innhentet klinisk og sammenlignet med resultater fra referansemetoder.

Prøver for testing med Vivalytic C. difficile-kassetter ble brukt ferske eller fryst for lagring, og de ble klargjort iht. beskrivelsen over i eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Ved referansetesting ble prøvene klargjort i henhold til anbefalingene for referansemetodene som ble brukt. Det ble analysert totalt 124 prøver. Sensitivitet eller positivt prosentamsvar (PPA) ble beregnet som $100\% \times TP / (TP + FN)$. Spesifisitet eller negativt prosentamsvar ble beregnet som $100\% \times TN / (TN + FP)$. Resultatene av den kliniske ytelseevalueringen er vist i [tabell 6](#).

Teknisk støtte

Hvis du har spørsmål, kan du kontakte den lokale distributøren eller sende en melding til Vivalytics kundeservice (e-post: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referanser

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboler



Produsent



Serienummer



Produksjonsdato



Temperaturlgrense



Utløpsdato



Skal ikke brukes hvis pakken er skadet



Partinummer



Bare til engangsbruk



Referansenummer



Se bruksanvisningen



Inneholder <n> tester



In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr



CE-merke



Pipetter det angitte prøvolumet inn i prøveinntaket på kassetten, markert med svart trekant.

Inledning

Clostridioides difficile (*C. difficile*) är en grampositiv, sporbildande anaerob bakterie bestående av toxinbildande och ej toxinbildande stammar.

C. difficile är en av de vanligaste patogenerna vid nosokomial diarré, i synnerhet hos patienter med antibiotika-associerad diarré. På senare år har både antalet fall och allvarlighetsgraden ökat, såväl i Europa som resten av världen.¹

Symptomen vid *C. difficile*-infektion (CDI) varierar från mild diarré till allvarlig livshotande pseudomembranös kolit, även om kolonisering av *C. difficile* inte nödvändigtvis leder till en symptomatisk infektion. Om bakteriefloran i tarmen rubbas, t.ex. på grund av en antibiotikabehandling, kan detta leda till att toxinbildande *C. difficile* etableras, dominerar koloniseringen och eventuellt blir upptakten till CDI.²

Involverade faktorer i patogenesen för *C. difficile* är generna *tcdA* och *tcdB* som kodar för toxin A (enterotoxin) och toxin B (cytotoxin) som finns i en 19,6 kb kromosomregion som kallas patogenicitetslokus (PaLoc). De flesta patogena stammar är toxin A- och B-positiva (A+B+), men vissa patogena varianter av isolat kan vara toxin A-negativa och B-positiva (A-B+). De är orsaken till *C. difficile*-associerade sjukdomar.³

Vissa stammar av toxinbildande *C. difficile* producerar även ett toxin som kallas *C. difficile*-transferas (CDT) eller binärt toxin.⁴

Förpackningens innehåll

15 Vivalytic *C. difficile*-testpatroner för kvalitativ detektion av de *Clostridioides difficile*-specifika toxingensekvenserna *tcdA/tcdB*.

Avsedd användning

Testet Vivalytic *C. difficile* är ett automatiskt kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test baserat på Realtids-PCR (polymeraskedjereaktion) för detektion av nukleinsyror från toxinbildande *C. difficile* (toxingenerna *tcdA/tcdB*) från flytande eller mjuka humana avföringsprover (pinnprov) som ett hjälpmedel för diagnos av akut gastrointestinal infektion hos symptomatiska personer.

Resultaten ska inte användas som enda grund för val av diagnos, behandling eller andra beslut som rör patienten. Positiva resultat utesluter inte coinfection med andra patogener. Agens(er) som detekteras är eventuellt inte den avgörande orsaken till sjukdomen. Negativa resultat utesluter inte en *C. difficile*-infektion eller annan gastrointestinal infektion. Resultaten måste överensstämma kliniskt med patienthistorik, kliniska observationer och epidemiologisk information. Annan diagnostisk information är nödvändig för att kunna bestämma patientens infektionsstatus. Endast avsett för användning av sjukvårdspersonal med ett Vivalytic *one*-analysinstrument i laboratoriemiljö, till exempel i sjukhuslaboratorier och referenslaboratorier.

Säkerhetsanvisningar

Den här bruksanvisningen innehåller endast testspecifik information. Fler varningar och instruktioner finns i bruksanvisningen som medföljer analysinstrumentet Vivalytic *one* (kapitlet Säkerhetsinformation för enheten). Använd endast Vivalytic-patroner och -tillbehör som är godkända för analysinstrumentet Vivalytic *one*. Se till att du undviker kontaminering vid hantering av patientprover och patroner. Om du spiller prov på patronen ska du inte använda den utan kassera den.

För *in vitro*-diagnostisk användning av utbildad sjukvårdspersonal.



VARNING

- Följ alltid god laboratoriesed för att säkerställa optimal prestanda för testet.
- Bär personlig skyddsutrustning (PPE).
- Använd inte en patron om den förslutna påsen eller själva patronen är synligt skadad.
- Vidrör inte patronens detektionsområde och se till att det inte repas.
- Återanvänd inte patroner.
- Använd inte patroner som har passerat utgångsdatum. Utgångsdatumet anges på förpackningen och på etiketten på patronen.
- Vänta inte med att starta testet längre än 15 minuter efter att påsen till patronen har öppnats. Detta gör att god hygien säkerställs och att prestandaförlust undviks till följd av luftfuktighet. Långvarig exponering för luftfuktighet har en negativ inverkan på testprestandan.
- Skaka inte patroner som innehåller prover.
- Vänd inte patronen upp och ned.
- Placera endast patronen på en ren och plan yta.
- Använd inte provtyper, media och volymer som inte är godkända för testet.
- Följ alltid god laboratoriesed för att säkerställa optimal prestanda för testet.
- Biologiska prover, hjälpmedel för överföring och använda patroner ska betraktas som smittfarligt material som ska hanteras enligt gällande säkerhetsföreskrifter. Hantera potentiellt smittfarliga patientprover och patroner enligt nationella laboriostandarder och kassera prover enligt lokala föreskrifter och laboriostandarder.
- Följ nationella säkerhetsföreskrifter och riktlinjer.

Obs! Mer information finns i säkerhetsdatabladet (SDS) för produkten. Kontakta kundsupport.

Ytterligare utrustning och förbrukningsartiklar som krävs men som inte tillhandahålls

- Analysinstrumentet Bosch Vivalytic *one* (referensnummer F 09G 300 115)
- Pipett (100–1 000 µl)
- Sterila filterpipettspetsar 100–1 000 µl
- Pinnprovtagningsskit
 - Flockad standard-provpinne FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Lämpliga skyddskläder

Testprincip

Vivalytic C. difficile är ett kvalitativt realtids-PCR-baserat test.

Villkor för förvaring och användning

Produkten är hållbar till och med utgångsdatumet om den förvaras i +15 °C till +25 °C. Villkoren för förvaring och användning anges på patronen, påsen och etiketten på förpackningen. Patronen måste användas vid +15 °C till +25 °C vid en relativ luftfuktighet på < 65 %, inom 15 minuter efter att påsen har öppnats. Detta gör att god hygien säkerställs och att prestandaförlust undviks till följd av luftfuktighet. Långvarig exponering för luftfuktighet har en negativ inverkan på testprestandan.

Reagens

Alla reagens som krävs för provbearbetningen är inkluderade i patronen. Bearbetningen inkluderar cellysning, extraktion av nukleinsyra, DNA-amplifiering och detektion.

Reagensen är PCR-kulor, bindningsbuffert, tvättbuffert och elueringsbuffert. PCR-kulorna innehåller DNA-polymeras, primrar och prober. Bindningsbufferten möjliggör bindning av nukleinsyror under reningsprocessen. Tvättbufferten är en blandning av olika salter och lösningsmedel för borttagning av föroreningar (t.ex. proteiner) under extraktionsprocessen. Elueringsbufferten är en buffert med låg salthalt som innehåller den renade nukleinsyran i slutet av extraktionsprocessen.

Provtyper/medium

Testet är avsett för användning med avföringsprover (pinnprov) i eNAT®-medium (flockad standard-provpinne FLOQSwabs® 552C, eNAT®-transportmedium ref. 606C, COPAN Italia S.p.A.).

Samla in och förvara proverna enligt tillverkarens anvisningar.

Om provet inte bearbetas omedelbart efter provinsamling kan nukleinsyror förvaras i eNAT®-transportmedium i upp till 4 veckor i rumstemperatur och i 4 °C samt upp till 6 månader i -20 °C till -80 °C (se bruksanvisningen till eNAT®-transportmedium⁵).

Provberedning

Använd en flockad standard-provpinne FLOQSwabs® (COPAN Italia S.p.A.) för att samla in en liten mängd avföringsprov genom att sätta in spetsen på den flockade pinnen i avföringsprovet och rotera den. Blodiga, slemmiga eller vattniga områden i avföringen ska väljas ut och samlas in. Efter provinsamlingen ska pinnen granskas för att säkerställa att faecesmaterial är synligt på spetsen. Om så inte är fallet ska den flockade pinnen åter sättas in i avföringsprovet och roteras. Var noga med att hela området på pinnspetsen är i kontakt med provet. Efter provinsamlingen ska pinnen överföras till ett 2 ml-Copan eNAT®-rör med eNAT®-transportmedium. Håll pinnskafet mellan tummen och pekfingeret, mosa och blanda avföringsprovet mot sidan av röret så att provet löses upp och suspenderas jämnt i det konserverande mediet. Håll pinnskafet nära rörets kant och böj det i 180 graders vinkel för att bryta av det vid brytmarkeringen. Kassera den avbrutna övre delen av pinnskafet och sätt på locket. Skaka provröret som innehåller pinnprovet och eNAT®-medium (COPAN Italia S.p.A.) ordentligt så att provet homogeniseras, och använd sedan en pipett för att fylla 300 µl av det homogeniserade patientprovet i provinmatningen på patronen.

Använd inte viskösa prover som är svåra att pipettera.

Testresultat

Efter automatisk bearbetning av provet med analysinstrumentet Vivalytic *one* visas testresultatet på skärmen på analysinstrumentet Vivalytic *one*.

Tiden till resultat är cirka 50 minuter. För prover med hög titer är resultat tillgängliga efter mindre än 35 minuter och testkörningen kan avslutas tidigare (se kapitlet Avsluta testet).

Provet klassificeras antingen som *C. difficile*-positivt, *C. difficile*-negativt eller ogiltigt. Vid en positiv detektion för *C. difficile* betraktas testet som giltigt även om Human Control är negativ.

Detektion av den humana cellbaserade helprocesskontrollen (Human Control) i negativa prover visar att extraktionsproceduren lyckades och utesluter hämning av PCR-reaktionen. Tolkningen av resultat visas i tabellen nedan.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Giltighet	Resultat
+	+/-	giltigt	Provet betraktas som positivt för <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toxigen detekterad).
-	+	giltigt	Provet betraktas som negativt för <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toxigen inte detekterad).
-	-	ogiltigt	Kan ej utvärderas. ¹

¹ Omtestning rekommenderas.

PCR – kurva och C_q-värde

Realtids-PCR-kurvor (programvarumodifierade) visas och klassificeras som positiva eller negativa av programvaran. För positiva kurvor visas det motsvarande C_q-värdet. Osäkra resultat markeras av programvaran (Δ). Omtestning rekommenderas.

Ogiltiga eller misslyckade tester

Ett test betraktas som ogiltigt om vare sig mål-DNA eller Human Control detekteras. Möjliga anledningar till en ogiltig testning kan vara att provet är av bristande kvalitet på grund av att det helt eller delvis saknas humant cellmaterial i provet. Resultat visas för ett ogiltigt test, men de får inte användas för diagnostisk tolkning. Se till att använda rätt provtyp, utföra provinsamlingen korrekt samt förvara proverna och patronerna på rätt sätt innan testet utförs. Upprepa analysen med ett nytt prov om så krävs.

Om ett test misslyckas kontrollerar du först att driftförhållandena för analysinstrumentet Vivalytic *one* är korrekta (se bruksanvisningen till analysinstrumentet Vivalytic *one*). Starta om analysinstrumentet Vivalytic *one*. Kontakta kundsupport om problemet kvarstår.

Avsluta testet

Så fort ett giltigt, positivt *C. difficile*-resultat visas på skärmen kan användaren välja att avsluta testet.

Testrapport

I utskriften av testrapporten finns det ett signaturfält vid posterna för patogen, resultat, kontroll samt informationen om användare, patient och analysinstrumentet Vivalytic *one*.

Kvalitetskontroll

Om det krävs enligt lokala föreskrifter eller laboratoriestandarder måste även en kvalitetskontroll genomföras.

Om det behövs en referenstestmetod för kvalitetskontroll kan följande referensmaterial användas:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Följ tillverkarens anvisningar.

Om resultaten är oväntade upprepar du analysen med ett annat prov. Om resultatet av ett negativt kvalitetskontrollprov (t.ex. pure eNAT®-medium) är positivt kan analysinstrumentet Vivalytic *one* eller dess omgivning vara kontaminerat. Sluta använda analysinstrumentet Vivalytic *one* och rengör instrumentet enligt beskrivningen i bruksanvisningen till analysinstrumentet Vivalytic *one*.

Kontakta kundsupport vid upprepade falska resultat för kvalitetskontrollprover.

Information för användare i EU

Alla allvarliga incidenter som inträffar i samband med användning av instrumentet ska rapporteras till tillverkaren och den ansvariga myndigheten i medlemslandet där användaren och/eller patienten är bosatt.

Begränsningar

Resultaten från testet Vivalytic *C. difficile* får endast utvärderas av utbildad sjukvårdspersonal. Resultaten från testet Vivalytic *C. difficile* får inte användas som enda parameter för diagnos.

- Ett negativt resultat utesluter inte att det finns patogener i provet på en nivå under analysens sensitivitet eller att det finns andra patogener som inte omfattas av denna analys.
- Det finns risk för falskt negativa eller falskt positiva resultat till följd av prover som samlats in, transporterats eller hanterats på fel sätt.
- Vid gränsfall kan icke typiska PCR-egenskaper uppstå (t.ex. en plan kurva med lågt eller högt C_q -värde). Vid icke typiska egenskaper får resultat från analysen inte användas för diagnostisk tolkning. Osäkra resultat markeras av programvaran. Omtestning rekommenderas.
- Vivalytic *C. difficile* är ett kvalitativt realtids-PCR-test och ger inget kvantitativt resultat.
- Ett positivt resultat innebär inte med säkerhet att livsdugliga patogener förekommer.
- Testet detekterar *C. difficile* som bär *tcdA/tcdB*-gener, men särskiljer inte mellan toxinbildande och icke toxinbildande stammar.
- Ett negativt resultat utesluter inte *C. difficile*-infektion. Vi rekommenderar att prover som testats negativt tolkas med hänsyn till ytterligare laboratedata.

- En för stor mängd avföringsprov kan ha hämmande effekt på analysens prestanda.

Utvärdering av analytisk prestanda

Analytisk sensitivitet (detektionsgräns)

Detektionsgränsen för testet Vivalytic C. difficile fastställdes som den lägsta koncentrationen analyt som konsekvent kan detekteras ($\geq 95\%$ av proverna som testats under normala laboratorieförhållanden med en definierad typ av prov).

Inklusivitet

För att utvärdera inklusiviteten utfördes en *in silico*-analys (BLAST-anpassning) där den genomiska sekvensen för olika relevanta C. difficile-stammar jämfördes med sekvensen för PCR-primers och hydrolysober som används i testet Vivalytic C. difficile för amplifiering och detektion av respektive patogener. Inklusivitet kunde uppvisas för stammar som listas i [tabell 2](#).

Exklusivitet/analytisk specificitet

För att utesluta korsreaktivitet (exklusivitet) utfördes en *in silico*-analys (BLAST-anpassning) där målregionen för C. difficile jämfördes med den genomiska sekvensen för andra patogener som representerar vanliga gastrointestinala patogener eller nära besläktade arter. Inga bevis på interferens kunde påvisas ([tabell 3](#)).

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för testet Vivalytic C. difficile fastställdes genom att använda en panel med 3 olika koncentrationer av C. difficile. Varje blandning testades på 3 testplatser med samma uppsättning Vivalytic-instrument av samma operatör med 3 loter i 4 replikat under 3 dagar, vilket gav totalt 324 observationer per målpatogen. Erhållna positivitetsgrader för de olika kombinationerna korrelerade med den förväntade positivitetsgraden ([tabell 4a](#)).

Repeterbarhet

Repeterbarheten för testet Vivalytic C. difficile fastställdes genom att använda en panel med 1 koncentration ($3 \times c95$) av C. difficile. Blandningen testades på 1 testplats med samma uppsättning Vivalytic-instrument av samma operatör med 3 loter i 20 replikat under 1 dag, vilket gav totalt 60 observationer per målpatogen. Erhållna positivitetsgrader för de olika kombinationerna korrelerade med den förväntade positivitetsgraden ([tabell 4b](#)).

Interferenser

Interferenser utvärderades med avseende på endogena och exogena substanser som kan finnas i patientprovet. I [tabell 5](#) anges substanser som har potential att interferera med testet.

Utvärdering av klinisk prestanda

Resultat för sensitivitet och specificitet erhöles från flytande och mjuka humana avföringsprover. Proverna samlades in i en klinisk miljö och jämfördes med resultat från referensmetoder.

Prover som testades med Vivalytic C. difficile-testpatroner användes nyberedda eller frusna för förvaring och beredda enligt beskrivning ovan i eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Vid referenstestning bereddes proverna enligt rekommendationerna för respektive använd referensmetod. Totalt 124 prover analyserades. Sensitiviteten eller den procentuella överensstämmelsen för positiva resultat (PPA) beräknades som $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificiteten eller den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat beräknades som $100\% \times TN / (TN + FP)$. Resultaten från utvärderingen av klinisk prestanda visas i [tabell 6](#).

Teknisk support

Vid frågor är du välkommen att kontakta kundsupport eller skicka ett meddelande till Vivalytic (e-post: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referenser

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboler



Tillverkare



Serienummer



Tillverkningsdatum



Temperaturgräns



Utgångsdatum



Använd inte om förpackningen är skadad



Lotnummer



Endast för engångsbruk



Referensnummer



Se bruksanvisningen



Innehåller <n> tester



Medicinteknisk produkt för *in vitro*-diagnostik



CE-märkning



Pipettera angiven provvolym i provinmatningen på patronen som den svarta triangeln visar.

Johdanto

Clostridioides difficile (*C. difficile*) on grampositiivinen, itiöitä muodostava anaerobinen basilli, jolla on sekä toksigeenisä että ei-toksigeenisä kantoja.

C. difficile on yksi yleisimmistä sairaalasyntyisen ripulin patogeeneistä, erityisesti potilailla, joilla on antibiootinhoidon aiheuttama ripuli. Viime vuosina tapausten määrä on lisääntynyt ja niiden vakavuus on kasvanut niin Euroopassa kuin maailmanlaajuisesti.¹

C. difficile -infektion (CDI) oireet vaihtelevat lievistä ripulista vakavaan hengenvaaralliseen pseudomembranoottiseen koliittiin, vaikka pelkkä *C. difficile* -infektion kolonisaatio ei välttämättä johda oireiseen infektiin. Suoliston mikrobitasapainon häiriintyminen esimerkiksi antibiootinhoidon vuoksi voi mahdollistaa toksigeenisien *C. difficile* -kannan asettumisen suolistoon ja pääsemisen vallalle kolonisaatioissa, mikä voi olla CDI:n käynnistävä tekijä.²

C. difficile -bakteerin patogeneesiin vaikuttavat tekijät ovat geenit *tcdA* ja *tcdB*, jotka koodaavat toksiniin A (enterotoksiini) ja toksiniin B (sytotoksiini). Ne sijaitsevat kromosomialueella 19,6 kb, jota kutsutaan patogeneisuuden lokukseksi (PaLoc). Useimmat patogeeniset kannat ovat positiivisia sekä toksiinille A että toksiinille B (A+B+), mutta joidenkin patogeenisten varianttien isolaatit voivat olla toksiniin A -negatiivisia mutta toksiniin B -positiivisia (A-B+). Ne ovat *C. difficile* -bakteereihin liittyvien sairauksien aiheuttajia.³

Jotkin toksigeenisistä *C. difficile* -kannoista tuottavat myös toksiniin A, jota kutsutaan nimellä *C. difficile* -transferaasi (CDT) tai binääritoksiiniksi.⁴

Pakkauksen sisältö

15 Vivalytic *C. difficile* -testikasettia *Clostridioides difficile* -spesifisten *tcdA*/*tcdB*-toksiinigeenisekvenssien kvalitatiiviseen tunnistamiseen.

Käyttötarkoitus

Vivalytic *C. difficile* -testi on automatisoitu kvalitatiivinen, *in vitro* -diagnostinen testi, joka perustuu reaaliaikaiseen polymeraasiketjureaktioon (PCR). Testillä tunnistetaan toksigeenisien *C. difficile* (toksiinigeenit *tcdA*/*tcdB*) nukleinihiapot ihmisen nestemäisistä tai pehmeistä ulostenäytteistä oireilevien yksilöiden akuuttien maha-suolikanavan infektioiden diagnosoimista varten.

Tuloksia ei pidä käyttää ainoana perustana diagnoosin, hoidon tai muiden potilaanhallintapäätösten tekemiselle. Positiiviset tulokset eivät sulje pois muiden patogeenien rinnakkaisinfektiota. Havaitut aineet eivät välttämättä ole sairauden lopullinen syy. Negatiiviset tulokset eivät sulje pois *C. difficile* -infektiota tai muuta maha-suolikanavan infektiota. Tulosten täytyy korreloida kliinisesti potilashistorian, kliinisten havaintojen ja epidemiologisten tietojen kanssa. Muita diagnostisia tietoja tarvitaan potilaan infektion tilan määrittämiseksi. Tarkoitettu vain terveydenhuollon ammattilaisten käyttöön Vivalytic *one* -analysointilaitteen kanssa laboratorioympäristöissä, kuten sairaalalaboratorioissa tai vertailulaboratorioissa.

Turvallisuutta koskevia tietoja

Nämä käyttöohjeet sisältävät vain testikohtaista tietoa. Lisätietoja varoituksista ja ohjeista on Vivalytic *one* -analysointilaitteen mukana toimitetuissa käyttöohjeissa (katso laitteen turvallisuusohjeita käsittelevä luku). Käytä vain Vivalytic-kasetteja ja -lisävarusteita, jotka on hyväksytty käyttöön Vivalytic *one* -analysointilaitteen kanssa. Käsittele potilasnäytteitä ja kasetteja varovasti, jotta ne eivät kontaminoidu. Jos näytettä roiskuu kasettiin, kasettia ei saa käyttää, vaan se on hävitettävä.

Tarkoitettu koulutettujen terveydenhuollon ammattilaisten käyttöön *in vitro* -diagnostiikassa.



VAROITUS

- Noudata aina hyvää laboratorioskäytäntöä, jotta testi suoritetaan asianmukaisesti.
- Käytä asianmukaisia henkilönsuojaimia.
- Älä käytä kasettia, jos sinetöity pussi tai itse kasetti on vaurioitunut.
- Älä kosketa tai naarmuta kasetin tunnustusaluetta.
- Älä käytä kasettia uudelleen.
- Älä käytä vanhentuneita kasetteja. Viimeinen käyttöpäivä on pakkauksessa ja kasetin etiketissä.
- Aloita testi viimeistään 15 minuutin sisällä kasetin pussin avaamisesta. Näin ylläpidetään hygieniää ja vältetään kosteudesta johtuva suorituskyvyn heikkeneminen. Pitkäaikainen altistuminen kosteudelle vaikuttaa negatiivisesti testin suorituskykyyn.
- Älä ravista kasettia, joka sisältää näytettä.
- Älä käännä kasettia ylösalaisin.
- Aseta kasetti vain puhtaalle ja tasaiselle pinnalle.
- Älä käytä näytetyyppejä, väliaineita ja tilavuuksia, joita ei ole hyväksytty testiä varten.
- Noudata aina hyvää laboratorioskäytäntöä, jotta testi suoritetaan asianmukaisesti.
- Biologisten näytteiden, siirtolaitteiden ja käytettyjen kasettien tulee katsoa pystyvän välittämään tartunnanaiheuttajia, jotka vaativat vakiovaroituksia. Käsittele mahdollisesti tartuntavaarallisia potilasnäytteitä ja -kasetteja kansallisten laboratoriosandardien mukaisesti ja hävitä näytteet ja kasetit alueellisten ja laboratoriosandardien mukaisesti.
- Noudata kansallisia turvallisuusmääräyksiä ja -käytäntöjä.

Huomautus: Lisätietoja on tuotteen käyttöturvallisuustiedotteessa. Ota yhteyttä paikallisen jälleenmyyjän asiakastukeen.

Tarvittavat lisälaitteet ja kulutustarvikkeet, jotka eivät kuulu toimitukseen

- Bosch Vivalytic *one* -analysointilaitte (tuotenumero F 09G 300 115)
- Pipetit (100–1000 µl)
- Steriilit pipetin suodatinkärjet 100–1000 µl
- Näytetikkupakkaukset
 - Normaalkärkiset FLOQSwabs®-nukkatikut 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Väliaine
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Asianmukainen suojavaatetus

Testiperiaate

Vivalytic C. difficile on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-pohjainen testi.

Varastointi- ja käyttöolosuhteet

Tuote on vakaa viimeiseen käyttöpäivään asti, jos se on säilytetty +15–25 °C:n lämpötilassa. Säilytys- ja käyttöolosuhteet löytyvät kasetista, pussista tai pakkauksen etiketistä. Kasettia on käytettävä +15–25 °C:n lämpötilassa suhteellisen kosteuden ollessa < 65 % ja 15 minuutin kuluessa pussin avaamisesta. Näin ylläpidetään hygieniää ja vältetään kosteudesta johtuva suorituskyvyn heikkeneminen. Pitkäaikainen altistuminen kosteudelle vaikuttaa negatiivisesti testin suorituskykyyn.

Reagenssit

Kaikki näytteen käsittelyyn tarvittavat reagenssit on integroitu kasettiin. Käsittely sisältää solulyysin, nukleiinihapon uuttamisen, DNA-monistuksen ja tunnistamisen.

Reagensseja ovat PCR-helmi, sidospuskuri, pesupuskuri ja eluutiopuskuri. PCR-helmi sisältää DNA-polymeraasin, primeerit ja koettimet. Sidospuskuri helpottaa nukleiinihappojen sitomista puhdistusprosessin aikana. Pesupuskuri koostuu erilaisista suoloista ja liuottimista epäpuhtauksien, kuten proteiinien, poistamiseksi uuttoprosessin aikana. Eluutiopuskuri on vähäsuolainen puskuuri, joka sisältää puhdistettuja nukleiinihappoja uuttoprosessin lopussa.

Näytetyypit/väliaine

Testi on tarkoitettu käytettäväksi eNAT®-väliaineessa säilytettävien ulostenäytteiden kanssa (normaalikärkinen FLOQSwabs®-nukkatikku 552C, eNAT®-kuljetusalusta, tuotenro 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Kerää ja säilytä näytteitä valmistajan ohjeissa esitetyllä tavalla.

Jos näytettä ei käsitellä välittömästi näytteenoton jälkeen, nukleinihapot säilyvät eNAT®-kuljetusväliaineessa enintään 4 viikkoa huoneenlämmössä ja enintään 6 kuukautta 4 °C:ssa ja -20 °C – -80 °C:ssa (katso eNAT®-kuljetusväliaineen käyttöohjeet⁵).

Näytteen valmistelu

Kerää pieni määrä ulostetta normaalikärkisellä FLOQSwabs®-nukkatikulla (COPAN Italia s.p.a.) viemällä nukkatikun kärki ulostenäytteeseen ja kiertämällä tikkaa paikallaan. Näytteen keräämistä varten kannattaa valita veristä, limaista tai vetistä ulosteen osaa. Katso keräämisen jälkeen, että näytetikon kärjessä varmasti näkyy ulostemateriaalia. Jos ei näy, työnnä nukkatikku uudelleen ulostenäytteeseen ja kierrä sitä niin, että näytetikon koko kärjen alue on varmasti kosketuksissa näytteeseen. Siirrä keräämisen jälkeen näytetikku 2 ml:n Copan eNAT® -putkeen, jossa on eNAT®-kuljetusväliainetta. Pitele näytetikkua varresta peukalolla ja etusormella ja painele ja hiero ulostenäyte tikusta putken seinämää vasten niin, että näyte jakautuu tasaisesti ja suspendoituu säilytysaineeseen. Vie näytetikon varsi lähelle putken reunaa ja katkaise varsi merkitystä katkaisukohtasta vääntämällä vartta reunaa vasten 180 asteen kulmaan. Hävitä näytetikon varren irrotettu yläosa ja kierrä korkki kiinni. Ravitele tikkunäytteen ja eNAT®-väliaineen (COPAN Italia s.p.a.) sisältävää näyteputkea, jotta se homogenoituu kunnolla, ja pipetoi sitten 300 µl homogenoitunutta potilasnäytettä kasetin näytteensyöttöaukkoon.

Älä käytä viskoosisia näytteitä, joita on vaikea pipetoida.

Testitulokset

Kun näyte on käsitelty automaattisesti Vivalytic *one* -analysointilaitteella, testitulokset näkyvät Vivalytic *one* -analysointinäytteen näytössä. Testituloksen valmistumisaika on noin 50 minuuttia. Korkean pitoisuuden näytteiden tulokset ovat käytettävissä alle 35 minuutissa, ja testin suorittaminen voidaan päättää etujasssa (katso luku Testin päättäminen).

Näyte luokitellaan joko *C. difficile* -positiiviseksi, *C. difficile* -negatiiviseksi tai virheelliseksi. Jos näyte tunnistetaan *C. difficile* -positiiviseksi, testi katsotaan onnistuneeksi, vaikka Human Control -ihmiskontrolli olisi negatiivinen.

Ihmisloluun perustuvan koko prosessin kontrollin (Human Control -ihmiskontrollin) havaitseminen negatiivisissa näytteissä osoittaa uuttomenettelyn onnistuneen ja sulkee pois PCR-reaktion inhibition. Tulosten tulkinta esitetään alla olevassa taulukossa.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Onnistuminen	Tulos
+	+/-	onnistui	Näytettä pidetään <i>C. difficile</i> -positiivisena (tcdA-/tcdB-toksiinigeniä havaittu).
-	+	onnistui	Näytettä pidetään <i>C. difficile</i> -negatiivisena (tcdA-/tcdB-toksiinigeniä ei havaittu).
-	-	virheellinen	Ei arvioitavissa. ¹

¹ Testin uusiminen on suositeltavaa.

PCR – käyrä ja C_q-arvo

Ohjelmisto näyttää (ohjelmiston muokkaamat) reaaliaikaiset PCR-käyrät ja luokittelee ne positiivisiksi tai negatiivisiksi. Positiivisten käyrien kohdalla näytetään vastaava C_q-arvo. Ohjelma merkitsee ratkaisemattomat tulokset (Δ). Uudelleentestaus on suositeltavaa.

Virheelliset tai epäonnistuneet testit

Testi luokitellaan virheelliseksi, jos kohde-DNA:ta tai Human Control -ihmiskontrollia ei kumpaakaan havaita. Virheellinen tulos voi johtua näytteen huonosta laadusta, koska näytteessä on osittain tai ei lainkaan ihmissoluainesta. Virheellisen testin tulokset näytetään, mutta niitä ei saa käyttää diagnostisessa tulkinnassa. Kiinnitä huomiota oikeanlaiseen näytetyyppiin, näytteenottoon sekä näytteiden ja kasettien säilytykseen ennen testin suorittamista. Toista analyysi tarvittaessa uudella näytteellä. Jos testi epäonnistuu, tarkista ensin Vivalytic *one* -analysointilaitteen oikeat käyttöolosuhteet (katso lisätietoja Vivalytic *one* -analysointilaitteen käyttöohjeista). Käynnistä Vivalytic *one* -analysointilaitte uudelleen. Jos ongelma jatkuu, ota yhteyttä paikallisen jälleenmyyjän asiakastukeen.

Testin päättäminen

Kun kelvollinen *C. difficile* -positiivinen tulos näkyy näytössä, käyttäjä voi päättää testin.

Testiraportti

Tulostetussa testiraportissa ilmoitetaan patogeeni, tulokset, kontrolli sekä käyttäjän, potilaan ja Vivalytic *one* -analysointilaitteen tiedot. Raportissa on myös allekirjoituskenttä.

Laadunohjaus

Jos paikalliset tai laboratoriostandardit sitä edellyttävät, on suoritettava laadunvalvontatestaus.

Jos tarvitaan vertailutestimenetelmää laadunohjausta varten, on mahdollista käyttää seuraavia viitemateriaaleja:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Noudata valmistajan ohjeita.

Jos tulokset ovat odottamattomia, toista analyysi toisella näytteellä. Jos negatiivisen laadunohjausnäytteen, esim. puhtaan eNAT®-väliaineen, tulos pysyy positiivisena, Vivalytic *one* -analysointilaitte tai sen ympäristö voi olla kontaminoitunut. Lopeta Vivalytic *one* -analysointilaitteen käyttö ja puhdista laite Vivalytic *one* -analysointilaitteen käyttöoppaassa kuvatulla tavalla.

Jos laadunvarmistusnäytteet ovat toistuvasti vääriä, ota yhteyttä paikallisen jälleenmyyjän asiakastukeen.

Ilmoitus käyttäjille EU:ssa

Kaikki laitteeseen liittyvät vakavat vaaratilanteet on ilmoitettava valmistajalle ja sen jäsenvaltion toimivaltaiselle viranomaiselle, jossa käyttäjä ja/tai potilas asuu.

Rajoitukset

Vivalytic *C. difficile* -testin tuloksia saa tulkita vain koulutettu terveydenhuollon ammattilainen. Vivalytic *C. difficile* -testin tuloksia ei saa käyttää diagnoosin ainoana perusteena.

- Negatiivinen tulos ei sulje pois sitä, että näytteessä on taudinaiheuttajaa määritysherkkyden alapuolella tai muita taudinaiheuttajia, jotka eivät kuulu tähän määritykseen.
- Väärien negatiivisten tai väärien positiivisten tulosten riski johtuu väärien kerätyistä, kuljetetuista tai käsitellyistä näytteistä.
- Rajatapauksissa voi esiintyä epätyypillisiä PCR-ominaisuuksia (esim. litteä käyrä, jonka C_q -arvo on alhainen tai korkea). Epätyypillisten ominaisuuksien kohdalla tuloksia ei saa käyttää diagnostisessa tulkinnassa. Ohjelma merkitsee ratkaisemattomat tulokset. Uudelleentestaus on suositeltavaa.
- Vivalytic *C. difficile* on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-testi, joka ei anna kvantitatiivisia tuloksia.
- Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita elinkykyisten patogeenien esiintymistä.
- Testi tunnistaa *C. difficile* -bakteerit, joilla on *tcdA*/*tcdB*-geeni, mutta testi ei erottele, ovatko kyseessä toksiinia tuottavat vai toksiinia tuottamattomat kannat.

- Negatiivinen tulos ei sulje pois *C. difficile*-infektiota. On suositeltavaa tulkita negatiivisia testituloksia kontekstissa muiden laboratoriotietojen kanssa.
- Liian suuri ulostemäärä voi vaikuttaa inhihoivasti määrittelyn suorituskykyyn.

Analyttisen suorituskyvyn arviointi

Analyttinen herkkyys (tunnistusraja)

Vivalytic *C. difficile* -testin tunnistusraja määritettiin pienimmäksi johdonmukaisesti havaituksi analyttin pitoisuudeksi (≥ 95 % näytteistä, testattu määrittelyllä näytetyypillä rutiinilaboratorio-olosuhteissa).

Inklusiivisuus

Inklusiivisuuden arvioimiseksi tehtiin *in silico* -analyysi (BLAST-kohdistus) erilaisten merkityksellisten *C. difficile* -kantojen genomisekvenssistä niiden PCR-primeerien ja hydrolyysikoettimien sekvenssille, joita käytetään Vivalytic *C. difficile* -testissä kyseisten patogeenien monistukseen ja tunnistamiseen. Inklusiivisuus voitiin osoittaa [taulukossa 2](#) esitettyjen kantojen osalta.

Eksklusiivisuus / analyttinen tarkkuus

Ristireaktiivisuuden (eksklusiivisuuden) poissulkemiseksi suoritettiin *C. difficile* -kohdealueen *in silico* -analyysi (BLAST-kohdistus) mahasuolikanavan yleisten patogeenien tai niihin läheisesti liittyvien lajien genomisekvenssin perusteella. Häiriöistä ei ollut näyttöä ([taulukko 3](#)).

Uusittavuus

Vivalytic *C. difficile* -testin uusittavuus määritettiin käyttämällä paneelia, jossa oli kolme eri *C. difficile* -pitoisuutta. Kaikissa kolmessa testipaikassa jokainen seos testattiin samoilla Vivalytic-välineillä saman testaajan toimesta. Testi toistettiin kolmella erällä neljä kertaa kolmena eri päivänä, eli yhteensä toteutettiin 324 havaintokertaa kohdepatogeenia kohden. Eri yhdistelmien todennettuja positiivisuusarvoja verrattiin odotettuun positiivisuusarvoon ([taulukko 4a](#)).

Toistettavuus

Vivalytic *C. difficile* -testin toistettavuus määritettiin käyttämällä paneelia, jossa oli yhtä *C. difficile* -pitoisuutta (3×95). Seos testattiin yhdessä testipaikassa samoilla Vivalytic-välineillä saman testaajan toimesta. Testi toistettiin kolmella erällä yhtenä päivänä 20 kertaa, eli yhteensä toteutettiin 60 havaintokertaa kohdepatogeenia kohden. Eri yhdistelmien todennettuja positiivisuusarvoja verrattiin odotettuihin positiivisuusarvoihin ([taulukko 4b](#)).

Häiriöt

Häiriöitä arviointiin endogeenisissä ja eksogeenisissä aineissa, joita mahdollisesti esiintyy potilasnäytteessä. Katso [taulukosta 5](#) lisätietoja aineista, jotka voivat häiritä testiä.

Kliinisen suorituskyvyn arviointi

Herkkyys- ja tarkkuustulokset on johdettu ihmisen nestemäisen ja pehmeän ulosteen natiivinäytteistä. Näytteet otettiin kliinisessä ympäristössä, ja niitä verrattiin viitemenetelmien tuloksiin.

Vivalytic *C. difficile* -kaseteilla testattavat näytteet käytettiin joko tuoreeltaan tai pakastettiin säilytystä varten ja valmisteltiin sitten edellä kuvatulla tavalla eNAT® -kuljetusväliaineessa (COPAN Italia S.p.A.).

Vertailutestinäytteet puolestaan valmisteltiin käytettyjen vertailumenetelmien omien suositusten mukaisesti. Yhteensä analysoitiin 124 näytettä. Herkkyys (positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys, PPA) laskettiin kaavalla $100 \% \times TP / (TP + FN)$. Tarkkuus (negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys) laskettiin kaavalla $100 \% \times TN / (TN + FP)$. Kliinisen suorituskyvyn arvioinnin tulokset esitetään [taulukossa 6](#).

Tekninen tuki

Jos sinulla on kysyttävää, ota yhteyttä paikalliseen jälleenmyyjään tai lähetä viesti Vivalyticin asiakaspalveluun (sähköposti: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Lähdeviitteet

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbolit



Valmistaja



Sarjanumero



Valmistuspäivä



Lämpötilaraja



Viimeinen käyttöpäivä



Ei saa käyttää, jos pakkaus on vaurioitunut.



Eränumero



Kertakäyttöinen tuote



Tuotenumero



Katso lisätietoja käyttöoppaasta.



Sisältää <n> testiä



In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinnällinen laite



CE-merkintä



Pipetoi kasetin näytteensyöttöaukkoon mustan kolmion alla ilmoitettu näytemäärä.

Introduktion

Clostridioides difficile (*C. difficile*) er en gram-positiv, sporedannende anaerob bakterie bestående af toksigene og non-toksigene stammer.

C. difficile er et af de mest almindelige patogener i nosokomial diarré, især hos patienter med antibiotika-associeret diarré. I løbet af de seneste år er antallet og alvorligheden af tilfælde steget i Europa og resten af verden.¹

Symptomerne på *C. difficile*-infektion (CDI) varierer fra mild diarré til alvorlig livstruende pseudomembranøs colitis, selvom kolonisering af *C. difficile* ikke nødvendigvis fører til en symptomatisk infektion. Forstyrrelse af balancen i tarmenes mikroorganismer, f.eks. som følge af antibiotisk behandling, kan medføre, dannelse af toksigen *C. difficile*, som dominerer koloniseringen og kan starte CDI.²

Faktorer, der er involveret i patogenesen af *C. difficile*, er generne *tcdA* og *tcdB*, som koder for toksin A (enterotoksin) og toksin B (cytotoksin), som findes i et kromosomalt område på 19,6 kb kaldet PaLoc (Pathogenicity Locus (Sygdomsfremkaldende locus)). De fleste patogene stammer er toksin A- og B-positive (A+B+), men nogle isolater af patogene varianter kan være toksin A-negative og B-positive (A-B+). De er årsagen til *C. difficile*-associerede sygdomme.³

Nogle stammer af toksigen *C. difficile* producerer også et toksin kaldet *C. difficile* transferase (CDT) eller binært toksin.⁴

Pakkens indhold

15 Vivalytic *C. difficile*-testkassetter til kvalitativ detektion af *Clostridioides difficile*-specifikke *tcdA/tcdB*-toksin-gensekvenser.

Beregnet anvendelse

Vivalytic *C. difficile*-testen er en automatisk kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test baseret på reeltids-PCR (Polymerase Chain Reaction) til detektion af nukleinsyrer fra toksigen *C. difficile* (toksin-generne *tcdA/tcdB*) fra flydende eller bløde pødeprøver af human fæces som en hjælp til diagnosticering af akutte infektioner i mave-tarmkanalen hos symptomatiske personer.

Resultaterne må ikke bruges som det eneste grundlag for diagnosticering, behandling eller andre beslutninger omkring patienthåndteringen. Positive resultater udelukker ikke coinfektion med andre patogener. De(t) detekterede stof(fer) er muligvis ikke den bestemte årsag til sygdommen. Negative resultater udelukker ikke en *C. difficile*-infektion eller en anden infektion i mave-tarmkanalen. Resultaterne skal korreleres klinisk med patientens historik, kliniske observationer og epidemiologiske oplysninger. Andre diagnostiske oplysninger er nødvendige for at bestemme patientens infektionsstatus. Den er udelukkende beregnet til brug sammen med et Vivalytic *one*-analyseapparat af uddannet sundhedspersonale på laboratorier som f.eks. på hospital-laboratorier og referencelaboratorier.

Sikkerhedsoplysninger

Denne brugsanvisning indeholder kun testspecifikke oplysninger. Se brugsanvisningen, der følger med Vivalytic *one*-analyseapparatet (kapitlet med oplysninger om enhedens sikkerhed), for at få oplysninger med yderligere advarsler og anvisninger. Brug kun Vivalytic-kassetter og -tilbehør, der er godkendt til Vivalytic *one*-analyseapparatet. Vær omhyggelig med at undgå kontaminering ved håndtering af patientprøver og kassetter. Når der har været spildt prøvemateriale på kassetten, må kassetten ikke anvendes og skal bortskaffes.

Til diagnostisk brug *in vitro* af uddannet sundhedspersonale.



ADVARSEL

- Overhold altid god laboratoriepraksis for at sikre, at denne test udføres og fungerer korrekt.
- Sørg for at bruge passende personlige værnemidler (PPE).
- Brug ikke en kassette, hvis den forseglede pose eller selve kassetten er synligt beskadiget.
- Berør eller rids ikke detektionsområdet på kassetten.
- Genbrug ikke en kassette.
- Udløbne kassetter på ikke bruges. Udløbsdatoen kan findes på emballagen og etiketten på kassetten.
- Vent højst 15 minutter med at påbegynde testen efter åbning af kassetteposen. Dette sikrer, at hygiejnen opretholdes, og at der undgås funktionstab pga. luftfugtighed. Længere tids udsættelse for luftfugtighed har en negativ indflydelse på testens funktion.
- Ryst ikke en kassette, der indeholder en prøve.
- Vend ikke kassetten på hovedet.
- Kassetten må kun placeres på en ren og flad overflade.
- Brug ikke prøvetyper, -medier og -mængder, der ikke er godkendt for testen.
- Overhold altid god laboratoriepraksis for at sikre, at denne test udføres og fungerer korrekt.
- Biologisk prøvemateriale, overførselsheder og brugte kassetter skal anses for at indeholde potentielt smittefarlige stoffer, der kræver standardmæssige forholdsregler. Håndter potentielt smittefarlige patientprøver og kassetter i overensstemmelse med nationale laboratoriestandarder, og bortskaf prøver og kassetter i overensstemmelse med regionale standarder og laboratoriestandarder.
- Overhold de nationale sikkerhedsforskrifter og den anbefalede praksis.

Bemærk: Få yderligere oplysninger i produktets sikkerhedsdataark (SDS – safety data sheet). Kontakt den lokale forhandlers kundesupport.

Yderligere udstyr og forbrugsvarer, der er påkrævet, men som ikke medfølger

- Bosch Vivalytic *one*-analyseapparat (referencenummer F 09G 300 115)
- Pipette (100-1000 µl)
- Sterile filterpipettespidser 100-1000 µl
- PODEPRØVETAGNINGSSÆT
 - Den almindelige podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Passende beskyttelsestøj

Testprincip

Vivalytic C. difficile er en kvalitativ reeltids-PCR-baseret test.

Opbevarings- og brugsbetingelser

Produktet er stabilt indtil udløbsdatoen, hvis det opbevares ved +15 °C til +25 °C. Opbevarings- og brugsbetingelser findes på etiketten på kassetten, posen eller æsken. Kassetten skal bruges ved +15 °C til +25 °C, en relativ luftfugtighed på < 65 % og inden for 15 min efter åbning af posen. Dette sikrer, at hygiejnen opretholdes, og at der undgås funktionstab pga. luftfugtighed. Længere tids udsættelse for luftfugtighed har en negativ indflydelse på testens funktion.

Reagenser

Alle de reagenser, der er nødvendige til prøvebehandlingen, er integreret i kassetten. Behandlingen omfatter cellelysis, nukleinsyre-ekstraktion, DNA-forstærkning og -detektion.

Reagenserne er PCR-bead, bindingsbuffer, vaskebuffer og elueringsbuffer. PCR-bead'en indeholder DNA-polymerase, primere og prober. Bindingsbuffer giver mulighed for binding af nukleinsyre under oprensingsprocessen. Vaskebuffer er en formulering med forskellige salte og opløsningsmidler

til fjernelse af urenheder, f.eks. proteiner, under ekstraktionsprocessen. Elueringsbuffer er en buffer med lavt saltindhold og indeholder oprenset nukleinsyre ved afslutningen af ekstraktionsprocessen.

Prøvetyper/medie

Testen er beregnet til brug sammen med fæcespoderpøver i eNAT®-medium (den almindelige podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® 552C, eNAT®-transportmedium Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Indsamlet og opbevar prøver som angivet i producentens anvisninger.

Hvis prøven ikke behandles umiddelbart efter prøvetagning, bliver nukleinsyrer konserveret i eNAT®-transportmedium i op til 4 uger ved stuetemperatur og ved 4 °C og op til 6 måneder ved -20 °C til -80 °C (se brugsanvisningen til eNAT®-transportmedium⁵).

Prøveklargøring

Brug den almindelige podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) til at udtage en lille mængde fæces ved at sætte spidsen af podepinden med fløjsstrukturspids i fæcesprøven og dreje den rundt. Der skal vælges og udtages et blodigt, slimet eller vandigt område af fæces. Efter prøvetagning skal podepinden undersøges for at sikre, at der er tilstrækkeligt med fæcesmateriale på spidsen. Hvis ikke, skal podepinden med fløjsstrukturspids sættes i fæcesprøven og drejes rundt, så hele området med podepindens spids kommer i kontakt med prøven. Efter prøvetagning skal podepinden overføres til 2 ml Copan eNAT®-røret med eNAT®-transportmedium. Hold podepindens skaft mellem tommel- og pegefingre, mos og bland fæcesprøven mod siden af røret for at fordele og opløse prøven i konserveringsmediet. Hold podepindens skaft tæt på rørets kant, bøj den i en vinkel på 180 grader for at knække den ved det markerede punkt. Bortskaf den afbrækkede øvre del af podepindens skaft, og luk låget tæt i. Ryst prøverøret med podepinden og eNAT®-mediet (COPAN Italia s.p.a.) grundigt til homogenisering, og brug en pipette til at fylde 300 µl homogeniseret patientprøve i kassetens prøveinput.

Brug ikke viskose prøver, der er svære at pipettere.

Testresultat

Efter den automatiske behandling af prøven med Vivalytic *one*-analyseapparatet vises testresultatet på skærmen på Vivalytic *one*-analyseapparatet. Resultatet foreligger efter ca. 50 min. For prøver med høj titer er resultaterne tilgængelige efter mindre end 35 min., og testkørslen kan afsluttes (se kapitlet Afslutning af test).

Prøven klassificeres som enten *C. difficile*-positiv, *C. difficile*-negativ eller ugyldig. I tilfælde af en positiv detektion af *C. difficile* anses testen for at være gyldig, også selvom Human Control er negativ.

Detektion af human cellebaseret kontrol af hele processen (Human Control) i negative prøver viser en vellykket ekstraktionsprocedure og udelukker en hæmning af PCR-reaktionen. Fortolkningen af resultater er angivet i tabellen herunder.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Gyldighed	Resultat
+	+/-	gyldig	Prøven anses for at være positiv for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toksin-gen detekteret).
-	+	gyldig	Prøven anses for at være negativ for <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB-toksin-gen ikke detekteret).
-	-	ugyldig	Kan ikke vurderes. ¹

¹ Gentestning anbefales.

PCR – kurve og C_q -værdi

Der vises realtids-PCR-kurver (softwaremodificerede), som klassificeres som positive eller negative af softwaren. I tilfælde af positive kurver vises den pågældende C_q -værdi. Uafklarede resultater mærkes af softwaren (Δ). Det anbefales at foretage en gentest.

Ugyldige eller mislykkede tests

En test klassificeres som ugyldig, hvis der hverken detekteres target-DNA eller Human Control. Mulige årsager til en ugyldig kørsel kan være dårlig prøve kvalitet på grund af et delvist eller fuldstændigt fravær af humant celle-materiale i prøven. Resultater vises for en ugyldig test men må ikke anvendes til fortolkningen af diagnosen. Sørg for at bruge den rigtige prøvetype, den rigtige prøveindsamling og opbevaring af prøven og kassetter inden testkørslen. Gentag om nødvendigt analysen med en ny prøve.

Kontrollér i tilfælde af en mislykket test først for korrekte driftsbetingelser for Vivalytic *one*-analyseapparatet (se brugsanvisningen til Vivalytic *one*-analyseapparatet). Genstart Vivalytic *one*-analyseapparatet. Hvis problemet fortsætter, skal du kontakte den lokale forhandlers kundesupport.

Afslutning af test

Så snart der vises et gyldigt positivt *C. difficile*-resultat på skærmen, kan brugeren afslutte testen.

Testrapport

I den udskrevne testrapport vises patogen, resultater, kontrol og oplysninger om bruger, patient og Vivalytic *one*-analyseapparatet med et signaturfelt.

Kvalitetskontrol

Hvis det kræves af de lokale standarder eller laboratoriestandarderne, skal der gennemføres kvalitetskontroltest.

Hvis der er behov for en referencetestmetode til kvalitetskontrol, kan følgende referencematerialer anvendes:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spanien).

Følg producentens anvisninger.

I tilfælde af uventede resultater skal analysen gentages med en anden prøve. Hvis resultatet af en negativ kvalitetskontrolprøve, f.eks. ren eNAT®-medie, forbliver positivt, kan Vivalytic *one*-analyseapparatet eller dets omgivelser være kontamineret. Stop med at bruge Vivalytic *one*-analyseapparatet, og rengør enheden, sådan som det er beskrevet i brugsanvisningen til Vivalytic *one*-analyseapparatet.

I tilfælde af gentagne negative resultater for kvalitetskontrolprøver skal du kontakte den lokale forhandlers kundesupport.

Bemærkning til brugere i EU

Enhver alvorlig hændelse, der er forekommet i forbindelse med enheden, skal rapporteres til producenten og til den kompetente myndighed i det medlemsland, hvor brugeren og/eller patienten er hjemmørende.

Begrænsninger

Resultaterne af Vivalytic *C. difficile*-testen skal udelukkende fortolkes af uddannet sundhedspersonale. Resultaterne af Vivalytic *C. difficile*-testen bør ikke bruges som den eneste parameter til diagnose.

- Et negativt resultat udelukker ikke, at der findes patogener i prøven på et niveau under analysefølsomheden, eller at der er andre patogener til stede, der ikke er dækket af denne analyse.
- Der er en risiko for falske negative eller falske positive værdier, som skyldes prøver, der er indsamlet, transporteret eller håndteret ukorrekt.
- I grænsetilfælde kan der forekomme atypiske PCR-egenskaber (f.eks. en flad kurve med en lang eller høj C_q -værdi). I tilfælde af atypiske egenskaber er det ikke tilladt at bruge resultaterne til fortolkningen af diagnosen. Uafklarede resultater mærkes af softwaren. Det anbefales at foretage en gentest.
- Vivalytic *C. difficile* er en kvalitativ realtids-PCR-test og giver ikke et kvantitativt resultat.

- Et positivt resultat betyder ikke nødvendigvis, at der er levedygtige patogener til stede.
- Testen detekterer *C. difficile*-bærende *tcdA/tcdB*-gener men skelner ikke mellem toksinproducerende og ikke-toksinproducerende stammer
- Et negativt resultat udelukker ikke tilstedeværelsen af en *C. difficile*-infektion. Det anbefales, at de prøver, der testes negative, fortolkes i sammenhæng med yderligere laboratoriedata
- En overskydende mængde fæces kan have hæmmende indvirkninger på analysens performance.

Evaluering af analytisk funktion

Analytisk følsomhed (detektionsgrænse)

Detektionsgrænsen for Vivalytic C. difficile-testen blev bestemt som den laveste analytikoncentration, der kan detekteres konsekvent ($\geq 95\%$ af de prøver, der blev testet under gældende laboratoriebetingelser ved brug af en defineret prøvetype).

Inklusivitet

For at evaluere inklusiviteten blev der udført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenligning) af den genomiske sekvens af forskellige relevante *C. difficile*-stammer mod sekvensen af de PCR-primere og den hydrolyseprobe, der blev brugt i Vivalytic C. difficile-testen til amplifikation og detektion af de pågældende patogener. Inklusiviteten kunne vises for de stammer, der er angivet i [tabel 2](#).

Eksklusivitet/analytisk specificitet

For at udelukke kryds-reaktivitet (eksklusivitet) blev der udført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenligning) af target-regionen for *C. difficile* mod den genomiske sekvens af forskellige andre patogener, der repræsenterer almindelige patogener i mave-tarmkanalen eller nært beslægtede arter. Der blev ikke konstateret interferens ([tabel 3](#)).

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af Vivalytic C. difficile-testen blev fastlagt ved brug af et panel med 3 forskellige koncentrationer af *C. difficile*. På tre teststeder blev hver blanding testet på det samme sæt Vivalytic-instrumenter af den samme bruger i henholdsvis 3 lot i 4 bestemmelser over 3 dage, hvilket gav i alt 324 observationer pr. target-patogen. De indhentede positivitetsrater for de forskellige kombinationer blev korreleret med den forventede positivitetsrate ([tabel 4a](#)).

Repeterbarhed

Repeterbarheden af Vivalytic C. difficile-testen blev fastlagt ved brug af et panel med 1 koncentration ($3 \times c95$) af *C. difficile*. På 1 teststed blev blandingen testet på det samme sæt Vivalytic-instrumenter af den samme bruger i henholdsvis 3 lot i 20 bestemmelser på 1 dag, hvilket gav i alt 60 observationer pr. target-patogen. De indhentede positivitetsrater for de forskellige kombinationer blev korreleret med den forventede positivitetsrate ([tabel 4b](#)).

Interferenser

Interferenser blev evalueret for endogene og eksogene stoffer, som eventuelt findes i patientprøven. Se [tabel 5](#) vedrørende stoffer, der kan forstyrre testen.

Evaluering af klinisk funktion

Resultater af følsomhed og specificitet udledt af flydende og bløde ubehandlede prøver af human fæces. Prøverne blev udtaget i kliniske omgivelser og sammenlignet med resultater af referencemetoder.

Prøver til testning med Vivalytic C. difficile-kassetter var friske eller frosne til opbevaring og klargjort som beskrevet oven for i eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

I tilfælde af referencetestning blev prøver klargjort i henhold til anbefalingerne for anvendte referencemetoder. I alt blev 124 prøver analyseret. Følsomhed eller PPA (Positive Percent Agreement) blev beregnet som $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificitet eller NPA (Negative Percent Agreement) blev beregnet som $100\% \times TN / (TN + FP)$. Resultaterne af evaluering af klinisk funktion vises i [tabel 6](#).

Teknisk support

Hvis du har spørgsmål, kan du kontakte den lokale forhandler eller sende en meddelelse til Vivalytics kundeservice (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referencer

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboler



Producent



Serienummer



Produktionsdato



Temperaturgrænse



Udløbsdato



Må ikke bruges, hvis emballage er beskadiget



Lotnummer



Kun til engangsbrug



Referencenummer



Se i brugsanvisningen



Indeholder <n> test



Medicinsk enhed til *in vitro*-diagnosticering



CE-mærke



Pipettér den angivne prøvemængde markeret af den sorte trekant i kassetens prøveinput.

Sissejuhatus

Clostridioides difficile (*C. difficile*) on grampositiivne, spore moodustav anaeroobne bakter, mis koosneb toksigeensetest ja mittetoksigeensetest tüvedest.

C. difficile on üks levinumaid haigustekitajaid nosokomiaalse kõhulahtisuse puhul, eelkõige antibiootikumidega seotud kõhulahtisusega patsientidel. Viimastel aastatel on juhtumite arv ja raskusaste Euroopas ja kogu maailmas suurenenud.¹

C. difficile nakkuse (CDI) sümptomid ulatuvad kergest kõhulahtisusest kuni raske eluohtliku pseudomembranoosse koliidini, kuid *C. difficile* kolooniate teke ei põhjusta tingimata sümptomaatilist nakkust. Soolestiku mikroorganismide tasakaalu häirimine, nt antibiootikumravi tõttu, võib põhjustada toksigeense *C. difficile* teket, domineerida kolonisatsiooni ja võib käivitada CDI.²

C. difficile patogeneesiga seotud tegurid on geenid *tcdA* ja *tcdB*, mis kodeerivad toksiini A (enterotoksiini) ja toksiini B (tsütotoksiini), mis asuvad 19,6 kromosoomi suuruses piirkonnas, mida nimetatakse patogeensuse lokaaliks (PaLoc). Enamik patogeenseid tüvesid on A- ja B-positiivsed (A+B+), kuid mõned patogeensed variandid võivad olla A-negatiivsed ja B-positiivsed (A-B+). Need on *C. difficile*’iga seotud haiguste põhjuseks.³ Mõned toksigeense *C. difficile* tüved toodavad ka toksiini nimega *C. difficile* transferaas (CDT) või binaartoksiin.⁴

Pakendi sisu

15 Vivalytic *C. difficile* testkassetti *Clostridioides difficile* spetsiifiliste *tcdA*/*tcdB* toksiinigeenide sekventsides kvalitatiivseks avastamiseks.

Sihotstarve

Vivalytic *C. difficile* test on automatiseeritud kvalitatiivne *in vitro* diagnostiline test, mis põhineb reaajas polümeraasi ahelreaktsioonil (PCR) toksigeense *C. difficile* (toksigeensete *tcdA*/*tcdB*) nukleiinhapete avastamiseks inimese vedelatest või pehmetest väljaheitest, et aidata diagnoosida sümptomaatiliste isikute ägedat seedetrakti infektsiooni.

Tulemusi ei tohi kasutada diagnoosi, ravi või teiste patsienti puudutavate otsuste ainsa lähtealusena. Positiivsed tulemused ei välista teiste patogeenide infektsiooni. Tuvastatud aine(d) ei pruugi olla haiguse ainuke tekitaja(d). Negatiivsed tulemused ei välista *C. difficile* infektsiooni või muud seedetrakti infektsiooni. Tulemused tuleb viia kliiniliselt korrelatsiooni patsiendi anamneesi, kliiniliste leidude ja epidemioloogilise teabega. Patsiendi nakkusliku seisuhindamiseks on vajalik muu diagnostiline teave. Ette nähtud kasutamiseks koos Vivalytic *one* analüsaatoriga ainult tervishoiutöötajatele laborites, näiteks haiglalaborites ja võrdluslaborites.

Ohutusteave

Need kasutusjuhised sisaldavad vaid teavet testi kohta. Muud hoiatused ja juhised leiab Vivalytic *one* analüsaatoriga kaasapandud kasutusjuhendist (jaotis „Seedme ohutusteave“). Kasutage vaid analüsaatoriga Vivalytic *one* kasutamiseks heakskiidetud Vivalyticu kassette ja tarvikuid. Patsiendiproovide ja kassettide käsitsemisel peab olema saastumise vältimiseks ettevaatlik. Kui proov loksus kassetile, ei tohi kassetti kasutada ja selle peab kasutuselt kõrvaldama.

Ette nähtud koolitatud tervishoiutöötajatele *in vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.



HOIATUS

- Järgige alati häid laboripraktikaid, et test toimiks nõuetekohaselt.
- Kasutage kindlasti isikukaitsevahendeid.
- Ärge kasutage kasseti, kui selle hermeetiliselt suletud kott on nähtavalt kahjustunud.
- Ärge puudutage ega kriimustage kasseti analüüsiala.
- Ärge korduskasutage kasseti.
- Ärge kasutage aegunud kassette. Aegumiskuupäeva leiate pakendilt ja kasseti sildilt.
- Ärge viivitage pärast kasseti koti avamist testimisega kauem kui 15 minutit. Nii on tagatud kasseti puhtus ja selle toimivus ei halvene niiskuse tõttu. Liiga pikk kokkupuude niiskusega mõjutab testi toimivust negatiivselt.
- Ärge loksutage proovi sisaldavat kasseti.
- Ärge keerake kasseti tagurpidi.
- Asetage kassett alati vaid puhtale ja tasasele pinnale.
- Ärge kasutage proovi tüüpe, söötmeid ega mahte, mis ei ole testiga kasutamiseks ette nähtud.
- Järgige alati häid laboripraktikaid, et test toimiks nõuetekohaselt.
- Bioloogilisi proove, ülekandevahendeid ja kasutatud kassette tuleb käsitleda nakkusohtlike vahenditena järgides standardseid ettevaatusabinõusid. Käsitsege potentsiaalselt nakkusohtlike patsiendiproove ja kassette vastavalt riiklikult laboritele kehtestatud standarditele. Vabanee proovidest ja kassettidest vastavalt piirkondlikele ja labori standarditele.
- Järgige riiklike ohutust käsitlevaid regulatsioone ja praktikaid.

Märkus. Lisateave on esitatud toote ohutuskaardil (SDS). Võtke ühendust kohaliku edasimüüja klienditoega.

Lisamaterjalid ja kulumaterjalid (nõutud, kuid ei ole kaasas)

- Analüsaator Bosch Vivalytic *one* (viitenumber F 09G 300 115)
- Pipett (100–1000 µl)
- Steriilsed pipetiotsad 100–1000 µl
- Proovi kogumiskomplektid
 - Tavaline flokeeritud tampoon FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transpordisööde
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Sobiv kaitseriietus

Testi tööpõhimõte

Vivalytic C. difficile on kvalitatiivne reaalaajas PCR-il põhinev analüüs.

Säilitamis- ja kasutustingimused

Toode on stabiilne kuni aegumiskuupäevani, kui seda säilitada temperatuuril +15 °C kuni +25 °C. Säilitamis- ja kasutustingimused leiab kas kassetilt, kotilt või karbilt. Kassetti tuleb kasutada temperatuuril +15 °C kuni +25 °C, suhtelise õhuniiskuse juures < 65% 15 minuti jooksul pärast koti avamist. Nii on tagatud kasseti puhtus ja selle toimivus ei halvene niiskuse tõttu. Liiga pikk kokkupuude niiskusega mõjutab testi toimivust negatiivselt.

Reaktiivid

Kõik proovi töötlemiseks vajalikud reaktiivid on kasseti sees. Töötlus hõlmab rakkude lõhkumist, nukleiinhappe ekstraheerimist, DNA amplifikatsiooni ja tuvastamist.

Reagendid on PCR-helmes, sidumispuhver, pesupuhver ja elueerimispuhver. PCR-helmes sisaldab DNA-polümeraasi, praimereid ja sonde.

Sidumispuhver lihtsustab nukleiinhapete seondumist puhastusprotsessi ajal. Pesupuhver koosneb erinevatest sooladest ja lahustest, et eemaldada ekstraheerimisprotsessi ajal lisandid, näiteks valgud. Elueerimispuhver on madala soolusega puhver, mis sisaldab ekstraheerimisprotsessi lõpuks puhastatud nukleiinhappeid.

Proovi tüübid / sööde

Test on ette nähtud kasutamiseks väljaheite tamponiproovidega eNAT® keskkonnas (tavaline flokeeritud tampon FLOQSwabs® 552C, eNAT® transpordikeskkond viitenumbri 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Koguge ja säilitage proove nii, nagu on näidatud tootja juhistes.

Kui proovi ei töödelda kohe pärast proovi kogumist, säilivad nukleiinhapped eNAT® transpordikeskkonnas kuni 4 nädalat toatemperatuuril ja 4 °C juures ning kuni 6 kuud temperatuuril –20 °C kuni –80 °C (vt eNAT® transpordikeskkonna kasutusjuhend⁵).

Proovi ettevalmistamine

Kasutage tavalist flokeeritud tamponi FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), et koguda väike kogus väljaheidet, sisestades flokeeritud tamponi otsa väljaheiteproovi ja pöörates seda. Verine, limane või vesine väljaheide tuleb välja valida ja kokku koguda. Pärast kogumist uurige tamponi veendumaks, et tamponi otsas on nähtav väljaheitematerjal. Kui ei ole näha, sisestage tampon uuesti väljaheiteproovi ja pöörake seda, hoolitsedes selle eest, et tamponi ots oleks kogu ulatuses prooviga kokkupuutes. Pärast kogumist pange tamponiproov 2 ml Copan eNAT® -tuubi koos eNAT®-transpordikeskkonnaga. Hoidke tamponivart pöidla ja sõrme vahel, hõõruge ja segage väljaheiteproov vastu tuubi külge, et proov säilituskeskkonnas ühtlaselt hajutada ja suspendeerida. Hoidke tamponivart toru serva lähedal, painutage seda 180-kraadise nurga all, et murda see märgitud murdekohas katki. Visake ära tamponivõlli katkine ülemine osa ja pingutage korki. Raputage põhjalikult tamponiproovi ja söödet eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) sisaldavat proovikatsutit homogeniseerimiseks ning kandke 300 µl homogeniseeritud patsiendiproovi kasseti proovisüvendisse.

Ärge kasutage viskoosseid proove, mida on keeruline pipeteerida.

Testi tulemus

Pärast proovi automaatset töötlemist Vivalytic *one* analüsaatoris, kuvatakse testitulemus Vivalytic *one* analüsaatori ekraanil. Tulemuseni kulub umbes 50 minutit. Kõrge tiitriga proovide puhul on tulemused kättesaadavad vähem kui 35 min pärast ja testimise võib lõpetada varem (vt peatükki "Testimise lõpetamine").

Proov liigitatakse kas *C. difficile* positiivseks, *C. difficile* negatiivseks või kehtetuks. Juhul kui üks või mitu *C. difficile* tuvastatakse positiivselt, loetakse test kehtivaks isegi siis, kui Human Control on negatiivne.

Inimese rakul põhineva kogu protsessi kontrolli (Human Control) tuvastamine negatiivsetes inimproovides näitab edukat ekstraheerimisprotseduuri ning PCR-i reaktsiooni toimimist. Tulemuste tõlgendus on esitatud allolevas tabelis.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Kehtivus	Tulemus
+	+/-	kehtiv	Proov loetakse <i>C. difficile</i> suhtes positiivseks (tuvastatud tcdA/tcdB toksiinigeeni).
-	+	kehtiv	Proov loetakse <i>C. difficile</i> suhtes negatiivseks (ei ole tuvastatud tcdA/tcdB toksiinigeeni).
-	-	kehtetu	Ei ole hinnatav. ¹

¹ Soovitav on uuesti testida.

PCR – kõver ja C_q-väärtus

Tarkvaraga muudetud PCR-i kõveraid näidatakse reaajas. Tarkvara määrab need kas positiivseks või negatiivseks. Positiivsete kõverate korral kuvatakse vastav C_q-väärtus. Tarkvara märgistab ebaselged tulemused (Δ). Soovitav on testi korrata.

Kehtetu või nurjunud test

Test loetakse kehtetuks, kui siht-DNA-d ega inimese kontrollmaterjali (Human Control) ei tuvastata. Kehtetu analüüsi põhjuseks võib olla kehv proovi kvaliteet, kuna proov ei sisalda üldse inimese rakumaterjali või sisaldab seda liiga vähe. Tulemused kuvatakse kehtetu testi kohta, kuid neid ei või kasutada diagnoosimisel. Veenduge enne testi tegemist, et proovituüp oleks õige ja proovi kogutakse ning proovi ja kassetti säilitatakse nõuetekohaselt. Vajadusel korrake analüüsi uue prooviga.

Nurjunud testi korral kontrollige kõigepealt, kas analüsaatori Vivalytic *one* töötingimused on õiged (vt analüsaatori Vivalytic *one* kasutusjuhendit). Taaskäivitage analüsaator Vivalytic *one*. Probleemi püsimisel võtke ühendust kohaliku edasimüüja klienditoega.

Analüüsi lõpetamine

Kohe, kui ekraanil kuvatakse *C. difficile* positiivne tulemus, saab kasutaja valida analüüsi lõpetamise.

Testi aruanne

Testi trükitud aruandes loetletakse patogeene, tulemusi, kontrollmaterjalid ning teave kasutaja, patsiendi ja analüsaatori Vivalytic *one* kohta koos signatuuri väljaga.

Kvaliteedikontroll

Kui kohalikud või labori standardid seda nõuavad, tuleb teha kvaliteedikontroll.

Juhul kui kvaliteedikontrolli jaoks läheb vaja testimise võrdlusmeetodit, võib kasutada järgmiseid võrdlusmaterjale:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAALNE), Vircell S.L. Spain).

Järgige tootja juhiseid.

Ootamatute tulemuste korral korrake analüüsi mõne teise prooviga. Kui negatiivse kvaliteedikontrolli materjali (nt puhas sööde eNAT®) tulemus on endiselt positiivne, võib analüsaator Vivalytic *one* või selle keskkond olla saastunud. Lõpetage analüsaatori Vivalytic *one* kasutamine ja puhastage seadet vastavalt analüsaatori Vivalytic *one* juhendis kirjeldatule.

Kvaliteedikontrolli materjali korduva vale tulemuse korral võtke ühendust kohaliku edasimüüja klienditeenindusega.

Teave kasutajatele ELis

Kõikidest seadmega seotud tõsistest vahejuhtumitest tuleb teavitada tootjat ja selle liikmesriigi, kus kasutaja ja/või patsient asub, pädevat asutust.

Piirangud

Testi Vivalytic *C. difficile* tulemusi võib tõlgendada vaid koolitatud tervishoiutöötaja. Testi Vivalytic *C. difficile* tulemusi ei tohi kasutada diagnoosi ainsa alusena.

- Negatiivne tulemus ei välista patogeene esinemist proovis analüüsi tundlikkustasemest madalamal tasemel või patogeene olemasolu, mida analüüs ei tuvasta.
- Valesti kogutud, transporditud või käsitsetud proovide tõttu on valenegatiivsete või valepositiivsete tulemuste risk.
- Piirpealsetel juhtudel võivad esineda atüüpilised PCR-i näitajad (nt madala või kõrge C_q-väärtusega lauge kõver). Atüüpiliste näitajate korral ei tohi tulemusi diagnostikaks kasutada. Tarkvara märgistab ebaselged tulemused. Soovitav on testi korrata.
- Vivalytic *C. difficile* on kvalitatiivne reaajas PCR-analüüs, mis ei taga kvantitatiivset tulemust.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata, et proovis on elujõulisi patogeene.
- Test tuvastab *tcdA/tcdB* geene kandva *C. difficile*, kuid ei tee vahet toksiini tootvatel ja toksiini mitte tootvatel tüvedel.
- Negatiivne tulemus ei välista *C. difficile* nakkust. Soovitav on tõlgendada negatiivseid testitud proove koos täiendavate laboriandmetega.
- Väljaheite liiga suur kogus võib avaldada inhibeerivat mõju analüüsi tulemuslikkusele.

Analüütiliste toimivusnäitajate hindamine**Analüütiline tundlikkus (tuvastamise piirang)**

Vivalytic C. difficile testi avastamispiir määrati kui analüüdi vähim kontsentratsioon, mida on võimalik järjekindlalt tuvastada ($\geq 95\%$ proovidest, mida on testitud rutiinsetes laboritingimustes, kasutades kindlat tüüpi proovi).

Ühilduvus

Kaasamise hindamiseks viidi läbi erinevate asjakohaste C. difficile tüvede genoomijärjestuse *in silico* analüüs (BLAST joondamine) võrreldes PCR-praimerite ja hüdrolüüsisondi järjestusega, mida kasutatakse Vivalytic C. difficile testis vastavate haigustekitajate amplifitseerimiseks ja avastamiseks. Kaasamist saab tõendada [tabelis 2](#) loetletud tüvedel.

Mitteühilduvus / analüütiline spetsiifilisus

Ristreaktiivsuse välistamiseks (eksklusiivsuse tagamiseks) viidi läbi C. difficile sihtpiirkondade *in silico* analüüs (BLAST-joondamine) mitmesuguste teiste sagedaste hingamisteede patogeenide või nendega sarnaste liikide genoomsete järjestuste suhtes. Häirivat mõju ei tuvastatud ([tabel 3](#)).

Reprodutseeritavus

Vivalytic C. difficile testi reprodutseeritavus määrati kindlaks, kasutades 3 erineva kontsentratsiooniga C. difficile paneeli. Kolmes katsekohas testiti iga segu sama operaatori poolt sama Vivalytici seadmestikuga kolme PARTIINA ja neljas korduses vastavalt kolmel päeval, mis andis kokku 324 vaatlust sihtpatogeeni kohta. Erinevate kombinatsioonide saadud positiivsusmäärad viidi korrelatsiooni eeldatava positiivsusmääraga ([tabel 4a](#)).

Korratavus

Vivalytic C. difficile testi korratavus määrati kindlaks, kasutades C. difficile kontsentratsiooni ($3 \times c95$) sisaldavat paneeli. Ühes katsekohas testiti iga segu sama operaatori poolt sama Vivalytici seadmestikuga kolme PARTIINA ja kahekümnes korduses vastavalt ühel päeval, mis andis kokku 60 vaatlust sihtpatogeeni kohta. Erinevate kombinatsioonide saadud positiivsusmäärad viidi korrelatsiooni eeldatava positiivsusmääraga ([tabel 4b](#)).

Häirivad mõjud

Häirivaid mõjusid hinnati patsiendiproovis esineda võivate endogeensete ja eksogeensete ainete korral. Tutvuge [tabeliga 5](#), et näha aineid, mis võivad testi mõjutada.

Kliiniliste toimivusnäitajate hindamine

Tundlikkuse ja spetsiifilisuse tulemused, mis on saadud kohaliku vedela ja pehme inimväljaheite proovide põhjal. Proovid koguti kliinilises keskkonnas ja neid võrreldi standardmeetodi proovidega.

Proovid Vivalytic C. difficile kassettidega testimiseks kasutati värskest või külmutati säilitamiseks ja valmistati eNAT®-is (COPAN Italia S.p.A.) vastavalt ülal kirjeldatule.

Võrdluskatsete puhul valmistati proovid ette vastavalt kasutatud võrdlusmeetodite soovitudele. Kokku analüüsiti 124 proovi. Tundlikkus või positiivse protsendi kokkulepe (PPA) arvutati välja valemiga $100\% \times TP / (TP + FN)$. Spetsiifilisus või negatiivse protsendi kokkulepe arvutati välja valemiga $100\% \times TN / (TN + FP)$. Kliiniliste toimivusnäitajate hindamise tulemused on esitatud [tabelis 6](#).

Tehniline tugi

Küsimuste korral võtke palun ühendust oma kohaliku edasimüüjaga või saatke sõnum Vivalytici klienditeenindusele (e-post: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Vivalytic *C. difficile* – kasutusjuhend

Viited

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Sümbolid



Tootja



Seerianumber



Tootmiskuupäev



Temperatuuri piirväärtus



Aegumiskuupäev



Toodet ei tohi kasutada, kui selle pakend on kahjustatud



Partii number



Ainult ühekordseks kasutamiseks



Viitenumber



Tutvuge kasutusjuhendiga



Sisaldab <n> testi



In vitro diagnostikameditsiiniseade



CE-märgis



Pipeteerige näidatud proovikogus kasseti proovisisendisse, mis on tähistatud musta kolmnurgaga.

Ievads

Clostridioides difficile (*C. difficile*) ir grampozitīva, sporas veidojoša anaeroba baktērija, kas sastāv no toksigēniem un netoksigēniem celmiem.

C. difficile ir viens no visbiežāk sastopamajiem nozokomiālas caurejas izraisītājiem, jo īpaši pacientiem ar antibiotiku izraisītu caureju. Pēdējos gados Eiropā un visā pasaulē ir palielinājies saslimšanas gadījumu skaits un smaguma pakāpe.¹

C. difficile infekcijas (CDI) simptomi ir no vieglas caurejas līdz smagam dzīvībai bīstamam pseidomembranozām kolītam, lai gan *C. difficile* kolonizācija ne vienmēr izraisa simptomātisku infekciju. Zarnu mikroorganismu līdzsvara izjaukšana, piemēram, ārstēšanas ar antibiotikām dēļ, var izraisīt toksigēnās *C. difficile* izveidošanos un dominējošu kolonizāciju un var būt CDI sākums.²

C. difficile patogēnēzē iesaistītie faktori ir *tcdA* un *tcdB* gēni, kas kodē A toksīnu (enterotoksīnu) un B toksīnu (citotoksīnu), kuri atrodas 19,6 kb hromosomu apgabalā, ko dēvē par patogēniskuma lokusu (PaLoc). Vairums patogēno celmu ir A un B toksīnu pozitīvi (A+B+), bet daži patogēno variantu izolāti var būt A toksīnu negatīvi un B pozitīvi (A-B+). Tie ir ar *C. difficile* saistīto slimību cēlonis.³

Daži toksigēnās *C. difficile* celmi producē arī toksīnu, ko dēvē par *C. difficile* transferāzi (CDT) jeb bināro toksīnu.⁴

Iepakojuma saturs

15 Vivalytic *C. difficile* testa kasetes *Clostridioides difficile* specifisko *tcdA/tcdB* toksīna gēnu sekvenču kvalitatīvai noteikšanai.

Paredzētais lietojums

Vivalytic *C. difficile* tests ir automatizēts kvalitatīvs *in vitro* diagnostikas tests, kas balstīts uz reālā laika polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), lai noteiktu toksigēnās *C. difficile* (toksīnu gēni *tcdA/tcdB*) nukleīnskābes šķidru vai mīkstu cilvēka izkārnījumu uztriepēs un palīdzētu diagnosticēt akūtas kuņģa un zarnu trakta infekcijas simptomātiskiem pacientiem.

Rezultātus nedrīkst izmantot kā vienīgo pamatojumu diagnostikas, ārstēšanas vai citu lēmumu pieņemšanai par pacienta aprūpi. Pozitīvi rezultāti neizslēdz iespējamu vienlaicīgu inficēšanos ar vēl citiem patogēniem. Noteiktais (-ie) izraisītājs (-i) var nebūt konkrētās slimības cēlonis. Negatīvi rezultāti neizslēdz *C. difficile* infekciju vai citu kuņģa un zarnu trakta infekciju. Rezultāti ir jāinterpretē kontekstā ar pacienta vēsturi, klīniskajiem novērojumiem un epidemioloģisko stāvokli. Lai noteiktu pacienta infekcijas stāvokli, ir nepieciešami arī citi diagnostikas dati. Paredzēts lietošanai ar Vivalytic *one* analizatoru tikai veselības aprūpes speciālistiem laboratorijās, piemēram, slimnīcu laboratorijās un references laboratorijās.

Drošības informācija

Šajos lietošanas norādījumos ir sniegta tikai tā informācija, kas attiecas uz testu. Lai iegūtu plašāku informāciju par brīdinājumiem, kā arī papildu norādījumus, skatiet lietošanas norādījumus, kas nodrošināti kopā ar Vivalytic *one* analizatoru (nodaļā "Ierīces drošības informācija"). Izmantojiet tikai Vivalytic *one* analizatoram apstiprinātās Vivalytic kasetes un piederumus. Rīkojoties ar pacientu paraugiem un kasetēm, ievērojiet piesardzību, lai izvairītos no jebkāda piesārņojuma. Ja paraugs ir izlijis uz kasetes, nelietojiet attiecīgo kaseti un izmetiet to.

Lietošanai *in vitro* diagnostikā, ko veic apmācīts veselības aprūpes speciālists.



BRĪDINĀJUMS

- Vienmēr ievērojiet labu laboratorijas praksi, lai nodrošinātu pareizu šī testa darbību.
- Vienmēr valkājiet atbilstošus individuālos aizsarglīdzekļus.
- Neizmantojiet kaseti, ja tās hermētiski noslēgtajam maisījumam vai pašai kasetei ir redzami bojājumi.
- Nepieskarieties kasetes noteikšanas zonai un neskrāpējiet to.
- Neizmantojiet kaseti atkārtoti.
- Neizmantojiet kasetes, kurām ir beidzies derīgums. Derīguma termiņš ir norādīts uz iepakojuma un kasetes etiķetes.
- Pēc kasetes maisiņa atvēršanas negaidiet ilgāk par 15 minūtēm, pirms sākat testu. Tas nodrošina higiēnas prasību ievērošanu un ļauj izvairīties no veiktspējas zaudēšanas mitruma dēļ. Ilgstoša mitruma iedarbība negatīvi ietekmē testa veiktspēju.
- Nekratiet kaseti, kurā ir paraugs.
- Neapvēršiet kaseti otrādi.
- Kaseti drīkst novietot tikai uz tīras un līdzenas virsmas.
- Neizmantojiet paraugu veidus, barotnes un apjomus, kas nav apstiprināti šim testam.
- Vienmēr ievērojiet labu laboratorijas praksi, lai nodrošinātu pareizu šī testa darbību.
- Bioloģiski paraugi, pārvešanas ierīces un izmantotas kasetes ir jāuzskata par iespējamiem infekciju izraisītāju pārnēsētājiem, darbā ar kuriem ir jāievēro standarta piesardzības pasākumi. Darbā ar iespējami infekcioziem pacientu paraugiem un kasetēm ir jāievēro valsts noteiktie laboratoriju standarti, un no paraugiem un kasetēm ir jāatbrīvojas atbilstoši reģionālajiem un laboratorijas standartiem.
- Ievērojiet savas valsts drošības noteikumus un praksi.

Piezīme. Papildinformācija ir atrodama produkta drošības datu lapā (SDS). Lūdzu, sazinieties ar vietējā izplatītāja klientu atbalsta dienestu.

Papildus ierīces un izejmateriāli, kas ir nepieciešami, bet nav nodrošināti

- Bosch Vivalytic *one* analizators (atsauces numurs: F 09G 300 115)
- Pipete-dozators (100–1000 µl)
- Sterili filtra pipetes uzgaļi, 100–1000 µl
- Uztriepes ņemšanas komplekti
 - Parasts Flocked Swab tipa uztriepes kociņš FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportēšanas barotne
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Piemērots aizsargapģērbs

Testa princips

Vivalytic C. difficile ir kvalitatīvs reālā laika PĶR tests.

Glabāšanas un lietošanas apstākļi

Produkts ir stabils līdz derīguma termiņa beigām, ja tiek uzglabāts no +15 °C līdz +25 °C temperatūrā. Glabāšanas un lietošanas nosacījumi ir norādīti uz kasetes, maisiņa vai kārbas etiķetes. Kasete pēc maisiņa atvēršanas ir jāizlieto 15 minūšu laikā no +15 °C līdz +25 °C temperatūrā un relatīvajā mitrumā <65%. Tas nodrošina higiēnas prasību ievērošanu un ļauj izvairīties no veiktspējas zaudēšanas mitruma dēļ. Ilgstoša mitruma iedarbība negatīvi ietekmē testa veiktspēju.

Reaģenti

Visi parauga apstrādei nepieciešamie reaģenti ir iekļauti kasetē. Apstrāde ietver šūnu lizēšanu, nukleīnskābju ekstrakciju, DNS amplifikāciju un noteikšanu.

Tiek izmantoti šādi reaģenti: PĶR pērlīte, saistīšanas buferšķīdums, mazgāšanas buferšķīdums un eluācijas buferšķīdums. PĶR pērlītē ir DNS polimerāze, praimeris un zondes. Saistīšanas buferšķīdums nodrošina nukleīnskābju saistīšanu attīrīšanas procesa laikā. Mazgāšanas buferšķīdums ir dažādu sāļu un šķīdinātāju preparāts, ko ekstrakcijas procesa laikā izmanto, lai atbrīvotos no tādiem sārņiem kā olbaltumvielas.

Eluācijas buferšķīdumam ir buferviela ar zemu sāls saturu, kas ekstrakcijas procesa beigās satur attīrītās nukleīnskābes.

Parauga veids/barotne

Tests ir paredzēts izmantošanai ar izkārņījumu uztriepes paraugiem eNAT® barotnē (parastais Flocked Swab tipa uztriepes kociņš FLOQSwabs® 552C, eNAT® transportēšanas barotne nr. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Paraugi ir jāņem un jāuzglabā atbilstoši ražotāja norādījumiem.

Ja paraugs netiek apstrādāts uzreiz pēc tā ņemšanas, nukleīnskābes saglabājas eNAT® transportēšanas barotnē līdz 4 nedēļām istabas temperatūrā un 4 °C temperatūrā, un līdz 6 mēnešiem no -20 °C līdz -80 °C temperatūrā (skatiet eNAT® transportēšanas barotnes lietošanas norādījumus⁵).

Paraugu sagatavošana

Izmantojot parasto Flocked Swab tipa uztriepes kociņu FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), savāciet nelielu daudzumu izkārņījumu, ievietojot flokētā uztriepes kociņa galu izkārņījumu paraugā un pagriežot to. Jāizvēlas un jāņem asiņainu, gļotainu vai ūdeņainu izkārņījumu paraugi. Pēc parauga ņemšanas pārbaudiet uztriepes kociņu, lai pārliecinātos, ka uz tā gala ir redzams fekāliju materiāls. Ja tā nav, no jauna ievietojiet flokēto uztriepes kociņu izkārņījumu paraugā un pagrieziet, pievēršot uzmanību, lai viss kociņa gals saskartos ar paraugu. Pēc parauga ņemšanas pārvietojiet uztriepes kociņu uz 2 ml Copan eNAT® mēģeni ar eNAT® transportēšanas barotni. Turiet uztriepes kociņa kātu starp īkšķi un pirkstu, spiediet un samaisiet izkārņījumu paraugu pret mēģenes sāniem, lai paraugs tiktu vienmērīgi izkliedēts un suspendēts konservantā. Turiet uztriepes kociņa kātu tuvu mēģenes sāniem un salieciet to 180 grādu leņķī, lai atdalītu to atzīmētajā nolaušanas vietā. Izmetiet nolauzto uztriepes kociņa kāta augšdaļu un aizveriet vāciņu. Rūpīgi sakratiet mēģeni ar uztriepes paraugu un eNAT® barotni (COPAN Italia s.p.a.), lai nodrošinātu homogenizāciju, un ar pipetidozatoru iepildiet 300 µl homogenizēta pacienta parauga kasetes parauga atverē.

Neizmantojiet viskozus paraugus, kuru pipetēšana ir apgrūtināta.

Testa rezultāts

Pēc automātiskas parauga apstrādes ar analizatoru Vivalytic one testa rezultāts tiek parādīts analizatora Vivalytic one ekrānā. Rezultāta sasniegšanas laiks ir aptuveni 50 min. Augsta titra paraugiem rezultāti ir pieejami pēc mazāk nekā 35 min., un testa veikšanu var beigt ātrāk (skatiet nodaļu "Testa pārtraukšana").

Paraugš tiek klasificēts kā *C. difficile* pozitīvs, *C. difficile* negatīvs vai nederīgs. *C. difficile* pozitīvas noteikšanas gadījumā tests tiek uzskatīts par derīgu pat tad, ja cilvēka izcelsmes kontrolmateriāla (Human Control) rezultāts ir negatīvs.

No cilvēka šūnām radītās visa procesa kontroles (cilvēka izcelsmes kontrolmateriāls (Human Control)) noteikšana negatīvos paraugos norāda uz veiksmīgu ekstrakcijas procedūras pabeigšanu un apstiprina, ka nav notikusi PĶR reakcijas inhibīcija. Rezultātu interpretācija ir parādīta nākamajā tabulā.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Derīgums	Rezultāts
+	+/-	derīgs	Paraugu uzskata par pozitīvu attiecībā uz <i>C. difficile</i> (konstatēts tcdA/tcdB toksīna gēns).
-	+	derīgs	Paraugu uzskata par negatīvu attiecībā uz <i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB toksīna gēns nav konstatēts)
-	-	nederīgs	Nav novērtējams. ¹

¹ Ir ieteicams atkārtot testu.

Vivalytic C. difficile – lietošanas norādījumi

PQR – līkne un C_q vērtība

Programmatūra uzrāda reālā laika PQR līknes (programmatūras pielāgotas), kas tiek klasificētas kā pozitīvas vai negatīvas. Pozitīvām līknēm tiek parādīta atbilstošā C_q vērtība. Nepārliciecināšus rezultātus programmatūra atzīmē ar Δ . Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.

Nederīgi vai neizdevušies testi

Tests tiek novērtēts kā nederīgs, ja netiek konstatēta ne mērķa DNS, ne cilvēka izcelsmes kontrolmateriāls (Human Control). Nederīgas testa izpildes iespējamie cēloņi var būt slikta parauga kvalitāte, par ko liecina daļēja vai pilnīga cilvēka šūnu materiāla neesamība paraugā. Nederīgam testam tiek parādīti rezultāti, taču tos nedrīkst interpretēt diagnostikas mērķiem. Pirms testa izpildes pievērsiet uzmanību paraugu veida atbilstībai, paraugu paņemšanas pareizībai, kā arī paraugu un kasešu glabāšanas noteikumu ievērošanai. Ja nepieciešams, atkārtojiet analīzi ar jaunu paraugu. Ja tests neizdodas, vispirms pārbaudiet, vai Vivalytic *one* analizators darbojas pareizi (sk. Vivalytic *one* analizatora lietošanas norādījumus). Restartējiet Vivalytic *one* analizatoru. Ja problēma netiek novērsta, sazinieties ar vietējā izplatītāja klientu atbalsta dienestu.

Testa pārtraukšana

Tiklīdz ekrānā tiek parādīts derīgs pozitīvs *C. difficile* rezultāts, lietotājs var pārtraukt testu.

Testa atskaite

Testa atskaites izdrukā tiek nodrošināts patogēnu, rezultātu un kontrolmateriālu saraksts, kā arī informācija par lietotāju, pacientu un Vivalytic *one* analizatoru un paraksta lauks.

Kvalitātes kontrole

Ja to prasa vietējie vai laboratorijas standarti, ir jāveic kvalitātes kontroles testēšana.

Ja kvalitātes kontrolei ir nepieciešama references metode, var izmantot šādus references materiālus:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spānija).

Lūdzu, ievērojiet ražotāja norādījumus.

Ja saņemat negaidītus rezultātus, atkārtojiet analīzi ar citu paraugu. Ja negatīvā kvalitātes kontroles parauga, piemēram, tīras eNAT® barotnes, rezultāts turpina būt pozitīvs, iespējams, ka Vivalytic *one* analizators vai vide, kurā tas atrodas, ir piesārņoti. Pārtrauciet Vivalytic *one* analizatora izmantošanu un tīriet ierīci, kā aprakstīts Vivalytic *one* analizatora lietošanas norādījumos.

Ja kvalitātes kontroles paraugu rezultāti atkal ir kļūdaini, lūdzu, sazinieties ar vietējā izplatītāja klientu atbalsta dienestu

Paziņojums lietotājiem Eiropas Savienībā

Par jebkādiem nopietniem negadījumiem, kas ir radušies saistībā ar šo ierīci, ir jāziņo ražotājam un tās dalībvalsts kompetentajai iestādei, kurā atrodas lietotājs un/vai pacients.

Ierobežojumi

Vivalytic *C. difficile* testa rezultātus drīkst interpretēt tikai atbilstoši apmācīti veselības aprūpes profesionāļi. Vivalytic *C. difficile* testa rezultātus nedrīkst izmantot kā vienīgo parametru diagnozes noteikšanai.

- Negatīvs rezultāts neizslēdz patogēnu klātbūtni paraugā, ja to līmenis ir zem testa jutības robežas, vai citu patogēnu klātbūtni, kurus nevar noteikt ar šo testu.
- Vienmēr pastāv kļūdaini negatīvu vai kļūdaini pozitīvu rezultātu risks nepareizas paraugu ņemšanas, transportēšanas vai apstrādes dēļ.
- Robežgadījumos var iegūt netipiskus PQR raksturlielumus (piem., taisni nevis līkni ar zemu vai augstu C_q vērtību). Ja tiek iegūti netipiski raksturlielumu rezultāti, tos nav atļauts izmantot diagnostikas mērķiem. Programmatūra atzīmē nepārliciecināšus rezultātus. Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.

- Vivalytic *C. difficile* ir kvalitatīvs reālā laika PQR tests, un tas nenodrošina kvantitatīvu rezultātu.
- Pozitīvs rezultāts ne vienmēr norāda uz dzīvotspējīgu patogēnu klātbūtni.
- Tests konstatē *C. difficile* ar *tcdA/tcdB* gēniem, bet nenošķir toksīnu producējošos celmus no toksīnu neproducējošajiem celmiem.
- Negatīvs rezultāts neizslēdz *C. difficile* infekciju. Ieteicams testētos paraugus ar negatīvu rezultātu interpretēt papildu laboratorijas datu kontekstā.
- Pārmērīgs izkārnījumu daudzums var inhibējoši ietekmēt testa veikspēju.

Analītiskās veikspējas novērtējums

Analītiskā jutība (noteikšanas robeža)

Vivalytic *C. difficile* testa noteikšanas robeža tika definēta kā zemākā analizējamās vielas koncentrācija, ko var konsekventi noteikt ($\geq 95\%$ paraugu, kas testēti parastos laboratorijas apstākļos, izmantojot noteikta veida paraugu).

Iekļaušana

Lai novērtētu iekļaušanu, tika veikta dažādu attiecīgo *C. difficile* celmu genoma sekvences *in silico* analīze (BLAST atbilstība) ar PQR praimeru un hidrolīzes zondes sekvenci, ko izmanto Vivalytic *C. difficile* testā attiecīgo patogēnu amplifikācijai un noteikšanai. Iekļaušanu varēja pierādīt 2. tabulā uzskaitītajiem celmiem.

Neiekļaušana/analītiskā specifika

Lai izslēgtu krusteniskās reaģētspējas iespējamību (neiekļaušanu), tika veikta *C. difficile* mērķa apgabalu *in silico* analīze (BLAST atbilstība) kopā ar dažādu citu patogēnu genoma sekvenci, kas pārstāv plaši izplatītus kuņģa un zarnu trakta patogēnus vai tiem tuvas sugas. Traucējoša ietekme netika konstatēta (3. tabulā).

Reproducējamība

Vivalytic *C. difficile* testa reproducējamība tika noteikta, izmantojot paneli ar 3 dažādām *C. difficile* koncentrācijām. Trīs testa vietās katru maisījumu ar vienu un to pašu Vivalytic instrumentu komplektu testēja viens un tas pats operators, izmantojot 3 partijas ar attiecīgi 4 atkārtojumiem 3 dienās, kopā veicot 324 novērojumus attiecībā uz katru mērķa patogēnu. Iegūtie pozitīvo rezultātu rādītāji dažādām kombinācijām tika salīdzināti ar sagaidāmo pozitīvo rezultātu rādītāju (4.a tabulā).

Atkārtojamība

Vivalytic *C. difficile* testa atkārtojamība tika noteikta, izmantojot paneli ar 1 *C. difficile* koncentrāciju ($3 \times c95$). Vienā testa vietā maisījumu ar vienu un to pašu Vivalytic instrumentu komplektu testēja viens un tas pats operators, izmantojot 3 partijas ar attiecīgi 20 atkārtojumiem 1 dienā, kopā veicot 60 novērojumus attiecībā uz katru mērķa patogēnu. Iegūtie pozitīvo rezultātu rādītāji dažādām kombinācijām tika salīdzināti ar sagaidāmo pozitīvo rezultātu rādītāju (4.b tabulā).

Traucējoša ietekme

Traucējošā ietekme tika izvērtēta ar endogēnām un eksogēnām vielām, kas var būt sastopamas pacientu paraugos. Vielas, kam var būt potenciāls traucēt testa veikšanu, skatiet 5. tabulā.

Klīniskās veikspējas novērtējums

Jutības un specifiskuma rezultāti, kas iegūti no dabīgiem šķidru un mikstu cilvēka izkārnījumu paraugiem. Paraugi tika ņemti klīniskā vidē, un to rezultāti tika salīdzināti ar references metodes rezultātiem.

Paraugi testēšanai ar Vivalytic *C. difficile* kasetēm tika izmantoti svaigi vai sasaldēti uzglabāšanai un sagatavoti, kā iepriekš aprakstīts eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Vivalytic C. difficile – lietošanas norādījumi

References testēšanas gadījumā paraugus sagatavoja atbilstoši ieteikumiem, kas attiecināmi uz izmantojamajām references metodēm. Kopumā tika analizēti 124 paraugi. Jūtība jeb pozitīvo rezultātu procentuālā sakritība (angliski – Positive Percent Agreement, PPA) tika aprēķināta pēc šādas formulas: $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifiskums jeb negatīvo rezultātu procentuālā sakritība (angliski – Negative Percent Agreement, NPA) tika aprēķināta pēc šādas formulas: $100\% \times TN / (TN + FP)$. Klīniskās veiktspējas novērtējuma rezultāti ir parādīti [6. tabulā](#).

Tehniskais atbalsts

Jautājumu gadījumā, lūdzu, sazinieties ar vietējo izplatītāju vai nosūtiet ziņojumu Vivalytic klientu apkalpošanas dienestam (e-pasts: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Atsauces

¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.

²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.

³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.

⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.

⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboli



Ražotājs



Sērijas numurs



Ražošanas datums



Temperatūras ierobežojums



Derīguma termiņš



Nelietot, ja ir bojāts iepakojums



Partijas numurs



Paredzēts tikai vienreizējai lietošanai



Atsauces numurs



Skatiet lietošanas norādījumus



Satur <n> testus



In vitro diagnostikas medicīnas ierīce



CE zīme



Ar pipeti iepilniet norādīto parauga tilpumu kasetes parauga atverē, kā atzīmēts ar melno trīsstūri.

Wprowadzenie

Clostridioides difficile (*C. difficile*) jest gram-dodatnią, tworzącą przetrwalniki bakterią beztlenową obejmującą szczepy toksynotwórcze i nietoksynotwórcze.

C. difficile jest jednym z najczęstszych patogenów powodujących biegunkę szpitalną, szczególnie u pacjentów przyjmujących antybiotyki. W ostatnich latach liczba i ciężkość przypadków zachorowań wzrosła zarówno w Europie, jak i na całym świecie¹.

Objawy zakażenia bakterią *C. difficile* (CDI, *C. difficile* infection) są zróżnicowane – od łagodnej biegunki do ciężkiego, zagrażającego życiu rzekomonibiastego zapalenia jelit – chociaż kolonizacja przez bakterie *C. difficile* niekoniecznie prowadzi do objawowej infekcji. Zaburzenie równowagi mikroorganizmów jelitowych, np. wskutek antybiotykoterapii, może powodować rozwój szczepów toksynotwórczych *C. difficile*, zdominowanie przez nie kolonizacji i zapoczątkowanie CDI².

Czynnikami związanymi z patogenizacją *C. difficile* są geny *tcdA* i *tcdB* kodujące toksynę A (enterotoksyna) i toksynę B (cytotoksyna), które znajdują się w regionie chromosomalnym o wielkości 19,6 kb zwanym locus patogenności (PaLoc). Większość szczepów patogennych jest dodatnich pod względem toksyn A i B (A+B+), ale niektóre izolaty wariantów patogennych mogą być ujemne pod względem toksyny A i dodatnie pod względem toksyny B (A-B+). Są one przyczyną chorób związanych z bakterią *C. difficile*³.

Niektóre szczepy toksynotwórcze *C. difficile* wytwarzają również toksynę zwaną transferazą *C. difficile* (CDT, *C. difficile* transferase) lub toksyną binarną⁴.

Zawartość zestawu

15 kaset testu Vivalytic *C. difficile* do jakościowego wykrywania sekwencji genów toksyn *tcdA/tcdB* swoistych dla bakterii *Clostridioides difficile*.

Przeznaczenie

Test Vivalytic *C. difficile* jest to automatyczny jakościowy test diagnostyczny *in vitro* bazujący na reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, polymerase chain reaction) w czasie rzeczywistym i przeznaczony do wykrywania kwasów nukleinowych toksynotwórczych bakterii *C. difficile* (geny toksyn *tcdA/tcdB*) w wymazach płynnego lub miękkiego ludzkiego stolca, stanowiąc pomoc w rozpoznawaniu ostrych zakażeń żołądkowo-jelitowych u pacjentów objawowych.

Wyników nie należy wykorzystywać jako jedynej podstawy do rozpoznania, podejmowania leczenia lub innych decyzji związanych z opieką nad pacjentem. Wyniki dodatnie nie wykluczają nadkażenia innymi patogenami. Wykryte czynniki chorobotwórcze mogą nie stanowić zasadniczej przyczyny choroby. Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia bakterią *C. difficile* ani innego zakażenia żołądkowo-jelitowego. Wyniki muszą korelować klinicznie z wywiadem medycznym, obserwacjami klinicznymi oraz informacjami epidemiologicznymi. Do określenia statusu infekcji pacjenta niezbędne są inne informacje diagnostyczne. Produkt jest przeznaczony do stosowania z analizatorem Vivalytic *one* wyłącznie przez fachowy personel medyczny w środowiskach laboratoryjnych, takich jak laboratoria szpitalne lub referencyjne.

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

Niniejsza instrukcja użytkowania zawiera wyłącznie informacje dotyczące testu. Dodatkowe ostrzeżenia i instrukcje opisano w instrukcji stosowania dołączonej do analizatora Vivalytic *one* (rozdział dotyczący bezpieczeństwa urządzenia). Należy stosować wyłącznie kasety Vivalytic i akcesoria zatwierdzone do stosowania z analizatorem Vivalytic *one*. Podczas pracy z próbkami pacjentów i kaset należy zachować szczególną ostrożność, aby uniknąć zanieczyszczenia. Jeśli próbka rozleje się na kasetę, takiej kasety nie wolno używać i należy ją zutylizować.

W przypadku diagnostyki *in vitro* produkt jest przeznaczony do użytku wyłącznie przez przeszkolonych pracowników ochrony zdrowia.



OSTRZEŻENIE

- Należy zawsze przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, aby zagwarantować prawidłowe działanie tego testu.
- Zawsze należy stosować środki ochrony indywidualnej (ŚOI).
- Nie wolno używać kasety, jeżeli widać uszkodzenia zamkniętej torebki lub samej kasety.
- Nie wolno dotykać ani zadrapać obszaru wykrywania kasety.
- Nie wolno ponownie wykorzystywać kaset.
- Nie wolno używać przeterminowanych kaset. Termin ważności znajduje się na opakowaniu oraz na etykiecie kasety.
- Po otwarciu torebki kasety nie wolno czekać na rozpoczęcie testu dłużej niż 15 minut. Pozwala to zachować higienę oraz uniknąć utraty wydajności z powodu wilgoci. Wydłużone narażenie na wilgoć negatywnie wpływa na wydajność testu.
- Nie wolno potrząsać kasetą, która zawiera próbkę.
- Nie wolno odwracać kasety do góry dnem.
- Kasetę należy umieszczać wyłącznie na czystej i płaskiej powierzchni.
- Nie wolno używać typów próbek, podłoży oraz objętości, które nie zostały zatwierdzone do stosowania z danym testem.
- Należy zawsze przestrzegać zasad dobrej praktyki laboratoryjnej, aby zagwarantować prawidłowe działanie tego testu.
- Próbkę biologiczną, wyroby do przenoszenia i zużyte kasety należy uznawać za mogące przenosić czynniki zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Potencjalnie zakaźne próbki pacjenta oraz kasety należy obsługiwać zgodnie z krajowymi normami laboratoryjnymi oraz utylizować zgodnie z normami regionalnymi i zasadami laboratorium.
- Należy przestrzegać krajowych przepisów i regulacji dotyczących bezpieczeństwa.

Wskazówka: Szczegółowe informacje znajdują się w karcie charakterystyki substancji (SDS, Safety Data Sheet) dotyczącej tego produktu. Należy skontaktować się z działem wsparcia klienta lokalnego dystrybutora.

Dodatkowy sprzęt i materiały eksploatacyjne (wymagane, lecz niedostarczane)

- Analizator Bosch Vivalytic one (numer referencyjny F 09G 300 115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterylne końcówki pipet z filtrem 100–1000 µl
- Zestawy do pobierania wymazu
 - Standardowe wymazówki flokowane FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Podłoże transportowe
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Odpowiednia odzież ochronna

Zasada testu

Test Vivalytic C. difficile jest jakościowym testem na bazie reakcji PCR w czasie rzeczywistym.

Warunki przechowywania i użycia

Produkt zachowuje stabilność do upływu daty ważności, jeżeli jest przechowywany w temperaturze od +15°C do +25°C. Warunki przechowywania i stosowania podano na etykiecie kasety, torebki lub opakowania. Kasety należy stosować w temperaturze od +15°C do +25°C, przy wilgotności względnej < 65%, w ciągu 15 minut od otwarcia torebki. Pozwala to zachować higienę oraz uniknąć utraty wydajności z powodu wilgoci. Wydłużone narażenie na wilgoć negatywnie wpływa na wydajność testu.

Odczynniki

Wszystkie odczynniki niezbędne do przetworzenia próbki znajdują się w kasecie. Proces przetwarzania obejmuje lizę komórek, izolację kwasu nukleinowego, amplifikację i wykrywanie DNA.

Odczynniki stanowią: kulki do reakcji PCR, bufor wiążący, bufor płuczący i bufor do elucji. Kulki do reakcji PCR zawierają polimerazę DNA, startery i sondy. Bufor wiążący ułatwia wiązanie kwasów nukleinowych podczas pro-

cesu oczyszczania. Bufor płuczający to połączenie różnych soli i rozpuszczalników, które mają usunąć nieczystości, np. białka, podczas procesu ekstrakcji. Bufor do elucji to bufor o niskiej zawartości soli, który na końcu procesu ekstrakcyjnego zawiera oczyszczone kwasy nukleinowe.

Rodzaje próbek / podłoże

Test jest przeznaczony do stosowania z próbkami wymazów stolca w podłożu eNAT® (standardowe wymazówki flokowane FLOQSwabs® 552C, podłoże transportowe eNAT® nr kat. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Próbki należy pobierać i przechowywać w sposób opisany w instrukcjach producenta.

W przypadku, gdy próbka nie zostanie przetworzona natychmiast po jej pobraniu, kwasy nukleinowe zostaną zachowane w podłożu transportowym eNAT® przez czas do 4 tygodni w temperaturze pokojowej i temperaturze 4°C oraz przez czas do 6 miesięcy w temperaturze od -20°C do -80°C (patrz instrukcja użytkowania podłoża transportowego eNAT®⁵).

Przygotowanie próbek

Za pomocą standardowej wymazówki flokowanej FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pobrać niewielką ilość stolca, wkładając do próbki stolca końcówkę flokowanej wymazówki i nią obracając. Wybrać i pobrać należy krwawą, śluzową lub wodnistą część stolca. Po pobraniu sprawdzić wymazówkę, aby upewnić się, że na końcówce widoczny jest materiał kałowy. Jeśli go nie widać, włożyć ponownie do próbki stolca flokowaną wymazówkę i obracać nią w taki sposób, aby jej końcówka miała styczność z próbką. Po pobraniu umieścić wymazówkę w probówce Copan eNAT® o pojemności 2 ml zawierającej podłoże transportowe eNAT®. Przytrzymując trzonek wymazówki między kciukiem a palcem, rozgnieść próbkę stolca o ściankę probówki i ją wymieszać, aby równomiernie rozprowadzić i zawiesić próbkę w podłożu konserwującym. Przytrzymać trzonek wymazówki blisko krawędzi probówki i zgąć go pod kątem 180 stopni, aby utać w zaznaczonym punkcie przerwania. Wyrzucić złamaną górną część trzonka wymazówki i zamknąć probówkę zatyczką. Potrząsać energicznie probówką zawierającą próbkę wymazu i podłoże eNAT® (COPAN Italia S.P.A) w celu uzyskania jednorodnej zawiesiny, a następnie za pomocą pipetora przenieść 300 µl zhomogenizowanej próbki pacjenta do wejścia na próbki kasety. Nie używać lepkich próbek, które trudno jest pipetować.

Wynik testu

Po automatycznym przetworzeniu próbki za pomocą analizatora Vivalytic *one* wynik testu wyświetlany jest na ekranie analizatora Vivalytic *one*. Wynik jest widoczny po około 50 minutach. W przypadku próbek o wysokim mianie wyniki dostępne są po mniej niż 35 minutach, a przebieg testu może zostać wcześniej zakończony (patrz część „Zakończenie testu”).

Próbka zostanie sklasyfikowana jako dodatnia pod względem *C. difficile*, ujemna pod względem *C. difficile* lub nieważna. W przypadku dodatniego wykrycia bakterii *C. difficile* wynik testu jest uznawany za ważny, nawet jeśli kontrola ludzka (Human Control) jest ujemna.

Wykrycie kontroli pełnego procesu na bazie komórek ludzkich (Human Control) w ujemnych próbkach wskazuje na pomyślne przeprowadzenie procedury ekstrakcji i wyklucza hamowanie reakcji PCR. Interpretację wyników przedstawiono w tabeli poniżej.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Ważność	Wynik
+	+/-	ważny	Próbka jest uznawana za dodatnią pod względem bakterii <i>C. difficile</i> (wykryto gen toksyny tcdA/tcdB).
-	+	ważny	Próbka jest uznawana za ujemną pod względem bakterii <i>C. difficile</i> (wykryto gen toksyny tcdA/tcdB).
-	-	nieważny	Nie podlega ocenie. ¹

¹ Zalecane jest ponowne wykonanie testu.

PCR – krzywa i wartość C_q

Wyświetlane są krzywe reakcji PCR w czasie rzeczywistym (zmodyfikowane przez oprogramowanie), które są klasyfikowane przez oprogramowanie jako dodatnie lub ujemne. W przypadku krzywych dodatnich wyświetlana jest odpowiednia wartość C_q . Oprogramowanie zaznacza wyniki niejednoznaczne (Δ). Zaleca się powtórzenie badania.

Testy nieważne lub zakończone niepowodzeniem

Test uznaje się za nieważny, jeżeli nie wykryto docelowego DNA ani kontroli ludzkiej (Human Control). Możliwe przyczyny uzyskania nieważnego wyniku mogą obejmować niską jakość próbki z powodu częściowego lub całkowitego braku w próbce ludzkiego materiału komórkowego. W przypadku nieważnego testu wyniki są wyświetlane, ale nie można ich wykorzystywać do interpretacji diagnostycznej. Przed rozpoczęciem serii oznaczeń należy dopilnować użycia prawidłowego typu próbki, prawidłowej procedury pobierania i przechowywania próbki i kaset. W razie potrzeby należy powtórzyć analizę przy użyciu nowej próbki.

W przypadku niepowodzenia testu należy najpierw sprawdzić, czy warunki robocze są odpowiednie dla analizatora Vivalytic one (patrz instrukcja użytkowania analizatora Vivalytic one). Należy uruchomić ponownie analizator Vivalytic one. Jeśli problem się utrzymuje, skontaktować się z działem wsparcia klienta lokalnego dystrybutora.

Zakończenie testu

W momencie wyświetlenia na ekranie ważnego wyniku dodatniego w kierunku bakterii *C. difficile* użytkownik ma możliwość zakończenia testu.

Raport o teście

Drukowany raport o teście zawiera informacje dotyczące patogenu, wyników, kontroli, użytkownika, pacjenta i analizatora Vivalytic one, a także pole na podpis.

Kontrola jakości

Jeżeli wymagają tego normy lokalne lub danego laboratorium, konieczne jest testowanie kontroli jakości.

Jeśli konieczne jest zastosowanie referencyjnej metody badawczej na potrzeby kontroli jakości, można skorzystać z poniższych materiałów referencyjnych:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta.

W przypadku nieoczekiwanych wyników należy powtórzyć analizę przy użyciu innej próbki. Jeżeli wynik próbki ujemnej kontroli jakości, np. czystego podłoża eNAT®, pozostanie dodatni, mogło dojść do skażenia analizatora Vivalytic one lub jego środowiska roboczego. Należy przestać używać analizatora Vivalytic one i wyczyścić urządzenie zgodnie z opisem zamieszczonym w instrukcji użytkowania analizatora Vivalytic one.

W przypadku wielokrotnych fałszywych wyników próbek kontroli jakości należy również skontaktować się z działem wsparcia klienta u lokalnego dystrybutora.

Uwaga dla użytkowników w UE

Każdy poważny incydent, który miał miejsce w związku z wyrobem, należy zgłaszać producentowi i właściwemu organowi w kraju członkowskim zamieszkanym przez użytkownika i/lub pacjenta.

Ograniczenia

Wyniki testu Vivalytic C. difficile mogą być interpretowane wyłącznie przez przeszkolonego pracownika ochrony zdrowia. Wyników testu Vivalytic C. difficile nie można traktować jako wyłącznej podstawy rozpoznania.

- Wynik ujemny nie wyklucza obecności patogenów w próbce w stężeniu poniżej czułości oznaczenia lub innego patogenu, którego to oznaczenie nie wykrywa.
- Istnieje ryzyko uzyskania wyników fałszywie ujemnych lub fałszywie dodatnich z powodu niewłaściwie pobranych, transportowanych lub przygotowanych próbek.

- W przypadkach granicznych może dojść do uzyskania atypowych charakterystyk reakcji PCR (np. płaska krzywa z niską lub wysoką wartością C_q). W przypadku atypowej charakterystyki nie można używać uzyskanych wyników do interpretacji diagnostycznej. Oprogramowanie zaznacza wyniki niejednoznaczne. Zaleca się powtórzenie badania.
- Test Vivalytic C. difficile jest to jakościowy test bazujący na reakcji PCR w czasie rzeczywistym, który nie zapewnia wyniku ilościowego.
- Wynik dodatni nie musi oznaczać obecności żywych patogenów.
- Test wykrywa bakterie C. difficile będące nosicielami genów *tcdA/tcdB*, ale nie rozróżnia szczepów wytwarzających toksyny i tych, które ich nie wywarzają.
- Wynik ujemny nie wyklucza zakażenia bakterią C. difficile. Zaleca się, aby próbki z wynikiem ujemnym były interpretowane z uwzględnieniem dodatkowych danych laboratoryjnych.
- Zbyt duża ilość stolca może wpływać hamująco na działanie testu.

Ocena wydajności analitycznej

Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Granice wykrywalności testu Vivalytic C. difficile określono jako najniższe stężenie analitu, które może być wykrywane w spójny sposób ($\geq 95\%$ próbek badanych w standardowych warunkach laboratoryjnych w przypadku stosowania zdefiniowanego typu próbki).

Inkluzywność

Aby ocenić inkluzywność, przeprowadzono analizę *in silico* (zgodność w narzędziu BLAST) sekwencji genomowej różnych stosownych szczepów C. difficile w odniesieniu do sekwencji starterów PCR i sondy hydrolitycznej, które są używane w teście Vivalytic C. difficile do amplifikacji i wykrywania odpowiednich patogenów. Inkluzywność można wykazać dla szczepów, które przedstawia [Tabela 2](#).

Ekсклюzywność / swoistość analityczna

Aby wykluczyć reaktywność krzyżową (ekсклюzywność), przeprowadzono analizę *in silico* (zgodność w narzędziu BLAST) regionu docelowego bakterii C. difficile w odniesieniu do sekwencji genomowej różnych innych patogenów reprezentujących powszechnie występujące patogeny żołądkowo-jelitowe lub blisko spokrewnione gatunki. Nie potwierdzono obecności interferencji ([Tabela 3](#)).

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu Vivalytic C. difficile określono przy użyciu panelu z 3 różnymi stężeniami bakterii C. difficile. W 3 ośrodkach badawczych każda mieszanina została przetestowana na tym samym zestawie aparatów Vivalytic przez tego samego operatora przy użyciu 3 serii, w 4 powtórzeniach, w ciągu 3 dni, co zapewniło łącznie 324 obserwacje na docelowy patogen. Odsetek uzyskanych wyników dodatnich w zakresie różnych kombinacji skorelowano z odsetkiem oczekiwanych wyników dodatnich ([Tabela 4a](#)).

Powtarzalność

Powtarzalność testu Vivalytic C. difficile określono przy użyciu panelu z 1 stężeniem ($3 \times c95$) bakterii C. difficile. W 1 ośrodku badawczym każda mieszanina została przetestowana na tym samym zestawie aparatów Vivalytic przez tego samego operatora przy użyciu 3 serii, w 20 powtórzeniach, w ciągu 1 dnia, co zapewniło łącznie 60 obserwacji na docelowy patogen. Odsetek uzyskanych wyników dodatnich w zakresie różnych kombinacji skorelowano z odsetkiem oczekiwanych wyników dodatnich ([Tabela 4b](#)).

Interferencje

Interferencje oceniono pod kątem substancji endogennych i egzogennych, które potencjalnie mogą występować w próbce pacjenta. [Tabela 5](#) przedstawia substancje, które potencjalnie mogłyby interferować z testem.

Ocena wydajności klinicznej

Wyniki dotyczące czułości i swoistości uzyskano przy użyciu natywnych, płynnych i miękkich próbek ludzkich stolców. Próbki pobrano w środowisku klinicznym oraz porównano z wynikami uzyskanymi za pomocą metod referencyjnych.

Vivalytic C. difficile – instrukcja użytkowania

Próbki do badania przy użyciu kaset Vivalytic C. difficile użyto bezpośrednio po pobraniu lub zamrożono w celu przechowywania i przygotowania zgodnie z opisem powyżej, stosując podłoże eNAT® (COPAN Italia s.p.a.).

W przypadku badań metodami referencyjnymi próbki przygotowano zgodnie z zaleceniami dotyczącymi stosowanych metod referencyjnych. Łącznie przeanalizowano 124 próbek. Czulość lub odsetek zgodności wyników dodatnich (PPA) obliczono za pomocą wzoru $100\% \times TP / (TP + FN)$. Swoistość lub odsetek zgodności wyników ujemnych obliczono według wzoru $100\% \times TN / (TN + FP)$. Wyniki oceny skuteczności klinicznej przedstawiono w Tabeli 6.

Wsparcie techniczne

W przypadku pytań należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub wysłać wiadomość do centrum obsługi klienta Vivalytic (adres e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Piśmiennictwo

¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.

²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.

³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.

⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.

⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbole



Producent



Numer seryjny



Data produkcji



Limit temperatury



Termin ważności



Nie używać, jeśli opakowanie jest uszkodzone



Numer partii



Do użytku jednorazowego



Numer referencyjny



Należy zapoznać się z instrukcją użytkowania



Zawiera <n> testów



Wyrób medyczny do diagnostyki in-vitro



Oznaczenie CE



Odmierzyć pipetą wskazaną objętość próbki i przenieść do wejścia na próbki kasety zgodnie ze wskazaniem przy czarnym trójkącie.

Úvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitivní, sporující anaerobní bakterie skládající se z toxigenních a netoxigenních kmenů.

C. difficile je jedním z nejčastějších patogenů nozokomiálních průjmů, zejména u pacientů s průjmem spojeným s antibiotiky. V posledních letech se počet a závažnost případů v Evropě i ve světě zvýšily.¹

Příznaky infekce *C. difficile* (CDI) se pohybují od mírného průjmu až po těžkou život ohrožující pseudomembranózní kolitidu, ačkoli kolonizace *C. difficile* nemusí nutně vést k symptomatické infekci. Narušení rovnováhy střevních mikroorganismů, např. v důsledku antibiotické léčby, může způsobit, že se toxigenní *C. difficile* usadí, dominuje kolonizaci a může být počátkem CDI.²

Faktory ovlivňujícími patogenезi *C. difficile* jsou geny *tcdA* a *tcdB* kódující toxin A (enterotoxin) a toxin B (cytotoxin), které se nacházejí v chromozomální oblasti o velikosti 19,6 kb zvané lokus patogenity (PaLoc). Většina patogenních kmenů je toxin A a B pozitivní (A+B+), ale některé izoláty patogenních variant mohou být toxin A negativní a B pozitivní (A-B+). Tyto kmeny jsou příčinou onemocnění vyvolaného *C. difficile*.³

Některé toxigenní kmeny *C. difficile* také produkují toxin zvaný *C. difficile* transferáza (CDT), nebo binární toxin.⁴

Obsah balení

15 testovacích kazet Vivalytic *C. difficile* pro kvalitativní detekci sekvencí genu toxinu *tcdA/tcdB* specifických pro *Clostridioides difficile*.

Účel použití

Test Vivalytic *C. difficile* je automatický kvalitativní diagnostický test *in vitro* založený na polymerázové řetězové reakci (PCR) v reálném čase pro detekci nukleových kyselin z toxigenních *C. difficile* (genů toxinu *tcdA/tcdB*) ve výtěrech tekuté nebo měkké lidské stolice jako pomůcka při diagnostice akutních gastrointestinálních infekcí symptomatických jedinců.

Výsledky by neměly být používány jako jediný základ pro diagnózu, léčbu nebo jiná rozhodnutí o managementu pacienta. Pozitivní výsledky nevylučují koinfekci jinými patogeny. Detekované agens nemusí být definitivní příčinou choroby. Negativní výsledky nevylučují infekci *C. difficile* nebo jinou gastrointestinální infekci. Výsledky musí být klinicky korelovány s anamnézou pacienta, klinickými pozorováními a epidemiologickými informacemi. Pro určení stavu infekce pacienta jsou nezbytné další diagnostické informace. Určeno pro použití s analyzátozem Vivalytic *one* zdravotníky pouze v laboratorních podmínkách, jako jsou nemocniční a referenční laboratoře.

Bezpečnostní informace

Tento návod k použití obsahuje pouze informace specifické pro test. Další varování a pokyny naleznete v návodu k použití dodaném v analyzátozem Vivalytic *one* (kapitola bezpečnostní informace o výrobku). Používejte pouze kazety Vivalytic a příslušenství schválené pro analyzátozem Vivalytic *one*. Při manipulaci se vzorky pacientů a kazetami dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci. Pokud dojde k rozliti vzorku na kazetu, kazetu nepoužívejte a zlikvidujte ji.

Určeno pro diagnostické použití *in vitro* vyškolenými zdravotníky.



VAROVÁNÍ

- Vždy postupujte podle správné laboratorní praxe a zajistěte řádnou výkonnost tohoto testu.
- Zajistěte používání vhodných osobních ochranných prostředků (OOP).
- Nepoužívejte kazetu, pokud zjistíte viditelné poškození utěsněného sáčku nebo samotné kazety.
- Nedotýkejte se detekční oblasti kazety a neškrábejte na ni.
- Nepoužívejte kazetu opakovaně.
- Nepoužívejte kazety po datu expirace. Datum expirace je uvedeno na obalu a na štítku kazety.
- Po otevření sáčku s kazetou nečekejte déle než 15 minut, než zahájíte test. Zajistí se tak hygiena a zamezí se ztrátě účinnosti způsobené vlhkostí. Dlouhodobější expozice vlhkosti má negativní vliv na účinnost testu.
- Netřepejte kazetou obsahující vzorek.
- Neotáčejte kazetu dnem vzhůru.
- Kazety umísťujte pouze na čistý a rovný povrch.
- Nepoužívejte typy vzorků, média a objemy neschválené pro test.
- Vždy postupujte podle správné laboratorní praxe a zajistěte řádnou výkonnost tohoto testu.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je třeba považovat za potenciálně schopné přenosu infekčních agens, vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Zacházejte s potenciálně infekčními vzorky pacientů a kazetami podle národních laboratorních standardů a vzorky likvidujte podle oblastních a laboratorních standardů.
- Dodržujte národní předpisy a postupy.

Poznámka: Další informace naleznete v bezpečnostním listu (SDS) výrobku. Kontaktujte zákaznickou podporu místního distributora.

Další vybavení a požadované spotřební materiály, které nejsou součástí dodávky

- Analyzátor Bosch Vivalytic *one* (referenční číslo F 09G 300 115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem 100–1 000 µl
- Soupravy k odběru stěrů
 - Klasické vložkové tampony FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportní médium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný oděv

Princip testu

Vivalytic C. difficile je kvalitativní test na bázi PCR v reálném čase.

Podmínky skladování a používání

Výrobek je stabilní do data expirace, pokud je skladován při teplotě od +15 °C do +25 °C. Podmínky skladování a používání jsou uvedeny na kazetě, sáčku a na štítku krabičky. Kazetu je třeba používat při teplotě od +15 °C do +25 °C, při relativní vlhkosti < 65 %, do 15 minut od otevření sáčku. Zajistí se tak hygiena a zamezí se ztrátě účinnosti způsobené vlhkostí. Dlouhodobější expozice vlhkosti má negativní vliv na účinnost testu.

Reagencie

Všechny reagencie pro zpracování vzorku jsou zabudované v kazetě. Zpracování zahrnuje lýzu buňky, extrakci nukleové kyseliny, amplifikaci DNA a detekci.

Reagenciemi jsou PCR mikrokuličky, vazebný pufr, promývací pufr a eluční pufr. Mikrokulička PCR obsahuje DNA polymerázu, primery a sondy. Vazebný pufr usnadňuje vazbu nukleových kyselin v průběhu procesu purifikace. Promývací pufr je směs různých solí a rozpouštědel k odstranění nečistot, např. proteinů, v průběhu procesu extrakce. Eluční pufr je pufr s nízkým obsahem solí a na konci procesu extrakce obsahuje purifikované nukleové kyseliny.

Typy vzorků / médiu

Test je určen pro použití se vzorky výtěru stolice v médiu eNAT® (klasické vložkové tampony FLOQSwabs® 552C, transportní médium eNAT® ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Odebírejte a skladujte vzorky, jak je uvedeno v pokynech od výrobce.

V případě, že vzorek není zpracován ihned po odběru, budou nukleové kyseliny uchovávány v transportním médiu eNAT® po dobu až 4 týdnů při pokojové teplotě a při teplotě 4 °C, a až 6 měsíců při teplotě -20 až -80 °C (viz návod k použití transportního média eNAT®⁵).

Příprava vzorku

K odběru malého množství stolice použijte odběrový klasický vložkový tampon FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), který vložíte do vzorku a otáčením špičky vatového tamponu vzorek stolice odeberete. Je třeba vybrat a odebrat oblasti stolice, ve kterých se vyskytuje krev, hlen nebo voda. Po odběru tampon prohlédněte, abyste se ujistili, že je na špičce vidět fekální materiál. V případě, že tomu tak není, znovu vložte vatový tampon do vzorku stolice a otáčejte s ním tak, aby celá plocha špičky tamponu byla v kontaktu se vzorkem. Po odběru přeneste tampon do 2ml zkumavky Copan eNAT® s transportním médiem eNAT®. Držte násadku tamponu mezi palcem a prstem, rozmačkejte a promíchejte vzorek stolice proti stěně zkumavky, aby se rovnoměrně rozptýlil a suspendoval v konzervačním médiu. Držte násadku tamponu blízko okraje zkumavky a ohněte ji pod úhlem 180 stupňů, abyste ji odlomili v označeném bodu zlomu. Zlikvidujte zlomenou horní část násadky tamponu a utáhněte uzávěr. Důkladně protřepejte zkumavku obsahující vzorek výtěru a médium eNAT® (COPAN Italia s.p.a.), aby došlo k homogenizaci, a pomocí pipetoru přeneste 300 µl homogenizovaného vzorku pacienta do vstupu pro vzorek na kazetě.

Nepoužívejte viskózní vzorky, které se obtížně pipetují.

Výsledek testu

Po automatickém zpracování vzorku analyzátozem Vivalytic *one* se výsledek testu zobrazí na obrazovce přístroje. Doba k dosažení výsledku je cca 50 min. U vzorků s vysokým titrem jsou výsledky k dispozici za méně než 35 minut a běh testu lze ukončit dříve (viz kapitola Ukončení testu).

Vzorek je klasifikován buď jako *C. difficile* pozitivní, *C. difficile* negativní, nebo neplatný. V případě pozitivní detekce *C. difficile* je test považován za platný, i když je kontrola Human Control negativní.

Detekce kontroly celého procesu na bázi lidských buněk (Human Control) u negativních vzorků prokazuje úspěšný postup extrakce a vylučuje inhibici PCR reakce. Interpretace výsledků je uvedena v následující tabulce.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Platnost	Výsledek
+	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na <i>C. difficile</i> (detekován gen toxinu tcdA/tcdB).
-	+	platný	Vzorek je považován za negativní na <i>C. difficile</i> (gen toxinu tcdA/tcdB není detekován).
-	-	neplatný	Nelze vyhodnotit. ¹

¹ Doporučuje se provést test znovu.

PCR – křivka a hodnota C_q

Křivky PCR v reálném čase (softwarově modifikované) jsou zobrazeny a klasifikovány softwarem jako pozitivní nebo negativní. V případě pozitivních křivek se zobrazí příslušná hodnota C_q. Software označí nejednoznačné výsledky (Δ). Doporučuje se test opakovat.

Neplatné testy nebo selhání testů

Test je hodnocen jako neplatný, pokud není detekována cílová DNA ani kontrola Human Control. Možnými důvody pro neplatný test může být špatná kvalita vzorku z důvodu částečné nebo úplné absence lidského buněčného materiálu ve vzorku. Výsledky se pro neplatný test zobrazují, ale není dovoleno je použít pro diagnostickou interpretaci. Věnujte pozornost použití správného typu vzorku, odběru vzorku a skladování vzorku a kazet před provedením testu. V případě potřeby analýzu opakujte s novým vzorkem.

V případě selhání testu nejprve zkontrolujte správné provozní podmínky analyzátoru Vivalytic *one* (viz návod k použití analyzátoru Vivalytic *one*). Restartujte analyzátor Vivalytic *one*. Pokud problém přetrvává, kontaktujte zákaznickou podporu vašeho místního distributora.

Ukončení testu

Když je na obrazovce zobrazen platný pozitivní výsledek na *C. difficile*, uživatel může test ukončit.

Zpráva o testu

V tištěné zprávě o testu jsou uvedeny patogeny, výsledky, kontroly a informace o uživateli, pacientovi a analyzátoru Vivalytic *one* s podpisovým polem.

Kontrola kvality

Pokud to vyžadují vaše místní nebo laboratorní standardy, je nutné také provést kontrolu kvality.

V případě potřeby referenční testovací metody pro kontrolu kvality lze použít tyto referenční materiály:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Dodržujte pokyny výrobce.

V případě neočekávaných výsledků analýzu opakujte s jiným vzorkem.

Jestliže výsledek negativního vzorku pro kontrolu kvality, např. čisté médium eNAT®, zůstane pozitivní, může být kontaminovaný analyzátor Vivalytic *one* nebo prostředí. Přestaňte analyzátor Vivalytic *one* používat a vyčistěte přístroj podle návodu k použití analyzátoru Vivalytic *one*.

V případě opakovaných falešných výsledků kontroly kvality kontaktujte zákaznickou podporu vašeho místního distributora.

Upozornění uživatelům v EU

Jakákoli závažný incident, vzniklý v souvislosti se zařízením, je třeba nahlásit výrobci a kompetentnímu orgánu členského státu, kde sídlí uživatel a/nebo pacient.

Omezení

Výsledky testu Vivalytic *C. difficile* musí interpretovat výhradně vyškolený zdravotník. Výsledky testu Vivalytic *C. difficile* nesmí být použity jako jediný parametr pro diagnózu.

- Negativní výsledek nevylučuje přítomnost patogenů ve vzorku v hladině, která je nižší než citlivost testu, nebo jiných patogenů, které nejsou tímto testem pokryty.
- Existuje riziko falešně negativních nebo falešně pozitivních výsledků v důsledku nesprávně odebraného nebo přepravovaného vzorku či v důsledku nesprávné manipulace se vzorkem.
- V mezních případech mohou vzniknout atypické charakteristiky PCR (např. plochá křivka s nízkou nebo vysokou hodnotou C_q). V případě atypických charakteristik není dovoleno výsledky použít pro diagnostickou interpretaci. Software označí nejednoznačné výsledky. Doporučuje se test opakovat.
- Vivalytic *C. difficile* je kvantitativní test PCR v reálném čase a neposkytuje kvantitativní výsledek.
- Pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat, že jsou přítomny životaschopné patogeny.
- Test detekuje *C. difficile* nesoucí geny *tcdA/tcdB*, ale nerozlišuje mezi kmeny produkujícími a neprodukcujícími toxiny.
- Negativní výsledek nevylučuje infekci *C. difficile*. Negativní testované vzorky se doporučuje interpretovat v kontextu s dalšími laboratorními údaji.
- Nadměrné množství stolice může mít inhibiční účinky na provedení testu.

Vyhodnocení analytické výkonnosti

Analytická senzitivita (limit detekce)

Limit detekce testu Vivalytic C. difficile byl stanoven jako nejnižší koncentrace analytu, kterou lze trvale detekovat (≥ 95 % vzorků testovaných v běžných laboratorních podmínkách s použitím definovaného typu vzorku).

Inkluzivita

Pro vyhodnocení inkluzivity byla provedena *in silico* analýza (uspořádání BLAST) genomové sekvence různých relevantních kmenů C. difficile oproti sekvenci PCR primerů a hydrolyzační sondy použité v testu Vivalytic C. difficile pro amplifikaci a detekci příslušných patogenů. Inkluzivitu lze prokázat u kmenů uvedených v [tabulce 2](#).

Exkluzivita / analytická specifita

Pro vyloučení zkřížené reaktivity (exkluzivita) byla provedena analýza *in silico* (uspořádání BLAST) cílové oblasti C. difficile oproti genomové sekvenci různých dalších patogenů reprezentujících běžné gastrointestinální patogeny a blízké příbuzných druhů. Neexistují žádné důkazy rušení ([tabulka 3](#)).

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Vivalytic C. difficile byla stanovena pomocí panelu se 3 různými koncentracemi C. difficile. Na 3 testovacích místech byla každá směs testována na stejné sadě přístrojů Vivalytic stejným operátorem se 3 šaržemi ve 4 replikátech ve 3 dnech av daném pořadí, což poskytlo celkem 324 pozorování na cílový patogen. Získané míry pozitivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou pozitivity ([tabulka 4a](#)).

Opakovatelnost

Opakovatelnost testu Vivalytic C. difficile byla stanovena pomocí panelu s 1 koncentrací ($3 \times c95$) C. difficile. Na jednom testovacím místě byla každá směs testována na stejné sadě přístrojů Vivalytic stejným operátorem se 3 šaržemi ve 20 replikátech v 1 dni a v daném pořadí, což poskytlo celkem 60 pozorování na cílový patogen. Získané míry pozitivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou pozitivity ([tabulka 4b](#)).

Rušení

Rušení byla vyhodnocena s ohledem na endogenní a exogenní látky, které mohou být přítomny ve vzorku pacienta. V [tabulce 5](#) jsou uvedeny látky, které mohou s testem interferovat.

Vyhodnocení klinické výkonnosti

Výsledky citlivosti a specifity odvozené z nativních vzorků tekuté a měkké lidské stolice. Vzorky byly odebrány v klinickém prostředí a porovnány s výsledky referenční metody.

Vzorky pro testování kazet Vivalytic C. difficile byly použity čerstvé nebo zmrazené pro skladování a připraveny tak, jak je popsáno výše v eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

V případě referenčního testování byly vzorky připraveny podle doporučení použitých referenčních metod. Celkem bylo analyzováno 124 vzorků. Senzitivita či shoda pozitivních vzorků (PPA) byla vypočítána jako $100 \% \times TP / (TP + FN)$. Specifita či shoda procenta negativních vzorků byla vypočítána jako $100 \% \times TN / (TN + FP)$. Výsledky vyhodnocení klinické výkonnosti jsou uvedeny v [tabulce 6](#).

Technická podpora

V případě dotazů kontaktujte svého místního distributora nebo pošlete zprávu zákaznickému servisu Vivalytic (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Odkazy na literaturu

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbole



Výrobce



Výrobní číslo



Datum výroby



Omezení teploty



Datum expirace



Nepoužívejte, pokud je obal poškozený



Číslo šarže



Pouze k jednorázovému použití



Referenční číslo



Čtěte návod k použití



Obsahuje <n> testů



Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*



Značka CE



Napipetujte uvedený objem vzorku do vstupu pro vzorek na kazetě, jak je označeno černým trojúhelníkem.

Úvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitívna anaeróbna baktéria tvoriaca spóry, ktorá sa skladá z toxigénnych a netoxigénnych kmeňov.

C. difficile je jedným z najčastejších patogénov nozokomiálnych hnačiek, najmä u pacientov s hnačkou spojenou s antibiotikami. V posledných rokoch sa počet a závažnosť prípadov v Európe a vo svete zvýšili.¹

Príznaky infekcie *C. difficile* (CDI) sa pohybujú od miernej hnačky až po závažnú život ohrozujúcu pseudomembranóznu kolitídu, hoci kolonizácia *C. difficile* nemusí nevyhnutne viesť k symptomatickej infekcii. Narušenie rovnováhy črevných mikroorganizmov, napr. v dôsledku antibiotickej liečby, môže spôsobiť usídlenie toxigénnej baktérie *C. difficile*, dominantnú kolonizáciu a môže byť začiatkom CDI.²

Faktory, ktoré sa podieľajú na patogenéze *C. difficile*, sú gény *tcdA* a *tcdB*, ktoré kódujú toxín A (enterotoxín) a toxín B (cytotoxín), ktoré sa nachádzajú v 19,6 kb chromozomálnej oblasti nazývanej lokus patogenity (PaLoc). Väčšina patogénnych kmeňov je toxín A a B pozitívna (A+B+), ale niektoré patogénne varianty izolátov môžu byť toxín A negatívne a B pozitívne (A-B+). Sú príčinou ochorení spojených s *C. difficile*.³

Niektoré toxigénne kmene *C. difficile* produkujú aj toxín nazývaný *C. difficile* transferáza (CDT) alebo binárny toxín.⁴

Obsah balenia

Testovacie kazety 15 Vivalytic *C. difficile* na kvalitatívnu detekciu špecifických sekvencií génov toxínov *tcdA/tcdB* *Clostridioides difficile*.

Účel použitia

Test Vivalytic *C. difficile* je automatizovaný kvalitatívny diagnostický test *in vitro* založený na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR) v reálnom čase na detekciu nukleových kyselín toxigénneho kmeňa *C. difficile* (gény toxínov *tcdA/tcdB*) z tekutých alebo mäkkých výterov ľudskej stolice na pomoc pri diagnostike akútnych gastrointestinálnych infekcií symptomatických osôb.

Výsledky by nemali byť použité ako jediný základ pre diagnostiku, liečbu alebo iné rozhodnutia o ošetrovaní pacienta. Pozitívne výsledky nevyklúčujú súbežnú infekciu inými patogénmi. Zistené agensy nemusia byť definitívnou príčinou ochorenia. Negatívne výsledky nevyklúčujú infekciu *C. difficile* alebo inú gastrointestinálnu infekciu. Výsledky musia klinicky korelovať s anamnézou pacienta, klinickými pozorovaniami a epidemiologickými informáciami. Na stanovenie stavu infekcie pacienta sú potrebné ďalšie diagnostické informácie. Určené na použitie s analyzátorom Vivalytic *one* iba zdravotníckymi pracovníkmi v laboratórnych podmienkach, ako sú nemocničné laboratóriá a referenčné laboratóriá.

Bezpečnostné informácie

Tento návod na použitie obsahuje iba informácie špecifické pre test. Ďalšie varovania a pokyny nájdete v návode na použitie dodanom s vaším analyzátorom Vivalytic *one* (kapitola Bezpečnosť zariadenia). Používajte len kazety Vivalytic a príslušenstvo schválené pre analyzátor Vivalytic *one*. Dbajte na to, aby ste zabránili akejkoľvek kontaminácii pri manipulácii so vzorkami od pacientov a kazetami. Keď sa vzorka rozleje na kazetu, kazetu už nepoužívajte a zlikvidujte ju.

Určené na diagnostické použitie *in vitro* vyškolenými zdravotníckymi pracovníkmi.



POZOR

- Na zaistenie správneho vykonania tohto testu vždy dodržujte správnu laboratórnu prax.
- Uistite sa, že používate vhodné osobné ochranné prostriedky (OOP).
- Nepoužívajte kazetu v prípade viditeľného poškodenia zapečateného vrečka alebo samotnej kazety.
- Nedotýkajte sa detekčnej oblasti kazety a zabráňte jej poškriabaniu.
- Kazetu nepoužívajte opakovane.
- Exspirované kazety nepoužívajte. Dátum expirácie je uvedený na obale a štítku kazety.
- Test vykonajte do 15 minút od otvorenia vrečka kazety. Tým sa dodrží čistota a zabráni sa strate výkonnosti v dôsledku vlhkosti. Dlhodobé vystavenie vlhkosti má negatívny vplyv na výkonnosť testu.
- Netraсте kazetou, ktorá obsahuje vzorku.
- Kazetu neatáčajte hore nohami.
- Kazetu umiestnite iba na čistý a rovný povrch.
- Nepoužívajte typy vzoriek, médiá a objemy, ktoré nie sú schválené na tento test.
- Na zaistenie správneho vykonania tohto testu vždy dodržujte správnu laboratórnu prax.
- Biologické vzorky, prenosové zariadenia a použité kazety sa majú považovať za schopné prenosu infekčných agensov, takže sa vyžadujú štandardné opatrenia. S potenciálne infekčnými vzorkami od pacientov a kazetami zaobchádzajte v súlade s laboratórnymi štandardmi platnými v danej krajine a vzorky a kazety zlikvidujte v súlade s regionálnymi štandardmi a štandardmi špecifickými pre laboratóriá.
- Dodržiavajte bezpečnostné predpisy a postupy platné v danej krajine.

Poznámka: Ďalšie informácie nájdete v karte bezpečnostných údajov (KBÚ) výrobku. Obráťte sa na zákaznícku podporu svojho miestneho distribútora.

Ďalšie požadované vybavenie a spotrebný materiál, ktoré nie sú súčasťou dodávky

- Analyzátor Bosch Vivalytic *one* (referenčné číslo F 09G 300 115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilné filtrovacie pipetovacie špičky 100 – 1000 µl
- Súpravy na odber vzorky výterom
 - Bežné tampónové tyčinky FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportné médium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný odev

Princíp testu

Test Vivalytic C. difficile je kvalitatívny test založený na reakcii PCR v reálnom čase.

Podmienky pri skladovaní a používaní

Výrobok je stabilný do dátumu expirácie, ak sa skladuje pri teplote od +15 do +25 °C. Podmienky pre skladovanie a používanie nájdete na štítku na kazete, vrečku alebo škatuli. Kazeta sa musí použiť pri teplote od +15 do +25 °C, relatívnej vlhkosti <65 %, do 15 minút od otvorenia vrečka. Tým sa dodrží čistota a zabráni sa strate výkonnosti v dôsledku vlhkosti. Dlhodobé vystavenie vlhkosti má negatívny vplyv na výkonnosť testu.

Reagencie

Všetky reagencie potrebné na spracovanie vzorky sú integrované do kazety. Spracovanie zahŕňa lýzu buniek, extrakciu nukleovej kyseliny, amplifikáciu DNA a detekciu.

Reagencie sú PCR guľôčky, väzbový pufer, premývací pufer a elučný pufer. PCR guľôčka obsahuje DNA polymerázu, primery a próby. Vázbový pufer uľahčuje väzbu nukleových kyselín počas purifikačného procesu. Premývací pufer je prípravok zložený z rôznych solí a rozpúšťadiel na odstránenie nečistôt, napr. proteínov, počas extrakčného procesu. Elučný pufer je pufer s nízkym obsahom soli a obsahuje purifikované nukleové kyseliny na konci extrakčného procesu.

Typy vzorky/médium

Test je určený na použitie so vzorkami výterov stolice v médiu eNAT® medium (bežné tampónové tyčinky FLOQSwabs® 552C, transportné médium eNAT®, ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Vzorky odoberajte a skladujte podľa pokynov výrobcu.

V prípade, že sa vzorka nespracuje ihneď po odbere, nukleové kyseliny sa uchovávajú v transportnom médiu eNAT® až 4 týždne pri izbovej teplote a pri 4 °C a až 6 mesiacov pri -20 °C až -80 °C (pozri návod na použitie transportného média eNAT®⁵).

Príprava vzorky

Na odber malého množstva stolice použite bežné tampónové tyčinky FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) tak, že do vzorky stolice vložíte špičku tampónovej tyčinky a otočíte ju. Mali by sa vybrať krvavé, hlienovité alebo vodnaté oblasti stolice a z nich urobiť odber. Po odbere skontrolujte tampónovú tyčinku, aby ste sa uistili, že na špičke je viditeľný fekálny materiál. V prípade, že nie je, opäť vložte tampónovú tyčinku do vzorky stolice a otočte ju, pričom dbajte na to, aby bola celá plocha špičky tampónovej tyčinky v kontakte so vzorkou. Po odbere preneste tampón do 2 ml skúmavky Copan eNAT® s transportným médiom eNAT®. Držte driek tampónovej tyčinky medzi palcom a prstom, roztláčajte a premiešajte vzorku stolice o stenu skúmavky, aby sa vzorka rovnomerne rozptýlila a suspendovala v konzervačnom médiu. Držte driek tampónovej tyčinky blízko okraja skúmavky, ohnite ju pod uhlom 180 stupňov a zlomte v označenom bode zlomu. Zlikvidujte odlomenú hornú časť tampónu a utiahnite uzáver. Dôkladne pretrepte skúmavku so vzorkou na tampónovej tyčinke a médiom eNAT® (COPAN Italia s.p.a.), aby sa obsah homogenizoval, a pomocou pipetora naplňte 300 µl homogenizovanej vzorky pacienta do otvoru na vzorky na kazete.

Nepoužívajte viskózne vzorky, ktoré sa ťažko pipetujú.

Výsledok testu

Po automatickom spracovaní vzorky analyzátorom Vivalytic *one* sa výsledok testu zobrazí na obrazovke analyzátoru Vivalytic *one*. Časový interval na získanie výsledku je zhruba 50 min. Výsledky pre vzorky s vysokým titrom sú k dispozícii za menej než 35 min a testovanie sa môže ukončiť skôr (pozri kapitolu Ukončenie testu).

Vzorka je klasifikovaná buď ako pozitívna na *C. difficile*, negatívna na *C. difficile*, alebo neplatná. V prípade pozitívnej detekcie *C. difficile* sa test považuje za platný, aj keď je kontrola Human Control negatívna.

Detekcia kontroly celého procesu založenej na ľudských bunkách (Human Control) v negatívnych ľudských vzorkách potvrdzuje úspešný postup extrakcie a vylučuje inhibíciu reakcie PCR. Interpretácia výsledkov je uvedená v tabuľke nižšie.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Platnosť	Výsledok
+	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>C. difficile</i> (detegovaný gén toxínu tcdA/tcdB).
-	+	platné	Vzorka sa považuje za negatívnu na <i>C. difficile</i> (nie je detegovaný gén toxínu tcdA/tcdB).
-	-	neplatné	Nie je možné vyhodnotiť. ¹

¹ Odporúča sa zopakovať test.

PCR – krivka a hodnota C_q

Softvér zobrazuje krivky PCR v reálnom čase (modifikované softvérom) a klasifikuje ich ako pozitívne alebo negatívne. V prípade pozitívnych kriviek sa zobrazí príslušná hodnota C_q. Výsledky, ktoré nie je možné interpretovať, sú označené softvérom (Δ). Odporúčame opätovné testovanie.

Neplatné alebo neúspešné testy

Test sa považuje za neplatný, ak nie je detegovaná cieľová DNA ani kontrola Human Control. Možným dôvodom neplatného cyklu môže byť zlá kvalita vzorky v dôsledku čiastočnej alebo úplnej absencie ľudského bunkového materiálu vo vzorke. Výsledky pre neplatný test sa zobrazia, ale nie je dovolené ich použiť na diagnostickú interpretáciu. Pred testovaním venujte pozornosť použitiu správneho typu vzorky, odberu vzorky a skladovaniu vzorky a kaziet. Ak je to potrebné, analýzu zopakujte s novou vzorkou.

V prípade neúspešného testu najskôr skontrolujte správne prevádzkové podmienky analyzátora Vivalytic *one* (pozri návod na použitie analyzátora Vivalytic *one*). Reštartujte analyzátor Vivalytic *one*. Ak problém pretrváva, kontaktujte zákazníčku podporu svojho miestneho distribútora.

Ukončenie testu

Keď sa na obrazovke zobrazí platný pozitívny výsledok na *C. difficile*, používateľ má možnosť test dokončiť.

Protokol o teste

V tlačennom protokole o teste sa uvádzajú patogén, výsledky, kontrola a informácie o používateľovi, pacientovi a analyzátore Vivalytic *one* spolu s miestom na podpis.

Kontrola kvality

Ak to vyžadujú vaše miestne alebo laboratórne normy, je nutné vykonať testovanie na kontrolu kvality.

V prípade, že je na kontrolu kvality potrebná referenčná testovacia metóda, je možné použiť tieto referenčné materiály:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Dodržiňte pokyny výrobcu.

V prípade neočakávaných výsledkov zopakujte analýzu s ďalšou vzorkou. Ak je výsledok negatívnej vzorky na kontrolu kvality, napr. čistého média eNAT®, nadalej pozitívny, analyzátor Vivalytic *one* alebo jeho prostredie môžu byť kontaminované. Prestaňte používať analyzátor Vivalytic *one* a vyčistite zariadenie podľa popisu v návode na použitie analyzátora Vivalytic *one*.

V prípade opakovaných falošných výsledkov vzoriek na kontrolu kvality sa obráťte na zákazníčku podporu svojho miestneho distribútora.

Oznámenie pre používateľov v EÚ

Každý vážny incident, ktorý sa vyskytol v súvislosti s pomôckou, má byť nahlásený výrobcovi a príslušnému orgánu členského štátu, v ktorom je používateľ a/alebo pacient pôsobia.

Obmedzenia

Výsledky testu Vivalytic *C. difficile* smie interpretovať iba vyškolený zdravotnícky pracovník. Výsledky testu Vivalytic *C. difficile* sa nesmú používať ako jediný parameter pri diagnostike.

- Negatívny výsledok nevyučuje, že vo vzorke sú prítomné patogény na úrovni nižšej, ako je citlivosť testu, alebo iné patogény, ktoré nie sú zahrnuté v tomto teste.
- V dôsledku nesprávne odobratých, prepravovaných alebo manipulovaných vzoriek existuje riziko falošne negatívnych alebo falošne pozitívnych výsledkov.
- V hraničných prípadoch sa môžu vyskytnúť atypické charakteristiky PCR (napríklad plochá krivka s nízkou alebo vysokou hodnotou C_q). V prípade atypických charakteristík nie je dovolené použiť výsledky na diagnostickú interpretáciu. Výsledky, ktoré nie je možné interpretovať, sú označené softvérom. Odporúčame opätovné testovanie.
- Test Vivalytic *C. difficile* je kvalitatívny PCR test v reálnom čase a neposkytuje kvantitatívny výsledok.
- Pozitívny výsledok nemusí nutne znamenať, že sú prítomné životaschopné patogény.
- Test deteguje kmeň *C. difficile* nesúci gény *tcdA/tcdB*, ale nerozlišuje medzi kmeňmi produkujúcimi toxín a kmeňmi neproduktujúcimi toxín.

- Negatívny výsledok nevylučuje infekciu *C. difficile*. Odporúča sa, aby sa negatívne testované vzorky interpretovali v kontexte s ďalšími laboratórnymi údajmi.
- Nadmerné množstvo stolice môže mať inhibičný účinok na výkon testu.

Hodnotenie analytickej výkonnosti

Analytická citlivosť (limit detekcie)

Limit detekcie testu Vivalytic C. difficile bol stanovený ako najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať (≥ 95 % vzoriek testovaných za bežných laboratórných podmienok s použitím definovaného typu vzorky).

Inkluzivita

Na vyhodnotenie inkluzivity sa vykonala analýza *in silico* (zarovnanie BLAST) genómovej sekvencie rôznych relevantných kmeňov *C. difficile* so sekvenciou PCR primerov a hydrolyzačnej próby, ktoré sa používajú v teste Vivalytic C. difficile na amplifikáciu a detekciu príslušných patogénov. Inkluzivita sa mohla preukázať v prípade kmeňov uvedených v [tabuľke 2](#).

Exkluzivita/analytická špecifickosť

Na vylúčenie krížovej reaktivity (exkluzivity) sa vykonala analýza *in silico* (zarovnanie BLAST) cieľovej oblasti *C. difficile* s genomickou sekvenciou rôznych iných patogénov, ktoré predstavujú bežné gastrointestinálne patogény alebo úzko príbuzné druhy. Nenašli sa žiadne dôkazy interferencie ([tabuľka 3](#)).

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu Vivalytic C. difficile bola stanovená pomocou panelu s 3 rôznymi koncentraciami *C. difficile*. Na 3 testovacích pracoviskách bola každá zmes testovaná na rovnakej súprave prístrojov Vivalytic tým istým operátorom s 3 šaržami v 4 opakovaníach v 3 dňoch, čo prinieslo celkovo 324 pozorovaní na cieľový patogén. Získané miery pozitivity pri rôznych kombináciách sa prepojili s očakávanou mierou pozitivity ([tabuľka 4a](#)).

Opakovateľnosť

Opakovateľnosť testu Vivalytic C. difficile sa stanovila pomocou panelu s 1 koncentráciou ($3 \times c95$) *C. difficile*. Na 1 testovacom pracovisku bola zmes testovaná na tej istej súprave prístrojov Vivalytic tým istým operátorom s 3 šaržami v 20 opakovaníach v 1 deň, resp. s celkovým počtom 60 pozorovaní na cieľový patogén. Získané miery pozitivity pri rôznych kombináciách sa prepojili s očakávanou mierou pozitivity ([tabuľka 4b](#)).

Interferencie

Interferencie sa hodnotili pre endogénne a exogénne látky, ktoré sú potenciálne prítomné vo vzorke od pacienta. V [tabuľke 5](#) sú uvedené látky, ktoré majú potenciál interferovať s testom.

Hodnotenie klinickej výkonnosti

Výsledky citlivosti a špecifickosti získané z natívnych tekutých a mäkkých vzoriek ľudskej stolice. Vzorky sa odobrali v klinickom prostredí a porovnali sa s výsledkami referenčných metód.

Vzorky na testovanie s kazetami Vivalytic C. difficile boli čerstvo použité alebo zmrazené na uskladnenie a pripravené tak, ako je opísané vyššie v eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

V prípade referenčného testovania boli vzorky pripravené podľa odporúčaní použitých referenčných metód. Celkom bolo analyzovaných 124 vzoriek. Citlivosť alebo pozitívna percentuálna zhoda (PPA) sa vypočítali ako $100\% \times TP / (TP + FN)$. Špecifickosť alebo negatívna percentuálna zhoda sa vypočítali ako $100\% \times TN / (TN + FP)$. Výsledky hodnotenia klinickej výkonnosti sú uvedené v [tabuľke 6](#).

Technická podpora

V prípade otázok sa obráťte na miestneho distribútora alebo odošlite správu zákazníckemu servisu spoločnosti Vivalytic (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referencie

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbody



Výrobca



Výrobné číslo



Dátum výroby



Teplotný limit



Dátumu expirácie



Nepoužívajte, ak je obal poškodený



Číslo šarže



Len na jedno použitie



Referenčné číslo



Pozrite si návod na použitie



Obsahuje <n> testov



Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*



Označenie CE



Napipetujte uvedený objem vzorky do vstupného otvoru kazety, ktorý je označený čiernym trojuholníkom.

Bevezetés

A *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) Gram-pozitív, spóráképző anaerob bacillus, amelynek toxinogén és nem toxinogén törzsei is vannak.

A *C. difficile* a nosocomiális hasmenés egyik leggyakoribb kórokozója, különösen az antibiotikumokkal összefüggésbe hozható hasmenésben szenvedő betegeknél. Az utóbbi években Európában és világszerte emelkedett az esetek száma és súlyossága.¹

A *C. difficile* által okozott fertőzés (*C. difficile* infection, CDI) tünetei az enyhe hasmenéstől a súlyos, életveszélyes álhártyás vastagbélgyulladásig terjednek, bár a *C. difficile* megtelepedése nem feltétlenül vezet tüneteket okozó fertőzéshez. Ha felborul a bél mikroorganizmusainak egyensúlya pl. antibiotikumos kezelés hatására, akkor megtelepedhet a toxinogén *C. difficile*, dominánssá válhat a mikrobiomban, és ezzel elkezdődhet a CDI.²

A *C. difficile* patogenezisében szerepet játszanak a *tcdA* és a *tcdB* gének, amelyek az A toxint (enterotoxin) és a B toxint (citotoxin) kódolják, és amelyek egy 19,6 kb-os kromoszómaregióban, az úgynevezett patogenitási szigeten (PaLoc) találhatóak. A legtöbb patogén törzs pozitív az A és a B toxinokra (A+B+), de néhány patogén variáns izolátum lehet A negatív és B pozitív (A-B+). Ezek okozzák a *C. difficile*-vel összefüggésbe hozható megbetegedéseket.³

Egyes toxinogén *C. difficile* törzsek egy *C. difficile* transzferáz (CDT) nevű toxint is termelnek, amelyet bináris toxinnak is neveznek.⁴

A csomag tartalma

15 Vivalytic *C. difficile* tesztpatron *Clostridioides difficile*-specifikus *tcdA*/*tcdB* toxingén-szekvenciák kvalitatív kimutatására.

Rendeltetészerű használat

A Vivalytic *C. difficile* teszt egy automatizált kvalitatív *in vitro* diagnosztikai teszt, amely valós idejű polimeráz láncreakció (PCR) alapul a toxinogén *C. difficile* (*tcdA*/*tcdB* toxingének) nukleinsavainak kimutatására folyékony vagy lágy emberi székletből származó tamponmintákból, hogy segítse a tüneteket mutató egyének akut gyomor-bélrendszeri fertőzéseinek diagnózisát.

Az eredményeket nem szabad a diagnózis, kezelés vagy a beteggel kapcsolatos egyéb döntések alapjául használni. A pozitív eredmény nem zárja ki a más kórokozó által okozott társfertőzést. Nem biztos, hogy a kimutatott kórokozó(k) betegség okozója vagy okozói. A negatív eredmények nem zárják ki a *C. difficile* általi fertőzés vagy egyéb gyomor-bélrendszeri fertőzés lehetőségét. Az eredményeket klinikailag össze kell vetni a beteg kórtörténetével, az egészségügyi megfigyelésekkel és a járványügyi információkkal. A beteg fertőzési állapotának megállapításához egyéb diagnosztikai információkra is szükség van. Kizárólag egészségügyi szakemberek általi használatra szánták, Vivalytic *one* analízátorral, laboratóriumi környezetben, például kórházi laboratóriumokban és referencialaboratóriumokban.

Biztonsági információk

Ez a használati útmutató csak a teszthez kapcsolódó információkat tartalmaz. A Vivalytic *one* analízátorhoz mellékelt használati útmutatóban további figyelmeztetéseket és utasításokat talál (az eszköz biztonsági információit taglaló fejezetben). Csak Vivalytic *one* analízátorhoz jóváhagyott Vivalytic patronok és tartozékok használhatók. A betegminták és a patronok kezelése során legyen óvatos, hogy elkerülje a szennyeződést. Ha a patronra minta ömlik, ne használja azt, hanem dobja ki.

Képzett egészségügyi szakemberek által történő *in vitro* diagnosztikai használatra.



VIGYÁZAT

- A teszt megfelelő elvégzése érdekében mindig kövesse a jó laboratóriumi gyakorlatot.
- Viseljen megfelelő egyéni védőfelszerelést (PPE).
- Ne használja a patronot, ha a patron zárt tasakján vagy magán a patronon sérülést lát.
- Ne érjen hozzá a patron érzékelőterületéhez, és ne karcolja meg.
- Ne használja újra a patronot.
- Ne használjon lejárt patronot. A lejárat dátum a patron csomagolásán és címkéjén található.
- Ne váron a patron tasakjának felnyitása után 15 percnél tovább a vizsgálat megkezdésével. Ez biztosítja a higiénit, és megelőzi a teljesítmény pára miatti csökkenését. Negatívan befolyásolja a teszt teljesítményét, ha huzamosabb ideig pára éri.
- Ne rázza a mintát tartalmazó patronot.
- Ne fordítsa a patronot fejjel lefelé.
- A patronot csak tiszta és sík felületre helyezze.
- Ne használjon a teszthez nem jóváhagyott mintatípusokat, közeget és térfogatokat.
- A teszt megfelelő elvégzése érdekében mindig kövesse a jó laboratóriumi gyakorlatot.
- A biológiai mintákról, szállítóedényekről és használt patronokról fel kell tételnie, hogy képesek fertőző anyagok átvitelére, és a szokásos elővigyázatossággal kell kezelni őket. A potenciálisan fertőző betegmintákat és a patronokat a laboratóriumokra vonatkozó országos szabályok szerint kezelje. A minták és patronok hulladékkezelését a helyi és a laboratóriumra vonatkozó szabályok szerint végezze.
- Tartsa be az országos biztonsági szabályokat és eljárásokat.

Megjegyzés: A termék biztonsági adatlapján (SDS) további információkat talál. Lépjen kapcsolatba az ügyfélszolgálattal vagy a helyi forgalmazóval.

További szükséges, de nem biztosított eszközök és fogyóeszközök

- Bosch Vivalytic *one* analízátor (referenciaszám: F 09G 300 115)
- Pipettázó (100–1000 µl)
- Steril szűrős pipettahegyek, 100–1000 µl
- Vattapálcás mintavevőkészletek
 - FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.) szabályos pelyhesített tampon
- Szállítóközeg
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Megfelelő védőruházat

A teszt alapelve

A Vivalytic C. difficile kvalitatív, valós idejű PCR-alapú teszt.

Tárolási és használati feltételek

A termék a lejárat dátumig +15–25 °C-on tárolva stabil. A tárolási és használati feltételeket a patronon, tasakon vagy a doboz címkéjén találja. A patronot +15–25 °C-on, 65% alatti relatív páratartalom mellett kell használni a tasak felnyitását követő 15 percen belül. Ez biztosítja a higiénit, és megelőzi a teljesítmény pára miatti csökkenését. Negatívan befolyásolja a teszt teljesítményét, ha huzamosabb ideig pára éri.

Reagensok

A patron a mintafeldolgozáshoz szükséges minden reagenst tartalmaz. A feldolgozás során sejtlízis, nukleinsav-extrahálás, valamint DNS-amplifikálás és kimutatás történik.

A reagensok a PCR-gyöngy, a kötőpuffer, a mosópuffer és az eluálópuffer. A PCR-gyöngy tartalmazza a DNS-polimerázt, a primereket és próbákat. A kötőpuffer segíti elő a nukleinsavak kötését a tisztítási folyamat során. A mosópuffer különböző sókból és oldószerekből álló anyag, amelynek célja a szennyeződések, pl. fehérjék eltávolítása az extrahálási folyamat során. Az eluálópuffer alacsony sótartalmú puffer, amely az extrahálási folyamat végén a tisztított nukleinsavakat tartalmazza.

Mintatípusok/közeg

A tesztet széklet tamponmintákkal való használatra szánják eNAT® közegben (FLOQSwabs® 552C szabályos pelyhesített tampon, eNAT® szállítóközeg Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

A mintákat a gyártói utasításokban megjelöltek szerint vegye le és tárolja.

Amennyiben a mintát nem dolgozzák fel azonnal a mintavételt követően, a nukleinsavak az eNAT® szállítóközegben szobahőmérsékleten és 4 °C-on 4 hétig, -20 °C és -80 °C között tárolva 6 hónapig megőrződnek (lásd az eNAT® szállítóközeg használati útmutatóját⁵).

Minta-előkészítés

Használjon FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) szabályos pelyhesített tamponokat kis mennyiségű széklet gyűjtésére úgy, hogy a pelyhesített tampon hegyét a székletmintába helyezi és megforgatja. A széklet véres, nyálkás vagy vizes részét kell kiválasztani és begyűjteni. A gyűjtést követően vizsgálja meg, látható-e a tampon hegyén széklet. Amennyiben nem, ismét helyezze a pelyhesített tampon a székletmintába, és forgassa meg, ügyelve arra, hogy a tampon hegyének teljes területe érintkezzen a mintával. A begyűjtést követően helyezze át a tampon a 2 ml-es Copan eNAT® csőbe, amely eNAT® szállítóközeget tartalmaz. Tartsa a tampon szárát a hüvelykujja és egy másik ujj között, majd a cső oldalához nyomva pépesítse és keverje össze a székletmintát, hogy egyenletesen eloszoljon és szuszpendálódjon a tartósítóközegben. Tartsa a tampon szárát a cső pereméhez közel és hajlítsa meg 180 fokos szögben, hogy a megjelölt töréspontnál letörjön. Dobja ki a tampon szárának letört felső részét, és szorítsa meg a kupakot. Alaposan rázogassa meg a tamponmintát és az eNAT® közeget (COPAN Italia s.p.a.) tartalmazó mintacsövet, hogy a tartalma homogenizálódjon, majd pipettázóval mérjen 300 µl homogenizált betegmintát a patron mintabemenetébe.

Ne használjon viszkózus, nehezen pipettázható mintákat.

Teszteredmény

A minta Vivalytic *one* analízátorral történő automatikus feldolgozását követően a teszteredmény megjelenik a Vivalytic *one* analízátor képernyőjén. Az eredmény eléréséhez szükséges idő körülbelül 50 perc. Magas titerű minták esetében az eredmény már kevesebb mint 35 perc alatt megjelenik, és a tesztftuttatás korábban is befejezhető (lásd a Teszt befejezése című fejezetet).

A minta besorolása *C. difficile* pozitív, *C. difficile* negatív vagy érvénytelen lehet. A *C. difficile* pozitív teszteredmény akkor is érvényesnek minősül, ha a Human Control negatív.

Negatív mintákban a humán sejtalapú teljes folyamat kontroll (Human Control) kimutatása sikeres kivonást jelez, és kizárja a PCR reakció gátlását. Az eredmények értelmezését az alábbi táblázat tartalmazza.

<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Érvényesség	Eredmény
+	+/-	érvényes	A minta <i>C. difficile</i> -re pozitívnak minősül (kimutatták a tcdA/tcdB toxingént).
-	+	érvényes	A minta <i>C. difficile</i> -re negatívnak minősül (nem mutatták ki a tcdA/tcdB toxingént).
-	-	érvénytelen	Nem kiértékelhető. ¹

¹ Ajánlott ismételt tesztelni.

PCR – görbe és C_q-érték

A valós idő (szoftveresen módosított) PCR-görbékét a szoftver pozitívként vagy negatívként ábrázolja és sorolja be. Pozitív görbék esetén megjelenik a C_q megfelelő értéke. A kétes eredményeket a szoftver Δ jellel jelöli. Ajánlott ismételt tesztelni.

Vivalytic *C. difficile* – Használati útmutató

Érvénytelen vagy sikertelen tesztek

Egy teszt akkor minősül érvénytelennek, ha sem a cél DNS-t, sem a Human Controllt nem mutatja ki. Az érvénytelen futtatás oka lehet a minta gyenge minősége, ha részben vagy teljesen hiányzik belőle a humán sejttanyag. Az eredmények érvénytelen teszt esetén is megjelennek, de ezeket nem szabad diagnosztikai értelmezés céljából használni. A teszt indítása előtt figyeljen oda a megfelelő mintatípusra, mintavételre és mintatárolásra, valamint patronokra. Szükség szerint ismételje meg az elemzést új mintával.

Sikertelen teszt esetén először ellenőrizze a Vivalytic *one* analízátor megfelelő üzemeltetési feltételeit (további információkat a Vivalytic *one* analízátor használati útmutatójában talál). Indítsa újra a Vivalytic *one* analízátort. Ha a probléma nem szűnik meg, lépjen kapcsolatba az ügyfélszolgálattal vagy a helyi forgalmazóval.

Teszt befejezése

Amint érvényes, *C. difficile*-re pozitív eredmény jelenik meg a képernyőn, a felhasználó befejezheti a tesztet.

Tesztjelentés

A kinyomtatott tesztjelentésben a kórokozó, az eredmények, a kontroll, valamint a felhasználóra, a betegre és a Vivalytic *one* analízátorra vonatkozó információk egy aláírási mezővel együtt szerepelnek.

Minőség-ellenőrzés

Ha a helyi laboratórium szabályai előírják, minőség-ellenőrzés céljából is kell tesztelni.

Ha minőség-ellenőrzés céljából referencia-tesztmódszerre van szükség, a következő referenciaanyagokat lehet használni:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Szíveskedjék betartani a gyártói utasításokat.

Váratlan eredmények esetén ismételje meg az elemzést másik mintával. Ha a negatív minőség-ellenőrzési minta, pl. tiszta eNAT® közeg eredménye pozitív marad, lehet, hogy a Vivalytic *one* analízátor vagy a környezete szennyeződött. Hagyja abba a Vivalytic *one* analízátor használatát, és tisztítsa meg az eszközt a Vivalytic *one* analízátor használati útmutatójában leírtak szerint.

Ha a minőség-ellenőrzési minták ismételt hamis eredményeket adnak, lépjen kapcsolatba a helyi forgalmazó ügyfélszolgálatával.

Értesítés az EU-ban működő felhasználók számára

Ha az eszközzel kapcsolatban bármely súlyos rendkívüli esemény történt, jelentse a gyártónak, valamint a felhasználó és/vagy beteg szerinti tagállam illetékes hatóságának.

Korlátozások

A Vivalytic *C. difficile* teszt eredményeit kizárólag képzett egészségügyi szakember értelmezheti. A Vivalytic *C. difficile* teszt eredményeit nem szabad a diagnózis egyetlen paramétereként használni.

- A negatív eredmény nem zárja ki a kórokozóknak a teszt érzékenysége alatti szinten lévő jelenlétét a mintában és a teszt által nem lefedett egyéb kórokozókat.
- Helytelenül gyűjtött, szállított vagy kezelt minták esetén fennáll a hamis negatív vagy pozitív eredmények kockázata.
- Bizonyos határesetekben atipikus PCR-jellemzők fordulhatnak elő (pl. lapos görbe alacsony vagy magas C_q -értékkel). Atipikus jellemzők esetén tilos az eredményeket diagnosztikai értelmezésre használni. A kétes eredményeket a szoftver megjelöli. Ajánlott ismételt tesztelni.
- A Vivalytic *C. difficile* kvalitatív valós idejű PCR-teszt, amely nem ad kvantitatív eredményt.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes kórokozók jelenlétét.
- A teszt kimutatja a *tcdA/tcdB* géneket hordozó *C. difficile*-t, de nem különbözteti meg a toxint termelő és a toxint nem termelő törzseket.
- A negatív eredmény nem zárja ki a *C. difficile* általi fertőzést. Javasoljuk, hogy a negatív teszteredményű mintákat további laboratóriumi adatokkal összefüggésben értelmezzék.
- Túlzott mennyiségű széklet ronthatja a teszt teljesítményét.

Atipikus teljesítmény értékelése

Analitikai érzékenység (kimutatási határ)

A Vivalytic C. difficile teszt kimutatási határát az analit azon legalacsonyabb koncentrációjaként határozták meg, amely következetesen kimutatható (a rutin laboratóriumi körülmények között vizsgált minták $\geq 95\%$ -ában, meghatározott mintatípus felhasználásával).

Inkluzivitás

Az inkluzivitás értékelésére összehasonlították a különböző releváns *C. difficile* törzsek genomi szekvenciáját *in silico* elemzéssel (BLAST illesztés) a Vivalytic C. difficile tesztben az adott kórokozók amplifikálására és kimutatására használt PCR-primerek és hidrolízis próba szekvenciájával. A [2. táblázatban](#) felsorolt törzsek esetében kimutatható az inkluzivitás.

Exkluzivitás / analitikai specifikitás

A keresztreaktivitás kizárására (az exkluzivitás biztosítására) *in silico* elemzéssel (BLAST illesztéssel) összehasonlították a *C. difficile* cél régióját különböző gyakori gyomor-bélrendszeri kórokozók és szoros rokonságban lévő fajok egyes képviselőinek genomi szekvenciáival. Nem volt bizonyíték interferenciára ([3. táblázat](#)).

Reprodukálhatóság

A Vivalytic C. difficile teszt reprodukálhatóságát 3 különböző *C. difficile*-koncentrációt tartalmazó panellel határozták meg. 3 vizsgálati helyszínen minden keveréket a Vivalytic készülékek ugyanazon készletével, ugyanaz a kezelő 3 tétellel, 4 ismétlésben, 3 napon tesztelt, ami kórokozónként összesen 324 megfigyelést eredményezett. A különféle kombinációknál kapott pozitívítási arányt összevetették a várt pozitívítási aránnyal ([4.a táblázat](#)).

Megismételhetőség

A Vivalytic C. difficile teszt megismételhetőségét 1 *C. difficile*-koncentrációt ($3 \times c95$) tartalmazó panellel határozták meg. 1 vizsgálati helyszínen a keveréket a Vivalytic készülékek ugyanazon készletével, ugyanaz a kezelő 3 tétellel, 20 ismétlésben, 1 napon tesztelt, ami kórokozónként összesen 60 megfigyelést eredményezett. A különféle kombinációknál kapott pozitívítási arányt összevetették a várt pozitívítási aránnyal ([4.b táblázat](#)).

Interferenciák

Az interferenciát a betegmintában potenciálisan jelen lévő endogén és exogén anyagokra vizsgálták. Az [5. táblázat](#) mutatja azokat az anyagokat, amelyek potenciálisan interferálhatnak a teszttel.

Klinikai teljesítmény értékelése

Az érzékenységet és a specifikitást natív folyékony és lágy emberi székletmintákból határozták meg. A mintákat klinikai környezetben gyűjtötték, és referenciamódszerek eredményeivel hasonlították össze.

A Vivalytic C. difficile patronokkal tesztelendő mintákat vagy frissen használták fel, vagy tárolásra lefagyasztották, és a fent leírtak szerint készítették elő eNAT® közegben (COPAN Italia S.p.A.).

A referenciavizsgálatok esetében a mintákat az alkalmazott referenciamódszerek ajánlásainak megfelelően készítették el. Összesen 124 mintát elemeztek. Az érzékenységet vagy pozitív megfelelési arányt (PPA) a $100\% \times TP / (TP + FN)$ képlettel számították. A specifikitást vagy negatív megfelelési arányt a $100\% \times TN / (TN + FP)$ képlettel számították. A klinikai teljesítmény értékelésének eredményét a [6. táblázat](#) tartalmazza.

Műszaki támogatás

Kérdés esetén forduljon a helyi forgalmazóhoz, vagy küldjön üzenetet a Vivalytic ügyfélszolgálatának (email: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Vivalytic C. difficile – Használati útmutató

Hivatkozások

¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.

²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.

³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.

⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.

⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Szimbólumok



Gyártó



Sorozatszám



Gyártási dátum



Hőmérsékletkorlát



Lejárat dátum



Ne használja, ha a csomag sérült



Lotszám



Csak egyszeri használatra



Referenciaszám



Nézzen utána a használati útmutatóban



<n> tesztet tartalmaz



In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz



CE-jelölés



Pipetálja a megadott mintamennyiséget a patron fekete háromszög-gel jelölt mintabemenetébe.

Introducere

Clostridioides difficile (*C. difficile*) este un bacil anaerob gram-pozitiv formator de spori, care constă din tulpini toxigene și netoxigene.

C. difficile este unul dintre cei mai comuni patogeni ai diareei nozocomiale, în special la pacienții cu diaree asociată antibioticelor. În ultimii ani, numărul și gravitatea cazurilor au crescut în Europa și în întreaga lume.¹

Simptomele infecției cu *C. difficile* (CDI) variază de la diaree ușoară la colită pseudomembranoasă severă cu potențial letal, deși colonizarea cu *C. difficile* nu duce neapărat la o infecție simptomatică. Perturbarea echilibrului microorganismelor din intestine, de exemplu, din cauza tratamentului cu antibiotice, este posibil să ducă la apariția *C. difficile* toxigene, să domine colonizarea și ar putea să reprezinte debutul CDI.²

Factorii implicați în patogeniza *C. difficile* sunt genele *tcdA* și *tcdB* care codifică toxina A (enterotoxina) și toxina B (citotoxina) care sunt localizate în regiunea cromozomială 19,6 kb denumită locus de patogenitate (PaLoc). Cele mai patogene tulpini sunt pozitive la toxina A și B (A+B+), dar unele izolate de variante patogene pot să fie negative la toxina A și pozitive la tulpina B (A-B+). Acestea sunt cauza bolilor asociate *C. difficile*.³

Unele tulpini de *C. difficile* toxigenă produc și o toxină denumită *C. difficile* transferază (CDT) sau toxină binară.⁴

Conținutul ambalajului

15 cartușe de testare Vivalytic C. difficile pentru detectarea calitativă a secvențelor de gene ale toxinei *tcdA/tcdB* specifice *Clostridioides difficile*.

Destinația de utilizare

Testul Vivalytic C. difficile este un test de diagnosticare *in vitro* calitativ automat bazat pe reacția în lanț a polimerazei în timp real (PCR) pentru detectarea acizilor nucleici ai *C. difficile* (genele toxinei *tcdA/tcdB*) din probe de materii fecale umane lichide sau cu consistență moale, pentru a ajuta la diagnosticarea infecțiilor gastrointestinale acute ale persoanelor simptomatice.

Rezultatele nu trebuie utilizate ca bază unică pentru diagnostic, tratament sau alte decizii de gestionare a pacienților. Rezultatele pozitive nu exclud infecția combinată cu alți agenți patogeni. Este posibil ca agentul detectat să nu fie cauza certă a bolii. Rezultatele negative nu exclud o infecție cu *C. difficile* sau o altă infecție gastrointestinală. Rezultatele trebuie să fie corelate clinic cu istoricul pacientului, cu observațiile clinice și cu informațiile epidemiologice. Alte informații diagnostice sunt necesare pentru a determina starea de infectare a pacientului. Destinat utilizării cu un analizor Vivalytic *one* de către profesioniști în domeniul sănătății numai în medii de laborator, precum laboratoare de spital și laboratoare de referință.

Informații privind siguranța

Aceste instrucțiuni de utilizare conțin numai informații specifice testului. Pentru avertismente și instrucțiuni suplimentare, consultați instrucțiunile de utilizare furnizate împreună cu analizorul dumneavoastră Vivalytic *one* (capitolul cu informații privind siguranța dispozitivului). Utilizați doar cartușe și accesorii Vivalytic aprobate pentru analizorul Vivalytic *one*. Luați măsuri pentru a evita orice formă de contaminare la manevrarea probelor de la pacienți și a cartușelor. Dacă proba a fost vărsată pe cartuș, nu utilizați cartușul și eliminați-l.

Pentru uz diagnostic *in vitro* de către profesioniști instruiți din domeniul sănătății.

**AVERTISMENT**

- Urmați întotdeauna bunele practici de laborator pentru a asigura efectuarea corespunzătoare a acestui test.
- Asigurați-vă că purtați echipament de protecție personală corespunzător (PPE).
- Nu utilizați un cartuș dacă pungă sigilată sau cartușul în sine sunt vizibil deteriorate.
- Nu atingeți și nu zgâriați zona de detectare a cartușului.
- Nu reutilizați un cartuș.
- Nu utilizați cartușe expirate. Data de expirare este inscripționată pe ambalaj și eticheta cartușului.
- Nu așteptați mai mult de 15 minute după deschiderea pungii cartușului pentru a începe testul. Acest lucru menține igiena și evită pierderile de performanță din cauza umidității. Expunerea prelungită la umiditate are un impact negativ asupra performanței testului.
- Nu agitați un cartuș care conține o probă.
- Nu întoarceți cartușul cu susul în jos.
- Amplasați cartușul numai pe o suprafață curată și plană.
- Nu utilizați tipuri de probe, medii și volume care nu sunt aprobate pentru test.
- Urmați întotdeauna bunele practici de laborator pentru a asigura efectuarea corespunzătoare a acestui test.
- Specimenele biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie considerate capabile să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Manipulați probele potențial infecțioase ale pacienților și cartușele potențial infecțioase ale pacienților în conformitate cu standardele naționale pentru laborator și eliminați la deșeurile probele și cartușele în conformitate cu standardele regionale și ale laboratorului.
- Respectați reglementările și practicile naționale privind siguranța.

Notă: Informații suplimentare se găsesc în fișa cu date de siguranță (FDS) a produsului. Contactați asistența pentru clienți a distribuitorului dumneavoastră local.

Echamente suplimentare și consumabile necesare, dar nefurnizate

- Analizor Bosch Vivalytic *one* (număr de referință F 09G 300 115)
- Pipetor (100 – 1.000 µl)
- Vârfuri sterile de pipetă cu filtru 100 – 1000 µl
- Truse de recoltare a tampoanelor
 - Tampon flocat obișnuit FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Mediu de transport
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Îmbrăcăminte adecvată de protecție

Principiul testului

Vivalytic C. difficile este un test bazat pe PCR în timp real calitativ.

Condiții de depozitare și utilizare

Produsul este stabil până la data de expirare dacă este depozitat la +15 °C până la +25 °C. Condițiile de depozitare și utilizare pot fi aflate de pe cartuș, de pe pungă sau de pe eticheta cutiei. Cartușul trebuie utilizat la +15 °C până la +25 °C, umiditate relativă <65%, în decurs de 15 minute de la deschiderea pungii. Acest lucru menține igiena și evită pierderile de performanță din cauza umidității. Expunerea prelungită la umiditate are un impact negativ asupra performanței testului.

Reactivi

Toți reactivii necesari procesării probei sunt integrați în cartuș. Procesarea include liza celulară, extracția acidului nucleic, amplificarea și detectarea ADN.

Reactivii sunt bile PCR, soluție tampon de legare, soluție tampon de spălare și soluție tampon de eluție. Bila PCR conține ADN polimerază, primeri și sonde. Soluția tampon de legare facilitează legarea acizilor nucleici în timpul procesului de purificare. Soluția tampon de spălare este o formulă de săruri diferite și solvenți diferiți concepută pentru a elimina impuritățile, de exem-

plu, proteinele, în timpul procesului de extracție. Soluția tampon de eluție este o soluție tampon cu conținut redus de sare și conține acizii nucleici purificați la sfârșitul procesului de extracție.

Tipuri de probă/Mediu

Testul este destinat utilizării cu probe de fecale în mediu eNAT® (tampon flocat obișnuit FLOQSwabs® 552C, mediu de transport eNAT® ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Recolțați și depozitați probele așa cum este indicat în instrucțiunile producătorului.

În cazul în care proba nu este procesată imediat după recoltare, acizii nucleici vor fi conservați în mediu de transport eNAT® pentru până la 4 săptămâni la temperatura camerei și la 4 °C și până la 6 luni la între -20 °C și -80 °C (consultați instrucțiunile de utilizare pentru mediul de transport eNAT®⁵).

Pregătirea probei

Folosiți un tampon flocat obișnuit FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pentru a recolta o cantitate mică de fecale prin introducerea vârfului tamponului flocat în proba de fecale și rotirea acestuia. Zonele cu sânge, vâscoase sau apoase din fecale trebuie să fie selectate și recoltate. După recoltare, examinați tamponul pentru a vă asigura că există materii fecale vizibile în vârf. În cazul în care nu există, introduceți din nou tamponul flocat în proba de fecale și rotiți, având grijă ca toată zona vârfului tamponului să intre în contact cu proba. După recoltare, transferați tamponul într-o eprubetă de 2 ml Copan eNAT® cu mediu de transport eNAT®. Țineți tija tamponului între degetul mare și un deget, amestecați și loviți proba de fecale de laterală eprubetei pentru a o distribui în mod egal și suspendați specimenul în mediul de conservare. Țineți tija tamponului aproape de marginea eprubetei, înclinați-o la un unghi de 180 de grade pentru a o rupe la punctul de rupere marcat. Aruncați partea superioară ruptă a tijei tamponului și strângeți capacul. Agitați bine eprubeta cu proba care conține proba pe tampon și mediul eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) pentru omogenizare și utilizați un pipetor pentru a umple 300 µl de probă omogenizată de la pacient în compartimentul pentru probă al cartușului.

Nu utilizați probe vâscoase care sunt dificil de pipetat.

Rezultatul testului

După procesarea automată a probei cu analizorul Vivalytic *one*, rezultatul testului este afișat pe ecranul analizorului Vivalytic *one*. Durata până la obținerea rezultatului este de aproximativ 50 de minute. Pentru probele cu titruri ridicate, rezultatele sunt disponibile după mai puțin de 35 de minute, iar testul poate fi încheiat mai repede (consultați capitolul Terminarea testului).

Proba este clasificată drept *C. difficile* pozitivă, *C. difficile* negativă sau nevalidă. În cazul detectării pozitive a *C. difficile*, testul este considerat valid chiar și atunci când Human Control este negativ.

Detectarea controlului întregului proces bazat pe celule umane (Human Control) în probe negative arată o procedură de extracție reușită și exclude o inhibare a reacției PCR. Interpretarea rezultatelor este afișată în tabelul de mai jos.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validitate	Rezultat
+	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru <i>C. difficile</i> (a fost detectată gena toxinei tcdA/tcdB).
-	+	valid	Proba este considerată negativă pentru <i>C. difficile</i> (nu a fost detectată gena toxinei tcdA/tcdB)
-	-	nevalid	Imposibil de evaluat. ¹

¹ Se recomandă repetarea testării.

PCR – Curba și valoarea C_q

Curbele PCR în timp real (modificate de software) sunt afișate și clasificate ca fiind pozitive sau negative de către software. În cazul curbelor pozitive, se afișează valoarea C_q respectivă. Rezultatele neconcludente sunt marcate de software (Δ). Se recomandă retestarea.

Teste nevalide sau eșuate

Un test este evaluat ca nevalid dacă nu este detectat nici ADN-ul țintă, nici Human Control. Un motiv posibil pentru o secvență nevalidă ar putea fi calitatea slabă a probei din cauza absenței parțiale sau totale a materialului celular uman în probă. Rezultatele sunt afișate pentru un test nevalid, dar nu se permite utilizarea acestora pentru interpretarea diagnosticului. Acordați atenție utilizării tipului corect de probă, colectării probei și depozitării probei și a cartușelor înainte de a efectua testul. Dacă este necesar, repetați analiza cu o probă nouă.

În cazul unui test eșuat, verificați mai întâi dacă există condițiile corecte de utilizare a analizorului Vivalytic *one* (consultați instrucțiunile de utilizare ale analizorului Vivalytic *one*). Reporniți analizorul Vivalytic *one*. Dacă problema persistă, contactați asistența pentru clienți a distribuitorului dumneavoastră local.

Terminarea testului

Imediat ce un rezultat valid pozitiv pentru *C. difficile* este afișat pe ecran, utilizatorul are opțiunea de a finaliza testul.

Raportul de test

În raportul de test tipărit sunt prezentați, cu un câmp de semnătură, agentul patogen, rezultatele, controlul și informațiile despre utilizator, pacient și analizorul Vivalytic *one*.

Controlul calității

Trebuie efectuate teste de control al calității dacă acest lucru este prevăzut de standardele locale sau de laborator.

În cazul în care este necesară o metodă de testare de referință pentru controlul calității, pot fi utilizate următoarele materiale de referință:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Urmați instrucțiunile producătorului.

În caz de rezultate neașteptate, repetați analiza cu altă probă. Dacă rezultatul unei probe cu rezultat negativ pentru controlul calității, de exemplu, mediul pur eNAT® rămâne pozitiv, analizorul Vivalytic *one* sau mediul acestuia ar putea fi contaminat. Încetați utilizarea analizorului Vivalytic *one* și curățați dispozitivul conform descrierii din instrucțiunile de utilizare ale analizorului Vivalytic *one*.

În cazul unor rezultate false repetate ale probelor pentru controlul calității, contactați asistența pentru clienți a distribuitorului dumneavoastră local.

Observație pentru utilizatorii din UE

Orice incident grav care a avut loc în legătură cu dispozitivul trebuie raportat producătorului și autorității competente a statului membru de rezidență al utilizatorului și/sau pacientului.

Limitări

Rezultatele testului Vivalytic *C. difficile* trebuie interpretate numai de către un profesionist în domeniul sănătății calificat. Rezultatele testului Vivalytic *C. difficile* nu trebuie utilizate ca reprezentând singurul parametru pentru diagnostic.

- Un rezultat negativ nu exclude faptul că agenții patogeni pot fi prezenți în probă la un nivel mai mic decât sensibilitatea analizei sau poate fi prezent un agent patogen care nu este acoperit de această analiză.
- Există riscul obținerii unor rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza probelor recoltate, transportate sau manipulate necorespunzător.
- În cazuri limită pot apărea caracteristici PCR atipice (de exemplu, curbă plată cu valoare C_q mică sau mare). În cazul caracteristicilor atipice, rezultatele nu pot fi utilizate pentru interpretarea diagnosticului. Rezultatele neconcludente sunt marcate de software. Se recomandă retestarea.

- Vivalytic C. difficile este un test PCR calitativ în timp real și nu oferă un rezultat cantitativ.
- Un rezultat pozitiv nu înseamnă neapărat că sunt prezenți patogeni viabili.
- Testul detectează genele *tcdA/tcdB* purtătoare de *C. difficile*, dar nu diferențiază între tulpinile producătoare de toxine și cele neproducătoare de toxine
- Un rezultat negativ nu exclude infecția cu *C. difficile*. Se recomandă ca probele testate negativ să fie interpretate în contextul datelor de laborator suplimentare
- O cantitate de fecale în exces poate să aibă efecte inhibitoare asupra performanței testului.

Evaluarea performanțelor analitice

Sensibilitate analitică (limită de detecție)

Limita de detecție a testului Vivalytic C. difficile a fost determinată la cea mai scăzută concentrație a analitului care poate să fie detectată uniform ($\geq 95\%$ din probele testate în condiții normale de laborator folosind un anumit tip de probă).

Inclusivitate

Pentru a evalua inclusivitatea, a fost efectuată o analiză *in silico* (aliniere BLAST) a secvenței genomice a unor tulpini *C. difficile* diferite comparativ cu secvența primerilor PCR și sonda de hidroliză folosite în testul Vivalytic C. difficile pentru amplificarea și detectarea patogenilor respectivi. Inclusivitatea a putut să fie indicată pentru tulpinile enumerate în [Tabelul 2](#).

Exclusivitate/Specificitate analitică

Pentru a exclude reactivitatea încrucișată (exclusivitatea), a fost realizată o analiză *in silico* (aliniere BLAST) a regiunii țintă a *C. difficile* comparativ cu secvența genomică a mai multor tipuri de agenți patogeni reprezentând agenți patogeni gastrointestinali comuni sau specii înrudite. Nu au existat dovezi de interferență ([Tabelul 3](#)).

Reproductibilitatea

Reproductibilitatea testului Vivalytic C. difficile a fost stabilită folosind un panel cu 3 concentrații diferite de *C. difficile*. În 3 centre de testare, fiecare amestec a fost testat pe același set de instrumente Vivalytic de către același operator cu 3 loturi, în 4 replicări și respectiv în 3 zile, ducând la un total de 324 de observații per agentul patogen țintă. Ratele de pozitivare obținute pentru diferitele combinații au fost corelate cu ratele estimate de pozitivare ([Tabelul 4a](#)).

Repetabilitatea

Repetabilitatea testului Vivalytic C. difficile a fost stabilită folosind un panel cu 1 concentrație ($3 \times c95$) de *C. difficile*. Într-un centru de testare, amestecul a fost testat pe același set de instrumente Vivalytic de către același operator cu 3 loturi, în 20 de replicări și respectiv în 1 zi, ducând la un total de 60 de observații per agentul patogen țintă. Ratele de pozitivare obținute pentru diferitele combinații au fost corelate cu ratele estimate de pozitivare ([Tabelul 4b](#)).

Interferențe

Au fost evaluate interferențele pentru substanțele endogene și exogene care pot fi prezente în proba pacientului. Consultați [Tabelul 5](#) pentru substanțele care au potențialul de a interfera cu testul.

Evaluarea performanțelor clinice

Rezultatele de sensibilitate și specificitate derivate din probele de fecale umane native, lichide și cu consistență moale. Probele au fost colectate într-un mediu clinic și comparate cu rezultatele metodelor de referință. Probele pentru testarea cu cartușele Vivalytic C. difficile au fost folosite proaspete sau congelate pentru depozitare și preparate după cum a fost descris mai sus în eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Vivalytic C. difficile – Instrucțiuni de utilizare

În cazul testării de referință, probele au fost preparate conform recomandărilor metodelor de referință folosite. În total, au fost analizate 124 de probe. Sensibilitatea sau concordanța procentuală pozitivă (CPP) a fost calculată ca $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificitatea sau concordanța procentuală negativă a fost calculată ca $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultatele evaluării performanței clinice sunt prezentate în Tabelul 6.

Asistență tehnică

În cazul în care aveți întrebări, contactați distribuitorul local sau trimiteți un mesaj serviciului pentru relații cu clienții al Vivalytic (e-mail: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Bibliografie

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct; 12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboluri



Fabricant



Număr de serie



Data fabricației



Limită de temperatură



Data de expirare



A nu se utiliza dacă ambalajul este deteriorat



Număr de lot



Numai de unică folosință



Număr de referință



Consultați instrucțiunile de utilizare



Conține <n> teste



Dispozitiv medical de diagnostic *in vitro*



Marcaj CE



Pipetați volumul indicat de probă în compartimentul pentru probă al cartușului, marcat de triunghiul negru.

Uvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) jest gram-pozitivan anaerobni bacil koji stvara spore i koji se sastoji od toksigenih i netoksigenih sojeva.

C. difficile jedan je od najčešćih uzročnika nozokomijalnog proljeva, osobito u bolesnika s proljevom uzrokovanim antibioticima. Posljednjih godina broj i težina slučajeva porasli su u Europi i svijetu.¹

Simptomi infekcije bakterijom *C. difficile* (CDI) kreću se od blagog proljeva do teškog pseudomembranoznog kolitisa opasnog po život, no kolonizacija bakterije *C. difficile* ne mora nužno dovesti do simptomatske infekcije. Poremećaj ravnoteže crijevnih mikroorganizama, npr. zbog liječenja antibioticima, može uzrokovati da toksigena bakterija *C. difficile* uspostavi dominantnu kolonizaciju i može biti početak CDI-ja.²

Čimbenici uključeni u patogenezu bakterije *C. difficile* jesu geni *tcdA* i *tcdB* koji kodiraju toksin A (enterotoksin) i toksin B (citotoksin) koji se nalaze u kromosomskoj regiji od 19,6 kb koja se naziva lokus patogenosti (PaLoc). Većina patogenih sojeva pozitivni su na toksin A i B (A+B+), ali neki izolati patogenih varijanti mogu biti negativni na toksin A i pozitivni na B (A-B+). Uzročnici su bolesti povezanih s bakterijom *C. difficile*.³

Neki sojevi toksigene bakterije *C. difficile* također proizvode toksin koji se naziva transferaza bakterije *C. difficile* (CDT) ili binarni toksin.⁴

Sadržaj pakiranja

Petnaest patrona testnih uzoraka Vivalytic *C. difficile* za kvalitativno otkrivanje specifičnih sekvenci gena toksina *tcdA/tcdB* bakterije *Clostridioides difficile*.

Namjena

Test Vivalytic *C. difficile* automatizirani je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test koji se temelji na lančanoj reakciji polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu za otkrivanje nukleinskih kiselina iz toksigene bakterije *C. difficile* (geni toksina *tcdA/tcdB*) iz brisova tekuće ili meke ljudske stolice, a koji je namijenjen kao pomoć u dijagnozi akutnih gastrointestinalnih infekcija u simptomatskih pojedinaca.

Rezultati se ne smiju upotrebljavati kao jedini temelj za dijagnozu, liječenje ili druge odluke vezane za pacijenta. Pozitivni rezultati ne isključuju koinfekciju s drugim patogenima. Otkriveni agensi možda nisu konačan uzrok bolesti. Negativni rezultati ne isključuju infekciju bakterijom *C. difficile* ili drugu gastrointestinalnu infekciju. Rezultati moraju biti klinički povezani s povijesti bolesti pacijenata, kliničkim opservacijama i epidemiološkim informacijama. Potrebne su druge dijagnostičke informacije kako bi se odredio status infekcije pacijenta. Namijenjen je upotrebi s analizatorom Vivalytic *one*, isključivo za zdravstvene djelatnike u laboratorijskim okruženjima kao što su bolnički i referentni laboratoriji.

Sigurnosne informacije

Ove upute za uporabu sadrže samo informacije specifične za test. Dodatna upozorenja i upute potražite u uputama za uporabu koje se isporučuju s analizatorom Vivalytic *one* (poglavlje o informacijama o sigurnosti proizvoda). Upotrebljavajte samo patrone i dodatni pribor Vivalytic koji su odobreni za analizator Vivalytic *one*. Izbjegavajte kontaminaciju pri rukovanju uzorcima pacijenta i patronama. Ako se uzorak prolije na patronu, nemojte upotrebljavati patronu i odložite je.

Za *in vitro* dijagnostičku upotrebu obučених zdravstvenih djelatnika.



UPOZORENJE

- Uvijek slijedite dobru laboratorijsku praksu da bi se osigurala ispravna učinkovitost testa.
- Obavezno nosite odgovarajuću osobnu zaštitnu opremu (OZO).
- Nemojte upotrebljavati patronu ako su zatvorena vrećica ili sama patrona vidljivo oštećene.
- Nemojte dirati ili grebati područje za detekciju na patroni.
- Nemojte ponovno upotrebljavati patronu.
- Nemojte upotrebljavati patrone kojima je prošao rok trajanja. Rok trajanja naveden je na pakiranju i na naljepnici patrone.
- Nemojte čekati duže od 15 minuta nakon otvaranja vrećice patrone da započnete testiranje. Time se održava higijena i izbjegava se smanjenje učinkovitosti zbog vlažnosti. Dugotrajno izlaganje vlazi negativno utječe na učinkovitost testa.
- Nemojte tresti patronu koja sadrži uzorak.
- Nemojte okretati patronu naopako.
- Patronu postavite isključivo na čistu i ravnu površinu.
- Nemojte upotrebljavati uzorke, medije i volumene koji nisu odobreni za ovaj test.
- Uvijek slijedite dobru laboratorijsku praksu da bi se osigurala ispravna učinkovitost testa.
- S biološkim uzorcima, prijenosnim uređajima i upotrijebljenim patronama treba postupati kao da mogu prenijeti zarazne tvari i zahtijevaju standardne mjere opreza. S potencijalno zaraznim uzorcima pacijenta i patronama postupajte u skladu s nacionalnim laboratorijskim standardima i odložite uzorke i patrone u skladu s regionalnim i laboratorijskim standardima.
- Pridržavajte se nacionalnih sigurnosnih propisa i postupaka.

Napomena: Dodatne informacije nalaze se u sigurnosno-tehničkom listu (SDS) proizvoda. Obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Potrebna dodatna oprema i potrošni materijal koji nije isporučen

- Analizator Bosch Vivalytic *one* (referentni broj F 09G 300 115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilni vrhovi pipeta s filtrom, 100 – 1000 µl
- Komplet za prikupljanje briseva
– Standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportni medij
– eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prikladna zaštitna odjeća

Načelo testa

Vivalytic C. difficile kvalitativni je PCR test u stvarnom vremenu.

Uvjeti čuvanja i uporabe

Proizvod je stabilan do datuma isteka roka trajanja na temperaturi od +15 °C do +25 °C. Uvjeti pohrane i uporabe mogu se provjeriti na patroni, vrećici ili naljepnici na kutiji. Patrona se mora koristiti na temperaturi od +15 °C do +25 °C, relativnoj vlažnosti < 65 %, unutar 15 minuta od otvaranja vrećice. Time se održava higijena i izbjegava se smanjenje učinkovitosti zbog vlažnosti. Dugotrajno izlaganje vlazi negativno utječe na učinkovitost testa.

Reagensi

Svi reagensi potrebni za obradu uzorka integrirani su u patronu. Obrada uključuje lizu stanica, ekstrakciju nukleinske kiseline, amplifikaciju i otkrivanje DNK.

Reagensi su PCR kuglica, vezni pufer, pufer za ispiranje i pufer za eluiranje. PCR kuglica sadrži DNK polimerazu, početnice i probe. Vezni pufer pomaže u vezivanju nukleinskih kiselina tijekom procesa purifikacije. Pufer za ispiranje formula je različitih soli i otapala za uklanjanje nečistoća, npr. proteina tijekom procesa ekstrakcije. Pufer za eluiranje pufer je s malim udjelom soli koji sadrži pročišćene nukleinske kiseline na kraju procesa ekstrakcije.

Vrste/medij uzorka

Test je namijenjen upotrebi s uzorcima brisa stolice u mediju eNAT® (standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 552C, transportni medij eNAT® ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Prikupite i pohranite uzorke kao što je naznačeno u uputama proizvođača.

U slučaju da se uzorak ne obradi odmah nakon uzimanja uzorka, nukleinske kiseline čuvat će se u transportnom mediju eNAT® do 4 tjedna na sobnoj temperaturi i na 4 °C i do 6 mjeseci na -20 °C do -80 °C (pogledajte Upute za uporabu transportnog medija eNAT®⁵).

Priprema uzoraka

Upotrijebite standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) za prikupljanje male količine stolice tako da umetnete vrh štapića za bris u uzorak stolice i okrenete ga. Treba odabrati krvavo, sluzavo ili vodenasto područje stolice i prikupiti uzorak. Nakon prikupljanja pregledajte bris kako biste bili sigurni da je na vrhu vidljiv fekalni materijal. U slučaju da nije, ponovno umetnite štapić za bris u uzorak stolice i okrenite ga tako da pazite da cijelo područje vrha štapića bude u kontaktu s uzorkom. Nakon prikupljanja prenesite štapić u epruvetu Copan eNAT® od 2 ml s transportnim medijem eNAT®. Držite štapić brisa između palca i prsta, zgnječite i pomiješajte uzorak stolice uz rub epruvete kako biste ga ravnomjerno raspršili i suspendirali u mediju za konzerviranje. Držite štapić brisa blizu ruba epruvete i savijte ga pod kutom od 180 stupnjeva kako biste ga prelomili na označenoj točki prijeloma. Bacite slomljeni gornji dio štapića brisa i zategnite čep. Dobro protresite epruvetu s uzorkom koja sadrži uzorak brisa i medij eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) kako bi se homogenizirali i pipetom napunite 300 µl homogeniziranog uzorka pacijenta u jažicu za uzorak patrone.

Ne upotrebljavajte viskozne uzorke koji se teško pipetiraju.

Rezultati testa

Nakon automatske obrade uzorka analizatorom Vivalytic *one* rezultat testa prikazuje se na zaslonu analizatora Vivalytic *one*. Vrijeme do rezultata iznosi oko 50 minuta. Za uzorke visokog titra rezultati su dostupni nakon manje od 35 minuta i testiranje se može ranije prekinuti (pogledajte poglavlje Završetak testa).

Uzorak se klasificira kao pozitivan na *C. difficile*, negativan na *C. difficile* ili nevažeci. U slučaju pozitivnog otkrivanja bakterije *C. difficile* test se smatra valjanim čak i ako je kontrola Human Control negativna.

Otkrivanjem kontrole cijelog postupka temeljene na ljudskim stanicama (kontrola Human Control) u negativnim uzorcima pokazuje se uspješan postupak ekstrakcije i isključuje se inhibicija PCR reakcije. Tumačenje rezultata navedeno je u tablici u nastavku.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Valjanost	Rezultat
+	+/-	važeci	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>C. difficile</i> (otkriven gen toksina tcdA/tcdB).
-	+	važeci	Uzorak se smatra negativnim na <i>C. difficile</i> (nije otkriven gen toksina tcdA/tcdB).
-	-	nevažeci	Nije moguće procijeniti. ¹

¹ Preporučuje se ponovno testiranje.

PCR – Krivulja i vrijednost C_q

Prikazuju se krivulje PCR-a (modificirane softverom) u stvarnom vremenu i softver ih klasificira kao pozitivne ili negativne. U slučaju pozitivnih krivulja, prikazuje se određena vrijednost C_q. Softver označava nejasne rezultate (Δ). Preporučuje se ponovno testiranje.

Nevažeci ili neuspješni testovi

Test se smatra nevažecim ako se ne otkrije ciljani DNK ni kontrola Human Control. Mogući razlozi za nevažeci test mogu biti loša kvaliteta uzorka zbog djelomičnog ili potpunog odsustva ljudskog staničnog tkiva u uzorku. Za nevažeci se test prikazuju rezultati, ali se oni ne smiju upotrebljavati za dijagnostičko tumačenje. Pripazite da upotrebljavate ispravnu vrstu uzorka, prikupljanje uzorka i pohranu uzorka i patrona prije testiranja. Ako je potrebno, ponovite analizu s novim uzorkom.

U slučaju neuspješnog testa najprije provjerite ispravne radne uvjete analizatora Vivalytic *one* (pogledajte upute za upotrebu analizatora Vivalytic *one*). Ponovno pokrenite analizator Vivalytic *one*. Ako se problem nastavi, obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Završetak testa

Čim se na zaslonu prikaže valjan, pozitivan rezultat na *C. difficile*, korisnik ima mogućnost završiti test.

Izveštaj o testu

U ispisanom izvještaju o testu patogen, rezultati i informacije o korisniku, pacijentu i analizatoru Vivalytic *one* navedeni su uz polje za potpis.

Kontrola kvalitete

Potrebno je provesti kontrolu kvalitete testiranja ako to zahtijevaju lokalni ili laboratorijski standardi.

U slučaju da je potrebna referentna metoda testiranja kontrole kvalitete, mogu se upotrijebiti sljedeći referentni materijali:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Slijedite upute proizvođača.

U slučaju neočekivanih rezultata, ponovite analizu s drugim uzorkom. Ako rezultat negativnog uzorka kontrole kvalitete, npr. čisti medij eNAT® ostane pozitivan, postoji mogućnost da su analizator Vivalytic *one* ili njegovo okruženje kontaminirani. Prestanite upotrebljavati analizator Vivalytic *one* i očistite uređaj kako je opisano u Uputama za upotrebu analizatora Vivalytic *one*.

U slučaju ponovljenih lažnih rezultata uzoraka kontrole kvalitete obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Obavijest korisnicima u EU-u

Svaki ozbiljan štetni događaj koji se dogodio u vezi s ovim proizvodom potrebno je prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalaze.

Ograničenja

Rezultate testa Vivalytic *C. difficile* smiju tumačiti samo obučeni zdravstveni djelatnici. Rezultati testa Vivalytic *C. difficile* ne smiju se upotrebljavati kao jedini parametar za dijagnozu.

- Negativan test ne isključuje prisutnost patogena u uzorku na razini ispod razine osjetljivosti testa ili drugih patogena koji nisu pokriveni testom.
- Postoji rizik od lažno negativnih ili lažno pozitivnih rezultata zbog neispravnog prikupljanja ili transporta uzoraka ili rukovanja njima.
- U graničnim slučajevima može doći do netipičnih PCR karakteristika (npr. ravna krivulja s visokom ili niskom vrijednosti C_q). U slučaju netipičnih karakteristika rezultati se ne smiju upotrebljavati za dijagnostičko tumačenje. Softver označava nejasne rezultate. Preporučuje se ponovno testiranje.
- Vivalytic *C. difficile* kvalitativni je PCR test u stvarnom vremenu i ne pruža kvantitativne rezultate.
- Pozitivan rezultat ne znači nužno da su prisutni održivi patogeni.
- Test otkriva *C. difficile* koji nosi gene *tcdA/tcdB*, ali ne razlikuje sojeve koji proizvode toksine i sojeve koji ne proizvode toksine.
- Negativan rezultat ne isključuje infekciju bakterijom *C. difficile*. Preporučuje se tumačenje negativnih testiranih uzoraka u kontekstu dodatnih laboratorijskih podataka.
- Prekomjerna količina stolice može imati inhibitorne učinke na učinkovitost testa.

Procjena analitičkih performansi

Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Granica otkrivanja testa Vivalytic C. difficile određena je kao najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti ($\geq 95\%$ uzoraka testiranih u rutinskim laboratorijskim uvjetima s pomoću definirane vrste uzorka).

Uključivost

Za procjenu uključivosti provedena je *in silico* analiza (usklađivanje BLAST) genomske sekvence različitih relevantnih sojeva bakterije *C. difficile* naspram sekvence PCR početnica i probe za hidrolizu upotrijebljenih u testu Vivalytic C. difficile za amplifikaciju i otkrivanje odgovarajućih patogena. Uključivost se može pokazati za sojeve navedene u [tablici 2](#).

Ekskluzivnost / analitička specifičnost

Kako bi se isključila unakrsna reaktivnost (ekskluzivnost), provedena je *in silico* analiza (usklađivanje BLAST) ciljnih regija bakterije *C. difficile* naspram sekvence genoma raznih drugih patogena koji predstavljaju uobičajene gastrointestinalne patogene ili blisko povezane vrste. Nije bilo dokaza interferencije ([tablica 3](#)).

Ponovljivost

Ponovljivost testa Vivalytic C. difficile utvrđena je upotrebom panela s 3 različite koncentracije bakterije *C. difficile*. Na tri ispitna mjesta svaku je mješavinu testirao isti rukovatelj na istom kompletu instrumenata Vivalytic s 3 serije u 4 ponavljanja u 3 dana, čime se dobilo ukupno 324 opservacija po ciljnom patogenu. Dobivene stope pozitivnosti za različite kombinacije povezane su s očekivanom stopom pozitivnosti ([tablica 4.a](#)).

Obnovljivost

Obnovljivost testa Vivalytic C. difficile utvrđena je upotrebom panela s 1 koncentracijom ($3 \times c95$) bakterije *C. difficile*. Na jednom mjestu mješavinu je testirao isti rukovatelj na istom kompletu instrumenata Vivalytic s 3 serije u 20 ponavljanja u 1 danu, čime se dobilo ukupno 60 opservacija po ciljnom patogenu. Dobivene stope pozitivnosti za različite kombinacije povezane su s očekivanom stopom pozitivnosti ([tablica 4.b](#)).

Interferencije

Interferencije su procijenjene za endogene i egzogene tvari koje su potencijalno prisutne u uzorku pacijenta. Pogledajte [tablicu 5](#) za tvari koje potencijalno mogu ometati test.

Procjena kliničkih performansi

Rezultati osjetljivosti i specifičnosti dobiveni iz nativih uzoraka tekuće i mekane ljudske stolice. Uzorci su prikupljeni u kliničkom okruženju i uspoređeni s rezultatima dobivenima s pomoću referentnih metoda.

Uzorci za testiranje patronama Vivalytic C. difficile bili su svježe upotrijebljeni ili zamrznuti za skladištenje i pripremljeni kako je prethodno opisano za eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

U slučaju referentnog ispitivanja uzorci su pripremljeni prema preporukama upotrijebljenih referentnih metoda. Ukupno je analizirano 124 uzoraka. Osjetljivost ili pozitivno postotno slaganje (PPA) izračunato je kao $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifičnost ili negativno postotno slaganje izračunato je kao $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultati procjene kliničke učinkovitosti prikazani su u [tablici 6](#).

Tehnička podrška

U slučaju pitanja obratite se lokalnom distributeru ili pošaljite poruku službi za korisnike društva Vivalytic (e-pošta: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Literatura

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboli



Proizvođač



Serijski broj



Datum proizvodnje



Ograničenje temperature



Rok trajanja



Nemojte upotrebljavati ako je pakiranje oštećeno



Broj serije



Samo za jednokratnu uporabu



Kataloški broj



Pogledajte upute za uporabu



Sadrži <n> testova



In vitro dijagnostički medicinski uređaj



Oznaka CE



Pipetirajte naznačeni volumen uzorka u jažicu za uzorak patrone kako je označeno crnim trokutom.

Uvod

Clostridioides difficile (*C. Difficile*) je grampozitivni anaerobni bacil, ki tvori spore, sestavljajo pa ga toksični in netoksični sevi.

C. difficile je eden izmed najbolj pogostih povzročiteljev bolnišnične diareje, zlasti pri bolnikih, pri katerih se pojavi z antibiotiki povezana diareja. V zadnjih letih sta se število in resnost primerov v Evropi in po svetu povečala.¹

Simptomi okužbe s *C. difficile* (CDI) obsegajo vse od blage diareje do zelo hudega in življenjsko nevarnega psevdomembranoznega kolitisa, čeprav kolonizacija *C. difficile* ne vodi nujno do simptomatske okužbe. Porušenje ravnovesja črevesnih mikroorganizmov, npr. zaradi zdravljenja z antibiotiki, lahko povzroči, da toksični sev *C. difficile* vzpostavi prevladujočo kolonizacijo, kar je lahko začetek CDI.²

Dejavnika, ki sodelujeta pri patogenezi *C. difficile*, sta gena *tcdA* in *tcdB*, ki kodirata toksin A (enterotoksin) in toksin B (citotoksin), ki se nahajata v kromosomski regiji 19,6 kb, imenovani lokus patogenosti (PaLoc). Večina patogenih sevov je pozitivnih na toksina A in B (A+B+), toda nekateri izolati patogene različice so lahko negativni na toksin A in pozitivni na toksin B (A-B+). So vzrok bolezni, povezanih s *C. difficile*.³

Nekateri sevi toksične oblike *C. difficile* prav tako proizvajajo toksin, imenovan *C. difficile* transferaza (CDT), ali binarni toksin.⁴

Vsebina embalaže

15 testnih kartuš Vivalytic *C. difficile* za kvalitativno zaznavanje specifičnih zaporedij toksičnih genov *tcdA/tcdB* *Clostridioides difficile*.

Predvidena uporaba

Test Vivalytic *C. difficile* je avtomatiziran kvalitativni *in vitro* diagnostični test na podlagi verižne reakcije s polimerazo v realnem času (PCR) za zaznavanje nukleinskih kislin iz toksičnega *C. difficile* (toksična gena *cdA/tcdB*) v vzorcih tekočega ali mehkega človeškega blata za pomoč pri diagnosticiranju akutnih gastrointestinalnih okužb pri simptomatskih posameznikih.

Rezultati naj ne bodo uporabljeni kot edina podlaga za diagnozo, zdravljenje ali druge odločitve pri obravnavi bolnika. Pozitivni rezultati ne izključujejo sočasne okužbe z drugimi patogeni. Odkriti povzročitelj/-i morda ni/niso dokončni vzrok bolezni. Negativni rezultati ne izključujejo okužbe s *C. difficile* ali druge gastrointestinalne okužbe. Rezultati morajo klinično korelirati z anamnezo bolnika, kliničnimi opažanji in epidemiološkimi informacijami. Druge diagnostične informacije so potrebne, da se določi status okužbe bolnika. Predvidena uporaba z analizatorjem Vivalytic *one* samo s strani zdravstvenih delavcev v laboratorijskem okolju, kot so bolnišnični in referenčni laboratoriji.

Varnostne informacije

Ta navodila za uporabo vsebujejo samo informacije, specifične za test. Nadaljnje informacije in navodila najdete v navodilih za uporabo, ki so priložena vašemu analizatorju Vivalytic *one* (poglavje z informacijami o varnosti pripomočka). Uporabljajte samo kartuše in dodatke Vivalytic, ki so odobreni za analizator Vivalytic *one*. Pazite, da preprečite kontaminacijo pri rokovanju z vzorci bolnikov in kartušami. Če se vzorec razlije na kartušo, slednje ne uporabite, ampak jo zavržite.

Izdelek lahko za *in vitro* diagnostiko uporabljajo le zdravstveni strokovnjaki.



OPOZORILO

- Vselej sledite dobri laboratorijski praksi, da boste zagotovili pravilno izvedbo tega testa.
- Zagotovite, da nosite ustrezno osebno varovalno opremo (OVO).
- Ne uporabljajte kartuše, če sta zapečateni vrečka ali sama kartuša vidno poškodovani.
- Ne dotikajte se in ne spraskajte odkrivalnega predela kartuše.
- Kartuše ne uporabite ponovno.
- Kartuš, ki jim je potekel rok uporabe, ne uporabite. Rok uporabe najdete na embalaži in na etiketi kartuše.
- Po odprtju vrečke kartuše test opravite v 15 minutah. Na ta način se vzdržuje higieno in preprečuje izgubo učinkovitosti zaradi vlage. Dalj časa trajajoča izpostavljenost izdelka vlagi vpliva negativno na učinkovitost testa.
- Ne stresajte kartuše, ki vsebuje vzorec.
- Kartuše ne obračajte na glavo.
- Kartušo položite le na čisto in ravno podlago.
- Ne uporabljajte tipov vzorcev, medijev in volumnov, ki niso odobreni za test.
- Vselej sledite dobri laboratorijski praksi, da boste zagotovili pravilno izvedbo tega testa.
- Biološke vzorce, pripomočke za transfer in uporabljene kartuše je treba obravnavati kot morebitne prenašalce povzročiteljev okužb, zaradi česar je treba izvajati standardne previdnostne ukrepe. Potencialno kužne vzorce bolnikov in kartuše obravnavajte skladno z nacionalnimi laboratorijskimi standardi ter vzorce in kartuše odstranjujte skladno z regionalnimi in laboratorijskimi standardi.
- Upoštevajte nacionalne varnostne predpise in prakse.

Opomba: Nadaljnje informacije so na voljo v varnostnem listu izdelka. Obrnite se na podporo za stranke pri svojem lokalnem distributerju.

Dodatna oprema in potrošni material (potrebna, vendar ni dana na voljo)

- Analizator Bosch Vivalytic *one* (referenčna številka F 09G 300 115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilne konice za pipeto s filtrom, 100–1000 µl
- Kompleti za odvzem brisa
 - Običajna palčka z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prenosni medij
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ustrezna zaščitna oblačila

Princip testa

Vivalytic C. difficile je kvalitativen test, ki temelji na PCR v realnem času.

Pogoji shranjevanja in uporabe

Pri shranjevanju pri temperaturi od +15 °C do +25 °C je izdelek stabilen do roka uporabnosti. Pogoji shranjevanja in uporabe so na voljo na oznaki na kartuši, vrečki ali škatli. Kartušo je treba pri temperaturi od +15 °C do +25 °C in pri relativni zračni vlagi <65 % uporabiti v 15 minutah po odprtju vrečke. Na ta način se vzdržuje higieno in preprečuje izgubo učinkovitosti zaradi vlage. Dalj časa trajajoča izpostavljenost izdelka vlagi vpliva negativno na učinkovitost testa.

Reagenti

Vsi reagenti, potrebni za obdelavo vzorcev, so integrirani v kartuši. Obdelava obsega celično lizo, ekstrakcijo nukleinske kisline, pomnoževanje DNA in detekcijo.

Reagenti so kroglica PCR, vezni pufer, pralni pufer in elucijski pufer. Kroglica PCR vsebuje polimerazo DNK, primerje in sonde. Vezni pufer olajšuje vezavo nukleinskih kislin med procesom čiščenja. Pralni pufer je formulacija iz različnih soli in topil za odstranjevanje onesnaženj, npr. proteinov med procesom ekstrakcije. Elucijski pufer je pufer z nizko vsebnostjo soli in vsebuje prečiščene nukleinske kisline na koncu procesa ekstrakcije.

Vrste vzorcev/medij

Test je namenjen za uporabo z vzorci brisa blata v mediju eNAT® (prenosni medij na običajni palčki z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 552C, eNAT®, ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Vzorce zbirajte in shranjujte v skladu s proizvajalčevimi navodili za uporabo.

Če vzorec ni obdelan takoj po odvzemu, bodo nukleinske kisline shranjene v prenosnem mediju eNAT®, in sicer do štiri tedne pri sobni temperaturi in pri 4 °C in do šest mesecev pri temperaturi od –20 °C do –80 °C (glejte navodila za uporabo prenosnega medija eNAT®⁵).

Priprava vzorcev

Običajno palčko z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) uporabite za odvzem majhnega vzorca blata, tako da konico palčke z vlakni vstavite v vzorec blata in jo zavrtite. Izbrati in odvzeti je treba krvavo, sluzasto ali vodeno blato. Po odvzemu palčko pregledajte in se prepričajte, da je na konici viden fekalni material. Če ni, palčko z vlakni ponovno vstavite v vzorec blata in jo zavrtite, pri tem pa pazite, da je celotno območje konice palčke v stiku z vzorcem. Po odvzemu palčko prenesite v 2-ml epruveto Copan eNAT® s prenosnim medijem eNAT®. Palčko držite med palcem in kazalcem ter tlačite in premešajte vzorec blata ob strani epruvete, da se vzorec enakomerno razprši in raztopi v sredstvu za shranjevanje. Palčko držite v bližini odprtine epruvete in jo ukrivite pod kotom 180 stopinj, da jo odlomite na označenem mestu. Zgornji, odlomljeni del palčke zavrzite in privijte pokrovček. Za temeljito homogeniziranje pretresite epruveto z vzorcem brisa in medijem eNAT® (COPAN Italia S.P.A) ter s pomočjo pipetorja 300 µl homogeniziranega bolnikovega vzorca napolnite v vhodno mesto za vzorce na kartuši.

Ne uporabljajte viskoznih vzorcev, ki jih je težko pipetirati.

Rezultati testa

Po samodejni obdelavi vzorca z analizatorjem Vivalytic *one* se rezultat testa prikaže na zaslonu analizatorja Vivalytic *one*. Čas do pridobitve rezultata je približno 50 minut. Rezultati vzorcev z visokim titrom so na voljo v manj kot 35 minutah in testni postopek je mogoče zaključiti prej (glejte razdelek Dokončanje testa).

Vzorec je razvrščen kot pozitiven za *C. difficile*, negativen za *C. difficile* ali neveljaven. V primeru pozitivnega odkritja *C. difficile* velja, da je test veljaven, tudi če je Human Control negativna.

Odkrivanje človeške celice na podlagi kontrole celotnega procesa (Human Control) v negativnih vzorcih kaže uspešen postopek ekstrakcije in izključuje zaviranje reakcije PCR. Interpretacija rezultatov je navedena v spodnji preglednici.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Veljavnost	Rezultat
+	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za <i>C. difficile</i> (toksični gen tcdA/tcdB zaznan).
-	+	veljavno	Vzorec velja kot negativen za <i>C. difficile</i> (toksični gen tcdA/tcdB ni zaznan).
-	-	neveljavno	Ni mogoče oceniti. ¹

¹ Priporočeno je ponovno testiranje.

PCR – krivulja in vrednost C_q

Prikazane so krivulje PCR (modificirane s programsko opremo) v realnem času, programska oprema pa jih razvrsti kot pozitivne ali negativne. V primeru pozitivnih krivulj je prikazana posamezna vrednost C_q. Programska oprema označi nepreprečljive rezultate (Δ). Priporočeno je, da se test ponovi.

Neveljavni ali spodleteli testi

Test je razvrščen kot neveljaven, če nista odkriti niti ciljna DNA niti Human Control. Mogoči razlogi za neveljaven potek so lahko slaba kakovost vzorca zaradi delnega ali popolnega pomanjkanja človeškega celičnega materiala v vzorcu. Rezultati neveljavnih testov so prikazani, vendar se jih ne sme uporabljati za diagnostično vrednotenje. Pazite na uporabo pravilnega tipa vzorca, odvzem vzorca ter shranjevanje vzorca in kartuše pred testom. Po potrebi analizo ponovite z novim vzorcem.

Pri neuspešnem testu je treba najprej preveriti prisotnost pravih pogojev delovanja analizatorja Vivalytic *one* (glejte navodila za uporabo analizatorja Vivalytic *one*). Analizator Vivalytic *one* ponovno zaženite. Če težava ni odpravljena, se obrnite na podporo za stranke pri svojem lokalnem distributerju.

Dokončanje testa

Kakor hitro je na zaslonu prikazan veljaven pozitiven rezultat za *C. difficile*, ima uporabnik možnost, da test konča.

Poročilo o testu

V natisnjem poročilu o testu so patogen, rezultati, kontrola in podatki o uporabniku, bolniku in analizatorju Vivalytic *one* navedeni s poljem za podpis.

Nadzor kakovosti

Če to zahtevajo vaši lokalni ali laboratorijski standardi, je treba opraviti teste za kontrolo kakovosti.

Če je za nadzor kakovosti potrebna referenčna preskusna metoda, se lahko uporabijo naslednji referenčni materiali:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Upoštevajte proizvajalčeva navodila.

Pri nepričakovanih rezultatih je treba analizo ponoviti z drugim vzorcem. Če ostane rezultat negativnega vzorca kontrole kakovosti, npr. čistega medija eNAT®, pozitiven, je morda kontaminiran analizator Vivalytic *one* ali njegova okolica. Prenehajte uporabljati analizator Vivalytic *one* in napravo očistite v skladu z opisom v navodilih za uporabo analizatorja Vivalytic *one*.

V primeru ponovnih napačnih rezultatov za vzorce kontrole kakovosti se obrnite na podporo za stranke pri svojem lokalnem distributerju.

Napotek za uporabnike v EU

O vsakem resnem zapletu v zvezi s tem pripomočkom je treba poročati proizvajalcu in pristojnemu organu države članice, v kateri ima uporabnik sedež in/ali bolnik prebivališče.

Omejitve

Rezultate testa Vivalytic C. difficile smejo interpretirati le usposobljeni zdravstveni delavci. Rezultatov testa Vivalytic C. difficile se ne sme uporabljati kot edinega parametra za diagnozo.

- Negativen rezultat ne izključuje, da so v vzorcu patogeni, katerih koncentracija je pod občutljivostjo testa, ali pa, da gre za patogene, ki jih ta test ne zajema.
- Obstaja tveganje za lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi nepravilno odvzetih, prenesenih ali obravnavanih vzorcev.
- V mejnih primerih se lahko pojavijo atipične značilnosti PCR (npr. ploska krivulja z nizko ali visoko vrednostjo C_q). Pri atipičnih značilnostih rezultatov ne sme uporabiti za diagnostično vrednotenje. Programska oprema označi nepreprečljive rezultate. Priporočeno je, da se test ponovi.
- Vivalytic C. difficile je kvalitativen test PCR v realnem času in ne zagotavlja kvantitativnega rezultata.
- Pozitiven rezultat ne pomeni nujno, da so navzoči živi povzročitelji bolezni.
- Test zazna patogen *C. difficile*, ki prenaša gena *tcdA/tcdB*, toda ne loči med sevi, ki proizvajajo toksine, in sevi, ki ne proizvajajo toksinov.
- Negativen rezultat ne izključuje okužbe s *C. difficile*. Priporočamo, da negativne rezultate interpretirate v kontekstu z dodatnimi laboratorijskimi podatki.
- Prevelika količina blata ima lahko zaviralne učinke na učinkovitost testa.

Ovrednotenje analitske učinkovitosti

Analitska občutljivost (meja zaznavanja)

Meja zaznavanja testa Vivalytic C. difficile je bila določena kot najnižja koncentracija analita, ki ga je mogoče dosledno zaznati ($\geq 95\%$ vzorcev, testiranih v rutinskih laboratorijskih pogojih z uporabo določene vrste vzorca).

Vključenost

Za oceno vključenosti je bila opravljena analiza *in silico* (poravnava BLAST) genomskega zaporedja različnih relevantnih sevov *C. difficile* v primerjavi z zaporedjem primerjev PCR in hidrolizne sonde, uporabljene v testu Vivalytic C. difficile test za pomnoževanje in odkrivanje zadevnih patogenov. Vključenost je bilo mogoče pokazati za seve, navedene v [tabeli 2](#).

Izključenost/analitska specifičnost

Za izključitev navzkrižne reaktivnosti (ekskluzivnosti) je bila izvedena analiza *in silico* (poravnava BLAST) ciljnega območja *C. difficile* z genomskim zaporedjem različnih drugih patogenov, ki predstavljajo običajne gastrointestinalne patogene ali tesno povezane vrste. Ni bilo znakov interference ([tabela 3](#)).

Reproduktivnost

Reproduktivnost testa Vivalytic C. difficile je bila vzpostavljena s pomočjo panela s tremi različnimi koncentracijami *C. difficile*. Na treh testnih mestih je vsako mešanico na istem kompletu instrumentov Vivalytic testiral isti izvajalec s tremi serijami v štirih ponovitvah v treh dneh, s čimer je pridobil skupaj 324 opazovanj na ciljni patogen. Dobljene stopnje pozitivnosti za različne kombinacije so bile povezane s pričakovano stopnjo pozitivnosti ([tabela 4a](#)).

Ponovljivost

Ponovljivost testa Vivalytic C. difficile je bila vzpostavljena s pomočjo panela z eno koncentracijo ($3 \times c95$) za *C. difficile*. Na enem testnem mestu je vsako mešanico na istem kompletu instrumentov Vivalytic testiral isti izvajalec s tremi serijami v 20 ponovitvah v enem dnevu, s čimer je pridobil skupaj 60 opazovanj na ciljni patogen. Dobljene stopnje pozitivnosti za različne kombinacije so bile povezane s pričakovano stopnjo pozitivnosti ([tabela 4b](#)).

Interference

Interference so bile vrednotene glede endogenih in eksogenih snovi, ki se po možnosti nahajajo v vzorcih bolnikov. Glejte [tabelo 5](#) za snovi, ki lahko povzročijo interferenco testa.

Ovrednotenje klinične učinkovitosti

Rezultati občutljivosti in specifičnosti, pridobljeni iz nativnih tekočih in mehkih vzorcev človeškega blata. Vzorci so bili zbrani v kliničnem okolju in primerjani s tistimi iz referenčnih metod.

Vzorci za testiranje s kartušami Vivalytic C. difficile so bili uporabljeni sveži ali zamrznjeni za shranjevanje in pripravljeni, kot je opisano zgoraj v eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Pri referenčnem testiranju so bili vzorci pripravljeni v skladu s priporočili uporabljenih referenčnih metod. Skupno je bilo analiziranih 124 vzorcev. Občutljivost ali pozitivna odstotna skladnost (PPA) je bila izračunana kot $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifičnost ali negativna odstotna skladnost je bila izračunana kot $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultati ovrednotenja klinične učinkovitosti so prikazani v [tabeli 6](#).















Tehnična podpora

V primeru vprašanj se obrnite na svojega lokalnega distributerja ali pošljite sporočilo službi za pomoč uporabnikom Vivalytic (e-pošta: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Reference

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboli

- | | | | |
|---|---------------------|---|--|
|  | Proizvajalec |  | Serijska številka |
|  | Datum proizvodnje |  | Temperaturna omejitev |
|  | Rok uporabnosti |  | Izdelka ne uporabljajte, če je embalaža poškodovana. |
|  | Številka serije |  | Samo za enkratno uporabo |
|  | Referenčna številka |  | Glejte navodila za uporabo. |
|  | Vsebuje <n> testov. |  | In vitro diagnostični medicinski pripomoček |
|  | Oznaka CE | | |
-  Indicirano količino vzorca pipetirajte v odprtino v kartuši, kot to označuje črn trikotnik.

Въведение

Clostridioides difficile (*C. difficile*) е грам-положителен анаеробен бацил, образуващ спори, състоящ се от токсигенни и нетоксигенни щамове.

C. difficile е един от най-честите патогени на нозокомиална диария, особено при пациенти с диария, свързана с антибиотици. През последните години броят и тежестта на случаите се увеличиха в Европа и по света.¹

Симптомите на инфекция с *C. difficile* (CDI) варира от лека диария до тежък животозастрашаващ псевдомембранозен колит, въпреки че колонизацията на *C. difficile* не води непременно до симптоматична инфекция. Нарушаването на баланса на чревните микроорганизми, напр. поради антибиотично лечение, може да доведе до установяване на токсигенен *C. difficile*, който да доминира колонизацията и това може да бъде началото на CDI.²

Фактори, участващи в патогенезата на *C. difficile*, са гените *tcdA* и *tcdB*, които кодират токсин А (ентеротоксин) и токсин В (цитотоксин), намиращи се в хромозомен регион 19,6 kb, наречен локус на патогенност (PaLoc). Повечето патогенни щамове са положителни за токсин А и В (A+B+), но някои изолати на патогенни варианти могат да бъдат отрицателни за токсин А и положителни за токсин В (A-B+). Те са причината за заболявания, свързани с *C. difficile*.³

Някои щамове на токсигенен *C. difficile* също така произвеждат токсин, наречен *C. difficile* трансфераза (CDT), още наричан бинарен токсин.⁴

Съдържание на опаковката

15 тестови касети Vivalytic *C. difficile* за качествено откриване на специфични за *Clostridioides difficile* генни последователности на токсини *tcdA/tcdB*.

Предназначение

Тестът Vivalytic *C. difficile* е автоматизиран качествен *in vitro* диагностичен тест, базиран на полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време за откриване на нуклеинови киселини от токсигенни *C. difficile* (гени за токсини *tcdA/tcdB*) от тампони с течни или меки човешки изпражнения в помощ при диагностицирането на остри стомашно-чревни инфекции на симптоматични лица.

Резултатите не трябва да се използват като единствена основа за диагностика, лечение или други решения по отношение на пациента. Положителните резултати не изключват коинфекция с други патогени. Откритият(те) агент(и) може да не е(са) категоричната причина за заболяването. Отрицателните резултати не изключват инфекция с *C. difficile* или друга стомашно-чревна инфекция. Резултатите трябва да са клинично свързани с анамнезата на пациента, клиничните наблюдения и епидемиологичната информация. За определяне на инфекциозния статус на пациента е необходима друга диагностична информация. Предназначен за употреба с анализатор Vivalytic *one* от здравни специалисти само в лабораторни условия като болнични лаборатории и референтни лаборатории.

Информация за безопасност

Тези инструкции за употреба съдържат само специфична за теста информация. За допълнителни предупреждения и инструкции вижте инструкциите за употреба, предоставени с Вашия анализатор Vivalytic *one* (глава „Информация за безопасност на изделието“). Използвайте само касети и аксесоари Vivalytic, одобрени за анализатора Vivalytic *one*. Боравете внимателно с проби от пациенти и касети, за да се избегне замърсяване. При разливане на проба върху касетата не използвайте касетата, а я изхвърлете.

За *in vitro* диагностична употреба от обучени здравни специалисти.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

- Винаги следвайте добрата лабораторна практика, за да осигурите правилното изпълнение на този тест.
- Носете подходящи лични предпазни средства (ЛПС).
- Не използвайте дадена касета, ако запечатаното пликче или самата касета са видимо повредени.
- Не докосвайте и не надрасквайте зоната за откриване на касетата.
- Не използвайте касета повторно.
- Не използвайте касети с изтекъл срок на годност. Срокът на годност е отбелязан на опаковката и на етикета на касетата.
- Не чакайте повече от 15 минути след отваряне на пликчето на касетата, за да започнете теста. Това поддържа хигиена и избягва загуба на производителност поради влажност. Продължителното излагане на влага има отрицателно въздействие върху функционалността на теста.
- Не разклащайте касета, която съдържа проба.
- Не обръщайте касетата с горната част надолу.
- Поставете касетата само на чиста и равна повърхност.
- Не използвайте видове проби, среди и обеми, които не са одобрени за теста.
- Винаги следвайте добрата лабораторна практика, за да осигурите правилното изпълнение на този тест.
- За биологичните проби, изделията за прехвърляне и използваните касети трябва да се счита, че могат да предават инфекциозни агенти, изискващи стандартни предпазни мерки. Манипулирайте потенциално инфекциозни пациентски проби и касети в съответствие с националните лабораторни стандарти и изхвърляйте проби и касети в съответствие с регионалните и лабораторните стандарти.
- Спазвайте националните правила и практики за безопасност.

Забележка: Допълнителна информация можете да намерите в информационния лист за безопасност (SDS) на продукта. Моля, свържете се с екипа за поддръжка на клиенти на Вашия местен дистрибутор.

Необходимо допълнително оборудване и консумативи, които не са предоставени

- Анализатор Bosch Vivalytic one (референтен номер F 09G 300 115)
- Пипетор (100–1000 µl)
- Стерилни върхове за пипети с филтър 100–1000 µl
- Комплекти проби с тампони
 - Обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Транспортна среда
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Подходящо защитно облекло

Принцип на теста

Vivalytic C. difficile е качествен тест в реално време на основата на PCR.

Условия за съхранение и употреба

Продуктът е стабилен до срока на годност, ако се съхранява при температура от + 15 °C до + 25 °C. Условията за съхранение и употреба могат да бъдат взети от етикета на касетата, пликчето или кутията. Касетата трябва да се използва при температура от + 15 °C до + 25 °C, при относителна влажност < 65%, в рамките на 15 минути от отваряне на пликчето. Това поддържа хигиена и избягва загуба на производителност поради влажност. Продължителното излагане на влага има отрицателно въздействие върху функционалността на теста.

Реактиви

Всички реактиви, необходими за обработката на пробата, са вградени в касетата. Обработката включва клетъчен лизис, екстракция на нуклеинова киселина, амплификация и откриване на ДНК.

Реактивите са PCR перли, свързващ буфер, промивен буфер и елуираещ буфер. PCR перлите съдържат ДНК полимераза, праймери и сонди. Свързващият буфер улеснява свързването на нуклеинови киселини по

време на процеса на пречистване. Промивният буфер представлява състав на различни соли и разтворители за отстраняване на примеси, напр. протеини, по време на процеса на екстракция. Елуирацията буфер е с ниско съдържание на сол и съдържа пречистените нуклеинови киселини в края на процеса на екстракция.

Типове проби/среда

Тестът е предназначен за употреба с проби от фекални натривки в среда eNAT® (обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® 552C, транспортна среда eNAT® реф. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Взимайте и съхранявайте пробите, както е посочено в инструкциите на производителя.

В случай че пробата не бъде обработена веднага след вземането ѝ, нуклеиновите киселини ще бъдат запазени в транспортна среда eNAT® до 4 седмици при стайна температура и при 4°C и до 6 месеца при температура от -20°C до -80°C (вижте Инструкции за употреба на транспортна среда eNAT®⁵).

Подготовка на пробата

Използвайте обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), за да съберете малко количество изпражнения, като поставите върха на флокирания тампон в пробата с изпражнения и го завъртите. Кървави, слузести или воднисти участъци от изпражненията трябва да бъдат избрани и събрани. След вземането прегледайте тампона, за да се уверите, че на върха му се вижда фекален материал. Ако това не е така, поставете отново флокирания тампон в пробата от изпражнения и го завъртете, като внимавайте цялата площ на върха на тампона да е в контакт с пробата. След събирането прехвърлете тампона в епруветка от 2 ml Соран eNAT® с транспортна среда eNAT®. Като задържате клечката на тампона между палеца и показалеца, размачкайте и разбъркайте пробата от изпражнения към стената на епруветката, за да диспергирате равномерно и да суспендирате пробата в консервиращата среда. Дръжте клечката на тампона близо до ръба на епруветката и я огънете под ъгъл от 180 градуса, за да я счупите на мястото на маркираната точка за счупване. Изхвърлете счупената горна част на клечката на тампона и затегнете капачката. Разклатете добре епруветката за проба, съдържаща пробата от тампона и средата eNAT® (COPAN Italia s.p.a.), за хомогенизиране и използвайте пипета, за да прехвърлите 300 µl хомогенизирана проба от пациента във входа за пробата на касетата.

Не използвайте вискозни проби, които са трудни за пипетиране.

Резултат от теста

След автоматичната обработка на пробата с анализатора Vivalytic one резултатът от теста се извежда на екрана на анализатора Vivalytic one. Времето за получаване на резултат е около 50 минути. За проби с висок титър резултатите са налични след по-малко от 35 минути и тестовият цикъл може да бъде прекратен по-рано (вижте глава „Прекратяване на теста“).

Пробата се класифицира като положителна за *C. difficile*, отрицателна за *C. difficile* или невалидна. В случай на положително откриване на *C. difficile* тестът се счита за валиден дори ако Human Control е отрицателна.

Откриването на контрола на целия процес на базата на човешки клетки (Human Control) в отрицателни проби показва успешна процедура на екстракция и изключва инхибиране на PCR реакцията. Интерпретирането на резултатите е показано в таблицата по-долу.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Валидност	Резултат
+	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за <i>C. difficile</i> (открит ген за токсин tcdA/tcdB).
-	+	валиден	Пробата се счита за отрицателна за <i>C. difficile</i> (не е открит ген за токсин tcdA/tcdB)
-	-	невалиден	Не може да се оцени. ¹

¹ Препоръчва се повторно тестване.

PCR – крива и стойност на C_q

PCR кривите в реално време (софтуерно модифицирани) се показват и класифицират като положителни или отрицателни от софтуера. В случай на положителни криви се показва съответната стойност на C_q . Неубедителните резултати се маркират от софтуера (Δ). Препоръчва се повторно тестване.

Невалидни или неуспешни тестове

Тестът се оценява като невалиден, ако не бъде открита нито целева ДНК, нито Human Control. Възможните причини за невалиден цикъл могат да бъдат лошо качество на пробата поради частично или пълно отсъствие на човешки клетъчен материал в пробата. Резултатите се показват за невалиден тест, но не се използват за диагностична интерпретация. Трябва да използвате правилен тип проба, взимане на проба и съхранение на пробата и касетите преди тестовия цикъл. Ако е необходимо, повторете анализа с нова проба.

В случай на неуспешен тест първо проверете правилните условия на работа на анализатора Vivalytic *one* (направете справка с Инструкциите за употреба на анализатора Vivalytic *one*). Рестартирайте анализатора Vivalytic *one*. Ако проблемът продължава, свържете се с екипа за поддръжка на клиенти на Вашия местен дистрибутор.

Прекратяване на тест

Веднага след като на екрана се покаже положителен резултат за *C. difficile*, потребителят има възможност да завърши теста.

Доклад от теста

В отпечатания протокол от теста са изброени патогените, резултатите, контрола и информацията за потребител, пациент и анализатор Vivalytic *one* заедно с поле за подпис.

Контрол на качеството

Ако това се изисква от Вашите местни или лабораторни стандарти, трябва да се извърши тестване за контрол на качеството.

В случай че е необходим референтен метод за тестване за контрол на качеството, могат да се използват следните референтни материали:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Моля, следвайте инструкциите на производителя.

В случай на неочаквани резултати, повторете анализа с друга проба. Ако резултатът от отрицателна проба за контрол на качеството, напр. чиста среда eNAT®, остава положителен, анализаторът Vivalytic *one* или околната му среда може да са замърсени. Прекратете използването на анализатора Vivalytic *one* и почистете изделието, както е описано в Инструкциите за употреба на анализатора Vivalytic *one*.

В случай на многократни грешни резултати от проби за контрол на качеството, моля, свържете се с екипа за поддръжка на клиенти на Вашия местен дистрибутор.

Известие за потребителите в ЕС

Всеки сериозен инцидент, настъпил във връзка с изделието, трябва да бъде докладван на производителя и компетентния орган на държавата членка, в която се намират потребителят и/или пациентът.

Ограничения

Резултатите от теста Vivalytic *C. difficile* трябва да се интерпретират само от обучен медицински специалист. Резултатите от теста Vivalytic *C. difficile* не трябва да се използват като единствен параметър за поставяне на диагноза.

- Отрицателният резултат не изключва наличието на патогени в пробата на ниво под чувствителността на анализа или на други патогени, които не са в обхвата на този анализ.
- Съществува риск от фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради неправилно взети, транспортирани или обработени проби.

- В гранични случаи могат да се появят атипични PCR характеристики (напр. плоска крива с ниска или висока стойност на C_q). В случай на атипични характеристики резултатите не могат да се използват за диагностична интерпретация. Неубедителните резултати се маркират от софтуера. Препоръчва се повторно тестване.
- Vivalytic C. difficile е качествен PCR тест в реално време и не предоставя количествен резултат.
- Положителният резултат не означава непременно наличието на жизнеспособни патогени.
- Тестът открива C. difficile, носещ гени *tcdA/tcdB*, но не прави разлика между щамове, произвеждащи токсини, и щамове, които не произвеждат токсини.
- Отрицателен резултат не изключва инфекция с C. difficile. Препоръчва се отрицателните тествани проби да се интерпретират в контекста на допълнителни лабораторни данни
- Излишното количество изпражнения може да има инхибиращ ефект върху ефективността на анализа.

Оценка на аналитичното представяне

Чувствителност на анализа (граница на откриване)

Границата на откриване на теста Vivalytic C. difficile е определена като най-ниската концентрация на аналит, която може да бъде откривана последователно ($\geq 95\%$ от пробите, тествани при рутинни лабораторни условия, използвайки определен тип проба).

Инклузивност

За да се оцени инклузивността, е проведен *in silico* анализ (BLAST подравняване) на геномната последователност на различни свързани щамове C. difficile спрямо последователността от PCR праймерите и сондата за хидролиза, използвани в теста Vivalytic C. difficile за амплификация и откриване на съответните патогени. Инклузивността може да бъде показана за щамове, изброени в [Таблица 2](#).

Ексклузивност/специфичност на анализа

За да се изключи кръстосана реактивност (ексклузивност), беше проведен *in silico* анализ (BLAST подравняване) на целевия регион на C. difficile спрямо геномната последователност на различни други патогени, представляващи често срещани стомашно-чревни патогени или тясно свързани видове. Няма данни за интерференция ([Таблица 3](#)).

Възпроизводимост

Възпроизводимостта на теста Vivalytic C. difficile е установена с помощта на панел с 3 различни концентрации C. difficile. В 3 тестови центъра всяка смес беше тествана на един и същи набор от апарати Vivalytic от един и същи оператор с 3 LOT в 4 повторения за 3 дни съответно, като се получи общо 324 наблюдения за целеви патоген. Получените нива на положителност за различните комбинации са корелирани с очаквания процент на положителност ([Таблица 4a](#)).

Повторяемост

Повторяемостта на теста Vivalytic C. difficile е установена с помощта на панел с 1 концентрация ($3 \times c95$) на C. difficile. В 1 тестов център сместа беше тествана на един и същи набор от апарати Vivalytic от един и същи оператор с 3 LOT в 20 повторения за 1 ден съответно, като се получи общо 60 наблюдения за целеви патоген. Получените нива на положителност за различните комбинации са корелирани с очаквания процент на положителност ([Таблица 4b](#)).

Смушения

Смушенията са оценени за ендеогенни и екзогенни вещества, които потенциално присъстват в пробата от пациента. Направете справка с [Таблица 5](#) за вещества, които имат потенциал да предизвикат смушения в теста.

Оценка на клиничното представяне

Резултати за чувствителност и специфичност, получени от проби от нативни течни и меки човешки изпражнения. Пробите бяха събрани в клинична среда и сравнени с резултатите от референтните методи.

Пробите за тестване с касети Vivalytic C. difficile бяха прясно използвани или замразени за съхранение и подготвени, както е описано по-горе в eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

В случай на референтно тестване пробите са подготвени съгласно препоръките на използваните референтни методи. Анализирани са общо 124 проби. Чувствителността или процентът на съвпадение на положителни резултати (PPA) е изчислен като $100\% \times TP / (TP + FN)$. Специфичността или процентът на съвпадение на отрицателни резултати е изчислен като $100\% \times TN / (TN + FP)$. Резултатите от оценката на клиничното представяне са показани в Таблица 6.

Техническа поддръжка

В случай на въпроси, моля, свържете се с вашия местен дистрибутор или изпратете съобщение до отдела за обслужване на клиенти на Vivalytic (имейл: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Референции

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Символи



Производител



Сериен номер



Дата на производство



Температурна граница



Срок на годност



Да не се използва, ако опаковката е повредена



Партиден номер



Само за еднократна употреба



Референтен номер



Консултирайте се с инструкциите за употреба



Съдържа <n> броя тестове



Медицинско изделие за *in vitro* диагностика



СЕ маркировка



Отпипетирайте посочения обем от пробата във входа за проба на касетата, както е отбелязано с черния триъгълник.

Εισαγωγή

Το *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) είναι ένας gram-θετικός, αναερόβιος βάκιλλος που σχηματίζει σπόρια και αποτελείται από τοξικογόνα και μη τοξικογόνα στελέχη.

Το *C. difficile* είναι ένα από τα πιο συχνά παθογόνα της νοσοκομειακής διάρροιας, ιδιαίτερα σε ασθενείς με διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά. Τα τελευταία χρόνια, ο αριθμός και η βαρύτητα των περιστατικών έχουν αυξηθεί στην Ευρώπη και παγκοσμίως.¹

Τα συμπτώματα της λοίμωξης από *C. difficile* (CDI) κυμαίνονται από ήπια διάρροια έως βαριά, απειλητική για τη ζωή ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα, παρότι ο αποικισμός του *C. difficile* δεν προκαλεί απαραίτητα συμπτωματική λοίμωξη. Η διαταραχή της ισορροπίας των μικροοργανισμών του εντέρου, π.χ. λόγω θεραπείας με αντιβιοτικά, ενδέχεται να οδηγήσει σε κυριαρχία του τοξικογόνου *C. difficile* στον αποικισμό και να αποτελέσει την έναρξη λοίμωξης CDI.²

Οι παράγοντες που εμπλέκονται στην παθογένεση του *C. difficile* είναι τα γονίδια *tcdA* και *tcdB* που κωδικοποιούνται για την τοξίνη Α (εντεροτοξίνη) και την τοξίνη Β (κυτταροτοξίνη) που βρίσκονται σε μια περιοχή χρωμοσωμάτων 19,6 kb η οποία ονομάζεται τόπος παθογονικότητας (PaLoc). Τα περισσότερα παθογόνα στελέχη είναι θετικά για τοξίνη Α και Β (A+B+), αλλά κάποια απομονωθέντα στελέχη παθογόνου παραλλαγής ενδέχεται να είναι αρνητικά για τοξίνη Α και θετικά για τοξίνη Β (A-B+). Αυτά αποτελούν την αιτία των νόσων που συσχετίζονται με το *C. difficile*.³

Κάποια στελέχη τοξικογόνου *C. difficile* παράγουν επίσης μια τοξίνη που ονομάζεται τρανσφεράση *C. difficile* (CDT) ή δυαδική τοξίνη.⁴

Περιεχόμενα συσκευασίας

15 κασέτες εξέτασης Vivalytic *C. difficile* για την ποιοτική ανίχνευση των ειδικών γονιδιακών αλληλουχιών τοξίνης *tcdA/tcdB* του *Clostridioides difficile*.

Προοριζόμενη χρήση

Η εξέταση Vivalytic *C. difficile* είναι μια αυτοματοποιημένη ποιοτική εξέταση για διάγνωση *in vitro* βάσει αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε πραγματικό χρόνο για την ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων από τοξικογόνο *C. difficile* (γονίδια τοξίνης *tcdA/tcdB*) από επιχρίσματα υδαρών ή μαλακών ανθρώπινων κοπράνων, για τη διευκόλυνση της διάγνωσης οξείων γαστρεντερικών λοιμώξεων σε συμπτωματικά άτομα.

Τα αποτελέσματα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως το μοναδικό κριτήριο για τη διάγνωση, τη θεραπεία ή τη λήψη άλλων αποφάσεων διαχείρισης των ασθενών. Τα θετικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν συλλοίμωξη με άλλα παθογόνα. Ο(οι) ανιχνευόμενος(οι) παράγοντας(ες) ενδέχεται να μην αποτελεί την απόλυτη αιτία της νόσου. Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν λοίμωξη από *C. difficile* ή άλλη γαστρεντερική λοίμωξη. Τα αποτελέσματα πρέπει να συσχετίζονται κλινικά με το ιστορικό του ασθενούς, τις κλινικές παρατηρήσεις και τα επιδημιολογικά στοιχεία. Άλλες διαγνωστικές πληροφορίες είναι απαραίτητες για τον καθορισμό της κατάστασης λοίμωξης του ασθενούς. Προορίζεται για χρήση με αναλυτή Vivalytic *one* από επαγγελματίες υγείας μόνο σε εργαστηριακά περιβάλλοντα, όπως νοσοκομειακά εργαστήρια και εργαστήρια αναφοράς.

Πληροφορίες ασφάλειας

Οι παρούσες Οδηγίες χρήσης περιλαμβάνουν πληροφορίες μόνο για τις συγκεκριμένες εξετάσεις. Για επιπλέον προειδοποιήσεις και οδηγίες, ανατρέξτε στις Οδηγίες χρήσης που παρέχονται με τον αναλυτή σας Vivalytic *one* (κεφάλαιο με πληροφορίες για την ασφάλεια της συσκευής). Χρησιμοποιείτε μόνο κασέτες και βοηθητικά εξαρτήματα Vivalytic που έχουν εγκριθεί για τον αναλυτή Vivalytic *one*. Προσπαθήστε να αποφύγετε επιμολύνσεις κατά τον χειρισμό δειγμάτων ασθενών και κασετών. Σε

Vivalytic C. difficile – Οδηγίες χρήσης

περίπτωση που χυθεί δείγμα επάνω στην κασέτα, μη χρησιμοποιήσετε την κασέτα και απορρίψτε την.

Για *in vitro* διαγνωστική χρήση από εκπαιδευμένο επαγγελματία υγείας.



ΠΡΟΕΙΔΟΠΟΙΗΣΗ

- Να ακολουθείτε πάντα την ορθή εργαστηριακή πρακτική για να διασφαλίζετε τη σωστή απόδοση της παρούσας εξέτασης.
- Μην παραλείπετε να φοράτε κατάλληλο ατομικό προστατευτικό εξοπλισμό (ΑΠΕ).
- Μη χρησιμοποιήσετε την κασέτα εάν το σφραγισμένο σακουλάκι ή η ίδια η κασέτα εμφανίζει ορατή ζημιά.
- Μην αγγίζετε και μην ξύνετε την περιοχή ανίχνευσης της κασέτας.
- Μην επαναχρησιμοποιείτε την κασέτα.
- Μη χρησιμοποιείτε ληγμένες κασέτες. Η ημερομηνία λήξης αναγράφεται στη συσκευασία και στην ετικέτα της κασέτας.
- Αφού ανοίξετε το σακουλάκι της κασέτας, ξεκινήστε την εξέταση το αργότερο ύστερα από 15 λεπτά. Με αυτόν τον τρόπο διατηρείται η υγιεινή και αποφεύγεται η μείωση της απόδοσης λόγω υγρασίας. Η παρατεταμένη έκθεση στην υγρασία επηρεάζει αρνητικά την απόδοση της εξέτασης.
- Μην ανακινείτε την κασέτα όταν περιέχει δείγμα.
- Μην αναποδογυρίζετε την κασέτα.
- Τοποθετείτε την κασέτα μόνο σε καθαρή και επίπεδη επιφάνεια.
- Μη χρησιμοποιείτε τύπους, μέσα και όγκους δειγμάτων που δεν έχουν εγκριθεί για την εξέταση.
- Να ακολουθείτε πάντα την ορθή εργαστηριακή πρακτική για να διασφαλίζετε τη σωστή απόδοση της παρούσας εξέτασης.
- Τα βιολογικά δείγματα, οι συσκευές μεταφοράς και οι χρησιμοποιημένες κασέτες θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά ικανές να μεταδώσουν λοιμογόνους παράγοντες και απαιτούν λήψη των καθιερωμένων προφυλάξεων. Τα δυνητικώς μολυσματικά δείγματα ασθενών και οι κασέτες πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα εθνικά εργαστηριακά πρότυπα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τα περιφερειακά και εργαστηριακά πρότυπα.
- Ενεργείτε σύμφωνα με τους εθνικούς κανονισμούς και τις πρακτικές ασφάλειας.

Σημείωση: Περισσότερες πληροφορίες διατίθενται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας (SDS) του προϊόντος. Επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του τοπικού σας διανομέα.

Πρόσθετος απαιτούμενος εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Αναλυτής Bosch Vivalytic *one* (αριθμός αναφοράς F 09G 300 115)
- Συσκευή πιπέτας (100–1000 μl)
- Αποστειρωμένα ακροφύσια πιπέτας φίλτρου 100–1.000 μl
- Κιτ συλλογής επιχρίσματος με στειλεό
– Κανονικός στειλεός με τριχίδια Swab FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Μέσο μεταφοράς
– eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία

Αρχή της εξέτασης

Η εξέταση Vivalytic C. difficile είναι μια ποιοτική εξέταση βάσει PCR πραγματικού χρόνου.

Συνθήκες αποθήκευσης και χρήσης

Το προϊόν παραμένει σταθερό έως την ημερομηνία λήξης εφόσον αποθηκευτεί σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C. Οι συνθήκες αποθήκευσης και χρήσης αναγράφονται στην κασέτα, στο σακουλάκι ή στην ετικέτα του κουτιού. Η κασέτα πρέπει να χρησιμοποιηθεί σε θερμοκρασία +15 °C έως +25 °C, σχετική υγρασία < 65%, εντός 15 λεπτών αφού ανοιχθεί το σακουλάκι. Με αυτόν τον τρόπο διατηρείται η υγιεινή και αποφεύγεται η μείωση της απόδοσης λόγω υγρασίας. Η παρατεταμένη έκθεση στην υγρασία επηρεάζει αρνητικά την απόδοση της εξέτασης.

Αντιδραστήρια

Όλα τα αντιδραστήρια που είναι απαραίτητα για την επεξεργασία του δείγματος είναι ενσωματωμένα στην κασέτα. Η επεξεργασία περιλαμβάνει κυτταρική λύση, εκχύλιση νουκλεϊκού οξέος, ενίσχυση και ανίχνευση DNA.

Τα αντιδραστήρια είναι σφαιρίδιο PCR, ρυθμιστικό διάλυμα δέσμωσης, ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης. Το σφαιρίδιο PCR περιέχει DNA πολυμεράση, εκκινητές και ανιχνευτές. Το ρυθμιστικό διάλυμα δέσμωσης διευκολύνει τη δέσμωση των νουκλεϊκών οξέων κατά τη διαδικασία καθαρισμού. Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης είναι ένα σκεύασμα διαφόρων αλάτων και διαλυτών για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών, π.χ. πρωτεϊνών, κατά τη διαδικασία εκχύλισης. Το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης είναι ένα ρυθμιστικό διάλυμα χαμηλής συγκέντρωσης αλάτων και περιέχει τα κεκαθαρωμένα νουκλεϊκά οξέα στο τέλος της διαδικασίας εκχύλισης.

Τύπος δείγματος/Μέσο

Η εξέταση προορίζεται για χρήση με δείγματα επιχρίσματος κοπράνων σε μέσο eNAT® (Κανονικός στειλεός με τριχίδια FLOQSwabs® 552C, μέσο μεταφοράς eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Συλλέγετε και φυλάσσετε τα δείγματα όπως υποδεικνύεται στις οδηγίες του κατασκευαστή.

Σε περίπτωση που το δείγμα δεν υποβληθεί σε επεξεργασία αμέσως μετά τη συλλογή του, τα νουκλεϊκά οξέα θα συντηρούνται μέσα σε μέσο μεταφοράς eNAT® για έως 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου και στους 4 °C, καθώς και για έως 6 μήνες στους -20 °C έως -80 °C (δείτε τις Οδηγίες χρήσης του μέσου μεταφοράς eNAT®⁵).

Προετοιμασία δείγματος

Χρησιμοποιήστε Κανονικό στειλεό με τριχίδια FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) για να συλλέξετε μικρή ποσότητα κοπράνων εισάγοντας το άκρο του στειλεού με τριχίδια μέσα στο δείγμα κοπράνων και περιστρέφοντάς το. Οι περιοχές αιματηρών, γλοιωδών ή υδαρών κοπράνων θα πρέπει να επιλέγονται και να συλλέγονται. Μετά τη συλλογή, εξετάστε τον στειλεό για να βεβαιωθείτε ότι υπάρχει ορατό υλικό κοπράνων πάνω στο άκρο. Σε διαφορετική περίπτωση, εισαγάγετε ξανά τον στειλεό με τριχίδια στο δείγμα κοπράνων και περιστρέψτε τον προσέχοντας ώστε να έρθει σε επαφή με το δείγμα όλη η περιοχή του άκρου του στειλεού. Μετά τη συλλογή, μεταφέρετε τον στειλεό μέσα στο σωληνάριο Copan eNAT® 2 ml με μέσο μεταφοράς eNAT®. Κρατήστε το στέλεχος του στειλεού ανάμεσα στον αντίχειρα και το δάκτυλό σας, πολτοποιήστε και αναμίξτε το δείγμα κοπράνων στις πλευρές του σωληναρίου ώστε να διασπαρεί ομοιόμορφα και να εναιωρηθεί το δείγμα στο μέσο συντήρησης. Κρατήστε το στέλεχος του στειλεού κοντά στο χέιλος του σωληναρίου και λυγίστε το σε γωνία 180 μοιρών ώστε να το σπάσετε στο επισημασμένο σημείο θραύσης. Απορρίψτε το σπασμένο επάνω μέρος του στελέχους του στειλεού και σφίξτε το πώμα. Ανακινήστε σχολαστικά το σωληνάριο δείγματος που περιέχει το επίχρισμα και το μέσο eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) ώστε να ομογενοποιηθεί και χρησιμοποιήστε συσκευή πιπέτας ώστε να πληρώσετε με 300 μl ομογενοποιημένου δείγματος ασθενούς την υποδοχή δείγματος της κασέτας.

Μη χρησιμοποιείτε παχύρρευστα δείγματα τα οποία είναι δύσκολα στην αναρόφηση με πιπέτα.

Αποτέλεσμα εξέτασης

Μετά την αυτόματη επεξεργασία του δείγματος με τον αναλυτή Vivalytic *one*, το αποτέλεσμα της εξέτασης εμφανίζεται στην οθόνη του αναλυτή Vivalytic *one*. Ο χρόνος έως την εμφάνιση του αποτελέσματος είναι περίπου 50 λεπτά. Τα αποτελέσματα δειγμάτων υψηλής τιτλοποίησης είναι διαθέσιμα μετά από λιγότερο από 35 λεπτά και η εξέταση μπορεί να τερματιστεί νωρίτερα (δείτε το κεφάλαιο Τερματισμός εξέτασης).

Το δείγμα κατηγοριοποιείται είτε ως θετικό για *C. difficile* ή αρνητικό για *C. difficile* είτε ως μη έγκυρο. Σε περίπτωση θετικής ανίχνευσης του *C. difficile*, η εξέταση θεωρείται έγκυρη ακόμα και αν ο μάρτυρας Human Control είναι αρνητικός.

Η ανίχνευση ολόκληρης της ποσότητας του μάρτυρα ελέγχου διεργασίας που βασίζεται σε ανθρώπινα κύτταρα (Human Control) σε αρνητικά δείγματα

Vivalytic C. difficile – Οδηγίες χρήσης

υποδεικνύει την επιτυχή διαδικασία εκχύλισης και αποκλείει την αναστολή της αντίδρασης PCR. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

C. difficile (tcdA / tcdB)	Human Control	Εγκυρότητα	Αποτέλεσμα
+	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>C. difficile</i> (ανιχνεύεται γονίδιο τοξίνης tcdA/tcdB).
-	+	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται αρνητικό για <i>C. difficile</i> (δεν ανιχνεύεται γονίδιο τοξίνης tcdA/tcdB)
-	-	μη έγκυρο	Αδυναμία αξιολόγησης. ¹

¹ Συνιστάται επανεξέταση.

PCR – Καμπύλη και τιμή C_q

Οι καμπύλες της PCR πραγματικού χρόνου (τροποποιημένες από το λογισμικό) εμφανίζονται και κατηγοριοποιούνται ως θετικές ή αρνητικές από το λογισμικό. Σε περίπτωση θετικών καμπυλών, προβάλλεται η αντίστοιχη τιμή C_q. Τα ασαφή αποτελέσματα επισημαίνονται από το λογισμικό (Δ). Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.

Μη έγκυρες ή ανεπιτυχείς εξετάσεις

Μια εξέταση αξιολογείται ως μη έγκυρη αν δεν ανιχνευτεί ούτε στοχευόμενο DNA ούτε Human Control. Οι πιθανοί λόγοι μη έγκυρης ανάλυσης μπορεί να είναι η κακή ποιότητα του δείγματος λόγω μερικής ή πλήρους απουσίας ανθρώπινου κυτταρικού υλικού στο δείγμα. Τα αποτελέσματα για ένα μη έγκυρο αποτέλεσμα προβάλλονται, αλλά δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστική ερμηνεία. Πριν πραγματοποιήσετε την εξέταση, φροντίστε να χρησιμοποιήσετε τον σωστό τύπο δείγματος, τον σωστό τρόπο συλλογής και αποθήκευσης του δείγματος, καθώς και τις σωστές κασέτες. Επαναλάβετε την ανάλυση με νέο δείγμα, εάν χρειαστεί.

Σε περίπτωση αποτυχίας της εξέτασης, πρώτα ελέγξτε εάν οι συνθήκες λειτουργίας του αναλυτή Vivalytic one είναι σωστές (ανατρέξτε στις Οδηγίες χρήσης του αναλυτή Vivalytic one). Επανεκκινήστε τον αναλυτή Vivalytic one. Εάν το πρόβλημα επιμένει, επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του τοπικού σας διανομέα.

Τερματισμός εξέτασης

Μόλις εμφανιστεί στην οθόνη ένα έγκυρο, θετικό για *C. difficile* αποτέλεσμα, ο χρήστης έχει την επιλογή να ολοκληρώσει την εξέταση.

Αναφορά εξέτασης

Στην εκτυπωμένη αναφορά εξέτασης, τα παθογόνα, τα αποτελέσματα, ο μάρτυρας και πληροφορίες για τον χρήστη, τον ασθενή, και τον αναλυτή Vivalytic one παρατίθενται με ένα πεδίο υπογραφής.

Έλεγχος ποιότητας

Εάν απαιτείται από τα τοπικά ή εργαστηριακά πρότυπα, πρέπει να πραγματοποιηθεί έλεγχος ποιότητας.

Σε περίπτωση που απαιτείται μέθοδος εξέτασης αναφοράς για έλεγχο ποιότητας, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε τα παρακάτω υλικά αναφοράς: CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. Spain).

Ακολουθείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή.

Σε περίπτωση απρόσμενων αποτελεσμάτων, επαναλάβετε την ανάλυση με άλλο δείγμα. Εάν το αποτέλεσμα ενός αρνητικού δείγματος ελέγχου ποιότητας, π.χ. το καθαρό υλικό μεταφοράς eNAT® παραμένει θετικό, ο αναλυτής Vivalytic one ή το περιβάλλον γύρω από αυτόν ενδέχεται να έχει επιμολυνθεί. Διακόψτε τη χρήση του αναλυτή Vivalytic one και καθαρίστε τη συσκευή, όπως περιγράφεται στις Οδηγίες χρήσης του αναλυτή Vivalytic one.

Σε περίπτωση επαναλαμβανόμενων ψευδών αποτελεσμάτων σε δείγματα ελέγχου ποιότητας, επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του τοπικού σας διανομέα.

Ειδοποίηση για τους χρήστες στην ΕΕ

Οποιοδήποτε σοβαρό συμβάν το οποίο έχει λάβει χώρα σε σχέση με τη συσκευή θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο διαμένει ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα της εξέτασης Vivalytic *C. difficile* πρέπει να ερμηνεύονται μόνο από εκπαιδευμένο επαγγελματία υγείας. Τα αποτελέσματα της εξέτασης Vivalytic *C. difficile* δεν πρέπει να χρησιμοποιούνται ως η μοναδική παράμετρος για τη διάγνωση.

- Ένα αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει την ύπαρξη παθογόνων στο δείγμα σε επίπεδο χαμηλότερο από την ευαισθησία του προσδιορισμού ή την ύπαρξη άλλων παθογόνων που δεν καλύπτονται από τον συγκεκριμένο προσδιορισμό.
- Υπάρχει κίνδυνος ψευδώς αρνητικών ή ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων που οφείλονται σε ακατάλληλη συλλογή, μεταφορά ή χειρισμό των δειγμάτων.
- Σε οριακές περιπτώσεις, ενδέχεται να προκύψουν άτυπα χαρακτηριστικά PCR (π.χ. επίπεδη καμπύλη με χαμηλή ή υψηλή τιμή C_d). Σε περίπτωση άτυπων χαρακτηριστικών, τα αποτελέσματα δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστική ερμηνεία. Τα ασαφή αποτελέσματα επισημαίνονται από το λογισμικό. Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.
- Το Vivalytic *C. difficile* είναι μια ποιοτική εξέταση βάσει PCR πραγματικού χρόνου και δεν παρέχει ποσοτικό αποτέλεσμα.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν σημαίνει απαραίτητα ότι υπάρχουν βιώσιμα παθογόνα.
- Η εξέταση ανιχνεύει το *C. difficile* που φέρει γονίδια *tcdA/tcdB*, αλλά δεν εκτελεί διαφοροποίηση μεταξύ στελεχών που παράγουν τοξίνη και στελεχών που δεν παράγουν τοξίνη
- Το αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει τη λοίμωξη από *C. difficile*. Συνιστάται τα αρνητικά εξετασμένα δείγματα να ερμηνεύονται μαζί με επιπλέον εργαστηριακά δεδομένα
- Η υπερβολική ποσότητα κοπράνων ενδέχεται να έχει ανασταλτικές επιδράσεις στην απόδοση του προσδιορισμού.

Αξιολόγηση της αναλυτικής απόδοσης

Αναλυτική ευαισθησία (Όριο ανίχνευσης)

Ως όριο ανίχνευσης της εξέτασης Vivalytic *C. difficile* προσδιορίστηκε η χαμηλότερη συγκέντρωση αναλυόμενης ουσίας που μπορεί να ανιχνευτεί σταθερά ($\geq 95\%$ των δειγμάτων που εξετάστηκαν υπό εργαστηριακές συνθήκες ρουτίνας με τη χρήση καθορισμένου τύπου δείγματος).

Συμπερίληψη

Για την αξιολόγηση της συμπερίληψης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση *in silico* (ευθυγράμμιση BLAST) της αλληλουχίας του γονιδιώματος διαφόρων συναφών στελεχών του *C. difficile* έναντι της αλληλουχίας των εκκινητών PCR και του ανιχνευτή υδρόλυσης που χρησιμοποιούνται στην εξέταση Vivalytic *C. difficile* για την ενίσχυση και την ανίχνευση των αντίστοιχων παθογόνων. . Συμπερίληψη θα μπορούσε να καταδειχθεί για τα στελέχη που παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Αποκλεισμός/Αναλυτική ειδικότητα

Προκειμένου να αποκλειστεί η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα (αποκλεισμός), διενεργήθηκε ανάλυση *in-silico* (ευθυγράμμιση BLAST) της περιοχής στόχου του *C. difficile* έναντι των αλληλουχιών γονιδιώματος διαφόρων άλλων κοινών παθογόνων του γαστρεντερικού ή στενών συγγενικών ειδών. Δεν υπήρξαν στοιχεία παρεμβολής (Πίνακας 3).

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Vivalytic C. difficile διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του C. difficile. Σε 3 περιοχές εξέτασης, κάθε μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Vivalytic από τον ίδιο χειριστή με 3 παρτίδες σε 4 επαναληπτικά δείγματα σε 3 ημέρες, αντίστοιχα, αποφέροντας συνολικά 324 παρατηρήσεις ανά στοχευόμενο παθογόνο. Τα ποσοστά θετικότητας που προέκυψαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς συσχετίστηκαν με το αναμενόμενο ποσοστό θετικότητας (Πίνακας 4α).

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα α της εξέτασης Vivalytic C. difficile διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 1 συγκέντρωση (3x c95) του C. difficile. Σε 1 περιοχή εξέτασης, το μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Vivalytic από τον ίδιο χειριστή με 3 παρτίδες σε 20 επαναληπτικά δείγματα σε 1 ημέρα, αντίστοιχα, αποφέροντας συνολικά 60 παρατηρήσεις ανά στοχευόμενο παθογόνο. Τα ποσοστά θετικότητας που προέκυψαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς συσχετίστηκαν με το αναμενόμενο ποσοστό θετικότητας (Πίνακας 4β).

Παρεμβολές

Οι παρεμβολές αξιολογήθηκαν για ενδογενείς και εξωγενείς ουσίες που ενδεχομένως υπάρχουν στο δείγμα του ασθενούς. Για τις ουσίες που μπορεί δυνητικά να προκαλέσουν παρεμβολές στην εξέταση, ανατρέξτε στον Πίνακα 5.

Αξιολόγηση της κλινικής απόδοσης

Αποτελέσματα ευαισθησίας και ειδικότητας που προκύπτουν από εγγενή δείγματα υδαρών και μαλακών ανθρώπινων κοπράνων. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε κλινικό περιβάλλον και υποβλήθηκαν σε σύγκριση με αποτελέσματα μεθόδων αναφοράς.

Τα δείγματα για την εξέταση με κασέτες Vivalytic C. difficile χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα ή καταψύχθηκαν για αποθήκευση και προετοιμάστηκαν όπως περιγράφεται παραπάνω μέσα σε eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Σε περίπτωση εξετάσεων αναφοράς, τα δείγματα προετοιμάστηκαν σύμφωνα με τις συστάσεις των μεθόδων αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν. Συνολικά, αναλύθηκαν 124 δείγματα. Η ευαισθησία ή ποσοστιαία συμφωνία θετικού (PPA) υπολογίστηκε ως $100\% \times A\Theta / (A\Theta + \Psi A)$. Η ειδικότητα ή η ποσοστιαία συμφωνία αρνητικού υπολογίστηκε ως $100\% \times A\Lambda / (A\Lambda + \Psi\Theta)$. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της κλινικής απόδοσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.














Τεχνική υποστήριξη


Σε περίπτωση ερωτημάτων, επικοινωνήστε με τον τοπικό διανομέα ή αποστείλετε μήνυμα στην εξυπηρέτηση πελατών της Vivalytic (email: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Βιβλιογραφία

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Σύμβολα

	Κατασκευαστής		Σειριακός αριθμός
	Ημερομηνία κατασκευής		Όριο θερμοκρασίας
	Ημερομηνία λήξης		Μη χρησιμοποιείτε το προϊόν, εάν η συσκευασία είναι κατεστραμμένη
	Αριθμός παρτίδας		Για μία μόνο χρήση
	Αριθμός αναφοράς		Συμβουλευθείτε τις Οδηγίες χρήσης
	Περιέχει <n> εξετάσεις		<i>In vitro</i> διαγνωστική ιατρική συσκευή
	Σήμανση CE		

 **300μl** Διανείμετε με πιπέτα τον υποδεικνυόμενο όγκο δείγματος στην υποδοχή δείγματος της κασέτας, όπως επισημαίνεται με το μαύρο τρίγωνο.

Introducción

Clostridioides difficile (*C. difficile*) es un bacilo grampositivo anaerobio formador de esporas compuesto por cepas toxigénicas y no toxigénicas.

C. difficile es uno de los patógenos más comunes de la diarrea nosocomial, especialmente en pacientes con diarrea asociada a antibióticos. En los últimos años, el número y la gravedad de casos ha aumentado tanto en Europa como en el resto del mundo.¹

Los síntomas de la infección por *C. difficile* (ICD) varían desde una diarrea moderada a una colitis pseudomembranosa grave potencialmente mortal, aunque la colonización de *C. difficile* no siempre conlleva una infección sintomática. La alteración del equilibrio de los microorganismos del intestino, por ejemplo por un tratamiento antibiótico, puede propiciar el establecimiento de *C. difficile* toxigénica, imponer la colonización y convertirse en el inicio de una ICD.²

Los factores implicados en la patogénesis de *C. difficile* son los genes *tcdA* y *tcdB* que codifican la toxina A (enterotoxina) y la toxina B (citotoxina) ubicadas en una región cromosómica 19,6 kb denominada locus de patogenicidad (PaLoc). La mayoría de las cepas patogénicas son toxinas A y B positivas (A+B+), pero algunos aislados de variantes patogénicas pueden ser toxinas A negativas y B positivas (A-B+). Estas son la causa de las enfermedades asociadas a *C. difficile*.³

Algunas cepas de *C. difficile* toxigénica también producen una toxina denominada *C. difficile* transferasa (CDT) o toxina binaria.⁴

Contenido del paquete

15 cartuchos de la prueba Vivalytic *C. difficile* para la detección cualitativa de secuencias genéticas de las toxinas *tcdA/tcdB* específicas de *Clostridioides difficile*.

Uso previsto

La prueba Vivalytic *C. difficile* es una prueba cualitativa automatizada de diagnóstico *in vitro* basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección de ácidos nucleicos de cepas toxigénicas de *C. difficile* (genes de las toxinas *tcdA/tcdB*) a partir de hisopos de heces humanas líquidas o blandas para ayudar en el diagnóstico de infecciones gastrointestinales agudas de sujetos sintomáticos.

Los resultados no deben utilizarse como la única base para el diagnóstico, el tratamiento u otras decisiones de tratamiento del paciente. Los resultados positivos no excluyen una infección conjunta con otros patógenos. Los agentes detectados pueden no ser la causa definitiva de la enfermedad. Los resultados negativos no excluyen una infección por *C. difficile* ni otras infecciones gastrointestinales. Los resultados deben correlacionarse clínicamente con el historial del paciente, las observaciones clínicas e información epidemiológica. Se requiere otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Diseñado para su uso con un analizador Vivalytic *one* por parte de profesionales sanitarios únicamente en entornos de laboratorio como laboratorios de hospitales y laboratorios de referencia.

Información de seguridad

Estas instrucciones de uso solo incluyen información específica sobre la prueba. Para conocer advertencias e instrucciones adicionales, consulte las instrucciones de uso suministradas con el analizador Vivalytic *one* (capítulo de información de seguridad del dispositivo). Utilice únicamente cartuchos y accesorios Vivalytic aprobados para el analizador Vivalytic *one*. Preste atención para evitar la contaminación durante la manipulación de las muestras de paciente y los cartuchos. Si se derrama una muestra en el cartucho, no utilice el cartucho, y deséchelo.

Para uso de diagnóstico *in vitro* por parte de profesionales sanitarios cualificados.

**ADVERTENCIA**

- Siga siempre las buenas prácticas de laboratorio para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba.
- Asegúrese de usar un equipo de protección individual (EPI) adecuado.
- No use un cartucho si detecta daños en la bolsa sellada o en el propio cartucho.
- No toque ni rasque el área de detección del cartucho.
- No reutilice un cartucho.
- No utilice cartuchos caducados. La fecha de caducidad se indica en el embalaje y la etiqueta del cartucho.
- No espere más de 15 minutos tras la apertura de la bolsa del cartucho para empezar la prueba. De este modo se mantiene la higiene y se evita la pérdida de rendimiento a causa de la humedad. La exposición prolongada a la humedad impacta negativamente en el rendimiento de la prueba.
- No agite cartuchos que contengan muestras.
- No ponga el cartucho del revés.
- Coloque el cartucho únicamente sobre una superficie limpia y plana.
- No utilice tipos de muestra, medios o volúmenes que no estén aprobados para la prueba.
- Siga siempre las buenas prácticas de laboratorio para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben considerarse como potenciales transmisores de agentes infecciosos que requieren precauciones estándar. Manipule las muestras y cartuchos de pacientes potencialmente infecciosos de acuerdo con las normas nacionales de laboratorio y deseche las muestras y cartuchos conforme a las normas de laboratorio y regionales.
- Cumpla las regulaciones y prácticas de seguridad nacionales.

Nota: puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad (SDS) del producto. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de su distribuidor local.

Equipo adicional y material consumible requerido pero no suministrado

- Analizador Bosch Vivalytic *one* (n.º de referencia F 09G 300 115)
- Pipeteador (100-1000 µl)
- Puntas de pipeta con filtro estériles 100-1000 µl
- Kits de recogida con hisopo
 - Hisopo flocado normal FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Medio de transporte
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ropa protectora adecuada

Principio de la prueba

Vivalytic C. difficile es una prueba cualitativa basada en la PCR a tiempo real.

Condiciones de uso y almacenamiento

El producto es estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a una temperatura de entre +15 °C y +25 °C. Las condiciones de uso y almacenamiento pueden consultarse en la etiqueta del cartucho, de la bolsa o de la caja. El cartucho debe utilizarse a una temperatura que oscile entre +15 °C y +25 °C, con una humedad relativa <65 % y en un plazo de 15 minutos a partir de la apertura de la bolsa. De este modo se mantiene la higiene y se evita la pérdida de rendimiento a causa de la humedad. La exposición prolongada a la humedad impacta negativamente en el rendimiento de la prueba.

Reactivos

Todos los reactivos necesarios para el procesamiento de la muestra están integrados en el cartucho. El procesamiento incluye lisis celular, extracción de ácido nucleico, amplificación del ADN y detección.

Los reactivos son microesferas de PCR, tampón de unión, tampón de lavado y tampón de elución. Las microesferas de PCR contienen ADN polimerasa, cebadores y sondas. El tampón de unión facilita la fijación de los ácidos

nucleicos durante el proceso de purificación. El tampón de lavado es una formulación de distintas sales y disolventes para eliminar las impurezas (p. ej., las proteínas) durante el proceso de extracción. El tampón de elución es un tampón de baja salinidad que contiene ácidos nucleicos purificados al final del proceso de extracción.

Tipo de muestra/Medio

La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de hisopos fecales en medio eNAT® (hisopo flocado normal FLOQSwabs® 552C, medio de transporte eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Recoja y conserve las muestras tal y como se indica en las instrucciones del fabricante.

En caso de que la muestra no se procese inmediatamente después de su obtención, los ácidos nucleicos se conservarán en el medio de transporte eNAT® hasta 4 semanas a temperatura ambiente y a 4 °C, y hasta 6 meses a una temperatura comprendida entre -20 °C y -80 °C (consulte las Instrucciones de uso del medio de transporte eNAT®⁵).

Preparación de la muestra

Utilice un hisopo flocado normal FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) para la obtención de una pequeña cantidad de heces introduciendo la punta del hisopo flocado en la muestra de heces y haciéndolo girar. Deberían seleccionarse áreas sanguinolentas, viscosas o acuosas para realizar la obtención. Tras la obtención, examine el hisopo para comprobar que en la punta haya material fecal visible. Si no lo hay, vuelva a introducir el hisopo flocado en la muestra de heces y hágalo girar procurando que la zona de la punta del hisopo esté en contacto con la muestra. Tras la obtención, transfiera el hisopo al tubo Copan eNAT® de 2 ml con medio de transporte eNAT®. Sujete el eje del hisopo entre el pulgar y el índice, y aplaste y mezcle la muestra de heces contra el lateral del tubo para que la muestra se disperse y suspenda de manera uniforme en el medio de conservación. Sujete el eje del hisopo cerca del borde del tubo, dóblelo en un ángulo de 180 grados y rómpalo por el punto de corte marcado. Deseche la parte superior rota del eje del hisopo y apriete la tapa. Agite el tubo de muestra que contiene el hisopo de muestra y el medio eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) para su completa homogenización y utilice un pipeteador para introducir 300 µl de muestra homogenizada del paciente en la entrada de muestra del cartucho.

No utilice muestras viscosas difíciles de pipetear.

Resultado de la prueba

Después del procesamiento automático de la muestra con el analizador Vivalytic *one*, el resultado de la prueba se muestra en la pantalla del analizador Vivalytic *one*. El tiempo necesario para la obtención del resultado es de unos 50 minutos. Los resultados de las muestras con título elevado están disponibles en menos de 35 minutos, momento en que puede finalizarse la prueba (consulte el capítulo Finalización de la prueba).

La muestra se clasifica como positiva para *C. difficile*, negativa para *C. difficile* o no válida. En el caso de la detección positiva de *C. difficile*, la prueba se considera válida incluso si el control Human Control es negativo.

La detección del control basado en células humanas (Human Control) para la totalidad del proceso en muestras negativas indica un procedimiento de extracción correcto y descarta una inhibición de la reacción PCR. La interpretación de los resultados se indica en la tabla que figura a continuación.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validez	Resultado
+	+/-	válida	La muestra se considera positiva para <i>C. difficile</i> (detección del gen de la toxina tcdA/tcdB).
-	+	válida	La muestra se considera negativa para <i>C. difficile</i> (ausencia de detección del gen de la toxina tcdA/tcdB).
-	-	no válida	No evaluable. ¹

¹ Se recomienda la repetición de la prueba.

PCR – Curva y valor C_q

El software muestra y clasifica las curvas de PCR a tiempo real (modificadas por el software) como positivas o negativas. En el caso de una curva positiva, se muestra el valor C_q correspondiente. El software marca los resultados no concluyentes (Δ). En estos casos, se recomienda repetir la prueba.

Pruebas no válidas o erróneas

Una prueba se considera no válida cuando no se detecta ADN diana ni Human Control. Una de las posibles causas de una realización no válida de la prueba puede ser la escasez de calidad de la muestra debido a la ausencia total o parcial de material celular humano en la muestra. Los resultados se muestran en caso de una prueba no válida, pero no se permite su uso para la interpretación del diagnóstico. Preste atención para utilizar el tipo de muestra correcto y recoja y almacene adecuadamente las muestras y los cartuchos antes de realizar la prueba. En caso necesario, repita el análisis con una muestra nueva.

Si la prueba es errónea, compruebe primero que las condiciones de uso del analizador Vivalytic *one* son correctas (consulte las Instrucciones de uso del analizador Vivalytic *one*). Reinicie el analizador Vivalytic *one*. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de su distribuidor local.

Finalización de la prueba

Cuando en pantalla se muestre un resultado válido positivo de *C. difficile*, el usuario tiene la opción de finalizar la prueba.

Informe de la prueba

Junto con un campo para firma, en el informe impreso de la prueba se muestran el patógeno, los resultados, el control e información sobre el usuario, el paciente y el analizador Vivalytic *one*.

Control de calidad

Si las normas locales o de laboratorio lo requieren, debe realizarse una prueba de control de calidad.

Si se requiere un método de prueba de referencia para el control de calidad, se pueden usar los materiales de referencia siguientes:

CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K TOTAL CONTROL (NEUTRAL), Vircell S.L. España).

Siga las instrucciones del fabricante.

En caso de resultados inesperados, repita el análisis con otra muestra. Si el resultado de una muestra de control de calidad negativo, p. ej., si el medio eNAT® sigue siendo positivo, es posible que el analizador Vivalytic *one* o su entorno estén contaminados. Deje de utilizar el analizador Vivalytic *one* y limpie el dispositivo tal como se describe en las Instrucciones de uso del analizador Vivalytic *one*.

Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de su distribuidor local si se repiten los resultados falsos de las muestras de control de calidad.

Aviso para los usuarios de la UE

Cualquier incidente grave que se produzca relacionado con el dispositivo debe ser notificado al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Limitaciones

Los resultados de la prueba Vivalytic C. difficile únicamente deben ser interpretados por un profesional de la salud capacitado. Los resultados de la prueba Vivalytic C. difficile no deben emplearse como parámetro exclusivo para el diagnóstico.

- Un resultado negativo no descarta que haya patógenos presentes en la muestra a un nivel inferior a la sensibilidad analítica o que estén presentes otros patógenos que no estén cubiertos por este ensayo.
- Si las muestras se recogen, transportan o manipulan de forma incorrecta, existe riesgo de obtener resultados falsos negativos o falsos positivos.

- En casos límite, pueden aparecer características de PCR atípicas (p. ej., curva plana con un valor C_q bajo o alto). Si se presentan características atípicas, los resultados no pueden utilizarse para la interpretación del diagnóstico. El software marca los resultados no concluyentes. En estos casos, se recomienda repetir la prueba.
- Vivalytic *C. difficile* es una prueba cualitativa basada en la PCR a tiempo real y no proporciona un resultado cuantitativo.
- Un resultado positivo no indica necesariamente que existan patógenos viables.
- La prueba detecta la bacteria *C. difficile* portadora de los genes *tcdA/tcdB*, pero no diferencia entre las cepas generadoras de toxinas y las que no generan.
- Un resultado negativo no excluye la infección por *C. difficile*. Se recomienda interpretar las muestras con resultado negativo en contexto con datos de laboratorio adicionales.
- Una cantidad excesiva de heces puede tener efectos inhibidores en el rendimiento del ensayo.

Evaluación del rendimiento analítico

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección de la prueba Vivalytic *C. difficile* se determinó con la concentración más baja de analito que puede detectarse de manera constante ($\geq 95\%$ de muestras analizadas en condiciones rutinarias de laboratorio con un tipo definido de muestra).

Inclusividad

Para evaluar la inclusividad, se realizó un análisis *in silico* (alineación BLAST) de la secuencia genómica de diferentes cepas relevantes de *C. difficile* con relación a la secuencia de los cebadores de PCR y la sonda de hidrólisis utilizados en la prueba Vivalytic *C. difficile* para la amplificación y detección de los patógenos respectivos. Se determinó la inclusividad para las cepas incluidas en la [tabla 2](#).

Exclusividad/Especificidad analítica

Para descartar la reactividad cruzada (exclusividad), se llevó a cabo un análisis *in silico* (alineación BLAST) de la región diana de *C. difficile* en la secuencia genómica de otros patógenos distintos representativos de patógenos gastrointestinales comunes o de especies estrechamente relacionadas. No hubo evidencia de interferencias ([tabla 3](#)).

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba Vivalytic *C. difficile* se estableció con un panel de 3 concentraciones distintas de *C. difficile*. Un mismo operador, en 3 centros de prueba, se encargó de analizar cada mezcla en el mismo conjunto de instrumentos Vivalytic utilizando 3 LOTES en 4 réplicas durante 3 días, respectivamente, obteniendo así un total de 324 observaciones por patógeno diana. Las tasas de positividad obtenidas para las distintas combinaciones mostraron correlación con la tasa de positividad esperada ([tabla 4a](#)).

Repetibilidad

La repetibilidad de la prueba Vivalytic *C. difficile* se estableció con un panel de 1 concentración ($3 \times c95$) de *C. difficile*. Un mismo operador, en 1 centro de prueba, se encargó de analizar la mezcla en el mismo conjunto de instrumentos Vivalytic utilizando 3 LOTES en 20 réplicas durante 1 día, respectivamente, obteniendo así un total de 60 observaciones por patógeno diana. Las tasas de positividad obtenidas para las distintas combinaciones mostraron correlación con la tasa de positividad esperada ([tabla 4b](#)).

Interferencias

Se evaluaron las interferencias causadas por sustancias endógenas y exógenas que podrían estar presentes en la muestra del paciente. Consulte la [tabla 5](#) para conocer las sustancias que pueden interferir con la prueba.

Evaluación del rendimiento clínico

Los resultados de sensibilidad y especificidad se derivaron de muestras de heces humanas líquidas y blandas. Las muestras se recogieron en un entorno clínico y se compararon con los resultados obtenidos de los métodos de referencia.

Las muestras para el análisis con los cartuchos Vivalytic C. difficile eran muestras frescas para usar o congeladas para conservar y preparadas según se ha descrito anteriormente en medio eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Para el análisis de referencia, las muestras se prepararon según las recomendaciones de los métodos de referencia utilizados. En total se analizaron 124 muestras. La sensibilidad o concordancia de porcentaje de positivos (CPP) se calculó como el $100\% \times TP / (TP + FN)$. La especificidad o concordancia de porcentaje de negativos se calculó como el $100\% \times TN / (TN + FP)$. Los resultados de la evaluación del rendimiento clínico se muestran en la [tabla 6](#).

Asistencia técnica

Para solucionar preguntas, póngase en contacto con su distribuidor local o envíe un mensaje al servicio de atención al cliente de Vivalytic (correo electrónico: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referencias

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instrucciones de uso del Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Símbolos



Fabricante



Número de serie



Fecha de fabricación



Límite de temperatura



Fecha de caducidad



No utilizar si el envase está dañado



Número de lote



Exclusivamente para un solo uso



Número de referencia



Consultar las Instrucciones de uso



Contiene <n> pruebas



Producto médico para diagnóstico *in vitro*



Marcado CE



Pipetee el volumen de muestra indicado en la entrada para muestra del cartucho, como lo marca el triángulo negro.

Introdução

Clostridioides difficile (*C. difficile*) é um bacilo anaeróbio gram positivo, formador de esporos, que consiste em estirpes toxigênicas e não toxigênicas.

C. difficile é um dos agentes patogênicos de diarreia nosocomial mais comuns, especialmente em pacientes com diarreia associada a antibióticos. Nos últimos anos, o número e a gravidade dos casos têm vindo a aumentar na Europa e em todo o mundo.¹

Os sintomas da infeção *C. difficile* (CDI) vão desde uma ligeira diarreia até colite pseudomembranosa grave com risco de vida, embora a colonização de *C. difficile* não conduza necessariamente a uma infeção sintomática. A perturbação do equilíbrio da microbiota intestinal, p. ex. devido a tratamentos com antibióticos, pode fazer com que o *C. difficile* toxigénico se estabeleça, domine a colonização e pode ser o início da CDI.²

Fatores envolvidos na patogénese de *C. difficile* são os genes *tcdA* e *tcdB* que codificam a toxina A (enterotoxina) e a toxina B (citotoxina), que se encontram numa região cromossómica de 19,6 kb denominada locus de patogenicidade (PaLoc). A maioria das estirpes patogénicas é positiva para toxinas A e B (A+B+), mas algumas variantes patogénicas isoladas podem ser negativas para toxina A e positivas B (A-B+). Elas são a causa de doenças associadas a *C. difficile*.³

Algumas estirpes de *C. difficile* também produzem uma toxina chamada *C. difficile* transferase (CDT), ou toxina binária.⁴

Conteúdo da embalagem

15 cartuchos de teste Vivalytic C. difficile para a deteção qualitativa de sequências genéticas de toxinas *tcdA/tcdB* específicas de *Clostridioides difficile*.

Utilização prevista

O teste Vivalytic C. difficile é um teste de diagnóstico *in vitro* qualitativo automatizado, com base na reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, para a deteção de ácidos nucleicos de *C. difficile* toxigénica (genes de toxina *tcdA/tcdB*) de exsudados de fezes humanas líquidas ou moles para ajudar no diagnóstico de gastroenterite infecciosa aguda de indivíduos sintomáticos.

Os resultados não devem ser utilizados como a única base para o diagnóstico, tratamento ou outras decisões de gestão do paciente. Os resultados positivos não excluem a coinfeção com outros patógenos. O agente ou agentes detetado(s) pode(m) não ser a causa definitiva da doença. Resultados negativos não excluem uma infeção *C. difficile* ou outra infeção gastrointestinal. Os resultados devem ser correlacionados clinicamente com o histórico do paciente, observações clínicas e informações epidemiológicas. São necessárias outras informações de diagnóstico para determinar o estado de infeção do paciente. Concebido para ser usado com um analisador Vivalytic *one* por profissionais de saúde somente em contextos laboratoriais, como laboratórios hospitalares e de referência.

Informações de segurança

Estas instruções de utilização contêm apenas informações específicas do teste. Para instruções e avisos adicionais, consulte as instruções de utilização fornecidas com o seu analisador Vivalytic *one* (capítulo de informações de segurança do dispositivo). Utilize apenas acessórios e cartuchos Vivalytic aprovados para o analisador Vivalytic *one*. Tenha cuidado para evitar qualquer contaminação quando manusear cartuchos e amostras de pacientes. Quando for derramada amostra no cartucho, não utilize o cartucho e elimine-o.

Para utilização em diagnóstico *in vitro* por profissionais de saúde com a devida formação.



ADVERTÊNCIA

- Siga sempre as boas práticas laboratoriais para assegurar o bom desempenho deste teste.
- Assegure-se de que usa equipamento de proteção pessoal adequado (EPP).
- Não utilize um cartucho se a embalagem selada ou o próprio cartucho estiver visivelmente danificada(o).
- Não toque nem risque a área de deteção do cartucho.
- Não reutilize um cartucho.
- Não utilize cartuchos com prazos de validade expirados. O prazo de validade encontra-se na embalagem e na etiqueta do cartucho.
- Não aguarde mais do que 15 minutos após a abertura da embalagem do cartucho para iniciar o teste. A embalagem mantém a higiene e evita a perda de desempenho provocada pela humidade. A exposição prolongada à humidade tem um impacto negativo no desempenho do teste.
- Não agite um cartucho que contenha uma amostra.
- Não vire o cartucho ao contrário.
- Apenas coloque o cartucho numa superfície limpa e plana.
- Não utilize tipos de amostras, meios e volumes que não sejam aprovados para a aplicação do teste.
- Siga sempre as boas práticas laboratoriais para assegurar o bom desempenho deste teste.
- Espécimes biológicos, dispositivos de transferência e cartuchos utilizados devem ser considerados como capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo as precauções normalizadas. Manuseie as amostras e os cartuchos de pacientes potencialmente infetados conforme as normas de laboratório nacionais e elimine-os de acordo com as normas regionais e laboratoriais.
- Cumpra os procedimentos e as regulamentações de segurança nacionais.

Nota: informações adicionais encontram-se folha de dados de segurança (SDS-safety data sheet) do produto. Contacte o serviço de apoio ao cliente do seu distribuidor local.

Equipamentos adicionais e consumíveis necessários mas não fornecidos

- Analisador Vivalytic *one* da Bosch (número de referência F 09G 300 115)
- Pipetador (100 a 1000 µl)
- Pontas de pipeta de filtro esterilizadas 100 a 1000 µl
- Kits de colheita de exsudados
 - Zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Meio de transporte
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Roupa de proteção adequada

Princípio de teste

O Vivalytic C. difficile é um teste qualitativo baseado em PCR em tempo real.

Condições de armazenamento e utilização

O produto permanece estável até à data de validade se for armazenado a uma temperatura entre +15 °C e +25 °C. As condições de armazenamento e utilização podem ser consultadas no cartucho, na embalagem ou na etiqueta da caixa. O cartucho tem de ser utilizado a uma temperatura entre +15 °C e +25 °C, humidade relativa <65%, no prazo de 15 minutos após a abertura da embalagem. A embalagem mantém a higiene e evita a perda de desempenho provocada pela humidade. A exposição prolongada à humidade tem um impacto negativo no desempenho do teste.

Reagentes

Todos os reagentes necessários para o processamento das amostras estão incluídos no cartucho. O processamento inclui lise celular, extração de ácidos nucleicos, amplificação e deteção de ADN.

Os reagentes são esferas de PCR, tampões de ligação, tampões de lavagem e tampões de eluição. As esferas PCR contêm polimerase de ADN, primers e

sondas. O tampão de ligação facilita a ligação dos ácidos nucleicos durante o processo de purificação. O tampão de lavagem é uma formulação de diferentes sais e solventes para remover impurezas, por ex., proteínas durante o processo de extração. O tampão de eluição é um tampão de baixo teor de sal e contém os ácidos nucleicos purificados no final do processo de extração.

Tipos/meio de amostra

O teste foi concebido para ser usado com amostras de exsudado de fezes em meio eNAT® (zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® 552C, meio de transporte eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Efetue a colheita de amostras e armazene-as conforme indicado nas instruções do fabricante.

No caso de a amostra não ser processada imediatamente após a colheita da amostra, os ácidos nucleicos são preservados em meio de transporte eNAT® durante até 4 semanas à temperatura ambiente e a 4 °C e até 6 meses a temperaturas desde os -20 °C a -80 °C (consulte as Instruções de utilização do meio de transporte eNAT®⁵).

Preparação da amostra

Use uma zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) para colher uma pequena quantidade de fezes, inserindo a ponta da zaragatoa tufada na amostra de fezes e rodando-a. Deve ser escolhida e colhida a área ensanguentada, viscosa ou aguada das fezes. Depois da colheita, examine o exsudado para garantir que existe material fecal visível na ponta. Caso não exista, volte a inserir a zaragatoa tufada na amostra de fezes e rode, tendo o cuidado de toda a área da ponta da zaragatoa estar em contacto com a amostra. Depois da colheita, transfira a zaragatoa para o tubo de 2 ml Copan eNAT® com meio de transporte eNAT®. Segure na haste da zaragatoa entre o polegar e o indicador, esmague e misture a amostra de fezes contra o lado do tubo para dispersar e suspender a amostra de forma uniforme no meio de conservação. Segure na haste da zaragatoa perto da borda do tubo, dobre-a num ângulo de 180 graus para parti-la no ponto de quebra marcado. Deite fora a parte superior partida da haste da zaragatoa e aperte a tampa. Agite o tubo de amostra que contém a amostra de exsudado e o meio eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) muito bem para homogeneização e use um pipetador para encher 300 µl de amostra do paciente homogeneizada na entrada de amostra do cartucho.

Não utilize amostras viscosas que são difíceis de pipetar.

Resultado do teste

Depois do processamento automático da amostra com o analisador Vivalytic *one*, o resultado do teste é indicado no ecrã do analisador Vivalytic *one*. O tempo até ao resultado é de cerca de 50 min. Para espécimes de titulação alta, os resultados ficam disponíveis passados menos de 35 minutos e a execução do teste pode ser concluída mais cedo (consulte o capítulo Terminar o teste).

A amostra é classificada como sendo positiva para *C. difficile*, negativa para *C. difficile* ou inválida. No caso de uma deteção positiva de *C. difficile*, o teste é considerado válido mesmo se o Human Control for negativo.

Em amostras negativas, a deteção do controlo do processo inteiro baseado em células humanas (Human Control), indica um procedimento de extração bem-sucedido e exclui uma inibição da reação PCR. A interpretação dos resultados é indicada na tabela a seguir.

<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validade	Resultado
+	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para <i>C. difficile</i> (detetado o gene de toxina tcdA/tcdB).
-	+	válido	A amostra é considerada negativa para <i>C. difficile</i> (detetado o gene de toxina tcdA/tcdB)
-	-	inválido	Não pode ser avaliado. ¹

¹ Recomenda-se a repetição do teste.

PCR – Curva e valor C_q

As curvas de PCR (modificadas por software) em tempo real são apresentadas e classificadas pelo software como positivas ou negativas. No caso de curvas positivas, é apresentado o respetivo valor C_q . Resultados inconclusivos são assinalados pelo software (Δ). É recomendado repetir o teste.

Testes inválidos ou falhados

Um teste é classificado como inválido, se não for detetado ADN alvo nem nenhum Human Control. As causas possíveis para uma execução inválida podem ser fraca qualidade da amostra devido a uma ausência parcial ou total de material celular humano na amostra. No caso de um teste inválido, os resultados são apresentados, mas não podem ser utilizados para a interpretação do diagnóstico. Antes da execução do teste, assegure-se de que utiliza o tipo de amostra, colheita e armazenamento de amostra e cartuchos corretos. Repita a análise com um uma nova amostra, se necessário.

Em caso de um teste falhado, primeiro verifique se as condições de operação do analisador Vivalytic *one* estão corretas (consulte as Instruções de utilização do analisador Vivalytic *one*). Reinicie o analisador Vivalytic *one*. Se o problema persistir, contacte o serviço de apoio ao cliente do seu distribuidor local.

Terminar o teste

Assim que aparecer um resultado *C. difficile* positivo válido no ecrã, o utilizador tem a opção de terminar o teste.

Relatório de testes

No relatório de teste impresso estão indicados o agente patogénico, os resultados, controlos e informações sobre o utilizador, o paciente e o analisador Vivalytic *one*, com um campo de assinatura.

Controlo de qualidade

Se for exigido pelas normas locais ou laboratoriais, devem ser executados testes de controlo de qualidade.

No caso de ser necessário um método de testes de referência para controlo de qualidade, podem ser utilizados os seguintes materiais de referência:

CONTROLO TOTAL CLOSTRIDIUM DIFFICILE RT027 100K (NEUTRO), Vircell S.L. Spain).

Siga as instruções do fabricante.

No caso de resultados inesperados, repita a análise com outra amostra. Se o resultado de uma amostra de controlo de qualidade negativo, p. ex., meio pure eNAT[®], se mantiver positivo, significa que o analisador Vivalytic *one* ou o respetivo espaço envolvente pode estar contaminado. Pare de utilizar o analisador Vivalytic *one* e limpe o dispositivo conforme descrito nas Instruções de utilização do analisador Vivalytic *one*.

No caso de resultados falsos repetidos para amostras de controlo da qualidade, contacte o serviço de apoio ao cliente do seu distribuidor local.

Aviso para os utilizadores na UE

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente está domiciliado.

Limitações

Os resultados do teste Vivalytic *C. difficile* apenas devem ser interpretados por um profissional de saúde com a devida formação. Os resultados do teste Vivalytic *C. difficile* não devem ser utilizados como o único parâmetro de diagnóstico.

- Um resultado negativo não exclui a presença de agentes patogénicos na amostra num nível inferior à sensibilidade do teste ou a presença de outros agentes patogénicos não cobertos por este teste.
- Existe um risco de resultados falsos negativos ou falsos positivos resultantes de amostras que foram colhidas, transportadas ou manuseadas incorretamente.

- Em casos de borderline, podem ocorrer características PCR atípicas (por ex., curva plana com valor C_q baixo ou alto). Em caso de características atípicas, os resultados não podem ser utilizados para interpretação de diagnóstico. Resultados inconclusivos são assinalados pelo software. É recomendado repetir o teste.
- O Vivalytic C. difficile é um teste qualitativo PCR em tempo real e não fornece um resultado quantitativo.
- Um resultado positivo não significa necessariamente que estejam presentes agentes patogénicos viáveis.
- O teste deteta genes *tcdA/tcdB* com *C. difficile*, mas não distingue entre estirpes produtoras e não produtoras de toxinas
- Um resultado negativo não impede a infeção *C. difficile*. Recomenda-se que as amostras testadas negativas são interpretadas no contexto com dados laboratoriais adicionais
- Uma quantidade excessiva de fezes pode ter efeitos inibidores no desempenho do teste.

Avaliação de desempenho analítico

Sensibilidade analítica (limite de deteção)

O limite de deteção do teste Vivalytic C. difficile foi determinado como a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada de forma consistente ($\geq 95\%$ de amostras testadas em condições laboratoriais usando um tipo de amostra definido).

Inclusividade

Para avaliar a inclusividade, foi realizada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) da sequência genómica de várias estirpes *C. difficile* relevantes em relação à sequência dos primers PCR e à amostra de hidrólise usada no teste Vivalytic C. difficile para amplificação e deteção dos respetivos agentes patogénicos. Foi possível demonstrar inclusividade nas estirpes listadas na [tabela 2](#).

Exclusividade/Especificidade analítica

Para excluir a reatividade cruzada (exclusividade), foi realizada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) da região alvo do *C. difficile* em relação à sequência genómica de vários outros agentes patogénicos que representam agentes patogénicos gastrointestinais comuns ou espécies estreitamente relacionadas. Não houve qualquer evidência de interferência ([tabela 3](#)).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Vivalytic C. difficile foi estabelecida usando um painel com 3 concentrações diferentes de *C. difficile*. Em três locais de teste, cada mistura foi testada no mesmo conjunto de equipamentos Vivalytic pelo mesmo operador com 3 lotes em 4 réplicas em 3 dias, respetivamente, produzindo um total de 324 observações por agente patogénico alvo. As taxas de positividade obtidas para as diferentes combinações foram correlacionadas com a taxa de positividade prevista ([tabela 4a](#)).

Repetibilidade

A repetibilidade do teste Vivalytic C. difficile foi estabelecida usando um painel com 1 concentração diferente de ($3 \times c95$) de *C. difficile*. Em 1 local de teste, a mistura foi testada no mesmo conjunto de equipamentos Vivalytic pelo mesmo operador com 3 lotes em 20 réplicas em 1 dia, respetivamente, produzindo um total de 60 observações por agente patogénico alvo. As taxas de positividade obtidas para as diferentes combinações foram correlacionadas com a taxa de positividade prevista ([tabela 4b](#)).

Interferências

As interferências foram avaliadas para as substâncias endógenas e exógenas, que estão potencialmente presentes na amostra do paciente. Consulte a [tabela 5](#) para as substâncias que têm potencial para interferir com o teste.

Avaliação de desempenho clínico

Os resultados da Sensibilidade e Especificidade derivaram de amostras de fezes humanas líquidas e moles. As amostras foram colhidas num ambiente clínico e comparadas com resultados de métodos de referência.

As amostras para os testes com cartuchos Vivalytic C. difficile foram usadas frescas ou congeladas para serem armazenadas e preparadas conforme descrito anteriormente em eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

No caso de testes de referência, as amostras foram preparadas de acordo com as recomendações de métodos de referência usados. No total, foram analisadas 124 amostras. A sensibilidade ou concordância na percentagem de positivos (CPP) foi calculada como sendo $100\% \times TP / (TP + FN)$. A especificidade ou concordância na percentagem de negativos (CPN) foi calculada como sendo $100\% \times TN / (TN + FP)$. Os resultados da avaliação do desempenho clínico são indicados na [tabela 6](#).

Apoio técnico

No caso de dúvidas, entre em contacto com o distribuidor local ou envie uma mensagem para o serviço de assistência ao cliente da Vivalytic (email: support-BHCS@bosch-vivalytic.com).

Referências

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6: 2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul; 38(7): 1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May; 20(5): 285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb; 5(1): 15-27.
- ⁵COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Símbolos



Fabricante



Número de série



Data de fabrico



Limite de temperatura



Prazo de validade



Não utilizar se a embalagem estiver danificada



Número de lote



Apenas para uma única utilização



Número de referência



Consultar as Instruções de utilização



Contém <n> testes



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*



Marca CE



Pipete o volume de amostra indicado na entrada de amostra do cartucho conforme marcado pelo triângulo preto.

WARNING

**Hazard component in cartridge**

(F09G300919; binding buffer RB-BB-34a)

Guanidinium chloride; guanidine hydrochloride

Hazard statements

H302	Harmful if swallowed.
H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.

Precautionary statements

P264	Wash hands thoroughly after handling.
P280	Wear protective gloves and eye/face protection.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water and soap.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P501	Dispose of contents/container in accordance with local/ regional/ national/ international regulation

Table 1 – Limit of Detection (LoD)

<i>C. difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)*	10000 copies /mL
---	------------------

*Determined by using Vircell material (surrogate strain R20291 Ribotype 027 (toxin A + B positive) for a spiking approach in eNAT® (COPAN) supplemented with approximately 1000 Human Bronchial/Tracheal Epithelial Cells (hPBTEC) and 6% (v/v) Stool Matrix Negative Control (artificial simulated matrix).

Table 2 – Inclusivity*Clostridioides difficile* toxin A gene*Clostridioides difficile* toxin B gene

Strains validated for inclusivity via BLAST alignment

Table 3 – Exclusivity

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
Adenovirus	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Aeromonas caviae</i>	Enterovirus
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia blattae</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> (Shiga toxin producing) (STEC)
<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteroaggregative) (EAEC)
<i>Arcobacter butzleri</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteroinvasive) (EIEC)
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteropathogenic) (EPEC)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterotoxigenic) (ETEC)
Astrovirus	<i>Escherichia coli</i> (non-pathogenic) (K-12 MG1655)

Table 3 – Exclusivity

<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterohemorrhagic) (EHEC)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Escherichia hermannii</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia vulneris</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Eubacterium rectale</i>
<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Flavonifractor plautii</i>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Giardia muris</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Grimontia hollisae</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Campylobacter curvus</i>	<i>Helicobacter fennelliae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Helicobacter cinaedi</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Helicobacter hepaticus</i>
<i>Campylobacter hominis</i>	Hepatitis A virus
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	Herpes Simplex Virus 2
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hymenolepis nana</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Campylobacter mucosalis</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Campylobacter showae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter sputorum</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Candida catenulata</i>	<i>Listeria grayi</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Listeria innocua</i>
<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Megamonas hypermegale</i>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	Norovirus GIV
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Pentatrichomonas hominis</i>
<i>Citrobacter sedlakii</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Clostridium boltea</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Clostridium chauvoei</i>	<i>Proteus penneri</i>
<i>Clostridium difficile</i> (non-toxigenic)	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium fallax</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium nexile</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Clostridium novyi</i>	Rotavirus B
<i>Clostridium orbiscindens</i>	Rotavirus C
<i>Clostridium paraputrificum</i>	Rotavirus D
<i>Clostridium perfringens</i>	Rotavirus F
<i>Clostridium ramosum</i>	Rotavirus G
<i>Clostridium scindens</i>	Rotavirus H
<i>Clostridium septicum</i>	Rotavirus I
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Clostridium spiroforme</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i>
<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Salmonella subterranea</i>
<i>Clostridium tetani</i>	Sapovirus
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Coxsackie virus	<i>Shigella boydii</i>
<i>Cryptosporidium canis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium felis</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cryptosporidium fetus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cryptosporidium hominis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Cryptosporidium muris</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Cytomegalovirus	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>
<i>Desulfovibrio piger</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Dientamoeba fragilis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Dysgonomonas capnocytophagoides</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Echovirus	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Taenia saginata</i>
<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Endolimax nana</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Entamoeba coli</i>	<i>Vibrio mimicus</i>
<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Yersinia bercovieri</i>
<i>Entamoeba polecki</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>

Table 3 – Exclusivity

<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Yersinia intermedia</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Yersinia mollaretii</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia rohdei</i>

Table 4 a Reproducibility

c*	Number of total tests	Number of pos. tests	Number of neg. tests	Proportion of positive/negative results (%)	95 % Wilson-Score confidence interval (%)	95 % Pearson-Clopper confidence interval (%)
blank	108	0	108	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
3x c95	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
<c100	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement
 < c100 = < 100 % predicted positive agreement
 (verified with 1,83x10⁵ copies/ml; c100 = 5,48x10⁵ copies/ml)

Table 4 b Repeatability

LOT	No of total tests	No of pos. tests (3x c95)	Proportion of positive/negative results (%)	95 % Wilson-Score confidence interval (%)	95 % Pearson-Clopper confidence interval (%)
1	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
2	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
3	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
Total	60	60	100	94 % – 100 %	94 % – 100 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement

Table 5 – Tested Substances for Interference

No interference detected

For swab samples	For urine samples
Cholesterol; 0.5 % (v/v)	LOPERAMID-ratiopharm acute 2 mg film-coated tablet; 0.2 % (v/v)
Mucus; 3 mg/mL	MAALOXAN 25 mVal Liquid; 0.1 mg/mL
Palmitic acid; 2mg/mL	METRONIDAZOL Aristo 400 mg tablet; 0.5 % (w/v)
Stearic Acid; 2mg/mL	Naproxen-ratiopharm® tablet; 0.5 % (w/v)
Triglyceride; 0.8 % (w/v)	Nonoxynol-9; 0.015 % (w/v)
Whole blood; 3.0 (v/v)	Nystatin STADA®; 1 % (w/v)
Barium Sulfate; 1.3 % (w/v)	Postericrot ointment; 0.5 % (v/v)
GLYCILAX for adults; 1.0 % (w/v)	Claversal 4 g/60 ml clysms; 0.5 % (v/v)
GRÜNWALDER Sennalax film-coated tablet; 0.1 mg/mL	Vancomycin; 1.4 mg/mL
Hemorrhoid ointment with witch hazel; 1 % (v/v)	Vaseline; 1 % (w/v)

Interference was experimentally verified 3xLoD for C. difficile using a spiking approach in eNAT® (COPAN) plus 1000 hPBTEC and 6 % (v/v) Stool Matrix Negative Control (artificial simulated matrix).

Table 6 – Clinical Sensitivity (PPA) [1] and Specificity (NPA) [2] for samples in eNAT® (95 % confidence interval, clinical study)

[1] 96.61 % (88.29 – 99.59 %)*

[2] 95.24 % (86.71 - 99.01 %)**

Clinical study within total 122 valid results, generated at two study sites and gained from 63 negative and 59 positive samples. Clinical performance data of Vivalytic C. difficile in comparison to the reference tests RIDA®GENE Clostridium difficile (R-Biopharm) on Roche LightCycler 480II device Discrepant results were verified using Allplex™ GI-Bacteria(I) Assay (5 samples) and Cepheid Xpert® C. difficile BT (5 samples).

*2 samples were detected as false negative.

** 3 samples were detected as false positive.

Table 7 – Document History

Revision 01	Initial document
Revision 02	Update including new analytical and clinical performance data

For more information see
www.bosch-vivalytic.com

