



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

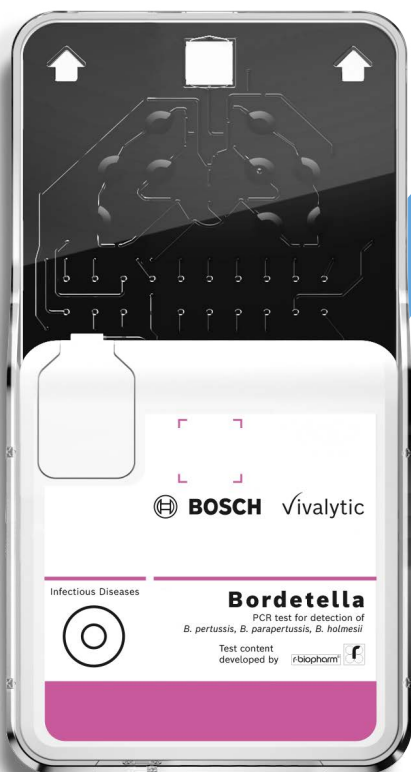
mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

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



BOSCH



vivalytic

Bordetella

PCR test for detection of
B. pertussis, *B. parapertussis*,
B. holmesii

Instructions for Use
Gebrauchsanweisung

Table of contents

English	2
Deutsch	9
Nederlands	16
Français	23
Italiano	30
Norsk	37
Svenska	44
Suomi	51
Dansk	58
Eestlane	65
Lietuvių	72
Latviski	79
Polski	86
Čeština	93
Slovenčina	100
Magyar	107
Română	114
Hrvatski	121
Slovenščina	128
Български	135
Ελληνικά	142
Español	149
Português	156
Annex	163

Introduction

Bordetella pertussis is a small gram-negative, immobile, encapsulated, aerobic pathogen that produces a variety of toxins and virulence factors, including pertussis toxin (PT), filamentous haemagglutinin (FHA), tracheal cytotoxin, pertactin, heat-labile toxin, and adenylate cyclase haemolysin. *Bordetella* multiplies on the ciliated epithelium of the respiratory mucosa, causing local destruction of the mucosa. Some of the toxins also impair the immune system and cause tissue damage. [1, 2]

B. pertussis is the primary pathogen causing whooping cough. Infections with *B. parapertussis* or *B. holmesii* can also lead to a clinical picture similar to whooping cough, but the course is typically milder and shorter than that of a disease caused by *B. pertussis*.

Whooping cough is highly contagious and is transmitted through respiratory droplets generated by coughing, sneezing, and even talking.

Pertussis can last several weeks to months. The typical initial infection in unvaccinated individuals progresses in three stages:

- Catharral phase (duration 1-2 weeks; interval 5-21 days): This stage is characterized by cold-like symptoms, such as a cold and mild cough, but usually no or only moderate fever.
- Paroxysmal phase (duration 4-6 weeks): In this stage, there are the classic symptoms of bouts of coughing (staccato cough), followed by inspiratory dragging. The coughing attacks are often accompanied by regurgitation of viscous mucus followed by vomiting.
- Convalescent phase (duration 6-10 weeks): The coughing fits gradually subside.

Since pertussis often does not present with the classic symptoms, especially in adults, but also in older children and adolescents, laboratory diagnostic methods are crucial for diagnostics. In patients with cough (regardless of its duration), laboratory diagnostics for pertussis should be performed if there has been contact with a confirmed pertussis case or if classic symptoms such as cough attacks, inspiratory stridor or vomiting after the cough attacks are present; or in the case of a longer persistent cough (>14 days duration), even if these are absent. Patients who have received a pertussis vaccine are not excluded. Even if classical symptoms occur laboratory diagnostics should be performed for confirmation. The laboratory diagnostic method recommended depends on the stage of the disease. During the first 2 to 3 weeks after the onset of coughing, it is strongly advised to use a culture or nucleic acid amplification technique (NAT), usually PCR, to detect these pathogens from deep nasopharyngeal swabs, nasopharyngeal secretions, or material obtained by suction. [1, 2]

Package Contents

15 Vivalytic Bordetella test cartridges for the qualitative detection of *B. pertussis*, *B. parapertussis* and *B. holmesii* specific gene sequences in eNAT® transport medium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

The Vivalytic Bordetella test is configured for use with a Vivalytic *one* analyser.

Intended Use

The Vivalytic Bordetella test is an automated, qualitative *in vitro* diagnostic test based on real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of nucleic acids from *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii* from human nasopharyngeal swabs to aid in the diagnosis of pertussis, parapertussis or pertussis like 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 *Bordetella* infection or another respiratory tract 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.

Vivalytic Bordetella – Instructions for Use

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.
- 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 F09G300115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile filter pipette tips 100–1000 µl
- Swab collection kits:
Flexible Flocked Swab FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transport medium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Suitable protective clothing

Test Principle

Vivalytic Bordetella 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 to detect nucleic acids of *B. pertussis* (gene target sequence IS481), *B. parapertussis* (gene target sequence pIS1001) and *B. holmesii* (gene target sequences IS481, hIS1001) of nasopharyngeal swab samples (flexible Flocked Swab FLOQSwabs® 553C) in eNAT® transport medium (eNAT® transport medium Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Collect and store samples as indicated in the manufacturer's instructions [3]. 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 4 °C and up to 6 months at –20 °C to –80 °C (see Instructions for Use eNAT® transport medium [3]).

Sample Preparation

Use a COPAN FLOQSwabs® flexible swab for collection of nasopharyngeal swab samples. Each swab is transferred into 1 ml eNAT® transport medium. Break the swab and close the tube. Shake the sample tube containing the swab sample in eNAT® medium for homogenization (avoid foaming). Fill 300 µl of homogenized sample in the sample input of the cartridge and close the cartridge lid. Insert the cartridge into the Vivalytic *one* analyser. 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 33 min and the test run can be terminated earlier (see chapter Test Termination).

The sample is classified either as *B. pertussis* positive, *B. parapertussis* positive, *B. holmesii* positive, negative or invalid or as a combination of the aforementioned. In case of a positive detection of one or more targets 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 DNA purification and amplification procedure and excludes an inhibition of the PCR reaction. Interpretation of results is shown in the table below.

Vivalytic Bordetella – Instructions for Use

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Result
+	-	-	+/-	Sample is considered positive for <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Sample is considered positive for <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Sample is considered positive for <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Sample is considered positive for <i>B. pertussis</i> and <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Sample is considered positive for <i>B. parapertussis</i> and <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Sample is considered positive for <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Sample is considered negative (!). ³
-	-	-	+	Sample is considered negative.
-	-	-	-	Invalid. ⁴

¹In the case of a positive signal for *B. holmesii*, a mixed sample with *B. pertussis* cannot be excluded as the two species share identical sequences within the amplified region of IS481.

²*B. parapertussis* positive (!)

Samples close to LOD might not show a positive signal for all defined targets and are therefore classified as negative for *B. pertussis* and *B. holmesii*. That does not exclude an infection with these pathogens. Retesting is advised.

³Negative (!)

Samples close to LOD might not show a positive signal for all defined targets and are therefore classified as negative for *B. pertussis*, *B. parapertussis* and *B. holmesii*. That does not exclude an infection with these pathogens. The result must not be used. Retesting is advised.

⁴Retesting is recommended.

⁵The IS481 and pIS1001 insertional elements can also be present in *B. bronchiseptica*.

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.

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. 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 (Early Finish)

As soon as a valid, positive result for *B. paraptussis* or *B. holmesii* is shown on the screen, the user has the option to finish the test. Only finish the test if no further targets need to be analyzed. Pending results will not be displayed.

Test Report

In the printed test report, pathogen, results, control and information on user, patient sample 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. The integrated control (Human Control) covers the processes of sample collection, nucleic acid purification, amplification, and detection.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Please follow the manufacturer's instructions. Reconstitute the reference material in Copan eNAT® medium.

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. The summary of safety and performance (SSP) will be available in the European database on medical devices (Eudamed), where it is linked to the Basic UDI-DI. If the respective module in Eudamed will be fully functional the SSP will be available at the public website (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limitations

The results of the Vivalytic Bordetella test must be interpreted by a trained healthcare professional only. The results of the Vivalytic Bordetella 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. Retesting is advised.
- A positive result does not necessarily mean that viable pathogens are present.
- Vivalytic Bordetella is a qualitative real-time PCR test and does not provide a quantitative result.
- A positive IS481 and HIS1001 can either be caused by the presence of *B. holmesii* or by presence of *B. pertussis* and *B. holmesii* in the sample.
- A positive IS481 can be considered as probable *B. pertussis* positive, although *B. bronchiseptica* may also lead to a positive IS481 signal. If needed, additional testing should be performed to differentiate *B. bronchiseptica* and *B. pertussis*.

Vivalytic Bordetella – Instructions for Use

Analytical Performance Evaluation

Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The limit of detection (LoD) of the Vivalytic Bordetella 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, [Table 1](#)).

Inclusivity

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

Exclusivity / Analytical Specificity

To exclude cross-reactivity (exclusivity), an *in silico* analysis (BLAST alignment) of the target region of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii* against the genomic sequence of various other pathogens representing common respiratory pathogens or closely related species was conducted. For the detection system of *Bordetella pertussis*, sequence matches in the probe and primer area could be detected for the *Bordetella bronchiseptica* strains NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, concluding a possible amplification. For the detection system of *Bordetella parapertussis*, sequence matches in the probe and primer area could be detected for the *Bordetella bronchiseptica* strains KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, concluding a possible amplification. There was no evidence of an interference for the detection system of *Bordetella holmesii* ([Table 3](#)).

Reproducibility

The reproducibility of the Vivalytic Bordetella test was established using a panel with 3 different concentrations of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii*. 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. The obtained positivity rates for the different combinations were correlated to the expected positivity rate ([Table 4a](#)).

Repeatability

The repeatability of the Vivalytic Bordetella test was established using a panel with 1 concentration (3x c95) of *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii*. 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, 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. No interferences were detected.

Clinical Performance Evaluation

Sensitivity and specificity results derived from native nasopharyngeal swab samples. Samples were collected in a clinical setting and compared with results of reference methods.

561 nasopharyngeal swab samples in eNAT were tested at one study site using a screening approach with potentially clinical positive samples. 8 clinical samples were found positive for one of the three pathogens (all *Bordetella parapertussis*) leading to a positive rate within the sample set of 1.9% (8/411). Additionally, 150 negatively pre-characterized samples were spiked with respective reference material (50 sample per pathogen).

In total, 495 results were included in the data set gained from testing with a reference test (Bordetella Speciation Plus Toxin - OSR for BD MAX™) and Vivalytic Bordetella, leading to the performance results shown in [Table 6](#).















Technical Support

If you require any support, technical help or have additional questions, please contact your local distributor or visit the Bosch Vivalytic website at www.bosch-vivalytic.com.

References

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 |  | <i>in vitro</i> diagnostic medical device |
-  ₀₁₂₃ CE mark incl. identification number of Notified Body
-  Pipette the indicated sample volume in the sample input of the cartridge as marked by the black triangle.

Einleitung

Bordetella pertussis ist ein kleines, gramnegatives, immobiles, bekapseltes aerobes Bakterium, das verschiedene Toxine und Virulenzfaktoren bildet, unter anderem Pertussis-Toxin (PT), filamentöses Hämagglutinin (FHA), Trachea-Zytotoxin, Pertactin, hitzelabiles Toxin und Adenylatzyklase-Hämolyisin. *Bordetella* vermehrt sich im Zilienepithel der Atemwegsschleimhaut und verursacht dort lokale Zerstörungen. Einige der Toxine beeinträchtigen auch das Immunsystem und führen zu Gewebeschädigungen. [1, 2]

B. pertussis ist der primäre Erreger des Keuchhustens (Pertussis). Infektionen mit *B. parapertussis* oder *B. holmesii* können zu einem klinischen Bild führen, das dem des Keuchhustens ähnelt; der Verlauf ist jedoch in der Regel milder und kürzer als bei einer von *B. pertussis* verursachten Erkrankung.

Keuchhusten ist hochansteckend und wird über Tröpfchen aus den Atemwegen übertragen, die beim Husten, Niesen oder auch bloßem Sprechen ausgestoßen werden.

Keuchhusten kann mehrere Wochen bis zu Monaten andauern. Die typische Erstinfektion bei nicht geimpften Personen verläuft in drei Phasen:

- Stadium catharrale (Dauer 1–2 Wochen; Inkubationszeit 5–21 Tage). Diese Phase ist durch erkältungsähnliche Symptome wie Schnupfen und leichten Husten gekennzeichnet, die jedoch in der Regel ohne oder mit nur leichtem Fieber auftreten.
- Stadium convulsivum (Dauer 4–6 Wochen). In diesem Stadium zeigen sich die typischen Symptome – Hustenanfälle (stakkatoartige Hustenstöße) mit anschließenden inspiratorischen Keuchgeräuschen. Während der Hustenanfälle kommt es häufig zum Herauswürgen von zähem Schleim, gefolgt von Erbrechen.
- Stadium decrementi (Dauer 6–10 Wochen). Die Hustenanfälle lassen langsam nach.

Da sich Keuchhusten vor allem bei Erwachsenen, aber auch bei älteren Kindern und Heranwachsenden, oft nicht mit den typischen Symptomen äußert, sind labor diagnostische Verfahren zur Stellung der Diagnose unerlässlich. Bei Patienten mit Husten (unabhängig von dessen Dauer) sollte eine Laboruntersuchung auf Keuchhusten erfolgen, wenn Kontakt zu einem bekannten Keuchhustenfall bestand oder die typischen Symptome wie Hustenanfälle, inspiratorischer Stridor oder Erbrechen nach den Hustenanfällen vorliegen oder wenn zwar keines dieser Symptome vorliegt, der Husten jedoch bereits über eine längere Zeit (> 14 Tage) anhält. Dies gilt auch für gegen Keuchhusten geimpfte Patienten. Selbst beim Vorliegen der typischen Symptome sollte eine Labordiagnostik zur Bestätigung durchgeführt werden. Die labordiagnostische Methode der Wahl hängt vom Krankheitsstadium ab. In den ersten 2 bis 3 Wochen nach dem Auftreten des Hustens wird nachdrücklich empfohlen, eine Kultur oder eine Nukleinsäureamplifikationsmethode (NAT), in der Regel PCR, anzuwenden, um den Erreger in tiefen Nasopharyngealabstrichen, Nasopharyngealsekreten oder durch Absaugung gewonnenem Material nachzuweisen. [1, 2]

Inhalt

15 Vivalytic Bordetella Testkartuschen zum qualitativen Nachweis von für *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* spezifischen Gensequenzen in eNAT® Transportmedium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Der Vivalytic Bordetella Test ist zur Verwendung mit dem Vivalytic one Analyser konfiguriert.

Zweckbestimmung

Der Vivalytic Bordetella Test ist ein automatisierter, qualitativer *In-vitro*-Diagnostiktest auf Basis der Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis von Nukleinsäuren aus *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* in humanen Nasopharyngeal-Abstrichproben zur Unterstützung der Diagnose von Keuchhusten (Pertussis), Parapertussis und keuchhustenähnlichen Erkrankungen 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 Bordetella oder eine andere Atemwegsinfektion 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 Gebrauchsanweisung 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 Probenotypen, -medien und Probenvolumina nutzen.
- 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 Vivalytic *one* Analyser (Referenznummer F09G300115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile Filterpipettenspitzen 100–1000 µl
- Probenabstrichsysteme:
flexible beflockte Abstrichtupfer FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geeignete Schutzkleidung

Testprinzip

Vivalytic Bordetella 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 salzreicher Puffer und enthält die aufgereinigten Nukleinsäuren am Ende des Extraktionsprozesses.

Probentypen/-medium

Der Test dient zum Nachweis von Nukleinsäuren aus *B. pertussis* (Genzielsequenz IS481), *B. parapertussis* (Genzielsequenz pIS1001) und *B. holmesii* (Genzielsequenzen IS481, hIS1001) in Nasopharyngeal-Abstrichproben (flexible beflockte Abstrichtupfer FLOQSwabs® 553C) in eNAT® Transportmedium (eNAT® Transportmedium Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Die Proben sind gemäß Herstelleranleitung zu entnehmen und zu lagern [3]. 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® Transportmediums [3]).

Probenvorbereitung

Zur Entnahme der Nasopharyngeal-Abstrichproben COPAN FLOQSwabs® Flexible Swabs verwenden. Jeden Abstrichtupfer in 1 ml eNAT® Transportmedium überführen. Den Stiel des Abstrichtupfers abbrechen und das Röhrchen verschließen. Das Probenröhrchen mit der Abstrichprobe in eNAT® Medium zur Homogenisierung schütteln (dabei Schaumbildung vermeiden). 300 µl homogenisierte Probe in die Probeneingabe der Kartusche geben und den Kartuschendeckel schließen. Die Kartusche in den Vivalytic one Analyser einsetzen.

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. Bei Proben mit hohem Titer liegen die Ergebnisse nach weniger als 33 Minuten vor und der Testlauf kann vorzeitig beendet werden (siehe Abschnitt „Beendigung des Tests“).

Die Probe wird entweder als positiv auf *B. pertussis*, positiv auf *B. parapertussis*, positiv auf *B. holmesii*, negativ oder ungültig oder eine Kombination der vorgenannten Ergebnisse klassifiziert. Bei positivem Nachweis einer oder mehrerer Zielsequenzen wird der Test als valide gewertet, selbst wenn Human Control negativ ist.

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

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Ergebnis
+	-	-	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. pertussis</i> und <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. parapertussis</i> und <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Die Probe gilt als positiv auf <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Die Probe gilt als negativ (!). ³
-	-	-	+	Die Probe gilt als negativ.
-	-	-	-	Die Probe gilt als ungültig. ⁴

¹Im Fall eines positiven Signals für *B. holmesii* kann nicht ausgeschlossen werden, dass in der Probe gleichzeitig auch *B. pertussis* vorliegt, da die beiden Arten identische Sequenzen in der amplifizierten Region von IS481 aufweisen.

²Positiv auf *B. parapertussis* (!)

Proben nahe der Nachweisgrenze zeigen möglicherweise nicht für alle definierten Ziele ein positives Signal und werden daher als negativ auf *B. pertussis* und *B. holmesii* klassifiziert. Dies schließt eine Infektion mit diesen Erregern nicht aus. Eine erneute Testung wird empfohlen.

³Negativ (!)

Proben nahe der Nachweisgrenze zeigen möglicherweise nicht für alle definierten Ziele ein positives Signal und werden daher als negativ auf *B. pertussis*, *B. parapertussis* und *B. holmesii* klassifiziert. Dies schließt eine Infektion mit diesen Erregern nicht aus. Das Ergebnis darf nicht verwendet werden. Eine erneute Testung wird empfohlen.

⁴Eine erneute Testung wird empfohlen.

⁵Die Insertionen IS481 und pIS1001 können auch bei *B. bronchiseptica* vorhanden sein.

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 (△). Eine erneute Testung wird empfohlen.

Ungültige oder fehlgeschlagene Tests

Ein Test wird als ungültig eingestuft, wenn weder Ziel-DNA noch Human Control detektiert werden. Mögliche Ursache für einen ungültigen Testlauf ist eine schlechte Probenqualität aufgrund von zu wenig oder keinem humanen Zellmaterial in der Probe. 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 Valytic one Analysers korrekt sind (siehe Gebrauchsanweisung des Valytic one Analysers). Starten Sie den Valytic one Analyser neu. Besteht das Problem weiterhin, kontaktieren Sie bitte Ihren lokalen Kundensupport.

Beendigung des Tests (vorzeitige Beendigung)

Sobald ein valides, positives Ergebnis für *B. parapertussis* oder *B. holmesii* auf dem Bildschirm angezeigt wird, hat der Anwender die Möglichkeit, den Test zu beenden. Beenden Sie den Test nur, wenn keine weiteren Zielsequenzen analysiert werden müssen. Ausstehende Ergebnisse werden nicht angezeigt.

Testbericht

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

Qualitätskontrolle

Sofern Qualitätskontrollen von lokalen oder laborspezifischen Standards gefordert werden, müssen regelmäßige Qualitätstests durchgeführt werden. Die integrierte Kontrolle (Human Control) umfasst die Prozesse der Probenahme sowie der Aufreinigung, Amplifikation und Detektion von Nukleinsäuren.

Falls eine Referenzmethode für Tests zur Qualitätskontrolle benötigt wird, können die folgenden Referenzmaterialien verwendet werden:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L., Spanien).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L., Spanien).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L., Spanien).

Die Anweisungen des Herstellers sind zu befolgen. Das Referenzmaterial in Copan eNAT® Medium rekonstituieren.

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 Gebrauchsanweisung 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. Der Kurzbericht über Sicherheit und klinische Leistung (SSCP) wird in der europäischen Medizinprodukte-Datenbank (Eudamed) bereitgestellt und dort mit der Basis-UDI-DI verknüpft. Wenn das betreffende Eudamed-Modul voll funktionsfähig ist, steht der SSCP auf der öffentlichen Website zur Verfügung (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Einschränkungen

Die Ergebnisse des Vivalytic Bordetella Tests dürfen ausschließlich durch geschulte Mitarbeiter mit entsprechendem medizinischem Hintergrund interpretiert werden. Das Ergebnis des Vivalytic Bordetella 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. Eine erneute Testung wird empfohlen.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit infektiöser Erreger an.
- Beim Vivalytic Bordetella Test handelt es sich um einen qualitativen Real-Time-PCR-Test, der kein quantitatives Ergebnis liefert.
- Ein positives Signal für IS481 und hIS1001 kann sowohl auf das Vorliegen von *B. holmesii* als auch auf das Vorliegen von *B. pertussis* und *B. holmesii* in der Probe zurückzuführen sein.
- Eine Probe mit positivem Signal für IS481 kann als wahrscheinlich positiv auf *B. pertussis* betrachtet werden; allerdings kann auch *B. bronchiseptica* zu einem positiven IS481-Signal führen. Gegebenenfalls müssen weitere Tests durchgeführt werden, um zwischen *B. bronchiseptica* und *B. pertussis* zu differenzieren.

Analytische Validierung

Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze)

Die Nachweisgrenze des Vivalytic Bordetella Tests wurde als niedrigste Analytkonzentration definiert, die konsistent nachgewiesen werden kann ($\geq 95\%$ der unter Routinelaborbedingungen und bei Verwendung eines definierten Probenotyps getesteten Proben, [Tabelle 1](#)).

Inklusivität

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

Exklusivität/analytische Spezifität

Um eine Kreuzreaktivität (Exklusivität) auszuschließen, wurde eine In-silico-Analyse (BLAST-Abgleich) der Zielregion von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* zum Abgleich mit der Genomsequenz verschiedener anderer Erreger durchgeführt, die häufige Atemwegserreger bzw. eng verwandte Arten darstellen. Beim Nachweis von *Bordetella pertussis* konnten im Bereich der Sonde und des Primers Sequenzübereinstimmungen mit den *Bordetella-bronchiseptica*-Stämmen NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001 und MBORD595 nachgewiesen werden, was auf eine mögliche Amplifikation schließen lässt. Beim Nachweis von *Bordetella parapertussis* konnten im Bereich der Sonde und des Primers Sequenzübereinstimmungen mit den *Bordetella-bronchiseptica*-Stämmen KM22, BB5, FR3523, FR2017 und FR3823 nachgewiesen werden, was auf eine mögliche Amplifikation schließen lässt. Es gab keine Hinweise auf eine Störung des Nachweises von *Bordetella holmesii* ([Tabelle 3](#)).

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Vivalytic Bordetella Tests wurde anhand eines Panels mit 3 unterschiedlichen Konzentrationen von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* ermittelt. An 3 Standorten wurde jede Mischung auf denselben Vivalytic-Geräten von demselben Anwender mit 3 Chargen in jeweils 4 Wiederholungen an 3 Tagen getestet. Die ermittelten Positivitätsraten für die einzelnen Kombinationen korrelierten mit der erwarteten Positivitätsrate ([Tabelle 4a](#)).

Wiederholbarkeit

Die Wiederholbarkeit des Vivalytic Bordetella Tests wurde anhand eines Panels mit 1 Konzentration ($3 \times c95$) von *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* und *Bordetella holmesii* ermittelt. An 1 Standort wurde die Mischung auf denselben Vivalytic-Geräten von demselben Anwender mit 3 Chargen in 20 Wiederholungen 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. Es wurden keine Interferenzen festgestellt.

Klinische Validierung

Die Sensitivitäts- und Spezifitätsergebnisse wurden aus nativen Nasopharyngeal-Abstrichproben abgeleitet. Die Proben wurden in einer klinischen Umgebung gesammelt und mit den Ergebnissen von Referenzmethoden verglichen.

561 Nasopharyngeal-Abstrichproben in eNAT wurden an einem einzigen Standort getestet, wobei ein Screening-Ansatz mit potenziell klinisch positiven Proben angewendet wurde. Bei 8 klinischen Proben wurde ein positives Ergebnis auf einen der drei Erreger (alle *Bordetella parapertussis*) festgestellt, woraus sich im Probenpanel eine Positivrate von 1,9 % (8/411) ergibt. Zusätzlich wurden 150 als negativ vorcharakterisierte Proben mit dem jeweiligen Referenzmaterial versetzt (50 Proben je Erreger).

Insgesamt wurden 495 Proben in den Datensatz aufgenommen, der durch Testung mit einem Referenztest (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™) und Vivalytic Bordetella gewonnen wurde, woraus die in Table 6 dargestellten Validierungsergebnisse resultieren.

Technischer Support

Wenden Sie sich mit weiteren Anliegen, Fragen oder bei technischem Unterstützungsbedarf an Ihren Händler vor Ort oder besuchen Sie die Bosch Vivalytic-Website unter www.bosch-vivalytic.com.

Literatur

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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



Gebrauchsanweisung beachten



Enthält <n> Tests



In-vitro-Diagnostikum

CE₀₁₂₃ CE-Kennzeichnung mit Kennnummer der Benannten Stelle



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

Inleiding

Bordetella pertussis is een kleine, gramnegatieve, immobiele, ingekapselde, aërobe ziekteverwekker die verschillende toxinen en virulentiefactoren produceert, waaronder pertussistoxine (PT), filamenteus hemagglutinine (FHA), tracheaal cytotoxine, pertactine, hitte-labiel toxine en adenylaatcyclase hemolysine. *Bordetella* vermenigvuldigt zich op het ciliaire epitheel van het ademhalingslijmvlies en veroorzaakt plaatselijke destructie van het slijmvlies. Sommige toxinen tasten ook het immuunsysteem aan en veroorzaken weefschade. [1, 2]

B. pertussis is de primaire ziekteverwekker die kinkhoest veroorzaakt. Infecties met *B. parapertussis* of *B. holmesii* kunnen ook leiden tot een klinisch beeld dat lijkt op kinkhoest, maar het verloop is meestal milder en korter dan dat van een ziekte veroorzaakt door *B. pertussis*.

Kinkhoest is zeer besmettelijk en wordt overgedragen via ademhalingsdruppeltjes die ontstaan door hoesten, niezen en zelfs praten.

Kinkhoest kan enkele weken tot maanden aanhouden. De typische initiële infectie bij niet-gevaccineerde personen verloopt in drie fasen:

- Catarrale fase (duur 1-2 weken; interval 5-21 dagen): Dit stadium wordt gekenmerkt door verkoudheidsachtige symptomen, zoals een verkoudheid en lichte hoest, maar meestal geen of slechts matige koorts.
- Paroxysmale fase (duur 4-6 weken): In deze fase zijn er de klassieke symptomen van hoestbuien (staccato-hoest), gevolgd door gierende diepe inademing. De hoestaanvallen gaan vaak gepaard met oprispingen van stroperig slijm, gevolgd door braken.
- Reconvalescentiefase (duur 6-10 weken): De hoestbuien nemen geleidelijk af.

Omdat pertussis zich vaak niet presenteert met de klassieke symptomen, vooral bij volwassenen, maar ook bij oudere kinderen en adolescenten, zijn laboratoriumdiagnostische methoden cruciaal voor de diagnostiek. Bij patiënten met hoest (ongeacht de duur) moet laboratoriumdiagnostiek voor kinkhoest worden uitgevoerd als er contact is geweest met een bevestigd geval van kinkhoest of als er klassieke symptomen zoals hoestaanvallen, gierend inademen of braken na de hoestaanvallen aanwezig zijn; of in het geval van een langer aanhoudende hoest (>14 dagen duur), zelfs als deze afwezig zijn. Patiënten die een kinkhoestvaccin hebben gekregen, worden niet uitgesloten. Zelfs als er klassieke symptomen optreden, moet er laboratoriumdiagnostiek worden uitgevoerd ter bevestiging. De aanbevolen diagnostische laboratoriummethode hangt af van het stadium van de ziekte. Tijdens de eerste 2 tot 3 weken na het begin van hoesten wordt sterk aangeraden om een kweek of nucleïnezuuramplificatietechniek (NAT), meestal PCR, te gebruiken om deze ziekteverwekkers op te sporen uit diepe nasofarynx-uitstrijkjes, nasofarynxsecreties of materiaal dat door afzuiging verkregen is. [1, 2]

Inhoud van de verpakking

15 Vivalytic Bordetella-testpatronen voor de kwalitatieve detectie van specifieke gensequenties voor *B. pertussis*, *B. parapertussis* en *B. holmesii* in eNAT®-transportmedium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

De Vivalytic Bordetella-test is geconfigureerd voor gebruik met een Vivalytic one-analysator.

Beoogd gebruik

De Vivalytic Bordetella-test is een geautomatiseerde, kwalitatieve *in-vitro* diagnostische test op basis van real-time polymerasekettingreactie (PCR) voor de detectie van nucleïnezuren van *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* en *Bordetella holmesii* uit menselijke nasofarynx-uitstrijkjes als hulpmiddel bij de diagnose van kinkhoest, parapertussis of kinkhoestachtige 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 uitslagen sluiten een *Bordetella*-infectie of een andere luchtweginfectie 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.
- 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 Vivalytic *one*-analysator (referentienummer F09G300115)
- Pipet (100–1000 µl)
- Steriele filterpipetpunten 100 - 1000 µl
- Uitstrijkjeskits:
FLOQSwabs® 553C, flexibel gevlokt (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geschikte beschermende kleding

Testprincipe

Vivalytic Bordetella 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 het detecteren van nucleïnezuren van *B. pertussis* (gendoelsequentie IS481), *B. parapertussis* (gendoelsequentie pIS1001) en *B. holmesii* (gendoelsequenties IS481, hIS1001) van nasofarynx-monsters (FLOQSwabs® 553C, flexibel gevlokt) in eNAT®-transportmedium (eNAT® transportmedium Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Verzamel en bewaar monsters zoals aangegeven in de instructies van de fabrikant [3].

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®-transportmedium [3]).

Monstervoorbereiding

Gebruik een COPAN FLOQSwabs® flexibel uitstrijkstaafje voor het verzamelen van nasofarynxswabmonsters. Elk uitstrijkstaafje wordt overgebracht in 1 ml eNAT®-transportmedium. Breek het wattenstaafje en sluit het buisje. Schud het monsterbuisje met het uitstrijkje in eNAT®-medium voor homogenisatie (voorkom schuimvorming). Vul de monsterinvoer van de cassette met 300 µl gehomogeniseerd monster en sluit het deksel. Plaats de cassette in de Vivalytic one-analysator.

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 33 min beschikbaar en kan de test eerder beëindigd worden (zie hoofdstuk Beëindiging van de test).

Het monster wordt geclassificeerd als *B. pertussis* positief, *B. parapertussis* positief, *B. holmesii* positief, negatief of ongeldig of als een combinatie van de bovengenoemde. Als een of meer targets positief worden gedetecteerd, wordt de test als geldig beschouwd, zelfs als de Human Control negatief was.

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

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultaat
+	-	-	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. pertussis</i> en <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. parapertussis</i> en <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Het monster wordt als positief beschouwd voor <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Het monster wordt als negatief (!) beschouwd. ³
-	-	-	+	Het monster wordt als negatief beschouwd.
-	-	-	-	Ongeldig. ⁴

¹In het geval van een positief signaal voor *B. holmesii* kan een mengmonster met *B. pertussis* niet worden uitgesloten, aangezien de twee soorten identieke sequenties delen in het geamplificeerde gebied van IS481.

²*B. parapertussis* positief (!)

Monsters in de buurt van de LoD (aantoonbaarheidsgrens) tonen mogelijk geen positief signaal voor alle gedefinieerde doelen en worden daarom geclassificeerd als negatief voor *B. pertussis* en *B. holmesii*. Dat sluit een infectie met deze pathogenen niet uit. Opnieuw testen wordt aanbevolen.

³Negatief (!)

Monsters in de buurt van LoD (aantoonbaarheidsgrens) tonen mogelijk geen positief signaal voor alle gedefinieerde doelen en worden daarom geclassificeerd als negatief voor *B. pertussis*, *B. parapertussis* en *B. holmesii*. Dat sluit een infectie met deze pathogenen niet uit. Het resultaat mag niet worden gebruikt. Opnieuw testen wordt aanbevolen.

⁴Opnieuw testen wordt aanbevolen.

⁵De ingebrachte elementen IS481 en pIS1001 kunnen ook aanwezig zijn in *B. bronchi-septica*.

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. 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 (vroegtijdige beëindiging)

Zodra er een geldig, positief resultaat voor *B. parapertussis* of *B. holmesii* op het scherm wordt weergegeven, heeft de gebruiker de optie om de test te beëindigen. Voltooi de test alleen als er geen verdere targets hoeven te worden geanalyseerd. Lopende resultaten worden niet weergegeven.

Testrapport

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

Kwaliteitscontrole

Indien vereist volgens uw lokale of laboratoriumnormen moeten kwaliteitscontroletests worden uitgevoerd. De geïntegreerde controle (Human Control) omvat de processen van monsterafname, zuivering van nucleïnezuur, amplificatie en detectie.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Volg de instructies van de fabrikant. Reconstitueer het referentiemateriaal in Copan eNAT®-medium.

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. De samenvatting van veiligheid en prestaties (SSP) zal beschikbaar zijn in de Europese database voor medische hulpmiddelen (Eudamed), waar deze gekoppeld is aan de basis UDI-DI. Als de betreffende module in Eudamed volledig functioneel is, zal de SSP beschikbaar zijn op de openbare website (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Beperkingen

De resultaten van de Vivalytic Bordetella-test mogen alleen worden geïnterpreteerd door een getrainde professional in de gezondheidszorg. De resultaten van de Vivalytic Bordetella-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. Opnieuw testen wordt aanbevolen.
- Een positief resultaat betekent niet noodzakelijkerwijs dat er levensvatbare ziektekiemen aanwezig zijn.
- Vivalytic Bordetella is een kwalitatieve real-time PCR-test en geeft geen kwantitatief resultaat.
- Een positieve IS481 en hIS1001 kan veroorzaakt worden door de aanwezigheid van *B. holmesii* of door de aanwezigheid van *B. pertussis* en *B. holmesii* in het monster.
- Een positieve IS481 kan worden beschouwd als waarschijnlijk *B. pertussis*-positief, hoewel *B. bronchiseptica* ook tot een positief IS481-signaal kan leiden. Indien nodig moeten er aanvullende tests worden uitgevoerd om *B. bronchiseptica* en *B. pertussis* van elkaar te onderscheiden.

Evaluatie van de analytische prestaties

Analytische gevoeligheid (detectielimiet)

De detectielimiet (LoD) van de Vivalytic Bordetella-test werd bepaald als de laagste concentratie van de analyt die consistent gedetecteerd kan worden ($\geq 95\%$ van de monsters getest onder routinematige laboratoriumomstandigheden met een gedefinieerd type monster, [tabel 1](#)).

Inclusiviteit

Om de inclusiviteit te evalueren, werd een *in silico*-analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van de genomsequentie van verschillende relevante *Bordetella pertussis*-, *Bordetella parapertussis*- en *Bordetella holmesii*-stammen tegen de sequentie van de PCR-primers en hydrolyseprobe die gebruikt worden in de Vivalytic Bordetella-test voor amplificatie en detectie van de respectievelijke ziekteverwekkers. Inclusiviteit kon worden aangetoond voor organismen in [tabel 2](#).

Exclusiviteit/analytische specificiteit

Om kruisreactiviteit (exclusiviteit) uit te sluiten, werd er een *in silico*-analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van de doelregio van *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* en *Bordetella holmesii* tegen de genomsequentie van verschillende andere pathogenen die veel voorkomende respiratoire ziekteverwekkers of nauw verwante soorten vertegenwoordigen. Voor het detectiesysteem van *Bordetella pertussis* konden sequentie-overeenkomsten in het probe- en primergebied worden gedetecteerd voor de *Bordetella bronchiseptica*-stammen NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, wat een mogelijke amplificatie tot gevolg had. Voor het detectiesysteem van *Bordetella parapertussis* konden sequentie-overeenkomsten in het probe- en primergebied worden gedetecteerd voor de *Bordetella bronchiseptica*-stammen KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, waaruit een mogelijke amplificatie geconcludeerd kan worden. Er was geen bewijs van interferentie voor het detectiesysteem van *Bordetella holmesii* ([tabel 3](#)).

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de Vivalytic Bordetella-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 3 verschillende concentraties *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* en *Bordetella holmesii*. Elk mengsel werd respectievelijk 4 keer op 3 verschillende dagen op 3 testlocaties getest op dezelfde Vivalytic-instrumenten door dezelfde operator met 3 LOT's. De verkregen percentages positieven voor de verschillende combinaties werden gecorreleerd met de verwachte percentages ([tabel 4a](#)).

Herhaalbaarheid

De herhaalbaarheid van de Vivalytic Bordetella-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 1 concentratie ($3 \times c_{95}$) van *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* en *Bordetella holmesii*. Op 1 testlocatie werd de mix getest op dezelfde set Vivalytic-instrumenten door dezelfde operator met 3 LOT's in 20 herhalingen, 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. Er werden geen interferenties gedetecteerd.

Evaluatie van de klinische prestaties

Gevoeligheids- en specificiteitsresultaten op basis van eigen nasofarynx-monsters. De monsters werden in een klinische omgeving verzameld en vergeleken met de resultaten van referentiemethoden.

561 nasofarynx-monsters in eNAT werden op één onderzoekslocatie getest met behulp van een screeningsaanpak met mogelijk klinisch positieve monsters. 8 klinische monsters werden positief bevonden voor een van de drie ziekteverwekkers (allemaal *Bordetella parapertussis*), wat leidt tot een positief percentage binnen de monsterset van 1,9% (8/411). Daarnaast werden 150 negatief gekarakteriseerde monsters bijgevuld met het respectieve referentiemateriaal (50 monsters per ziekteverwekker).

In totaal werden 495 resultaten opgenomen in de gegevensset die verkregen werd door het testen met een referentietest (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR voor BD MAX™) en Vivalytic Bordetella, wat leidde tot de prestatieresultaten in [tabel 6](#).

Technische ondersteuning

Als u hulp of technische assistentie nodig hebt of nog vragen hebt, neem dan contact op met uw plaatselijke dealer of bezoek de Bosch Vivalytic-website op www.bosch-vivalytic.com.

Referenties

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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

CE₀₁₂₃ CE-markering incl. identificatienummer van aangemelde instantie



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

Introduction

Bordetella pertussis est un agent aérobie de petite taille à gram négatif, immobile, encapsulé, produisant une grande diversité de toxines et de facteurs de virulence, notamment la toxine pertussique (PT), l'hémagglutinine filamenteuse (FHA), la cytotoxine trachéale, la pertactine, des toxines thermolabiles et l'adénylate cyclase/hémolysine. *Bordetella* se multiplie au niveau de l'épithélium cilié des muqueuses respiratoires, provoquant la destruction locale des muqueuses. Certaines toxines affectent également le système immunitaire et entraînent des lésions tissulaires. [1, 2]

B. pertussis constitue le principal agent pathogène responsable de la coqueluche. Les infections à *B. parapertussis* ou *B. holmesii* peuvent également entraîner un tableau clinique similaire à celui de la coqueluche, mais d'une évolution généralement plus courte et moins virulente que celle d'une maladie provoquée par *B. pertussis*.

La coqueluche est hautement contagieuse et se transmet par la propagation de gouttelettes respiratoires générées par la toux, les éternuements ou le simple fait de parler.

Pertussis peut durer plusieurs semaines, voire plusieurs mois. L'infection initiale chez les individus non vaccinés progresse généralement selon trois phases :

- Phase catarrhale (dure 1 à 2 semaines ; à 5-21 jours d'intervalle) : au cours de cette phase, les symptômes sont similaires à ceux d'un rhume ou d'un léger mal de gorge, mais ne s'accompagnent généralement pas de fièvre, à moins qu'elle ne soit modérée.
- Phase paroxystique (dure de 4 à 6 semaines) : c'est au cours de cette phase qu'apparaissent les symptômes caractéristiques de quintes de toux suivies d'une reprise inspiratoire difficile. Ces attaques s'accompagnent souvent de la régurgitation de mucus visqueux, suivie de vomissements.
- Phase de convalescence (dure de 6 à 10 semaines) : les quintes de toux disparaissent progressivement.

Comme il arrive souvent que pertussis ne présente pas les symptômes caractéristiques, en particulier chez les adultes, mais également chez les enfants passé un certain âge et les adolescents, les méthodes de diagnostic de laboratoire s'avèrent cruciales pour identifier la maladie. Chez les patients présentant une toux (indépendamment de la durée), le diagnostic de laboratoire de pertussis doit être réalisé s'il y a eu contact avec un cas confirmé de pertussis ou en présence de symptômes caractéristiques comme des quintes de toux, un stridor ou des vomissements suivants les quintes de toux ; ou en cas de toux persistante (d'une durée > 14 jours), même sans les symptômes cités précédemment. Les patients vaccinés contre la coqueluche ne sont pas exclus. Même en cas de symptômes caractéristiques, les mesures de diagnostic de laboratoires doivent être prises pour confirmation. La méthode de diagnostic de laboratoire recommandée dépend de la phase d'évolution de la maladie. Au cours des 2 ou 3 premières semaines suivant l'apparition de la toux, il est fortement conseillé de se baser sur une culture ou d'utiliser une technique d'amplification de l'acide nucléique (NAT), le plus souvent de PCR, pour détecter ces pathogènes à partir de prélèvements nasopharyngés sur longs écouvillons, de prélèvements de sécrétions nasopharyngées ou de substances obtenues par succion. [1, 2]

Contenu de l'emballage

15 cartouches de test Vivalytic Bordetella pour la détection qualitative des séquences génétiques spécifiques à *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii* dans le milieu de transport eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Le test Vivalytic Bordetella a été conçu pour être utilisé avec un analyseur Vivalytic one.

Usage prévu

Le test Vivalytic Bordetella est un test de diagnostic qualitatif automatisé *in vitro* basé sur la réaction en chaîne par polymérase (PCR) en temps réel pour la détection des acides nucléiques de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii* dans des écouvillons nasopharyngés humains pour aider au diagnostic des infections à pertussis, parapertussis ou similaires à pertussis chez les individus symptomatiques.

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 Bordetella ni toute autre infection des voies respiratoires. 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.
- 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 F09G300115)
- Pipette (100–1 000 µL)
- Embouts de pipettes de filtres stériles 100–1000 µL
- Kits de prélèvement sur écouvillon :
Écouvillon floqué flexible FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Milieu de transport :
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vêtements de protection adaptés

Principe du test

Le test Vivalytic Bordetella 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

Ce test est destiné à la détection des acides nucléiques de *B. pertussis* (séquence génétique cible IS481), *B. parapertussis* (séquence génétique cible pIS1001) et *B. holmesii* (séquences génétiques cibles IS481, hIS1001) dans des échantillons nasopharyngés sur écouvillons (écouvillon floqué flexible FLOQSwabs® réf. 553C) dans du milieu de transport eNAT® (milieu de transport eNAT® réf. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Prélevez et stockez les échantillons comme indiqué dans les instructions du fabricant [3].

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® [3]).

Préparation des échantillons

Utilisez un écouvillon flexible COPAN FLOQSwabs® pour prélever les échantillons sur écouvillons nasopharyngés. Chaque écouvillon est transféré dans 1 mL de milieu de transport eNAT®. Cassez l'écouvillon et fermez le tube. Agitez le tube échantillon contenant l'échantillon prélevé sur écouvillon dans le milieu eNAT® pour homogénéiser le mélange (évitiez la formation de mousse). Ajoutez 300 µL d'échantillon homogénéisé dans l'entrée échantillon de la cartouche et fermez le couvercle de la cartouche. Insérez la cartouche dans l'analyseur Vivalytic *one*.

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 33 minutes et le test peut être clôturé plus tôt (voir le chapitre Fin du test).

L'échantillon est classé comme étant positif à *B. pertussis*, positif à *B. parapertussis*, positif à *B. holmesii*, négatif ou invalide, ou comme une combinaison de mentions précitées. En cas de détection positive d'une ou de plusieurs cibles, 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 de purification et d'amplification d'ADN réussie et exclut une inhibition de la réaction PCR. L'interprétation des résultats est fournie dans le tableau ci-dessous.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Résultat
+	-	-	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. pertussis</i> et <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. parapertussis</i> et <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	L'échantillon est considéré positif pour <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	L'échantillon est considéré négatif (!). ³
-	-	-	+	L'échantillon est considéré négatif.
-	-	-	-	Invalide. ⁴

¹En cas de signal positif pour *B. holmesii*, un échantillon mélangé avec *B. pertussis* ne peut pas être exclu étant donné que les deux espèces partagent des séquences identiques au sein de la région amplifiée de IS481.

²Positif à *B. parapertussis* (!)

Il se peut que les échantillons proches de la limite de détection n'indiquent pas un signal positif pour toutes les cibles définies, ils sont donc classés comme étant négatifs à *B. pertussis* et à *B. holmesii*. Cela n'exclut pas une infection à ces pathogènes. Il est recommandé de recommencer le test.

³Négatif (!)

Il se peut que les échantillons proches de la limite de détection n'indiquent pas un signal positif pour toutes les cibles définies, ils sont donc classés comme étant négatifs à *B. pertussis*, *B. parapertussis* et *B. holmesii*. Cela n'exclut pas une infection à ces pathogènes. Le résultat ne doit pas être utilisé. Il est recommandé de recommencer le test.

⁴Il est recommandé de recommencer le test.

⁵Les éléments d'insertion IS481 et pIS1001 peuvent également être présents dans *B. bronchiseptica*.

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. Veillez 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 (fin précoce)

Dès qu'un résultat positif pour *B. parapertussis* ou *B. holmesii* valide est affiché à l'écran, l'utilisateur a la possibilité de finir le test. Finissez le test uniquement si aucune autre cible ne doit être analysée. Les résultats en attente ne seront pas affichés.

Rapport de test

Dans le rapport de test imprimé, les agents pathogènes, résultats, contrôles et informations sur l'utilisateur, l'échantillon de 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. Le contrôle intégré (Human Control) couvre les processus de prélèvement d'échantillon, de purification d'acide nucléique, d'amplification et de détection.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Veillez suivre les instructions du fabricant. Reconstituez le matériel de référence dans le milieu Copan eNAT®.

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. Le résumé de sécurité et de performances (SSP) sera disponible dans la base de données européenne relative aux dispositifs médicaux (Eudamed), où il est lié à l'IUD-ID de base. Si le module correspondant dans Eudamed est entièrement fonctionnel, le SSP sera disponible sur le site Web public (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limites

Les résultats du test Vivalytic Bordetella doivent être interprétés exclusivement par un professionnel de santé formé. Les résultats du test Vivalytic Bordetella 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. Il est recommandé de recommencer le test.
- Un résultat positif n'implique pas forcément la présence de pathogènes viables.
- Vivalytic Bordetella est un test PCR qualitatif en temps réel qui ne fournit pas de résultats quantitatifs.
- Des cibles IS481 et hIS1001 positives peuvent être provoquées soit par la présence de *B. holmesii* ou par la présence de *B. pertussis* et *B. holmesii* dans l'échantillon.
- Une cible IS481 positive peut être considérée comme probablement positive à *B. pertussis*, bien que *B. bronchiseptica* puisse aussi engendrer un signal positif pour IS481. Selon les besoins, des tests supplémentaires doivent être réalisés afin de différencier entre *B. bronchiseptica* et *B. pertussis*.

Évaluation des performances analytiques

Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection du test Vivalytic Bordetella a été déterminée comme étant la concentration la plus faible d'analyte pouvant être régulièrement détectée (≥ 95 % d'échantillons testés dans des conditions de laboratoire de routine à l'aide d'un type d'échantillon défini, [Tableau 1](#)).

Inclusivité

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

Exclusivité / Spécificité analytique

Pour exclure la réactivité croisée (exclusivité), une analyse *in silico* (alignement BLAST) de la région cible de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii* par rapport à la séquence génomique de divers autres pathogènes représentant des pathogènes respiratoires communs ou des espèces étroitement apparentées a été réalisée. Pour le système de détection de *Bordetella pertussis*, des correspondances de séquence dans la zone de la sonde et de l'amorce ont pu être détectées pour les souches de *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, concluant à une amplification possible. Pour le système de détection de *Bordetella parapertussis*, des correspondances de séquence dans la zone de la sonde et de l'amorce ont pu être détectées pour les souches de *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, concluant à une amplification possible. Aucune interférence n'a été constatée pour le système de détection de *Bordetella holmesii* ([Tableau 3](#)).

Reproductibilité

La reproductibilité du test Vivalytic Bordetella a été établie à l'aide d'un panel présentant 3 différentes concentrations de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii*. 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. 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 Bordetella a été établie à l'aide d'un panel présentant 1 concentration ($3 \times c_{95}$) de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* et *Bordetella holmesii*. Sur 1 site d'essai, le mélange a été testé sur le même ensemble d'instruments Vivalytic par le même opérateur avec 3 LOTS en 20 réplicats, 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. Aucune interférence n'a été détectée.

Évaluation des performances cliniques

Les résultats liés à la sensibilité et à la spécificité proviennent d'échantillons nasopharyngés sur écouvillons endémiques. Les échantillons ont été prélevés dans un cadre clinique et comparés aux résultats de méthodes de référence.

561 échantillons nasopharyngés sur écouvillons dans du milieu eNAT ont été testés sur un site d'étude à l'aide d'une approche de dépistage avec des échantillons cliniques potentiellement positifs. 8 échantillons cliniques ont été identifiés comme étant positifs à un des trois pathogènes (tous *Bordetella parapertussis*), entraînant un taux positif au sein du groupe d'échantillons de 1,9 % (8/411). De plus, 150 échantillons pré-caractérisés comme négatifs ont été dopés avec le matériel de référence correspondant (50 échantillons par agent pathogène).

Au total, 495 résultats ont été inclus dans le jeu de données obtenu via les analyses effectuées avec un test de référence (Bordetella Speciation Plus Toxin - OSR for BD MAX™) et Vivalytic Bordetella, donnant lieu aux résultats de performances indiqués au [Tableau 6](#).















Assistance technique

Si vous avez besoin d'aide, d'assistance technique ou si vous avez des questions, veuillez contacter votre distributeur local ou consulter le site Internet de Bosch Vivalytic à l'adresse www.bosch-vivalytic.com.

Références

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 <i>in vitro</i> |
|  | Marquage CE, incluant le numéro d'identification de l'organisme notifié | | |
|  | Pipeter le volume échantillon indiqué dans l'entrée échantillon de la cartouche en respectant le marquage du triangle noir. | | |

Introduzione

La *Bordetella pertussis* è un piccolo patogeno aerobico gram-negativo, immobile e incapsulato che produce una serie di tossine e fattori di virulenza, tra cui la tossina della pertosse (PT), l'emoagglutinina filamentosa (FHA), la citotossina tracheale, la pertactina, la tossina termolabile e l'emolisina-adenilato ciclastasi. La *Bordetella* si moltiplica sull'epitelio ciliato della mucosa respiratoria, causando la distruzione locale della mucosa. Alcune tossine compromettono anche il sistema immunitario e causano danni ai tessuti. [1, 2]

La *B. pertussis* è il principale agente patogeno che causa la tosse asinina. Anche le infezioni da *B. parapertussis* o *B. holmesii* possono portare a un quadro clinico simile a quello della pertosse, ma il decorso è in genere più lieve e breve rispetto a quello di una malattia causata dalla *B. pertussis*.

La pertosse (o tosse asinina) è altamente contagiosa e si trasmette attraverso le goccioline respiratorie generate da tosse, starnuti e persino dal parlare.

La pertosse può durare da diverse settimane a mesi. Tipicamente, l'infezione iniziale negli individui non vaccinati progredisce in tre fasi:

- Fase catarrale (durata 1-2 settimane; intervallo 5-21 giorni): questa fase è caratterizzata da una sintomatologia simile a quella del raffreddore, come rinite e tosse lieve, ma in genere senza febbre o con una febbre moderata.
- Fase parossistica (durata 4-6 settimane): in questa fase si manifestano i classici sintomi legati agli attacchi di tosse (tosse staccata), seguiti da respiro affannoso. Gli attacchi di tosse sono spesso accompagnati da rigurgito di muco viscoso seguito da vomito.
- Fase di convalescenza (durata 6-10 settimane): gli attacchi di tosse si attenuano gradualmente.

Poiché la pertosse spesso non si presenta con i sintomi classici, soprattutto negli adulti, ma anche nei bambini più grandi e negli adolescenti, i metodi diagnostici di laboratorio sono essenziali ai fini della diagnosi. Nei pazienti con tosse (indipendentemente dalla sua durata), la diagnosi di laboratorio per la pertosse deve essere eseguita se c'è stato un contatto con un caso confermato di pertosse o se sono presenti sintomi classici quali attacchi di tosse, stridore inspiratorio o vomito dopo gli attacchi di tosse, oppure in caso di tosse persistente prolungata (>14 giorni di durata) anche se i sintomi descritti sono assenti. Non sono esclusi da questo iter i pazienti che hanno ricevuto un vaccino contro la pertosse. Anche in presenza di sintomi classici è necessario eseguire una diagnostica di laboratorio per la conferma. Il metodo diagnostico di laboratorio consigliato dipende dallo stadio della malattia. Nelle prime 2 o 3 settimane dall'insorgere della tosse, è fortemente consigliato l'uso di una coltura o di una tecnica di amplificazione degli acidi nucleici (NAT), in genere la PCR, per rilevare questi patogeni da tamponi nasofaringei profondi, secrezioni nasofaringee o materiale ottenuto mediante aspirazione. [1, 2]

Contenuto della confezione

15 cartucce per test Vivalytic Bordetella per il rilevamento qualitativo delle sequenze geniche specifiche di *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* nel terreno di trasporto eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Il test Vivalytic Bordetella è configurato per essere utilizzato con un analizzatore Vivalytic one.

Destinazione d'uso

Il test Vivalytic Bordetella 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 di *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* da tamponi nasofaringei umani per aiutare nella diagnosi di pertosse, parapertosse o infezioni simili alla pertosse in 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 l'infezione da *Bordetella* o altre infezioni del tratto respiratorio. 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.
- Assicurarsi di indossare i dispositivi di protezione individuali (DPI) adeguati.
- Non utilizzare la cartuccia se il sacchetto sigillato o la cartuccia 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.
- 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 F09G300115)
- Pipettatore (100-1000 µl)
- Puntali sterili per pipette 100-1000 µl
- Kit tampone di raccolta:
Tampone floccato flessibile FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Terreno di trasporto:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Indumenti protettivi adeguati

Principio del test

Vivalytic Bordetella 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 - +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 inteso per il rilevamento degli acidi nucleici di *B. pertussis* (sequenza genica target IS481), *B. parapertussis* (sequenza genica target pIS1001) e *B. holmesii* (sequenze geniche target IS481, HIS1001) in campioni di tampone nasofaringeo (tampone floccato flessibile FLOQSwabs® 553C) in terreno di trasporto eNAT® (terreno di trasporto eNAT® rif. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Raccogliere e conservare i campioni come indicato nelle istruzioni del produttore [3].

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® [3]).

Preparazione del campione

Utilizzare un tampone flessibile COPAN FLOQSwabs® per la raccolta dei campioni tramite tampone nasofaringeo. Ogni tampone viene trasferito in 1 ml di terreno di trasporto eNAT®. Spezzare il tampone e chiudere la provetta. Agitare la provetta contenente il campione del tampone nel terreno eNAT® per omogeneizzarlo (evitando la formazione di schiuma). Versare 300 µl di campione omogeneizzato nell'ingresso della cartuccia e chiudere la cartuccia con l'apposito tappo. Inserire la cartuccia nell'analizzatore Vivalytic one.

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 33 minuti, dopo i quali è possibile concludere il ciclo di test (vedere il capitolo Fine del test).

Il campione viene classificato come positivo per *B. pertussis*, positivo per *B. parapertussis*, positivo per *B. holmesii*, negativo o non valido o come una combinazione di queste determinazioni. In caso di risultato positivo per uno o più target, il test è considerato valido anche se Human Control è negativo.

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

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Risultato
+	-	-	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. pertussis</i> e <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. parapertussis</i> e <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Il campione è considerato positivo per <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Il campione è considerato negativo (!). ³
-	-	-	+	Il campione è considerato negativo.
-	-	-	-	Non valido. ⁴

¹Nel caso di un segnale positivo per *B. holmesii*, non è possibile escludere un campione misto con *B. pertussis*, poiché le due specie condividono sequenze identiche all'interno della regione amplificata di IS481.

²Positivo per *B. parapertussis* (!)

Campioni prossimi al LoD potrebbero non evidenziare un segnale positivo per tutti i target definiti e quindi essere classificati come negativi per *B. pertussis* e *B. holmesii*. Questo non esclude un'infezione provocata da questi patogeni. Si raccomanda di ripetere il test.

³Negativo (!)

Campioni prossimi al LoD potrebbero non evidenziare un segnale positivo per tutti i target definiti e quindi essere classificati come negativi per *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii*. Questo non esclude un'infezione provocata da questi patogeni. Il risultato è inutilizzabile. Si raccomanda di ripetere il test.

⁴È consigliabile ripetere il test.

⁵Gli elementi inserzionali IS481 e pIS1001 possono essere presenti anche in *B. bronchiseptica*.

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. 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 (fine anticipata)

Quando sullo schermo viene visualizzato un risultato valido e positivo per *B. parapertussis* o *B. holmesii*, l'utente ha la possibilità di terminare il test. Terminare il test solo se non è necessario analizzare ulteriori target. I risultati in sospeso non verranno visualizzati.

Report del test

Il report stampato del test riporta il patogeno, i risultati, il controllo e le informazioni su utente, campione 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. Il controllo integrato (Human Control) copre i processi di raccolta del campione, purificazione, amplificazione e rilevazione dell'acido nucleico.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Seguire le istruzioni del produttore. Ricostituire il materiale di riferimento nel terreno Copan eNAT®.

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. Il riassunto della sicurezza e delle prestazioni (SSP) sarà disponibile nel database europeo dei dispositivi medici (Eudamed), dove è collegato all'UDI-DI di base. Se il rispettivo modulo in Eudamed sarà completamente funzionante, il documento SSP sarà disponibile sul sito web pubblico (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limiti

I risultati del test ottenuti con Vivalytic Bordetella devono essere interpretati solo da un operatore sanitario qualificato. I risultati del test ottenuti con Vivalytic Bordetella 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. Si raccomanda di ripetere il test.
- Un risultato positivo non significa automaticamente che sono presenti patogeni virali.
- Vivalytic Bordetella è un test PCR qualitativo in tempo reale e non fornisce un risultato quantitativo.
- Un IS481 e un hIS1001 positivi possono essere causati dalla presenza di *B. holmesii* o dalla presenza di *B. pertussis* e *B. holmesii* nel campione.
- Un IS481 positivo può essere considerato come una probabile positività a *B. pertussis*, sebbene anche *B. bronchiseptica* possa portare a un segnale IS481 positivo. Se necessario, eseguire ulteriori test per differenziare *B. bronchiseptica* e *B. pertussis*.

Valutazione delle prestazioni analitiche

Sensibilità analitica (limite di sensibilità)

Il limite di sensibilità (LoD) del test Vivalytic Bordetella 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, [tabella 1](#)).

Inclusività

Per valutare l'inclusività, è stata eseguita un'analisi *in silico* (allineamento BLAST) della sequenza genomica di vari ceppi rilevanti di *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* rispetto alla sequenza dei primer PCR e della sonda di idrolisi utilizzati nel test Vivalytic Bordetella per l'amplificazione e il rilevamento dei rispettivi patogeni. È stato possibile dimostrare l'inclusività per gli organismi 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* rispetto alla sequenza genomica di vari altri patogeni comuni delle vie respiratorie o di specie strettamente correlate. Per il sistema di rilevamento di *Bordetella pertussis*, è stato possibile rilevare corrispondenze di sequenza nell'area della sonda e del primer per i ceppi di *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, concludendo una possibile amplificazione. Per il sistema di rilevamento di *Bordetella parapertussis*, è stato possibile rilevare corrispondenze di sequenza nell'area della sonda e del primer per i ceppi di *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, concludendo una possibile amplificazione. Non è stata rilevata alcuna interferenza per il sistema di rilevamento di *Bordetella holmesii* ([tabella 3](#)).

Riproducibilità

La riproducibilità del test Vivalytic Bordetella è stata stabilita utilizzando un pannello con 3 diverse concentrazioni di *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*. Presso 3 siti di test, ogni miscela è stata testata sullo stesso set di strumenti Vivalytic dallo stesso operatore rispettivamente con 3 lotti in 4 repliche in 3 giorni. I tassi di positività ottenuti per le diverse combinazioni sono stati correlati al tasso di positività previsto ([tabella 4a](#)).

Ripetibilità

La ripetibilità del test Vivalytic Bordetella è stata stabilita utilizzando un pannello con 1 concentrazione ($3 \times c95$) di *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*. In 1 sito di test, la miscela è stata testata sullo stesso set di strumenti Vivalytic dallo stesso operatore con 3 LOTTI in 20 repliche, 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. Non sono state rilevate interferenze.

Valutazione delle prestazioni cliniche

Risultati di sensibilità e specificità derivati da campioni prelevati mediante tampone nasofaringeo. I campioni sono stati raccolti in ambiente clinico e confrontati con i risultati dei metodi di riferimento.

561 campioni di tamponi nasofaringei in eNAT sono stati analizzati in un sito di studio utilizzando un approccio di screening con campioni clinici potenzialmente positivi. 8 campioni clinici sono risultati positivi per uno dei tre patogeni (tutti *Bordetella parapertussis*), portando a un tasso di positività all'interno del set di campioni dell'1,9% (8/411). Inoltre, 150 campioni pre-caratterizzati negativamente sono stati addizionati con il rispettivo materiale di riferimento (50 campioni per patogeno).

In totale, 495 risultati sono stati inclusi nel set di dati ottenuti mediante l'analisi con un test di riferimento (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR per BD MAX™) e con Vivalytic Bordetella; da questi sono stati ricavati i risultati di performance mostrati nella tabella 6.

Assistenza tecnica

Per richiedere supporto, assistenza tecnica o per ulteriori domande, è possibile contattare il distributore locale di riferimento o consultare il sito web Bosch Vivalytic all'indirizzo www.bosch-vivalytic.com.

Bibliografia

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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*

CE₀₁₂₃ Marchio CE incl. numero di identificazione dell'organismo notificato



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

Innledning

Bordetella pertussis er et lite, gramnegativt, immobilt, innkapslet, aerobt patogen som produserer en rekke toksiner og virulensfaktorer, inkludert pertussis-toksin (PT), filamentøst hemagglutinin (FHA), trakealt cytotoxin, pertaktin, varmelabil toksin og adenylatsyklasehemolysin. *Bordetella* formerer seg på ciliert epitel i luftveisslimhinnen og forårsaker lokal ødeleggelse av slimhinnen. Noen av toksinene svekker også immunforsvaret og forårsaker vevsskader. [1, 2]

B. pertussis er det primære patogenet som forårsaker kikhoste. Infeksjoner med *B. parapertussis* eller *B. holmesii* kan også føre til et klinisk bilde som ligner kikhoste, men forløpet er vanligvis mildere og kortere enn ved en sykdom forårsaket av *B. pertussis*.

Kikhoste er svært smittomt og smitter gjennom luftveisdryper som genereres ved hoste, nysing og til og med tale.

Kikhoste kan vare i flere uker til måneder. Den typiske første infeksjonen hos uvaksinerte personer utvikler seg i tre stadier:

- Det katarralske stadiet (varighet 1–2 uker; intervall 5–21 dager): Dette stadiet kjennetegnes av forkjølelselignende symptomer, som snørr og mild hoste, men vanligvis ingen eller bare lavgradig feber.
- Det paroksysiske stadiet (varighet 4–6 uker): I dette stadiet inntreffer den typiske hosen med kraftige hosteanfall (stakkato hoste) fulgt av en dyp, pipende innånding, kiking. Hosteanfallene ledsages ofte av oppstøt av tyktflytende slim etterfulgt av oppkast.
- Rekonvalesensfasen (varighet 6–10 uker): Hosteanfallene avtar gradvis. Siden kikhoste ofte ikke gir de klassiske symptomene, særlig hos voksne, men også hos eldre barn og ungdom, er laboratoriediagnostiske metoder avgjørende for diagnostikken. Hos pasienter med hoste (uansett varighet) bør laboratoriediagnostikk for kikhoste utføres hvis det har vært kontakt med et bekreftet kikhostetilfelle, eller hvis det er klassiske symptomer som hosteanfall, kiking eller oppkast etter hosteanfall, eller ved lengre vedvarende hoste (> 14 dager), selv om de klassiske symptomene ikke er til stede. Dette gjelder også pasienter som har fått kikhostevaksine. Selv om de klassiske symptomene forekommer, bør laboratoriediagnostikk utføres for bekreftelse. Hvilken laboratoriediagnostisk metode som anbefales, avhenger av sykdomsstadiet. I løpet av de første 2 til 3 ukene etter første hoste anbefales det på det sterkeste å bruke dyrkning eller nukleinsyreamplifikasjon (NAT), vanligvis PCR, for å påvise disse patogenene fra dype nasofaryngeale vattpinner, nasofaryngealt sekret eller materiale som er innhentet ved hjelp av sug. [1, 2]

Pakkens innhold

15 Vivalytic Bordetella-testkassetter for kvalitativ påvisning av gensekvenser spesifikke for *B. pertussis*, *B. parapertussis* og *B. holmesii* i eNAT®-transportmedium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vivalytic Bordetella-testen er konfigurert for bruk med en Vivalytic *one*-analyzer.

Tiltenkt bruk

Vivalytic Bordetella-testen er en automatisert, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test basert på polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid for påvisning av nukleinsyrer fra *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii* fra nasofaryngeale vattpinner fra mennesker for å bidra til diagnostisering av kikhoste, parapertussis eller kikhostelignende 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 Bordetella-infeksjon eller annen luftveisinfeksjon. 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*-analyzer 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.
- Biologiske prøver, overføringsenheter og brukte kassetter bør anses å være i stand til å overføre smittestoffer som krever standard forholdsregler. Håndter potensielt infeksiose 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 F09G300115)
- Pipette (100–1000 µl)
- Sterile filterpipettespisser 100–1000 µl
- Prøvetakingssett:
Fleksibel, flokket vattpinne FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Egnede verneutstyr

Testprinsipp

Vivalytic Bordetella 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 °C 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 på å påvise nukleinsyrer fra *B. pertussis* (genmålsekvens IS481), *B. parapertussis* (genmålsekvens pIS1001) og *B. holmesii* (genmålsekvenser IS481, hIS1001) i nasofaryngeale vattpinneprøver (fleksibel, flokket vattpinne FLOQSwabs® 553C) i eNAT®-transportmedium (eNAT®-transportmedium ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Prøver skal tas og oppbevares slik det er angitt i produsentens instruksjoner [3].

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® transportmedium [3]).

Prøveklargjøring

Bruk en COPAN FLOQSwabs® fleksibel vattpinne for innsamling av nasofaryngeale vattpinneprøver. Hver vattpinne overføres til 1 ml eNAT®-transportmedium. Knekk vattpippen, og lukk røret. Rist prøverøret som inneholder vattpinneprøven og eNAT®-medium, for homogenisering (unggå skumming). Overfør 300 µl homogenisert prøve i prøveinntaket på kassetten, og lukk kassettklokket. Sett kassetten inn i Vivalytic *one*-analysatoren.

Ikke bruk tykflytende 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 33 minutter, og testkjøringen kan avsluttes tidligere (se kapitlet om testavslutning).

Prøven klassifiseres enten som *B. pertussis*-positiv, *B. parapertussis*-positiv, *B. holmesii*-positiv, negativ eller ugyldig, eller som en kombinasjon av de ovennevnte. Ved positiv påvisning av ett eller flere av målene vurderes testen som gyldig selv om Human Control er negativ.

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

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultat
+	-	-	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. pertussis</i> og <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. parapertussis</i> og <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Prøven vurderes som positiv for <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Prøven anses som negativ (!). ³
-	-	-	+	Prøven anses som negativ.
-	-	-	-	Ugyldig. ⁴

¹Ved et positivt signal for *B. holmesii* kan en blandingsprøve med *B. pertussis* ikke utelukkes, ettersom de to artene deler identiske sekvenser i den amplifiserte regionen av IS481.

²*B. parapertussis*-positiv (!)

Prøver som ligger nær LoD, vil muligens ikke vise positivt signal for alle definerte mål og klassifiseres derfor som negative for *B. pertussis* og *B. holmesii*. Det utelukker ikke en infeksjon med disse patogenene. Det anbefales å teste på nytt.

³Negativ (!)

Prøver som ligger nær LoD, vil muligens ikke vise positivt signal for alle definerte mål og klassifiseres derfor som negative for *B. pertussis*, *B. parapertussis* og *B. holmesii*. Det utelukker ikke en infeksjon med disse patogenene. Resultatet må ikke brukes. Det anbefales å teste på nytt.

⁴Gjentatt testing anbefales.

⁵IS481- og pIS1001-insersjonselementene kan også være til stede i *B. bronchiseptica*.

PCR – kurve og C_q-verdi

Sanntids-PCR-kurver (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. Vær nøye med å bruke riktig prøvetype, prøvetaking og oppbevaring av prøven og kassetene 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 (tidlig fullføring)

Så fort det vises et gyldig, positivt resultat for *B. parapertussis* eller *B. holmesii* på skjermen, kan brukeren fullføre testen. Fullfør kun testen hvis ingen flere mål må analyseres. Resultater som er på vent, vil da ikke bli vist.

Testrapport

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

Kvalitetskontroll

Hvis det kreves av lokale standarder eller laboratoriestandarder, må kvalitetskontrolltester gjennomføres. Den integrerte kontrollen (Human Control) dekker prosessene med prøvetaking, nukleinsyrerensning, amplifikasjon og påvisning.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Følg produsentens instruksjoner. Rekonstituer referansematerialet i Copan eNAT®-medium.

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. Sammendraget av sikkerhet og ytelse (SSP) vil være tilgjengelig i den europeiske databasen for medisinsk utstyr (Eudamed), der det er knyttet til den grunnleggende UDI-DI-en. Hvis den respektive modulen i Eudamed blir fullt funksjonell, vil SSP være tilgjengelig på det offentlige nettstedet (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Begrensninger

Resultatene av Vivalytic Bordetella-testen skal kun tolkes av helsepersonell som har fått opplæring i dette. Resultatene av Vivalytic Bordetella-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. Det anbefales å teste på nytt.
- Et positivt resultat betyr ikke nødvendigvis at levedyktige patogener er til stede.
- Vivalytic Bordetella er en kvalitativ PCR-test i sanntid og gir ikke et kvantitativt resultat.
- Et positivt resultat for IS481 og hIS1001 kan enten skyldes tilstedeværelse av *B. holmesii* eller tilstedeværelse av *B. pertussis* og *B. holmesii* i prøven.
- Et positivt resultat for IS481 kan anses som sannsynlig *B. pertussis*-positivt, selv om *B. bronchiseptica* også kan føre til et positivt IS481-signal. Ved behov bør det utføres ytterligere testing for å skille mellom *B. bronchiseptica* og *B. pertussis*.

Analytisk ytelseevaluering

Analytisk følsomhet (deteksjonsgrense)

Deteksjonsgrensen (LoD) for Vivalytic Bordetella-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, [tabell 1](#)).

Inklusivitet

Inklusivitet kan evalueres ved å utføre en *in silico*-analyse (BLAST-sammenstilling) av den genomiske sekvensen til ulike relevante *Bordetella pertussis*-, *Bordetella parapertussis*- og *Bordetella holmesii*-stammer mot sekvensen til PCR-primere og hydrolyseproben som ble brukt i Vivalytic Bordetella-testen, for amplifikasjon og påvisning av de respektive patogenene. Inklusivitet kan vises for organismer 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii* opp mot genomsekvensen til forskjellige andre patogener som utgjør vanlige respiratoriske patogener eller nært beslektede arter. For påvisningssystemet for *Bordetella pertussis* kunne det påvises sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for *Bordetella bronchiseptica*-stammene NCTC 10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, noe som konkluderte med en mulig amplifisering. For påvisningssystemet for *Bordetella parapertussis* kunne det påvises sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for *Bordetella bronchiseptica*-stammene KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, noe som konkluderte med en mulig amplifisering. Det var ingen tegn på interferens for påvisningssystemet for *Bordetella holmesii* ([tabell 3](#)).

Reproduserbarhet

Reproduserbarheten av Vivalytic Bordetella-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 3 ulike konsentrasjoner av *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii*. På 3 teststeder ble hver blanding testet på samme sett med Vivalytic-instrumenter av samme operatør med 3 partier i 4 replikater på 3 dager. De oppnådde positivitetsratene for de forskjellige kombinasjonene var korrelert til den forventede positivitetsraten ([tabell 4a](#)).

Repeterbarhet

Repeterbarheten av Vivalytic Bordetella-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 1 konsentrasjon ($3 \times c95$) av *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii*. På 1 teststed ble blandingen testet på samme sett av Vivalytic-instrumenter av samme operatør med hhv. 3 partier i 20 replikater, 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. Ingen interferenser ble påvist.

Klinisk ytelseevaluering

Sensitivitets- og spesifisitetsresultater fra naturlige nasofaryngeale vattpinneprøver. Prøver ble innhentet klinisk og sammenlignet med resultater fra referansemeteroder.

561 nasofaryngeale vattpinneprøver i eNAT ble testet på ett studiested ved hjelp av en screeningmetode med potensielt klinisk positive prøver. 8 kliniske prøver ble funnet positive for ett av de tre patogenene (alle *Bordetella parapertussis*), noe som gir en positiv rate i prøvesettet på 1,9 % (8/411). I tillegg ble 150 negative forhåndskarakteriserte prøver tilsatt respektive referansemateriale (50 prøver per patogen).

Totalt 495 resultater var inkludert i datasettet fra testing med en referansetest (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™) og Vivalytic Bordetella, noe som førte til resultatene som vises i [tabell 6](#).

Teknisk støtte

Hvis du har behov for brukerstøtte, teknisk hjelp eller har ytterligere spørsmål, kan du kontakte den lokale distributøren din eller gå til nettstedet for Bosch Vivalytic på www.bosch-vivalytic.com.

Referanser

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboler



Produsent



Serienummer



Produksjonsdato



Temperaturgrense



Utløpsdato



Skal ikke brukes hvis pakken er skadet



Partinummer



Bare til engangsbruk



Referansenummer



Se bruksanvisningen



Inneholder <n> tester



in vitro-diagnostisk medisinsk utstyr

CE₀₁₂₃ CE-merke inkl. identifikasjonsnummeret til teknisk kontrollorgan



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

Inledning

Bordetella pertussis är en liten gramnegativ, orörlig, inkapslad, aerob patogen som producerar olika toxiner och virulensfaktorer, inklusive pertussistoxin (PT), filamentöst hemagglutinin (FHA), trakealt cytotoxin, pertaktin, värmelabilt toxin och adenylatcyklastoxin. *Bordetella* växer på cilierade epitelceller på andningsorganens slemhinna, och orsakar lokal nedbrytning av slemhinnan. Vissa av toxinerna försämrar också immunsystemet och orsakar vävnadsskada. [1, 2]

B. pertussis är den primära patogenen som orsakar kikhosta. Infektioner med *B. parapertussis* eller *B. holmesii* kan också leda till en klinisk bild som liknar kikhosta, men förloppet är vanligtvis mildare och kortare jämfört med sjukdom orsakad av *B. pertussis*.

Kikhosta är mycket smittsamt och överförs via droppar från luftvägarna som genereras av hosta, nysningar och till och med samtal.

Pertussis kan vara i flera veckor till månader. Den typiska initiala infektionen hos ovaccinerade personer indelas i tre stadier:

- Katarral fas (varar 1–2 veckor; intervall 5–21 dagar): Det här stadiet kännetecknas av förkylningslika symptom såsom snuva och mild hosta, men oftast ingen eller endast måttlig feber.
- Paroxysmal fas (varar 4–6 veckor): I det här stadiet förekommer de klassiska symptomen med hostattacker (hackig hosta) följt av kikningar. Hostattackerna åtföljs ofta av slemuppstötningar och kräkningar.
- Konvalescent fas (varar 6–10 veckor): Hostattackerna avtar gradvis.

Då pertussis ofta inte visar sig med de klassiska symptomen, i synnerhet hos vuxna men även hos äldre barn och ungdomar, så är diagnostiska metoder avgörande för diagnos. För patienter med hosta (oavsett dess varaktighet) ska laboratoriediagnostik för pertussis utföras om det förekommit kontakt med ett bekräftat fall av pertussis eller om klassiska symptom föreligger såsom hostattacker, andningshinder eller kräkningar efter hostattacker, eller vid en längre ihållande hosta (>14 dagars varaktighet) även om dessa symptom inte föreligger. Patienter som fått ett pertussisvaccin är inte exkluderade. Även om klassiska symptom förekommer ska laboratoriediagnostik utföras för bekräftelse. Rekommenderad laboratoriediagnostisk metod beror på sjukdomsstadiet. Under de första 2 till 3 veckorna efter att hostan startat rekommenderas starkt att använda en odlings- eller nukleinsyraamplifieringsteknik (NAT), vanligtvis PCR, för att detektera dessa patogener från djupa nasofaryngeala pinnprover, nasofaryngealsekret eller material som erhållits genom sugning. [1, 2]

Förpackningens innehåll

15 Vivalytic Bordetella-testpatroner för kvalitativ detektion av specifika gensekvenser för *B. pertussis*, *B. parapertussis* och *B. holmesii* i eNAT®-transportmedium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Testet Vivalytic Bordetella har konfigurerats för användning med ett Vivalytic one-analysinstrument.

Avsedd användning

Testet Vivalytic Bordetella är ett automatiskt kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test baserat på Realtids-PCR (polymeraskedjereaktion) för detektion av nukleinsyror från *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* och *Bordetella holmesii* från humana nasofaryngeala pinnprover som ett hjälpmedel för diagnos av pertussis, parapertussis eller pertussis-liknande infektioner 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 *Bordetella*-infektion eller en annan luftvägsinfektion. 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.
- 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 F09G300115)
- Pipett (100–1000 µl)
- Sterila filterpipettspetsar 100–1 000 µl
- Pinnprovtagningsskit:
Böjlig flockad provpinne FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Lämpliga skyddskläder

Testprincip

Vivalytic Bordetella 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 celllysering, 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 att detektera nukleinsyror i *B. pertussis* (gen-målsekvens IS481), *B. parapertussis* (gen-målsekvens pIS1001) och *B. holmesii* (gen-målsekvenser IS481, hIS1001) från nasofaryngeala pinnprover (böjlig flockad pinne FLOQSwabs® 553C) i eNAT®-transportmedium (eNAT®-transportmedium ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Samla in och förvara proverna enligt tillverkarens anvisningar [3].

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®-transportmedium [3]).

Provberedning

Använd en böjlig COPAN FLOQSwabs®-pinne för insamling av nasofaryngeala pinnprover. Överför varje pinne till 1 ml eNAT®-transportmedium. Bryt av pinnen och förslut provröret. Skaka provröret som innehåller pinnprovet och eNAT®-medium så att provet homogeniseras (undvik skumbildning). Fyll 300 µl av det homogeniserade provet i provinmatningen på patronen och stäng patronlocket. Sätt in patronen i analysinstrumentet Vivalytic one.

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 33 minuter och testkörningen kan avslutas tidigare (se kapitlet Avsluta testet).

Provet klassificeras som antingen positivt för *B. pertussis*, positivt för *B. parapertussis*, positivt för *B. holmesii*, negativt eller ogiltigt eller en kombination av ovanstående. Vid en positiv detektion för ett eller flera av målen betraktas testet som giltigt även om Human Control är negativ.

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

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultat
+	-	-	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. pertussis</i> och <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. parapertussis</i> och <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Provet betraktas som positivt för <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Provet betraktas som negativt (!). ³
-	-	-	+	Provet betraktas som negativt.
-	-	-	-	Ogiltigt. ⁴

¹Vid en positiv signal för *B. holmesii* kan ett blandat prov med *B. pertussis* inte uteslutas eftersom de två arterna delar identiska sekvenser inom den amplifierade regionen för IS481.

²positivt för *B. parapertussis* (!)

Prover som ligger nära LoD visar eventuellt inte en positiv signal för alla definierade mål och klassificeras därför som negativa för *B. pertussis* och *B. holmesii*. Detta utesluter inte en infektion med dessa patogener. Omtestning rekommenderas.

³Negativt (!)

Prover som ligger nära LoD visar eventuellt inte en positiv signal för alla definierade mål och klassificeras därför som negativa för *B. pertussis*, *B. parapertussis* och *B. holmesii*. Detta utesluter inte en infektion med dessa patogener. Resultatet ska inte användas. Omtestning rekommenderas.

⁴Omtestning rekommenderas.

⁵Insertionselementen IS481 och pIS1001 kan också förekomma i *B. bronchiseptica*.

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. 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 (tidigt avslut)

Så fort ett giltigt, positivt resultat för *B. parapertussis* eller *B. holmesii* visas på skärmen kan användaren välja att avsluta testet. Avsluta endast testet om du inte behöver analysera fler mål. Väntande resultat visas inte.

Testrapport

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

Kvalitetskontroll

Om det krävs enligt lokala föreskrifter eller laboratoriestandarder måste även en kvalitetskontroll genomföras. Den integrerade kontrollen (Human Control) omfattar processerna för provinsamling, rening av nukleinsyra, amplifiering och detektion.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Följ tillverkarens anvisningar. Rekonstituera referensmaterialet i Copan eNAT®-medium.

Om resultatet 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. Sammanfattningen av säkerhet och prestanda (SSP) kommer att finnas tillgänglig i den europeiska databasen för medicintekniska produkter (Eudamed), där den är länkad till Basic UDI-DI. Om respektive modul i Eudamed är fullständig funktionell finns SSP tillgänglig på den offentliga webbplatsen (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Begränsningar

Resultaten från testet Vivalytic Bordetella får endast utvärderas av utbildad sjukvårdspersonal. Resultaten från testet Vivalytic Bordetella 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. Omtestning rekommenderas.
- Ett positivt resultat innebär inte med säkerhet att livsdugliga patogener förekommer.
- Vivalytic Bordetella är ett kvalitativt Realtids-PCR-test och ger inget kvantitativt resultat.
- En positiv signal för IS481 och hIS1001 kan antingen orsakas av förekomst av *B. holmesii* eller av förekomst av *B. pertussis* och *B. holmesii* i provet.
- En positiv IS481-signal kan betraktas som sannolikt positivt för *B. pertussis*, men även *B. bronchiseptica* kan leda till en positiv IS481-signal. Vid behov ska ytterligare testning utföras för att särskilja *B. bronchiseptica* och *B. pertussis*.

Utvärdering av analytisk prestanda

Analytisk sensitivitet (detektionsgräns)

Detektionsgränsen (LoD) för testet Vivalytic Bordetella 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, [tabell 1](#)).

Inklusivitet

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

Exklusivitet/analytisk specificitet

För att utesluta korsreaktivitet (exklusivitet) utfördes en *in silico*-analys (BLAST-anpassning) där målregionen för *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* och *Bordetella holmesii* jämfördes med den genomiska sekvensen för andra patogener som representerar vanliga luftvägspatogener eller nära besläktade arter. För detektionssystemet för *Bordetella pertussis* kunde sekvensmatchningar i prob- och primerområdet detekteras för *Bordetella bronchispetica*-stammarna NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, vilket indikerar en möjlig amplifiering. För detektionssystemet för *Bordetella parapertussis* kunde sekvensmatchningar i prob- och primerområdet detekteras för *Bordetella bronchispetica*-stammarna KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, vilket indikerar en möjlig amplifiering. Inga bevis på interferens kunde påvisas för detektionssystemet för *Bordetella holmesii* ([tabell 3](#)).

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för testet Vivalytic Bordetella fastställdes genom att använda en panel med 3 olika koncentrationer av *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* och *Bordetella holmesii*. Varje blandning testades på 3 testplatser med samma uppsättning Vivalytic-instrument av samma operatör med 3 loter i 4 replikat under 3 dagar. Erhållna positivitetsgrader för de olika kombinationerna korrelerade med den förväntade positivitetsgraden ([tabell 4a](#)).

Repetierbarhet

Repetierbarheten för testet Vivalytic Bordetella fastställdes genom att använda en panel med 1 koncentration ($3 \times c95$) av *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* och *Bordetella holmesii*. Blandningen testades på 1 testplats med samma uppsättning Vivalytic-instrument av samma operatör med 3 loter i 20 replikat, 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. Inga interferenser detekterades.

Utvärdering av klinisk prestanda

Resultat för sensitivitet och specificitet erhöles från nasofaryngeala pinnprover. Proverna samlades in i en klinisk miljö och jämfördes med resultat från referensmetoder.

561 nasofaryngeala pinnprover i eNAT testades på en studieplats med hjälp av screening med potentiellt positiva kliniska prover. 8 kliniska prover befanns positiva för en av de tre patogenerna (alla var *Bordetella parapertussis*) vilket gav ett positivitetsvärde inom provuppsättningen på 1,9 % (8/411). Dessutom spikades 150 negativt förkarakteriserade prover med respektive referensmaterial (50 prover per patogen).

Totalt inkluderades 495 resultat i datauppsättningen som erhöles med ett referenstest (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR för BD MAX™) och Vivalytic Bordetella, vilket gav prestandaresultaten som visas i [tabell 6](#).

Teknisk support

Om du behöver support, teknisk hjälp eller har ytterligare frågor kan du kontakta din lokala återförsäljare eller besöka Bosch Vivalytics webbplats på www.bosch-vivalytic.com.

Referenser

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 inklusive numret för anmält organ (Notified Body)



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

Johdanto

Bordetella pertussis on pieni gramnegatiivinen, liikkumaton, kapseloitunut aerobinen patogeeni, joka tuottaa erilaisia toksiineja ja virulenssitekijöitä, kuten hinkuuskätoksiinia (PT), filamenttihemaglutiniinia (FHA), trakeaalista sytotoksiinia, pertaktiinia, lämpölabiilia toksiinia ja adenylaattisyklaasihemolysiiniä. Bordetella lisääntyy hengityselimien värekarvaepiteelissä aiheuttaen limakalvon paikallista tuhoutumista. Osa toksiineista myös heikentää immuunijärjestelmää ja aiheuttaa kudosaivaurioita. [1, 2]

B. pertussis on ensisijainen hinkuuskää aiheuttava patogeeni. *B. parapertussis*- tai *B. holmesii*-infektiot voivat myös johtaa hinkuuskän kaltaiseen kliiniseen kuvaan, mutta taudinkuva on tyypillisesti lievempi ja kesto lyhyempi kuin *B. pertussis*-patogeenin aiheuttama tauti.

Hinkuuskä on erittäin herkästi tarttuva ja tarttuu yskimisen, aivastuksen ja jopa puhumisen aiheuttamien hengitystiepisaroiden kautta.

Hinkuuskä voi kestää useasta viikosta useaan kuukauteen. Rokottamattomien henkilöiden tyypillinen alkuihminen etenee kolmessa vaiheessa:

- Katarraalivaihe (kesto 1–2 viikkoa; väli 5–21 päivää): Tätä vaihetta luonnehtivat flunssankaltaiset oireet, kuten flunssaisuus ja lievä yskä, mutta yleensä ei lainkaan tai vain kohtalaisesti kuumetta.
- Paroksysmaalivaihe (kesto 4–6 viikkoa): Tässä vaiheessa esiintyy klassisia yskänkohtausten oireita (hukkaavaa yskää) ja sen jälkeen sisäänhengityksen vetäytymistä. Yskänkohtauksiin liittyy usein viskoosisen liman vuotoa ja sen jälkeen oksentelua.
- Toipilasvaihe (kesto 6–10 viikkoa): Yskänkohtaukset väistyvät vähitellen.

Koska hinkuuskällä ei useinkaan ole klassisia oireita etenkin aikuisilla, eikä myöskään vanhemmilla lapsilla ja nuorilla, laboratoriodiagnostiikkamenetelmät ovat diagnostiikan kannalta ratkaisevan tärkeitä. Yskäpotilaille (kestosta riippumatta) on tehtävä hinkuuskän laboratoriodiagnostiikka, jos potilaalla on ollut kontakti vahvistettuun hinkuuskätapaukseen tai jos hänellä on klassisia oireita, kuten yskänkohtauksia, sisäänhengityksen vinkumista tai oksentelua, esiintyy yskäkohtausten jälkeen, tai jos yskän kesto on pidempi (kesto >14 vuorokautta), vaikka oireita ei olisikaan. Hinkuuskärokotteen saaneita potilaita ei suljeta pois diagnostiikasta. Vaikka klassisia oireita ilmenisi, on tehtävä laboratoriodiagnostiikka varmistuksen saamiseksi. Suositeltu laboratoriodiagnostiikkamenetelmä riippuu taudin vaiheesta. Ensimmäisen 2–3 viikon ajan yskimisen alkamisesta on suositeltavaa käyttää soluviljelymenetelmää tai nukleiinihapon monistusmenetelmää (NAT), yleensä PCR, näiden patogeenien toteamiseen syvästä nenänielusta otetuista pyyhkäisyäytteistä, nenänielueritteistä tai imulla saadusta näytemateriaalista. [1, 2]

Pakkauksen sisältö

15 Vivalytic Bordetella -testikasettia, joilla osoitetaan kvalitatiivisesti *B. pertussis*-, *B. parapertussis*- ja *B. holmesii*-spesifiset geenisekvenssit eNAT®-väliaineessa (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vivalytic Bordetella -testi on määritetty käytettäväksi Vivalytic one -analysointin kanssa.

Käyttötarkoitus

Vivalytic Bordetella -testi on automatisoitu, kvalitatiivinen *in vitro* -diagnostinen testi, joka perustuu reaaliaikaiseen polymeerasiketjureaktioon (PCR), jolla osoitetaan ihmisen nenänielunäytteissä olevat *Bordetella pertussis*-, *Bordetella parapertussis*- ja *Bordetella holmesii*-patogeenien nukleiinihapot, mikä auttaa hinkuuskän, parapertussis-infektion tai hinkuuskän kaltaisten infektioiden diagnosoinnissa oireisilla yksilöillä.

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 Bordetella-infektiota tai muuta hengitystieinfektiota. 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 laboratorikäytäntöä, jotta testi suoritetaan asianmukaisesti.
- Käytä asianmukaisia henkilönsuojaimia.
- Älä käytä kasettia, jos sinetöity pussi tai itse kasetti on vaurioitunut.
- Älä kosketa tai naarmuta kasetin tunnustusalueetta.
- 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.
- Biologisten näytteiden, siirtolaitteiden ja käytettyjen kasettien tulee katsoa pystyvän välittämään tartunnanaiheuttajia, jotka vaativat vakiovaroitoimia. Käsittele mahdollisesti tartuntavaarallisia potilasnäytteitä ja -kasetteja kansallisten laboratoriestandardien mukaisesti ja hävitä näytteet ja kasetit alueellisten ja laboratoriestandardien 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 F09G300115)
- Pipetit (100–1000 µl)
- Steriilit pipetin suodatinkärjet 100–1000 µl
- Näytetikkipakkaukset:
Joustava Flocked Swab FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Väliaine:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Asianmukainen suojavaatetus

Testiperiaate

Vivalytic Bordetella on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-pohjainen testi.

Varastointi- ja käyttöolosuhteet

TTuote 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 uutto-prosessin aikana. Eluutiopuskuri on vähäsuolainen puskuuri, joka sisältää puhdistettuja nukleiinihappoja uutto-prosessin lopussa.

Näytetyypit/väliaine

Testi on tarkoitettu osoittamaan patogeenien *B. pertussis* (geenin kohdesekvenssi IS481), *B. parapertussis* (geenin kohdesekvenssi pIS1001) ja *B. holmesii* (geenin kohdesekvenssit IS481, hIS1001) nukleiinihapot nenänielunäytteistä (joustava Flocked Swab FLOQSwabs® 553C) eNAT®-väliaineessa (eNAT®-väliaine Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Kerää ja säilytä näytteitä valmistajan ohjeissa esitetyllä tavalla [3].

Jos näytettä ei käsitellä välittömästi näytteenoton jälkeen, nukleiinihapot säilyvät eNAT®-kuljetusväliaineessa enintään 4 viikkoa huoneenlämmössä ja enintään 6 kuukautta 4 °C:ssa ja -20 °C – -80 °C:ssa (katso eNAT®-kuljetusväliaineen käyttöohjeet [3]).

Näytteen valmistelu

Käytä joustavaa COPAN FLOQSwabs® -näytetikkuä näytteen ottamiseen potilaan suunielusta ja/tai nenänielusta. Siirrä kukin näytetikku 1 ml:aan eNAT®-kuljetusväliainetta. Katkaise näytetikku ja sulje putki. Homogenoi näytetikun ja eNAT®-väliaineen sisältävän näyteputken sisältö ravistamalla (vältä vaahtoamista). Lisää 300 µl homogenoitua näytettä kasetin näytteen-syöttöaukkoon ja sulje kasetin kansi. Aseta kasetti Vivalytic one -analysointi-laitteeseen.

Älä käytä viskoosisia näytteitä, joita on vaikea pipetoida.

Testitulokset

Kun näyte on käsitelty automaattisesti Vivalytic one -analysointilaitteella, testitulokset näkyvät Vivalytic one -analysointinäytteen näyttössä. Testituloksen valmistumisaika on noin 50 minuuttia. Korkean pitoisuuden näytteiden tulokset ovat käytettävissä alle 33 minuutissa, ja testin suorittaminen voidaan päättää etuajassa (katso luku Testin päättäminen).

Näyte luokitellaan joko *B. pertussis* -positiiviseksi, *B. parapertussis* -positiiviseksi, *B. holmesii* -positiiviseksi, negatiiviseksi tai virheelliseksi tai edellä mainittujen yhdistelmäksi. Jos ainakin yksi kohde tunnistetaan positiiviseksi, testin katsotaan onnistuneen, vaikka Human Control olisi negatiivinen.

Ihmissoluun perustuvan koko prosessin kontrollin (Human Control) havaitseminen negatiivisista näytteistä osoittaa onnistuneen DNA-puhdistuksen ja vahvistuksen ja sulkee pois PCR-reaktion eston. Tulosten tulkinta esitetään alla olevassa taulukossa.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Tulos
+	-	-	+/-	Näyte katsotaan <i>B. pertussis</i> -positiiviseksi.
+	+	-	+/-	Näyte katsotaan <i>B. holmesii</i> -positiiviseksi. ¹
-	-	+	+/-	Näyte katsotaan <i>B. parapertussis</i> -positiiviseksi.
+	-	+	+/-	Näyte katsotaan <i>B. pertussis</i> - ja <i>B. parapertussis</i> -positiiviseksi.
+	+	+	+/-	Näyte katsotaan <i>B. parapertussis</i> - ja <i>B. holmesii</i> -positiiviseksi. ¹
-	+	+	+/-	Näyte katsotaan <i>B. parapertussis</i> -positiiviseksi (!). ²
-	+	-	+/-	Näytettä pidetään negatiivisena (!). ³
-	-	-	+	Näytettä pidetään negatiivisena.
-	-	-	-	Virheellinen. ⁴

¹Jos *B. holmesii* -patogeenin signaali on positiivinen, *B. pertussis* -patogeenin kanssa sekoitettunutta näytettä ei voida sulkea pois, koska näillä kahdella lajilla on samat sekvenssit IS481:n monistetulla alueella.

²*B. parapertussis* -positiivinen (!)

Tunnistusrajan (LoD) lähellä olevat näytteet eivät ehkä näytä positiivista signaalia kaikille määritellyille kohteille, ja siksi ne luokitellaan patogeenien *B. pertussis* ja *B. holmesii* osalta negatiivisiksi. Tämä ei sulje pois näiden patogeenien aiheuttamaa tartuntaa. Uudelleentestaus on suositeltavaa.

³Negatiivinen (!)

Tunnistusrajan (LoD) lähellä olevat näytteet eivät ehkä näytä positiivista signaalia kaikille määritellyille kohteille, ja siksi ne luokitellaan patogeenien *B. pertussis*, *B. parapertussis* ja *B. holmesii* osalta negatiivisiksi. Tämä ei sulje pois näiden patogeenien aiheuttamaa tartuntaa. Tulosta ei saa käyttää. Uudelleentestaus on suositeltavaa.

⁴Testin uusiminen on suositeltavaa.

⁵Lisäselementit IS481 ja pIS1001 voivat esiintyä myös *B. bronchiseptica* -patogeenissa.

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 ihmisluainesta. 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 käyttö-ohjeista). Käynnistä Vivalytic *one* -analysointilaitte uudelleen. Jos ongelma jatkuu, ota yhteyttä paikallisen jälleenmyyjän asiakastukeen.

Testin päättäminen (aikainen lopetus)

Kun kelvollinen, positiivinen tulos näkyy näytössä patogeeneille *B. parapertussis* tai *B. holmesii*, käyttäjä voi päättää testin. Testin saa lopettaa vain, jos muita kohteita ei tarvitse analysoida. Odottavia tuloksia ei näytetä.

Testiraportti

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

Laadunohjaus

Jos paikalliset tai laboratoriostandardit sitä edellyttävät, on suoritettava laadunvalvontatestaus. Integroituun kontrolliin (Human Control) sisältyy näytteenottaminen, nukleiinihapon puhdistus, vahvistus ja tunnistaminen. Jos tarvitaan vertailutestimenetelmää laadunohjausta varten, on mahdollista käyttää seuraavia viitemateriaaleja:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Noudata valmistajan ohjeita. Rekonstituoi vertailumateriaali Copan eNAT® -väliaineessa.

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. Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (SSP) on saatavilla eurooppalaisessa lääkinnällisten laitteiden tietokannassa (Eudamed), jossa se on liitetty UDI-DI-perustunnistukseen. Jos vastaava Eudamedin moduuli on täysin toimiva, SSP on saatavilla julkisella verkkosivustolla (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Rajoitukset

Vivalytic Bordetella -testin tuloksia saa tulkita vain koulutettu terveydenhuollon ammattilainen. Vivalytic Bordetella -testin tuloksia ei saa käyttää diagnoosin ainoana parametrina.

- Negatiivinen tulos ei sulje pois sitä, että näytteessä on taudinaiheuttajaa määritysherkkyyden alapuolella tai muita taudinaiheuttajia, jotka eivät kuulu tähän määritykseen.
- Väärien negatiivisten tai väärien positiivisten tulosten riski johtuu väärin 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. Uudelleentestaus on suositeltavaa.
- Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita elinkykyisten patogeenien esiintymistä.
- Vivalytic Bordetella on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-testi, joka ei anna kvantitatiivisia tuloksia.
- Positiivinen IS481 ja hIS1001 voivat johtua patogeenin *B. holmesii* tai patogeenien *B. pertussis* ja *B. holmesii* esiintymisestä näytteessä.
- Positiivista IS481:tä voidaan pitää todennäköisenä *B. pertussis* -positiivisenä tuloksena, vaikkakin *B. bronchiseptica* voi johtaa myös positiiviseen IS481-signaaliin. Tarvittaessa on tehtävä lisätestejä patogeenien *B. bronchiseptica* ja *B. pertussis* erottamiseksi.

Analyttisen suorituskyvyn arviointi

Analyttinen herkkyys (tunnistusraja)

Vivalytic Bordetella -testin tunnistusraja (LoD) määritettiin pienimmäksi johdonmukaisesti havaituksi analyttin pitoisuudeksi (≥ 95 % näytteistä, testattu määritetyllä näytetyypillä rutiinilaboratorio-olosuhteissa, [taulukko 1](#)).

Inklusiivisuus

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

Eksklusiivisuus / analyttinen tarkkuus

Ristireaktiivisuuden (eksklusiivisuuden) poissulkemiseksi suoritettiin patogeenien *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ja *Bordetella holmesii* kohdealueen *in silico* -analyysi (BLAST-kohdistus) hengitysteiden yleisten patogeenien tai niihin läheisesti liittyvien lajien genomisekvenssin perusteella. *Bordetella pertussis* -patogeenin tunnistusjärjestelmässä voidaan havaita sekvenssivastaavuuksia koettimen ja primeerin alueella *Bordetella bronchispetic* -patogeenin kantojen NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 osalta, mikä johtaa mahdolliseen monistukseen. *Bordetella parapertussis* -patogeenin tunnistusjärjestelmässä voidaan havaita sekvenssivastaavuuksia koettimen ja primeerin alueella *Bordetella* -patogeenin kantojen KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 osalta, mikä johtaa mahdolliseen monistukseen. *Bordetella holmesii* -patogeenin -tunnistusjärjestelmässä ei ollut näyttöä häiriöistä ([taulukko 3](#)).

Uusittavuus

Vivalytic Bordetella -testin uusittavuus todettiin paneelilla, jossa oli 3 eri *Bordetella pertussis*-, *Bordetella parapertussis*- ja *Bordetella holmesii* -pitoisuutta. Kaikissa kolmessa testipaikassa jokainen seos testattiin samoilla Vivalytic-välineillä saman testaajan toimesta. Testi toistettiin yhteensä kolmessa erässä neljä kertaa kolmena eri päivänä. Eri yhdistelmien todennettuja positiivisuusarvoja verrattiin odotettuun positiivisuusarvoon ([taulukko 4a](#)).

Toistettavuus

Vivalytic Bordetella -testin toistettavuus määritettiin käyttämällä paneelia, jossa oli yhtä patogeenien *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ja *Bordetella holmesii* pitoisuutta ($3 \times c95$). Seos testattiin yhdessä testipaikassa samoilla Vivalytic-välineillä saman testaajan toimesta. Testi toistettiin kolmella erällä 20 kertaa, eli yhteensä toteutettiin 60 havaintokertaa kohdepatogeenia kohden. Eri yhdistelmien todennettuja positiivisuusarvoja verrattiin odotettuihin positiivisuusarvoihin ([taulukko 4b](#)).

Häiriöt

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

Kliinisen suorituskyvyn arviointi

Herkkyys- ja tarkkuustulokset on johdettu nenänielun näytetikulla otetuista natiivinäytteistä. Näytteet otettiin kliinisessä ympäristössä, ja niitä verrattiin viitemenetelmien tuloksiin.

561 eNAT-väliaineessa olevaa näytetikulla otettua nenänielunäytettä testattiin yhdessä tutkimuspaikassa käyttämällä seulontamenetelmää mahdollisesti kliinisten positiivisten näytteiden kanssa. Kahdeksan kliinistä näytettä todettiin positiivisiksi yhdestä kolmesta patogeenistä (kaikki patogeenille *Bordetella parapertussis*), mikä johti näytejoukon positiivisuusasteeseen 1,9 % (8/411). Lisäksi 150 negatiivisiksi esitulkittuun näytteeseen lisättiin vastaavaa vertailumateriaalia (50 näytettä patogeeniä kohti).

Yhteensä vertailutestillä (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™*) ja Vivalytic Bordetella -testillä saaduista testeistä saatiin 495 tulosta, mikä johti [taulukossa 6](#) esitettyihin suorituskykytuloksiin.

Tekninen tuki

Jos tarvitset teknistä tukea tai muuta apua tai sinulla on kysyttävää, ota yhteyttä paikalliseen jakelijaan tai käy Bosch Vivalyticin sivustolla osoitteessa www.bosch-vivalytic.com.

Lähdeviitteet

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 -diagnoosiin tarkoitettu lääkinällinen laite

CE₀₁₂₃ CE-merkintä ja ilmoitetun laitoksen tunnistenumero



Pipetoi kasetin näytteensyöttöaukkoon mustan kolmion alla ilmoitettu näytemäärä.

Introduktion

Bordetella pertussis er et lille gram-negativt, immobilt, indkapslet, aerobt patogen, der producerer en række toksiner og virulensfaktorer, herunder pertussis-toksin (PT), filamentøs hæmagglutinin (FHA), lufttrørs-cytotoksin, pertactin, varmelabil toksin og adenylcyklase-hæmolysin. *Bordetella* formerer sig på fimrepitelet på slimhinden i luftvejene, hvilket forårsager lokal destruktion af slimhinden. Nogle toksiner svækker også immunsystemet og forårsager vævsskade. [1, 2]

B. pertussis er det primære patogen til forårsagelse af kighoste. Infektioner med *B. parapertussis* eller *B. holmesii* kan også medføre et klinisk billede, der minder om kighoste, men forløbet er typisk mildere og kortere end det, der medfører sygdom forårsaget af *B. pertussis*.

Kighoste er yderst smitsom og overføres via luftvejsdråber, der genereres ved hoste, nysen og endda ved tale.

Pertussis kan vare i flere uger til flere måneder. Den typiske første infektion hos ikke-vaccinerede personer har et forløb med tre faser:

- Katarfasen (varighed 1-2 uger; interval 5-21 dage): Denne fase er karakteriseret af forkølelseslignende symptomer, som f.eks. forkølelse og mild hoste, men normalt ingen eller kun moderat feber.
- Den paroksysmale fase (varighed 4-6 uger): I denne fase er der klassiske symptomer med hosteanfald (hoste med indånding mellem hvert host), efterfulgt af hiven efter vejret. Hosteanfaldene er ofte ledsaget af regurgitation af tyktflydende slim efterfulgt af opkast.
- Konvalescensfasen (varighed 6-10 uger): Hosteanfaldene aftager gradvist.

Da pertussis ofte ikke udviser de klassiske symptomer, særligt hos voksne, men også hos ældre børn og unge, er laboratoriediagnosemetoder afgørende for diagnosticeringen. Hos patienter med hoste (uanset dens varighed) skal der foretages laboratoriediagnosticeringer af pertussis, hvis der har været kontakt med et bekræftet pertussis-tilfælde, eller hvis der er klassiske symptomer, som f.eks. hosteanfald, stridor ved vejrtrækning eller opkast efter hosteanfaldene, eller i tilfælde af en længere vedvarende hoste (>14 dags varighed), også selv om disse ikke forekommer. Patienter, der har fået en pertussis-vaccine, er ikke undtaget. Selv hvis der forekommer klassiske symptomer, skal der foretages laboratoriediagnosticeringer for en bekræftelse. Den anbefalede laboratoriediagnosemetode afhænger af sygdomsfasen. Under de første 2 til 3 uger efter påbegyndelsen af hosten anbefales det på det kraftigste at bruge en dyrknings- eller nukleinsyreamplifikationsteknik (NAT), normalt PCR, til detektion af disse patogener fra dybe nasofaryngeale podninger, nasopharyngeal sekreter eller materiale, der er indsamlet med sugning. [1, 2]

Pakkens indhold

15 Vivalytic Bordetella-testkassetter til kvalitativ detektion af *B. pertussis*-, *B. parapertussis*- og *B. holmesii*-specifikke gensekvenser i eNAT®-transportmedium (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vivalytic Bordetella-testen er konfigureret til brug med et Vivalytic *one*-analyseapparat.

Beregnet anvendelse

Vivalytic Bordetella-testen er en automatisk kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test baseret på realtids-PCR (Polymerase Chain Reaction) til detektion af nukleinsyrer fra *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii* fra humane nasofaryngeale podninger som en hjælp til diagnosticering af pertussis, parapertussis eller pertussis-lignende infektioner 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 *Bordetella*-infektion eller andre luftvejsinfektioner. 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 hospitalslaboratorier 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.
- 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 F09G300115)
- Pipette (100-1000 µl)
- Sterile filterpipettespidser 100-1000 µl
- Podeprøvetagningssæt:
Fleksibel podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Passende beskyttelsestøj

Testprincip

Vivalytic Bordetella er en kvalitativ realtids-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 oprensningsprocessen. 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 detektion af nukleinsyrer fra *B. pertussis* (gen-target-sekvens IS481), *B. parapertussis* (gen-target-sekvens pIS1001) og *B. holmesii* (gen-target-sekvens IS481, hIS1001) for nasofaryngeale podeprøver (fleksibel podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® 553C) i eNAT®-transportmedium (eNAT®-transportmedium ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Indsaml og opbevar prøver som angivet i producentens anvisninger [3].

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®-transportmedium [3]).

Prøveklargøring

Brug en COPAN FLOQSwabs® flexible-podepind til indsamling af nasofaryngeale podeprøver. Hver podeprøve overføres til et 1 ml eNAT®-transportmedium. Afbræk podepinden, og luk røret. Ryst prøverøret med podeprøven og eNAT®-mediet til homogenisering (undgå skumdannelse). Kom 300 µl homogeniseret prøve i kassettenes prøveinput, og luk låget på kassetten. Sæt kassetten i Vivalytic one-analyseapparatet.

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 33 min., og testkørslen kan afsluttes tidligere (se kapitlet Afslutning af test).

Prøven klassificeres enten som *B. pertussis* positive, *B. parapertussis* positive, *B. holmesii* positive, negativ eller ugyldig eller som en kombination af disse. I tilfælde af en positiv detektion af et eller flere af targets 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 DNA-oprensnings- og -forstærknings-procedure og udelukker en hæmning af PCR-reaktionen. Fortolkningen af resultater er angivet i tabellen herunder.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultat
+	-	-	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. pertussis</i> og <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. parapertussis</i> og <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Prøven anses for at være positiv for <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Prøven anses for at være negativ (!). ³
-	-	-	+	Prøven anses for at være negativ.
-	-	-	-	Ugyldig. ⁴

¹ I tilfælde af et positivt signal for *B. holmesii* kan en blandet prøve med *B. pertussis* ikke udelukkes, da de to arter har identiske sekvenser inden for den forstærkede region af IS481.

² *B. parapertussis* positiv (!)

Prøver tæt på LoD viser muligvis ikke et positivt signal for alle definerede targets og klassificeres derfor som negative for *B. pertussis* og *B. holmesii*. Dette udelukker ikke en infektion med disse patogener. Det anbefales at foretage en gentest.

³ Negativ (!)

Prøver tæt på LoD viser muligvis ikke et positivt signal for alle definerede targets og klassificeres derfor som negative for *B. pertussis*, *B. parapertussis* og *B. holmesii*. Dette udelukker ikke en infektion med disse patogener. Resultatet må ikke bruges. Det anbefales at foretage en gentest.

⁴ Gentestning anbefales.

⁵ Der kan også være IS481- og pIS1001-insertionselementer til stede i *B. bronchiseptica*.

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 cellemateriale i prøven. 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 (tidlig afslutning)

Så snart der vises et gyldigt positivt resultat for *B. parapertussis* eller *B. holmesii* på skærmen, kan brugeren afslutte testen. Afslut kun testen, hvis der ikke er behov for at analysere yderligere targets. Ventende resultater vises ikke.

Testrapport

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

Kvalitetskontrol

Hvis det kræves af de lokale standarder eller laboratoriestandarderne, skal der gennemføres kvalitetskontroltest. Den integrerede kontrol (Human Control) omfatter processerne med prøvetagning, nukleinsyreoprensning, forstærkning og detektion.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spanien).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spanien).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spanien).

Følg producentens anvisninger. Rekonstituer referencematerialet i Copan eNAT®-medium.

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 kontaminerede. 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 hjemhørende. Sammenfatningen af sikkerhed og ydeevne (SSP) vil være tilgængelig i den europæiske database over medicinsk udstyr (Eudamed), hvor den er tilknyttet til dens grundlæggende UDI-DI. Hvis det respektive modul i Eudamed er fuldt funktionelt, vil SSP'en være tilgængelig på det offentligt tilgængelige websted (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Begrænsninger

Resultaterne af Vivalytic Bordetella-testen må udelukkende fortolkes af uddannet sundhedspersonale. Resultaterne af Vivalytic Bordetella-testen må 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. Det anbefales at foretage en gentest.
- Et positivt resultat betyder ikke nødvendigvis, at der er levedygtige patogener til stede.
- Vivalytic Bordetella er en kvalitativ realtids-PCR-test og giver ikke et kvantitativt resultat.
- Et positivt IS481 og hIS1001 kan enten skyldes forekomsten af *B. holmesii* eller forekomsten af *B. pertussis* og *B. holmesii* i prøven.
- Et positivt IS481 kan anses for at være sandsynlig *B. pertussis*-positivt, selvom *B. bronchiseptica* også kan medføre et positivt IS481-signal. Udfør om nødvendigt yderligere testning for at skelne mellem *B. bronchiseptica* og *B. pertussis*.

Evaluering af analytisk funktion

Analytisk følsomhed (detektionsgrænse)

Detektionsgrænsen (LoD) for Vivalytic Bordetella-testen blev bestemt som den laveste analytkoncentration, der kan detekteres konsekvent ($\geq 95\%$ af de prøver, der blev testet under gældende laboratoriebetingelser ved brug af en defineret prøvetype, [tabel 1](#)).

Inklusivitet

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

Eksklusivitet/analytisk specificitet

For at udelukke krydsreaktivitet (eksklusivitet) blev der udført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenligning) af target-regionen for *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii* mod den genomiske sekvens af forskellige andre patogener, der repræsenterer almindelige luftvejspatogener eller nært beslægtede arter. For detektionssystemet for *Bordetella pertussis* kunne der detekteres sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for *Bordetella bronchiseptica*-stammerne NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001 og MBORD595 efter en mulig forstærkning. For detektionssystemet for *Bordetella parapertussis* kunne der detekteres sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for *Bordetella bronchiseptica*-stammerne KM22, BB5, FR3523, FR2017 og FR3823 efter en mulig forstærkning. Der blev ikke konstateret interferens for detektionssystemet for *Bordetella holmesii* ([tabel 3](#)).

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af Vivalytic Bordetella-testen blev fastlagt ved brug af et panel med 3 forskellige koncentrationer af *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii*. På 3 teststeder blev hver blanding testet på det samme sæt Vivalytic-instrumenter af den samme bruger med 3 lot i henholdsvis 4 bestemmelser over 3 dage. De indhentede positivitetsrater for de forskellige kombinationer blev korreleret med den forventede positivitetsrate ([tabel 4a](#)).

Repetérbarhed

Repetérbarheden af Vivalytic Bordetella-testen blev fastlagt ved brug af et panel med 1 koncentration ($3 \times c_{95}$) af *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* og *Bordetella holmesii*. På 1 teststed blev blandingen testet på det samme sæt Vivalytic-instrumenter af den samme bruger i henholdsvis 3 lot i 20 bestemmelser, 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. Der blev ikke detekteret nogen interferens.

Evaluering af klinisk funktion

Resultater af følsomhed og specificitet udledt af oprindelige nasofaryngeale pødeprøver. Prøverne blev udtaget i kliniske omgivelser og sammenlignet med resultater af referencemetoder.

561 nasofaryngeale pødeprøver i eNAT blev testet på ét undersøgelsessted med brug af en screeningstilgang med potentielle kliniske positive prøver. 8 kliniske prøver blev fundet positive for et ud af tre patogener (alle *Bordetella parapertussis*) med en positivitetsrate inden for prøvesættet på 1,9 % (8/411) til følge. Derudover fik 150 negativt for karakteriserede prøver tilsat det respektive referencemateriale (50 prøver pr. patogen).

I alt 495 resultater blev inkluderet i datasættet opnået med testning med en referencetest (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™) og Vivalytic Bordetella, hvilket gav de performanceresultater, der er vist i [tabel 6](#).















Teknisk support

Hvis du har behov for support, teknisk hjælp eller har yderligere spørgsmål, bedes du kontakte den lokale forhandler eller besøge Boschs Vivalytic-hjemmesiden på www.bosch-vivalytic.com.

Referencer

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 <i>in vitro</i> -diagnosticering |
|  | CE-mærke inkl. identifikationsnummer for det bemyndigede organ | | |
|  | Pipetter den angivne prøvemængde markeret af den sorte trekant i kassetens prøveinput. | | |

Sissejuhatus

Bordetella pertussis on väike gramnegatiivne, liikumatu, kapseldunud, aeroobne patogeen, mis toodab mitmesuguseid toksine ja virulentsusfaktoreid, sealhulgas läkaköha toksini (PT), filamentoosset hemaglutiniini (FHA), traheaalset tsütotoksiini, pertaktiini, kuumalabiilset toksini ja adenülaatsüklaasi hemolüsiini. *Bordetella* paljuneb hingamisteede limaskestast ripsepiteelil, põhjustades limaskestast lokaalset hävitamist. Mõned toksiinid kahjustavad ka immuunsüsteemi ja põhjustavad koekahjustusi. [1, 2] *B. pertussis* on peamine haigustekitaja, mis põhjustab läkaköha. *B. parapertussis*'e või *B. holmesii* infektsioon võib samuti põhjustada läkaköha sarnast kliinilist pilti, kuid haiguse kulgu on tavaliselt kergem ja lühem kui *B. pertussis*'e põhjustatud haiguse kulgu.

Läkaköha on ülimalt nakkav ja kandub edasi hingamisteede piiskade kaudu, mis tekivad köhimisel, aevastamisel ja isegi rääkimisel.

Läkaköha võib kesta mitu nädalat või kuud. Tüüpiline esialgne nakkus vaktsineerimata isikutel kulgeb kolmes etapis:

- Katarraalne faas (kestus 1-2 nädalat, intervall 5-21 päeva): Seda staadiumit iseloomustavad külmetushaigusega sarnanevad sümptomid, näiteks nohu ja kerge köha, kuid tavaliselt puudub või esineb vaid mõõdukas palavik.
- Paroksüsmaalne faas (kestus 4-6 nädalat): Selles staadiumis esinevad klassikalised sümptomid, nagu köhahood (katkendlik köha), millele järgneb venitatud hingamine. Köhahoogudega kaasneb sageli viskoosse lima allaneelamine, millele järgneb oksendamine.
- Taandumisfaas (kestus 6-10 nädalat): Köhahoogude sagedus väheneb tasapisi.

Kuna läkaköha ei ilmne sageli klassikaliste sümptomitega, eriti täiskasvanutel, kuid ka vanematel lastel ja noorukitel, on laboratoorsed diagnoosimeetodid haiguse tuvastamisel väga olulised. Patsientidel, kellel esineb köha (sõltumata selle kestusest), tuleks läbi viia laboratoorne diagnoosimine läkaköha suhtes, kui on olnud kokkupuude kinnitatud läkaköha juhtumiga või kui esinevad klassikalised sümptomid, nagu raevukad köhahood, striidor või oksendamine pärast köhahoogude tekkimist. Või pikemaajalise püsiva köha korral (>14 päeva kestev), isegi kui need sümptomid puuduvad. Patsiendil, kes on saanud läkaköha vaktsiini, ei ole välistatud. Isegi klassikaliste sümptomite ilmnemisel tuleks kinnitamiseks läbi viia laboratoorne diagnoosimine. Soovitav laboratoorne diagnoosimeetod sõltub haiguse staadiumist. Esimese 2-3 nädala jooksul pärast köha algust on tungivalt soovitatav kasutada kultuuri või nukleiinhappe amplifikatsioonimeetodit (NAT), tavaliselt PCR, et tuvastada need patogeenid sügavast ninaneelu tamponiproovist, ninaneelu sekreedist või imemise teel saadud materjalist. [1, 2]

Pakendi sisu

15 Vivalytic Bordetella testkassetti *B. pertussis*'e, *B. parapertussis*'e ja *B. holmesii* spetsiifiliste geenijärjestuste kvalitatiivseks avastamiseks eNAT® transpordisöötmes (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vivalytic Bordetella test on konfigureeritud kasutamiseks koos Vivalytic one analüsaatoriga.

Sihtotstarve

Vivalytic Bordetella test on automatiseeritud kvalitatiivne *in vitro* diagnostiline test, mis põhineb reaajas toimival polümeraasi ahelreaktsioonil (PCR) *Bordetella pertussis*'e, *Bordetella parapertussis*'e ja *Bordetella holmesii* nukleiinhapete avastamiseks inimese ninaneelu proovist, et aidata diagnoosida sümptomaatiliste isikute *pertussis*'e, *parapertussis*'e või *pertussis*'e-sarnaseid infektsioone.

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). Testi negatiivne tulemus ei välista *Bordetella* nakkust ega muid hingamisteede nakkushaigusi. Tulemused tuleb viia kliiniliselt korrelatsiooni patsiendi anamneesi, kliiniliste leidude ja epidemioloogilise teabega. Patsiendi nakkusliku seisundi hindamiseks 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 „Seadme 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 kassetti, kui selle hermeetiliselt suletud kott on nähtavalt kahjustunud.
- Ärge puudutage ega kriimustage kasseti analüüsiala.
- Ärge korduskasutage kassetti.
- 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 kassetti.
- Ärge keerake kassetti tagurpidi.
- Asetage kassett alati vaid puhtale ja tasasele pinnale.
- Ärge kasutage proovi tüüpe, söötmeid ega mahte, mis ei ole testiga kasutamiseks ette nähtud.
- Bioloogilisi proove, ülekandevahendeid ja kasutatud kassette tuleb käsitleda nakkusohtlike vahenditena järgides standardseid ettevaatusabinõusid. Käsitsege potentsiaalselt nakkusohtlikke patsiendiproove ja kassette vastavalt riiklikult laboritele kehtestatud standarditele. Vabanee proovidest ja kassettidest vastavalt piirkondlikele ja labori standarditele.
- Järgige riiklikke 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 F09G300115)
- Pipett (100–1000 µl)
- Steriilsed filter-pipetiotsad 100–1000 µl
- Proovi kogumiskomplektid:
 - Painduv ripstampoon FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
 - Transpordisööde
 - eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Sobiv kaitseriietus

Testi tööpõhimõte

Vivalytic Bordetella on kvalitatiivne reaalaajas PCR-il põhinev test.

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 soolsusega puhver, mis sisaldab ekstraheerimisprotsessi lõpuks puhastatud nukleiinhappeid.

Proovi tüübid / sööde

Test on ette nähtud *B. pertussis*'e (geenide sihtjärjestus IS481), *B. parapertussis*'e (geenide sihtjärjestus pIS1001) ja *B. holmesii* (geenide sihtjärjestused IS481, HIS1001) nukleiinhapete avastamiseks ninaneelu tampooniproovidest (painduv ripstampoon FLOQSwabs® 553C) eNAT® transpordisöötmes (eNAT® transpordisööde Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.). Koguge ja säilitage proove nii, nagu on näidatud tootja juhistes [3]. 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 kasutusjuhend [3]).

Proovi ettevalmistamine

Kasutage patsiendilt ninaneeluproovide kogumiseks painduvaid tampoone COPAN FLOQSwabs®. Iga tampoon tuleb panna 1 ml transpordisöötmesse eNAT®. Murdke tampoon ja sulgege katsuti. Raputage tampooniproovi sisaldavat proovikatsutit eNAT® söötme homogeniseerimiseks (vältige vahutamist). Kandke 300 µl homogeniseeritud proovi kasseti proovisüvendisse ja pange kasseti kaas kinni. Sisestage kassett Vivalytic *one* analüsaatorisse. Ärge kasutage viskoosseid proove, mida on keeruline pipeteerida.

Testi tulemus

Pärast proovi automaatset töötlemist Vivalytic *one* analüsaatoris, kuvatakse testitulemus Vivalytic *one* analüsaatori ekraanil. Tulemuse saamiseni kulub umbes 50 minutit. Kõrge tiitriga proovide puhul on tulemused kättesaadavad vähem kui 33 minuti pärast ja testimise võib lõpetada varem (vaadake jaotist „Analüüsi lõpetamine“).

Proov liigitatakse kas *B. pertussis* positiivseks, *B. parapertussis* positiivseks, *B. holmesii* positiivseks, negatiivseks või kehtetuks või eelnimetatute kombinatsiooniks. Juhul kui üks või mitu sihtmärki tuvastatakse positiivselt, loetakse test kehtivaks isegi siis, kui Human Control on negatiivne.

Inimese rakul põhineva kogu protsessi kontrolli tuvastamine (Human Control) näitab edukat DNA puhastamist ja amplifikatsiooni protseduuri ning välistab PCR-reaktsiooni inhibeerimise. Tulemuste tõlgendus on esitatud allolevas tabelis.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Tulemus
+	-	-	+/-	Proov on bakteri <i>B. pertussis</i> suhtes positiivne.
+	+	-	+/-	Proov on bakteri <i>B. holmesii</i> suhtes positiivne. ¹
-	-	+	+/-	Proov on bakteri <i>B. parapertussis</i> suhtes positiivne.
+	-	+	+/-	Proov on bakterite <i>B. pertussis</i> ja <i>B. parapertussis</i> suhtes positiivne.
+	+	+	+/-	Proov on bakterite <i>B. parapertussis</i> ja <i>B. holmesii</i> suhtes positiivne. ¹
-	+	+	+/-	Proov on bakteri <i>B. parapertussis</i> suhtes positiivne (!). ²
-	+	-	+/-	Proov loetakse negatiivseks (!). ³
-	-	-	+	Proov loetakse negatiivseks.
-	-	-	-	Kehtetu. ⁴

¹Positiivse signaali korral *B. holmesii* suhtes ei saa välistada segaproovi *B. pertussis*'ega, kuna neil kahel liigil on IS481 amplifitseeritud piirkonnas identne järjestus.

²*B. parapertussis* positiivne (!)

LoD-lähedased proovid ei pruugi näidata positiivset signaali kõigi määratletud sihtmärkide suhtes ja liigitatakse seetõttu negatiivseks *B. pertussis*e ja *B. holmesii* suhtes. See ei välista nakatumist nende haigusetekiitajatega. Soovitav on testi korrata.

³Negatiivne (!)

LoD-lähedased proovid ei pruugi näidata positiivset signaali kõigi määratletud sihtmärkide suhtes ja liigitatakse seetõttu negatiivseks *B. pertussis*'e, *B. parapertussis*'e ja *B. holmesii* suhtes. See ei välista nakatumist nende haigusetekiitajatega. Tulemust ei tohi kasutada. Soovitav on testi korrata.

⁴Soovitav on uuesti testida.

⁵IS481 ja pIS1001 sisestuselemendid võivad esineda ka *B. bronchiseptica*'s.

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. 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.

Testi lõpetamine (varajane lõpetamine)

Kohe, kui ekraanil kuvatakse kehtiv, positiivne tulemus *B. parapertussis*'e või *B. holmesii* suhtes, saab kasutaja valida testi lõpetamise. Lõpetage test vaid juhul, kui rohkem pole vaja sihtmärke analüüsida. Ootel tulemusi ei kuvata.

Testi aruanne

Testi trükitud aruandes loetletakse patogeenid, tulemused, kontrollmaterjalid ning teave kasutaja, patsiendiproovi ja analüsaatori Vivalytic *one* kohta koos signatuuri väljaga.

Kvaliteedikontroll

Kui kohalikud või labori standardid seda nõuavad, tuleb teha kvaliteedikontroll. Integreeritud kontroll (Human Control) hõlmab proovi kogumise, nukleiinhappe puhastamise, amplifikatsiooni ja tuvastamise protsesse. Juhul kui kvaliteedikontrolli jaoks läheb vaja testimise võrdlusmeetodit, võib kasutada järgmisi võrdlusmaterjale:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Järgige tootja juhiseid. Rekonstrueerige võrdlusmaterjal Copan eNAT® söötmes.

Ootamatute tulemuste korral korra 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. Ohutust ja toimivust käsitlev kokkuvõte (SSP) on kättesaadav Euroopa meditsiini-seadmete andmebaasis (Eudamed), kus see on seotud põhi-UDI-DI-ga. Kui Eudamedi vastav moodul on täielikult toimiv, on SSP kättesaadav avalikul veebisaidil (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Piirangud

Testi Vivalytic Bordetella tulemusi võib tõlgendada vaid koolitatud tervishoiutöötaja. Testi Vivalytic Bordetella tulemusi ei tohi kasutada diagnoosi ainsa alusena.

- Negatiivne tulemus ei välista patogeeni esinemist proovis analüüsi tundlikkustasemest madalamal tasemel või patogeeni 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. Soovitav on testi korrata.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata, et proovis on elujõulisi patogeene.
- Vivalytic Bordetella on kvalitatiivne reaalaajas PCR-test, mis ei taga kvantitatiivset tulemust.
- Positiivne IS481 ja hIS1001 võib olla põhjustatud kas *B. holmesii* esinemisest või *B. pertussis*'e ja *B. holmesii* esinemisest proovis.
- Positiivset IS481 võib pidada tõenäoliseks *B. pertussis*'e positiivseks tulemuseks, kuigi ka *B. bronchiseptica* võib anda positiivse IS481 signaali. Vajaduse korral tuleks läbi viia täiendavaid teste, et eristada *B. bronchiseptica* ja *B. pertussis*.

Analüütiliste toimivusnäitajate hindamine

Analüütiline tundlikkus (tuvastamise piirang)

Vivalytic Bordetella testi avastamispiir (LoD) määrati, kui analüüdi vähim kontsentratsioon, mida on võimalik järjekindlalt tuvastada ($\geq 95\%$ proovidest, mida on testitud rutiinsetes laboritingimustes, kasutades kindlat tüüpi proovi, [tabel 1](#)).

Ühilduvus

Kaasamise hindamiseks viidi läbi erinevate asjaomaste *Bordetella pertussis*'e, *Bordetella parapertussis*'e ja *Bordetella holmesii* tüvede genoomijärjestuse *in silico* analüüs (BLAST-joondamine) võrreldes PCR-praimerite ja hüdroloüüsisondi järjestusega, mida kasutatakse Vivalytic Bordetella testis vastavate patogeeni amplifitseerimiseks ja avastamiseks. Kaasamist saab tõendada [tabelis 2](#) loetletud organismidel.

Mitteühilduvus / analüütiline spetsiifilisus

Ristreaktiivsuse (eksklusiivsuse) välistamiseks viidi läbi *Bordetella pertussis*'e, *Bordetella parapertussis*'e ja *Bordetella holmesii* sihtpiirkonna *in silico* analüüs (BLAST-joondamine) erinevate teiste haigustekitajate, mis esindavad tavalisi hingamisteede patogeene või nendega lähedalt seotud liike, genoomijärjestuse suhtes. *Bordetella pertussis*'e tuvastussüsteemi puhul oli võimalik tuvastada *Bordetella bronchiseptica* tüvede NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 järjestuse kokkulangevusi sondi ja praimerite piirkonnas, mis viitab võimalikule amplifikatsioonile. *Bordetella parapertussis*'e tuvastussüsteemi puhul oli võimalik tuvastada *Bordetella bronchiseptica* tüvede KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 järjestuse kokkulangevusi sondi ja praimerite piirkonnas, mis viitab võimalikule amplifikatsioonile. *Bordetella holmesii* tuvastussüsteemi puhul ei olnud mingeid tõendeid häirete kohta ([tabel 3](#)).

Reprodutseeritavus

Vivalytic Bordetella testi reprodutseeritavus määrati kindlaks, kasutades paneeli, mis sisaldas 3 erinevat kontsentratsiooni *Bordetella pertussis*'t, *Bordetella parapertussis*'t ja *Bordetella holmesii*'d. Kolmes testimiskohas analüüsis sama töötaja iga segu kolme partiid tootesarja Vivalytic sama instrumentide komplektiga kolmel päeval nelja paralleelproovi kasutades. Erinevate kombinatsioonide saadud positiivsusmäärad viidi korrelatsiooni eeldatava positiivsusmääraga ([tabel 4a](#)).

Korratavus

Vivalytic Bordetella testi korratavus määrati kindlaks, kasutades *Bordetella pertussis*'e, *Bordetella parapertussis*'e ja *Bordetella holmesii* 1 kontsentratsiooni (3x c95) sisaldavat paneeli. Ühes testimiskohas analüüsis sama töötaja segu kolme partiid tootesarja Vivalytic sama instrumentide komplektiga 20 paralleelproovi kasutades, millest tulenevalt saadi sihtpatogeeni kohta kokku 60 vaatlustulemust. 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. Häireid ei tuvastatud.

Kliiniliste toimivusnäitajate hindamine

Tundlikkus ja spetsiifilisus, mis on saadud natiivsete ninaneelu tampooniproovide põhjal. Proovid koguti kliinilises keskkonnas ja neid võrreldi standardmeetodi proovidega.

561 eNATi ninaneelu tampooniproovi analüüsi ühes testimiskohas, kasutades sõeluuringut, mille käigus võeti potentsiaalselt kliiniliselt positiivseid proove. 8 kliinilist proovi tunnustati positiivseks ühe patogeeni suhtes kolmest (kõik *Bordetella parapertussis*), mis tähendab, et positiivsete proovide osakaal proovide hulgas oli 1,9% (8/411). Lisaks sellele lisati 150 negatiivselt eelkarakteriseeritud proovile vastav võrdlusmaterjal (50 proovi patogeeni kohta).

Kokku lisati 495 tulemust andmekogumisse, mis saadi võrdlustestiga (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™) ja Vivalytic Bordetella abil testimiseks, mille tagajärjel saadi [tabelis 6](#) esitatud tulemused.















Tehniline tugi

Kui vajate tuge, tehnilist abi või Teil on lisaküsimusi, siis pöörduge kohaliku edasimüüja poole või külastage Bosch Vivalytic veebilehte aadressil www.bosch-vivalytic.com.

Viited

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Sümbolid

- | | |
|--|---|
|  Tootja |  Seerianumber |
|  Tootmiskuupäev |  Temperatuuri piirväärtus |
|  Aegumiskuupäev |  Toode ei tohi kasutada, kui selle pakend on kahjustatud |
|  Partii number |  Ainult ühekordseks kasutamiseks |
|  Viitenumber |  Tutvuge kasutusjuhendiga |
|  Sisaldab <n> testi |  <i>in vitro</i> diagnostikameditsiiniseade |
-  CE⁰¹²³ CE-vastavusmärgis koos teavitatud asutuse identifitseerimisnumbriga
-  Pipeteerige näidatud proovikogus kasseti proovisisendisse, mis on tähistatud musta kolmnurgaga.

Ivadas

Bordetella pertussis yra mažas gramneigiamas, nejudrus, kapsuliuotas aerobinis patogenas, gaminantis įvairius toksinus ir virulentiškumo faktorius, įskaitant kokliušo toksiną (PT), gijinį hemagliutininą (FHA), trachėjos citotoksiną, pertaktiną, karščiui atsparų toksiną ir adenilato ciklazės hemoliziną. *Bordetella* dauginasi ant kvėpavimo takų gleivinės blakstienotojo epitelio ir sukelia vietinį gleivinės naikinimą. Kai kurie toksinai taip pat silpnina imuninę sistemą ir sukelia audinių pažeidimus. [1, 2]

B. pertussis yra pagrindinis kokliušo sukėlėjas. *B. parapertussis* arba *B. holmesii* infekcijos taip pat gali sukelti klinikinį vaizdą, panašų į kokliušo, tačiau paprastai jis yra švelnesnis ir trumpesnis nei *B. pertussis* sukeltos ligos.

Kokliušas yra labai užkrečiamas ir perduodamas kvėpavimo takų lašeliais, atsirandančiais kosint, čiaudint ir net kalbant.

Kokliušas gali tęstis nuo kelių savaičių iki mėnesių. Įprasta pradinė nevakcinuotų asmenų infekcija progresuoja trimis etapais:

- Kataro fazė (trukmė 1–2 savaitės; intervalas 5–21 diena): šiai stadijai būdingi į peršalimą panašūs simptomai, pvz., šaltkrėtis ir lengvas kosulys, bet dažniausiai nekarščiuojama arba karščiuojama tik vidutiniškai.
- Paroksizminė fazė (trukmė 4–6 savaitės): šiame etape pasireiškia įprastų kosulio priepuolių (staccato kosulys), po kurių eina įkvėpimas, simptomų. Kosulio priepuolius dažnai lydi klampių gleivių atpylimas, po kurio atsiranda vėmimas.
- Sveikimo fazė (trukmė 6–10 savaitės): kosulio priepuoliai palaipsniui nyksta.

Kadangi kokliušas dažnai nepasireiškia įprastais simptomais, ypač suaugusiems, bet ir vyresniems vaikams bei paaugliams, diagnozuojant yra labai svarbūs laboratoriniai diagnostikos metodai. Kosintiems (nepriklausomai nuo jo trukmės) pacientams turėtų būti atliekama laboratorinė kokliušo diagnostika, jei buvo kontaktas su patvirtintu kokliušo atveju arba jei po kosulio priepuolių būna įprastų simptomų, tokių kaip kosulio priepuoliai, įkvėpimo stridoras ar vėmimas, arba kai kosulys trunka ilgiau (>14 dienų), net jei šių simptomų nėra. Sirgti gali ir pacientai, kurie buvo paskiepyti nuo kokliušo. Net ir atsiradus įprastų simptomų, norint patvirtinti diagnozę, reikia atlikti laboratorinę diagnostiką. Rekomenduojamas laboratorinės diagnostikos metodas priklauso nuo ligos stadijos. Per pirmąsias 2–3 savaites nuo kosulio pradžios primygtinai rekomenduojama naudoti kultūros arba nukleorūgščių amplifikacijos metodą (NAT), dažniausiai PGR, kad būtų galima aptikti šiuos patogenus iš gilių nosiaryklės tepinėlių, nosiaryklės sekreto ar medžiagos, gautos siurbimo būdu. [1, 2]

Pakuotės turinys

15 „Vivalytic Bordetella“ tyrimo kasečių, skirtų kokybiniam *B. pertussis*, *B. parapertussis* ir *B. holmesii* specifinių genų sekų aptikimui „eNAT®“ transportavimo terpėje („eNAT® 608C“, „COPAN Italia s.p.a.“).

„Vivalytic Bordetella“ tyrimas sukonfigūruotas naudoti su „Vivalytic one“ analizatoriumi.

Paskirtis

„Vivalytic Bordetella“ tyrimas yra automatizuotas, kokybinis *in vitro* diagnostinis tyrimas, pagrįstas tikralaike polimerazės grandinine reakcija (PGR), skirtas nukleino rūgštims aptikti iš *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ir *Bordetella holmesii* iš žmogaus nosiaryklės tepinėlių, padedančių diagnozuoti kokliušą, parapertussis arba į kokliušą panašias ligas simptomų turintiems asmenims.

Remiantis vien šiais rezultatais negalima nustatyti diagnozės, skirti gydymo ir priimti kitų paciento gydymo sprendimų. Teigiami rezultatai nereiškia, kad negali būti gretutinės infekcijos kitais patogenais. Gali būti, kad aptiktas (-i) mikroorganizmas (-ai) nėra ligos sukėlėjas (-ai). Neigiami rezultatai nereiškia, kad nėra *Bordetella* infekcijos arba kitos kvėpavimo takų infekcijos. Rezultatus būtina kliniškai susieti su paciento sveikatos istorija, klinikiniais stebėjimais ir epidemiologine informacija. Norint nustatyti paciento infekcijos būseną būtina kita diagnostinė informacija. Skirtas sveikatos priežiūros specialistams naudoti su „Vivalytic one“ analizatoriumi tik laboratorijose, pavyzdžiui, ligoninių laboratorijose ir etaloninėse laboratorijose.

Saugos informacija

Šiose naudojimo instrukcijose pateikiama tik su tyrimu susijusi informacija. Papildomos informacijos apie įspėjimus ir kitų instrukcijų ieškokite savo turimo „Vivalytic one“ analizatoriaus naudojimo instrukcijoje (skyruije apie prietaiso saugos informaciją). Naudokite tik tas „Vivalytic one“ kasetes ir reikmenis, kurie patvirtinti kaip tinkami „Vivalytic“ analizatoriui. Dirbdami su pacientų mėginiais ir kasetėmis stenkitės išvengti užteršimo. Jeigu mėginio išsiliejo ant kasetės, kasetės nebenaudokite ir ją išmeskite.

Skirtas naudoti tik sveikatos priežiūros specialistams *in vitro* diagnostikai atlikti.



ĮSPĖJIMAS

- Visada laikykitės geros laboratorinės praktikos, kad tyrimas būtų efektyvus.
- Būtinai naudokite asmenines apsaugos priemones (APP).
- Nenaudokite kasetės, jeigu pažeistas sandarusis maišelis arba akivaizdžiai apgadinta pati kasetė.
- Nelieskite ir nebraižykite kasetės aptikimo srities.
- Nenaudokite kasetės pakartotinai.
- Nenaudokite kasečių, kurių galiojimas pasibaigė. Galiojimo pabaigos datos ieškokite ant pakuotės ir kasetės etiketės.
- Atidarę kasetės maišelį, nelaukite ilgiau nei 15 minučių, kad pradėtumėte tyrimą. Taip užtikrinamas higieniškumas, o dėl drėgmės nenukenčia tyrimo efektyvumas. Ilgas drėgmės poveikis neigiamai veikia tyrimo efektyvumą.
- Nepurtykite kasetės, kurioje yra mėginio.
- Neapverskite kasetės aukštyn kojomis.
- Kasetę dėkite tik ant švaraus plokščio paviršiaus.
- Nenaudokite tų tipų mėginių, terpių ir kiekių, kurie nėra patvirtinti kaip tinkami šiam tyrimui atlikti.
- Biologinius ėminius, jų perkėlimo priemones ir panaudotas kasetes reikia laikyti galinčiais perduoti infekcijos sukėlėjus, su kuriais dirbant reikia imtis standartinių atsargumo priemonių. Su potencialiai infekciniais pacientų mėginiais ir kasetėmis elkitės laikydamiesi nacionalinių laboratorinių standartų; mėginius bei kasetes išmeskite pagal regioninius ir laboratorinius standartus.
- Laikykitės nacionalinių saugos reikalavimų ir praktikos.

Pastaba. Daugiau informacijos ieškokite gaminio saugos duomenų lape (SDL). Kreipkitės į vietinio platintojo paramos klientams skyrių.

Reikalinga, bet nepateikiama papildoma įranga ir vartojimo reikmenys

- „Bosch Vivalytic one“ analizatorius (katalogo numeris F09G300115)
- Lašintuvas (100–1000 µl)
- Sterilūs filtro pipečių antgaliai, 100–1 000 µl
- Tepinėlių ėmimo rinkiniai:
Lankstusis flokuotas tamponas „FLOQSwabs® 553C“ („COPAN Italia s.p.a.“)
- Transportavimo terpė:
„eNAT® 608C“ („COPAN Italia s.p.a.“)
- Tinkami apsauginiai drabužiai

Tyrimo principas

„Vivalytic Bordetella“ – tai kokybinis tikralaike PGR pagrįstas tyrimas.

Laikymo ir naudojimo sąlygos

Preparatas yra stabilus iki galiojimo pabaigos datos, jeigu laikomas +15–+25 °C temperatūroje. Laikymo ir naudojimo sąlygos nurodytos kasetės, maišelio arba dėžutės etiketėje. Kasetę reikia naudoti +15–25 °C temperatūroje, esant < 65 % santykiniam drėgnumui, ir panaudoti per 15 minučių nuo maišelio atplėšimo. Taip užtikrinamas higieniškumas, o dėl drėgmės nenukenčia tyrimo efektyvumas. Ilgas drėgmės poveikis neigiamai veikia tyrimo efektyvumą.

Reagentai

Visi mėginiai apdoroti būtini reagentai jau yra kasetėje. Apdorojimo metu atliekama ląstelių lizė, nukleino rūgščių išgavimas, DNR amplifikacija ir aptikimas.

Naudojami tokie reagentai kaip PGR sfera, rišamasis buferinis tirpalas, plovimo buferinis tirpalas ir eliacijos buferinis tirpalas. PGR sferoje yra DNR polimerazės, pradmenų ir zondų. Rišamasis buferinis tirpalas gryninimo proceso metu padeda prisijungti nukleorūgštims. Plovimo buferinis tirpalas – tai įvairių druskų ir tirpiklių mišinys, skirtas nešvarumams, pvz., baltymams, pašalinti išgavimo proceso metu. Eliacijos buferinis tirpalas – mažai druskingas buferinis tirpalas, kurio sudėtyje yra išgrynintų nukleorūgščių, gautų išgavimo proceso pabaigoje.

Mėginio tipai / terpė

Tyrimas skirtas *B. pertussis* (geno taikinio seka IS481), *B. parapertussis* (geno taikinio seka pIS1001) ir *B. holmesii* (geno tikslinės sekos IS481, hIS1001) aptikti nosiaryklės tepinėlių mėginiuose (lankstieji flokuoti tamponai FLOQSwabs® 553C“) „eNAT“ transportavimo terpėje („eNAT“ transportavimo terpė, Nr. 608C, „COPAN Italia s.p.a.“).

Mėginius imkite ir laikykite taip, kaip nurodyta gamintojo duomenų lape [3]. Jei mėginys neapdorojamas iš karto paėmus mėginį, nukleino rūgštys bus saugomos „eNAT“ transportavimo terpėje iki 4 savaičių kambario temperatūroje bei 4 °C temperatūroje ir iki 6 mėnesių nuo -20 °C iki -80 °C (žr. „eNAT“ transportavimo terpės naudojimo instrukcijas [3]).

Mėginio paruošimas

Norėdami paimti nosiaryklės tamponų mėginius, naudokite lankstų „COPAN FLOQSwabs“ tamponą. Kiekvienas tepinėlio ėmiklis perkeliamas į 1 ml „eNAT“ perkėlimo terpės. Nulaužkite ėmiklį ir užsukite mėgintuvėlį. Suplakite mėgintuvėlį, kuriame yra tepinėlio mėginys „eNAT“ terpėje, kad mėginys taptų homogenizuotas (venkite putojimo). 300 µl sumaišyto mėginio sulašinkite į kasetės mėginio lašavimo vietą ir uždarykite kasetės dangtelį. Įdėkite kasetę į „Vivalytic one“ analizatorių.

Nenaudokite tarsių mėginių, kuriuos sunku lašinti pipete.

Tyrimo rezultatas

„Vivalytic one“ analizatoriui automatiškai apdorojus mėginį, tyrimo rezultatai rodomi „Vivalytic one“ analizatoriaus ekrane. Laikas iki rezultato gavimo yra apie 50 min. Didelio titro mėginių rezultatai pasiekiami po mažiau nei 33 min., o tyrimo eiga gali būti nutraukta anksčiau (žr. skyrių „Tyrimo nutraukimas“).

Mėginys klasifikuojamas kaip *B. pertussis* teigiamas, *B. parapertussis* teigiamas, *B. holmesii* teigiamas, neigiamas ar nevertinamas arba kaip minėtų dalykų derinys. Jeigu aptinkamas vienas arba keli tiriamieji mikroorganizmai, tyrimas laikomas vertinamu, net jeigu neaptinkamos žmogaus kilmės kontrolinės medžiagos („Human Control“).

Jeigu aptinkamos žmogaus ląstelių pagrindo viso proceso kontrolinės medžiagos („Human Control“) neigiamuose mėginiuose, tai reiškia, kad DNR išgryninimo ir amplifikacijos procedūra buvo sėkminga, o PGR reakcija nebuvo slopinama. Rezultatai aiškinami toliau pateikiamoje lentelėje.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Žmogaus kilmės kontrolinės medžiagos („Human Control“)	Rezultatas
+	-	-	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. pertussis</i> ir <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. parapertussis</i> ir <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Mėginys laikomas teigiamu dėl <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Mėginys laikomas neigiamu (!). ³
-	-	-	+	Mėginys laikomas neigiamu.
-	-	-	-	Negalioja. ⁴

¹ Esant teigiamam *B. holmesii* signalui, negalima atmesti mišraus mėginio su *B. pertussis*, nes abiejų rūšių sekos yra identiškos amplifikuotoje IS481 srityje.

² *B. parapertussis* teigiamas (!)

Mėginiai, beveik siekiantys aptikimo rodiklį (LoD), gali nerodyti visų nustatytų tiriamųjų medžiagų teigiamo signalo, todėl klasifikuojami kaip *B. pertussis* ir *B. holmesii* neigiami. Tačiau negalima atmesti užsikrėtimo šiais patogenais. Rekomenduojama atlikti pakartotinį tyrimą.

³ Neigiamas (!)

Mėginiai, beveik siekiantys aptikimo rodiklį (LoD), gali nerodyti visų nustatytų tiriamųjų medžiagų teigiamo signalo, todėl klasifikuojami kaip *B. pertussis*, *B. parapertussis* ir *B. holmesii* neigiami. Tačiau negalima atmesti užsikrėtimo šiais patogenais. Šių rezultatų naudoti negalima. Rekomenduojama atlikti pakartotinį tyrimą.

⁴ Rekomenduojama pakartoti tyrimą.

⁵ IS481 ir pIS1001 įterpimo elementai taip pat gali būti *B. bronchiseptica*.

PGR – kreivė ir C_q vertė

Rodomas tikslaus PGR kreivės (pakoreguotos programinės įrangos), kurias programinė įranga klasifikuoja kaip teigiamas arba neigiamas. Jeigu kreivė teigiama, rodoma atitinkama C_q vertė. Neaiškius rezultatus pažymti programinė įranga (Δ). Rekomenduojama atlikti pakartotinį tyrimą.

Netinkami arba nepavykę tyrimai

Tyrimas laikomas nevertinamu, jei neaptinkama nei tikslinės DNR, nei žmogaus kilmės kontrolinės medžiagos („Human Control“). Galimos netinkamo tyrimo rezultato priežastys – prasta mėginio kokybė, kai mėginyje mažai arba visiškai nėra žmogaus ląstelinės medžiagos. Prieš atliekant tyrimą būtina įsitikinti, kad naudojamas tinkamo tipo mėginys, jis buvo tinkamai paimtas ir laikomas. Jeigu reikia, pakartokite analizę su nauju mėginiu.

Jeigu tyrimas nepavyko, pirmiausia patikrinkite, ar tinkamos „Vivalytic one“ analizatoriaus naudojimo sąlygos (žr. „Vivalytic one“ analizatoriaus naudojimo instrukcijas). Iš naujo paleiskite „Vivalytic one“ analizatorių. Jeigu problema kartosis, kreipkitės į vietinio platintojo klientų pagalbos skyrių.

Tyrimo nutraukimas (ankstyvas)

Kai tik ekrane parodomas tinkamas vertinamas *B. parapertussis* arba *B. holmesii* tyrimo rezultatas, naudotojas turi galimybę tyrimą užbaigti. Tyrimą užbaigkite tik tuo atveju, jeigu kitų mikroorganizmų tirti nereikia. Nebaigtų tyrimų rezultatai nebus rodomi.

Tyrimo ataskaita

Spausdintinėje tyrimo ataskaitoje nurodomi patogenai, rezultatai, kontrolinė medžiaga ir informacija apie naudotoją, paciento mėginį bei „Vivalytic one“ analizatorių, taip pat yra parašo laukas.

Kokybės kontrolė

Jeigu pagal vietinius arba laboratorijos standartus reikalaujama, būtina atlikti kokybės kontrolės bandymus. Integruotoji žmogaus kilmės kontrolinė medžiaga („Human Control“) naudojama mėginio ėmimo, nukleorūgščių išgryninimo, amplifikacijos ir aptikimo procesams patikrinti.

Jeigu reikia pasirinkti kokybės kontrolės etaloninio tyrimo metodą, galima naudoti šias etaloningas medžiagas:

„AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL“ („NEUTRAL MATRIX“) (MC078, „Vircell S.L. Spain“).

„AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL“ („NEUTRAL MATRIX“) (MC077, „Vircell S.L. Spain“).

„AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL“ („NEUTRAL MATRIX“) (MC168, „Vircell S.L. Spain“).

Vadovaukitės gamintojo naudojimo instrukcija. Atnaujinkite etaloningą medžiagą „Copan eNAT®“ terpėje.

Gavus nenumatytus rezultatus analizę reikia pakartoti su kitu mėginiu. Jeigu neigiamos kokybės kontrolės mėginio, pvz., grynos „eNAT®“ terpės, rezultatas vis tiek yra teigiamas, gali būti, kad užterštas „Vivalytic one“ analizatorius arba jo aplinka. Nebenaudokite „Vivalytic one“ ir išvalykite, kaip nurodyta „Vivalytic one“ analizatoriaus naudojimo instrukcijose.

Jeigu pakartotinai gautumėte klaidingus kokybės kontrolės mėginių rezultatus, kreipkitės į vietinio platintojo paramos klientams skyrių.

Pastaba naudotojams ES

Apie bet kokius rimtus incidentus, susijusius su prietaisu, būtina pranešti gamintojui ir valstybės narės, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, kompetentingai institucijai. Saugos ir klinikinio veiksmingumo duomenų santrauka (SSP) bus prieinama Europos medicinos prietaisų duomenų bazėje („Eudamed“), kur ji susieta su baziniu UDI-DI. Jei atitinkamas „Eudamed“ modulis veiks visiškai, SSP bus galima rasti viešojo svetainėje (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Apribojimai

„Vivalytic Bordetella“ tyrimo rezultatus turi interpretuoti tik išmokyti sveikatos priežiūros specialistai. „Vivalytic Bordetella“ tyrimo rezultatų negalima naudoti kaip vienintelio parametro diagnozei nustatyti.

- Neigiamas rezultatas nereiškia, kad mėginyje nėra patogenų – gali būti, kad jų lygis yra žemesnis už tyrimo jautrumo ribą arba kad yra kitų patogenų, kurie šiuo tyrimu nėra nustatomi.
- Neigiamas arba klaidingai teigiamas rezultatus galima gauti dėl netinkamai paimtų, transportuotų arba tvarkytų mėginių.
- Abejotiniais atvejais gali pasireikšti netipinės PGR charakteristikos (pvz., plokščia kreivė su žema arba aukšta C_q verte). Pasireiškus netipinėms charakteristikoms rezultatų negalima naudoti diagnozei nustatyti. Rekomenduojama atlikti pakartotinį tyrimą.
- Teigiamas rezultatas nebūtinai reiškia, kad mėginyje yra gyvybingų patogenų.
- „Vivalytic Bordetella“ yra kokybinis tikralaikės PGR tyrimas ir kiekybinių rezultatų nepateikia.
- Teigiamus IS481 ir hIS1001 gali sukelti *B. holmesii* arba *B. pertussis* ir *B. holmesii* buvimas mėginyje.
- Teigiamas IS481 gali būti laikomas tikėtinu teigiamu *B. pertussis* rezultatu, nors *B. bronchiseptica* taip pat gali lemti teigiamą IS481 signalą. Jei reikia, turi būti atlikti papildomi tyrimai, kad būtų galima atskirti *B. bronchiseptica* ir *B. pertussis*.

Analitinio efektyvumo vertinimas

Analitinis jautrumas (aptikimo riba)

„Vivalytic Bordetella“ tyrimo aptikimo riba (LoD) buvo nustatyta kaip mažiausia analitės koncentracija, kurią galima nuosekliai aptikti ($\geq 95\%$ mėginių, tirtų įprastomis laboratorinėmis sąlygomis, naudojant apibrėžtą mėginio tipą, [1 lentelė](#)).

Įtraukiamumas

Siekiant įvertinti įtraukimą, atliekama įvairių atitinkamų *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ir *Bordetella holmesii* padermių genomines sekos *in silico* analizė (BLAST palyginimas), palyginti su PGR pradmenų ir hidrolizės zondo seka, naudojama „Vivalytic Bordetella“ tyrime amplifikacijai ir atitinkamiems patogenams nustatyti. Gali būti parodytas [2 lentelėje](#) išvardytų organizmų įtraukimas.

Išskirtinumas / analitinis specifiškumas

Siekiant atmesti kryžminės reakcijos (atmetimo) galimybę, buvo atlikta tiriamųjų genų, pagal kuriuos aptinkama *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ir *Bordetella holmesii* *in silico* analizė (BLAST palyginimas) pagal įvairių kitų patogenų, reprezentuojančių įprastus kvėpavimo takų sukėlėjus ar artimai susijusias rūšis, genomine seka. *Bordetella pertussis* aptikimo sistemoje buvo galima aptikti *Bordetella bronchiseptica* padermių NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 sekų atitikmenis zondo ir pradmenų srityje, todėl galima daryti išvadą apie galimą amplifikaciją. *Bordetella parapertussis* aptikimo sistemoje buvo galima aptikti *Bordetella bronchiseptica* padermių KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 sekų atitikmenis zondo ir pradmenų srityje, todėl galima daryti išvadą apie galimą amplifikaciją. Nebuvo jokių įrodymų, kad *Bordetella holmesii* aptikimo sistema trukdytų ([3 lentelė](#)).

Atkuriamumas

„Vivalytic Bordetella“ tyrimo atkuriamumas buvo nustatytas naudojant 3 skirtingų *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ir *Bordetella holmesii* koncentracijų grupę. Trijose tyrimų vietose kiekvienas mišinys buvo tiriamas su tuo pačiu „Vivalytic“ prietaisų rinkiniu to paties operatoriaus naudojant 3 partijas 4 pakartojimais atitinkamai 3 dienas. Gauti skirtingų derinių pozityvumo rodikliai buvo koreliuojami su numatomu pozityvumo rodikliu ([4a lentelė](#)).

Pakartojamumas

„Vivalytic Bordetella“ tyrimo pakartojamumas buvo nustatytas naudojant *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* ir *Bordetella holmesii* 1 koncentraciją ($3 \times c95$). Vienoje tyrimo vietoje mišinys buvo tiriamas su tuo pačiu „Vivalytic“ prietaisų rinkiniu to paties operatoriaus, atitinkamai naudojant 3 partijas 20 pakartojimų, iš viso gauta 60 stebėjimų vienam tiksliniam patogeniui. Gauti skirtingų derinių pozityvumo rodikliai buvo koreliuojami su numatomu pozityvumo rodikliu ([4b lentelė](#)).

Trukdžiai

Buvo vertinami endogeninių ir egzogeninių medžiagų, kurių gali būti paciento mėginyje, sukeliama trukdžiai. [5 lentelėje](#) išvardytos medžiagos, kurios gali kelti trukdžių atliekant tyrimą. Jokių trukdžių neaptikta.

Klinikinio efektyvumo vertinimas

Jautrumo ir specifiškumo rezultatai, gauti iš natūralių nosiaryklės tamponų mėginių. Mėginiai buvo paimti klinikinėje aplinkoje ir lyginti su etaloninių metodų rezultatais.

561 nosiaryklės tepinėlių mėginys „eNAT“ buvo ištirtas vienoje tyrimo vietoje taikant atrankos metodą su galimai klinikiniais teigiamais mėginiais. 8 klinikiniai mėginiai buvo teigiami vienam iš trijų patogenų (visi *Bordetella parapertussis*), todėl teigiamas rodiklis mėginių rinkinyje buvo $1,9\%$ (8/411). Be to, 150 neigiamai iš anksto apibūdintų mėginių buvo papildyta atitinkama etalonine medžiaga (50 mėginių vienam patogeniui).

Iš viso į duomenų rinkinį, gautą atliekant etaloninį tyrimą („Bordetella Speciation Plus Toxin“ – „OSR for BD MAX™“) ir „Vivalytic Bordetella“, buvo įtraukti 495 rezultatai, todėl našumo rezultatai pateikti [6 lentelėje](#).

Techninė pagalba

Jei reikia pagalbos, techninės pagalbos ar turite papildomų klausimų, susisiekite su vietiniu platintoju arba apsilankykite „Bosch Vivalytic“ svetainėje adresu www.bosch-vivalytic.com.

Nuorodos

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Ženkla



Gamintojas



Serijos numeris



Pagaminimo data



Temperatūros riba



Galiojimo pabaigos data



Nenaudoti, jeigu apgadinta pakuotė



Partijos numeris



Tik vienkartinis



Katalogo numeris



Žr. naudojimo instrukcijas



Pateikiama <n> tyrimų



in vitro diagnostikos medicinos priemonė

 CE ženklas su paskelbtosios įstaigos identifikavimo numeriu



Nurodytą mėginio tūrį pipete įpilkite į kasetės mėginio įvestį, pažymėtą juodu trikampiu.

Ievads

Bordetella pertussis ir neliels gramnegatīvs, nekustīgs, iekapsulēts aerobais patogēns, kas producē dažādus toksīnus un virulences faktorus, tostarp garā klepus toksīnu (angliski – pertussis toxin jeb PT), filamentozo hemaglutinīnu (FHA), traheālo citotoksīnu, pertaktīnu, termolabilo toksīnu un adenilātciklāzes hemolizīnu. *Bordetella* vairojas elpceļu gļotādas skropstiņepitēlijā, izraisot lokālu gļotādas noārdīšanos. Daži toksīni arī pasliktina imūnsistēmas stāvokli un izraisa audu bojājumus. [1, 2]

B. pertussis ir galvenais patogēns, kas ierosina garo klepu. Arī *B. parapertussis* vai *B. holmesii* infekcijas var izraisīt garajam klepum līdzīgu klīnisko ainu, bet parasti slimības gaita ir vieglāka un īsāka nekā *B. pertussis* ierosinātās saslimšanas gadījumā.

Garais klepus ir ļoti infekciozs un tiek pārnesti no elpceļiem ar gaisa pilieniem, klepojot, šķaudot un pat runājot.

Pertussis infekcija var ilgt no vairākām nedēļām līdz mēnešiem. Tipiska sākotnējā infekcija nevakcinētām personām progresē trīs stadijās.

- Katarālā fāze (ilgst 1–2 nedēļas; intervāls 5–21 diena): šai stadijai raksturīgi saaukstēšanās tipa simptomi, piemēram, saaukstēšanās un viegls klepus, bet parasti nav drudža vai ir tikai mērens drudzis.
- Paroksismālā fāze (ilgst 4–6 nedēļas): šai stadijai raksturīgie klasiskie simptomi ir lēkmjveida klepus (spazmatisks jeb staccato klepus), kam seko sēšana ieelpas laikā. Klepus lēkmes bieži pavada viskozu krēpu atrīšana, kam seko vemšana.
- Atveseļošanās fāze (ilgst 6–10 nedēļas): klepus lēkmes pakāpeniski samazinās.

Tā kā garais klepus bieži nenorit ar klasiskajiem simptomiem, īpaši pieaugušajiem, kā arī vecākiem bērniem un pusaudžiem, diagnozes noteikšanai būtiskas ir laboratoriskās diagnostikas metodes. Pacientiem ar klepu (neatkarīgi no tā ilguma) ir jāveic laboratoriskā diagnostika garā klepus noteikšanai, ja ir bijusi saskare ar apstiprinātu garā klepus pacientu vai ja viņiem ir klasiskie simptomi, piemēram, klepus lēkmes, sveltņojot troksnis ieelpas laikā vai vemšana pēc klepus lēkmēm, vai ilgāka (>14 dienas ilga) persistējoša klepus gadījumā, arī ja nav šādu simptomu. Tas attiecas arī uz pacientiem, kuri ir vakcināti pret garo klepu. Arī tad, ja ir klasiskie simptomi, ir jāveic laboratoriskā diagnostika diagnozes apstiprināšanai. Ieteicamās laboratoriskās diagnostikas metodes ir atkarīgas no slimības stadijas. Pirmajās 2 līdz 3 nedēļās pēc klepus sākuma stingri ieteicams izmantot kultūru uzsējumu vai nukleīnskābes amplifikācijas metodi (angliski – nucleic acid amplification technique jeb NAT), parasti PĶR, lai noteiktu šos patogēnus dziļās nazofaringeālās uztriepes, nazofaringeālo izdalījumu vai aspirācijas materiāla paraugos. [1, 2]

Iepakojuma saturs

15 Vivalytic Bordetella testa kasetnes *B. pertussis*, *B. parapertussis* un *B. holmesii* specifisko gēnu sekvenču kvalitatīvai noteikšanai eNAT® transportēšanas barotnē (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vivalytic Bordetella tests ir konfigurēts lietošanai ar Vivalytic *one* analizatoru.

Paredzētais lietojums

Vivalytic Bordetella tests ir automatizēts kvalitatīvs *in vitro* diagnostikas tests, kas balstīts uz reālā laika polimerāzes ķēdes reakciju (PĶR), lai noteiktu *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* un *Bordetella holmesii* nukleīnskābes cilvēku nazofaringeālajās uztriepēs un palīdzētu diagnosticēt pertussis, parapertussis vai pertussis līdzīgas 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 *Bordetella* infekciju vai citu elpceļu 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 maisīnam vai pašai kasetei ir redzami bojājumi.
- Nepieskarities 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 veikspējas zaudēšanas mitruma dēļ. Ilgstoša mitruma iedarbība negatīvi ietekmē testa veikspēju.
- 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.
- Bioloģiski paraugi, pārnesšanas ierīces un izmantotas kasetes ir jāuzskata par iespējamiem infekciju izraisītāju pārnēsājējiem, 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: F09G300115)
- Pipete-dozators (100–1000 µl)
- Sterili filtra pipetes uzgaļi, 100–1000 µl
- Uztriepes ņemšanas komplekti:
Lokans Flocked Swab tipa uztriepes kociņš FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportēšanas barotne:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Piemērots aizsargapģērbs

Testa princips

Vivalytic Bordetella ir kvalitatīvs reālā laika PQR 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 veikspējas zaudēšanas mitruma dēļ. Ilgstoša mitruma iedarbība negatīvi ietekmē testa veikspēju.

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, saistišanas buferšķīdums, mazgāšanas buferšķīdums un eluācijas buferšķīdums. PĶR pērlītē ir DNS polimerāze, praimeri un zondes. Saistišanas buferšķīdums nodrošina nukleīnskābju saistišanu attīrīšanas procesa laikā. Mazgāšanas buferšķīdums ir dažādu sāļu un šķīdinātāju preparāts, ko ekstrakcijas procesa laikā izmanto, lai atbrīvotos no tādiem sārnjiem kā olbaltumvielas. Eluācijas buferšķīdumam ir buferviela ar zemu sāls saturu, kas ekstrakcijas procesa beigās satur attīrītās nukleīnskābes.

Parauga veids/barotne

Tests ir paredzēts *B. pertussis* (mērķa gēna sekvenca IS481), *B. parapertussis* (mērķa gēna sekvenca pIS1001) un *B. holmesii* (mērķa gēna sekvences IS481, hIS1001) nukleīnskābju noteikšanai nazofaringeālās uztriepes paraugos (ņemti ar lokano Flocked Swab FLOQSwabs® 553C) eNAT® transportēšanas barotnē (eNAT® transportēšanas barotne nr. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Paraugi ir jāņem un jāuzglabā atbilstoši ražotāja norādījumiem [3].

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 norādījumus [3]).

Paraugu sagatavošana

Izmantojiet lokano COPAN FLOQSwabs® kociņu nazofaringeālo uztriepju paraugu ņemšanai. Katrs kociņš ir jāievieto 1 ml eNAT® transportēšanas barotnē. Nolauciet kātiņu un noslēdziet mēģeni. Sakratiet parauga mēģeni, kurā ir uztriepes paraugs eNAT® barotnē, lai nodrošinātu parauga homogenizāciju (izvairieties no putu veidošanās). Iepildiet kasetes parauga atverē 300 µl homogenizētā parauga un aizveriet kasetes vāciņu. Ievietojiet kaseti Vivalytic one analizatorā.

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 33 min, un testa veikšanu var beigt ātrāk (skatiet nodaļu "Testa pārtraukšana").

Paraugu klasificē kā *B. pertussis* pozitīvu, *B. parapertussis* pozitīvu, *B. holmesii* pozitīvu, negatīvu vai nederīgu vai kā iepriekš minēto rezultātu kombināciju. Viena vai vairāku mērķa patogēnu 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 sekmīgu DNS attīrīšanas un amplifikācijas procedūru un apstiprina, ka nav notikusi PĶR reakcijas inhibīcija. Rezultātu interpretācija ir parādīta nākamajā tabulā.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Rezultāts
+	-	-	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. pertussis</i> un <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. parapertussis</i> un <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par pozitīvu attiecībā uz <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Paraugs tiek uzskatīts par negatīvu (!). ³
-	-	-	+	Paraugs tiek uzskatīts par negatīvu.
-	-	-	-	Nederīgs. ⁴

¹Ja ir pozitīvs signāls attiecībā uz *B. holmesii*, nevar izslēgt jauktu paraugu ar *B. pertussis*, jo abām patogēnu sugām ir identiskas sekvenču amplifikētajā IS481 apgabālā.

²*B. parapertussis* pozitīvs (!)

Paraugi tuvu noteikšanas robežai (LoD) var neuzrādīt pozitīvu signālu pret visiem definētajiem mērķa organismiem, tāpēc tiek klasificēti kā negatīvi pret *B. pertussis* un *B. holmesii*. Tas neizslēdz inficēšanos ar šiem patogēniem. Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.

³Negatīvs (!)

Paraugi tuvu noteikšanas robežai (LoD) var neuzrādīt pozitīvu signālu pret visiem definētajiem mērķa organismiem, tāpēc tiek klasificēti kā negatīvi pret *B. pertussis*, *B. parapertussis* un *B. holmesii*. Tas neizslēdz inficēšanos ar šiem patogēniem. Rezultātu nedrīkst izmantot. Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.

⁴Ieteicams atkārtot testu.

⁵Arī *B. bronchiseptica* var saturēt IS481 un pIS1001 insercijas elementus.

PĶR – līkne un C_q vērtība

Programmatūra uzrāda reālā laika PĶR līknes (programmatūras pielāgotas), kas tiek klasificētas kā pozitīvas vai negatīvas. Pozitīvām līknēm tiek parādīta atbilstošā C_q vērtība. Nepārliecinošus 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. 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 (agrāka pabeigšana)

Tiklīdz ekrānā tiek parādīts derīgs pozitīvs rezultāts attiecībā uz *B. parapertussis* vai *B. holmesii*, lietotājs var pārtraukt testu. Pārtrauciet testu tikai tad, ja citu mērķu analizēšana nav nepieciešama. Testa pabeigšanu gaidošie rezultāti netiks uzrādīti.

Testa atskaite

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

Kvalitātes kontrole

Ja to prasa vietējie vai laboratorijas standarti, ir jāveic kvalitātes kontroles testēšana. Integrētā kontrole (Human Control) ietver paraugu ņemšanas, nukleīnskābju attīrīšanas, amplificēšanas un noteikšanas procesu.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spānija).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spānija).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spānija).

Lūdzu, ievērojiet ražotāja norādījumus. Sagatavojiet references materiālu Copan eNAT® barotnē.

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. Drošuma un veiktspējas kopsavilkums (angliski – Summary of Safety and Performance jeb SSP) būs pieejams Eiropas medicīnisko ierīču datubāzē (Eudamed), kur tas būs saistīts ar pamata UDI-DI. Ja attiecīgais Eudamed modulis pilnvērtīgi funkcionēs, SSP būs pieejams publiskā tīmekļa vietnē (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Ierobežojumi

Vivalytic Bordetella testa rezultātus drīkst interpretēt tikai atbilstoši apmācīti veselības aprūpes profesionāļi. Vivalytic Bordetella testa rezultātus nedrīkst izmantot kā vienīgo parametru diagnostikas 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. Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.
- Pozitīvs rezultāts ne vienmēr norāda uz dzīvotspējīgu patogēnu klātbūtni.
- Vivalytic Bordetella ir kvalitatīvs reālā laika PQR tests, un tas nenodrošina kvantitatīvu rezultātu.
- Pozitīvu IS481 un hIS1001 rezultātu var izraisīt *B. holmesii* vai *B. pertussis* un *B. holmesii* klātbūtne paraugā.
- Pozitīvu IS481 rezultātu var uzskatīt par varbūtēji pozitīvu attiecībā pret *B. pertussis*, taču arī *B. bronchiseptica* var izraisīt pozitīvu IS481 signālu. Vajadzības gadījumā jāveic papildu testi *B. bronchiseptica* un *B. pertussis* diferencēšanai.

Analītiskās veiktspējas novērtējums

Analītiskā jutība (noteikšanas robeža)

Vivalytic Bordetella testa noteikšanas robeža (LoD) tika definēta kā zemākā analizējamās vielas koncentrācija, ko var konsekventi noteikt (≥95% paraugu, kas testēti parastos laboratorijas apstākļos, izmantojot noteikta veida paraugu, 1. tabula).

Iekļaušana

Lai novērtētu iekļaušanu, tika veikta dažādu attiecīgo *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* un *Bordetella holmesii* celmu genoma sekvenču *in silico* analīze (BLAST atbilstība) ar PĶR praimeru un hidrolīzes zondes sekvenci, ko izmanto Vivalytic Bordetella testā attiecīgo patogēnu amplifikācijai un noteikšanai. Iekļaušanu varēja pierādīt 2. tabulā uzskaitītajiem organismiem.

Neiekļaušana/analītiskā specifika

Lai izslēgtu krusteniskās reaģētspējas iespējamību (neiekļaušanu), tika veikta *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* un *Bordetella holmesii* mērķa apgabalu *in silico* analīze (BLAST atbilstība) kopā ar dažādu citu patogēnu genoma sekvenci, kas pārstāv plaši izplatītus elpceļu patogēnus vai tiem tuvas sugas. *Bordetella pertussis* noteikšanas sistēmai varēja konstatēt sekvenču sakritības zondes un praimera zonā attiecībā uz *Bordetella bronchiseptica* celmiem NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, kas liecina par iespējamu amplifikāciju. *Bordetella parapertussis* noteikšanas sistēmai varēja konstatēt sekvenču sakritības zondes un praimera zonā attiecībā uz *Bordetella bronchiseptica* celmiem KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, kas liecina par iespējamu amplifikāciju. *Bordetella holmesii* noteikšanas sistēmai traucējumu pazīmes netika konstatētas (3. tabulā).

Reproducējamība

Vivalytic Bordetella testa reproducējamība tika noteikta, izmantojot paneli ar 3 dažādām *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* un *Bordetella holmesii* koncentrācijām. Viens lietotājs 3 dienas 3 testēšanas vietās testēja 3 partiju 4 atkārtojumus ar to pašu Vivalytic instrumentu komplektu. Iegūtie pozitīvo rezultātu rādītāji dažādām kombinācijām tika salīdzināti ar sagaidāmo pozitīvo rezultātu rādītāju (4.a tabulā).

Atkārtojamība

Vivalytic Bordetella testa atkārtojamība tika noteikta, izmantojot paneli ar 1 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* un *Bordetella holmesii* koncentrāciju ($3 \times c95$). Vienā testēšanas vietā maisījumu ar vienu un to pašu Vivalytic instrumentu komplektu testēja viens un tas pats operators, izmantojot 3 partijas ar attiecīgi 20 atkārtojumiem, 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. Traucējumi nav konstatēti.

Klīniskās veiktspējas novērtējums

Jūtības un specifiskuma rezultāti iegūti no dabīgiem nazofaringeālās uztriepes paraugiem. Paraugi tika ņemti klīniskā vidē, un to rezultāti tika salīdzināti ar references metodes rezultātiem.

561 nazofaringeālās uztriepes paraugu eNAT barotnē testēja vienā pētījuma vietā, izmantojot skrīninga pieeju ar potenciāli klīniski pozitīviem paraugiem. Tika noteikti 8 klīniskie paraugi, kas ir pozitīvi pret vienu no trim patogēniem (visos gadījumos *Bordetella parapertussis*), tāpēc pozitīvo paraugu rādītājs paraugu kopā bija 1,9% (8/411). Turklāt 150 paraugi ar iepriekš zināmu negatīvu rezultātu tika papildināti ar attiecīgo references materiālu (50 paraugi katram patogēnam).

Datu kopa ietvēra kopumā 495 rezultātus, kas iegūti no testēšanas ar references testu (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™*) un Vivalytic Bordetella, nodrošinot 6. tabulā norādītos veiktspējas rezultātus.

Tehniskais atbalsts

Ja jums nepieciešams atbalsts vai tehniska palīdzība vai radušies jautājumi, lūdzu, sazinieties ar vietējo izplatītāju vai apmeklējiet “Bosch Vivalytic” mājaslapu: www.bosch-vivalytic.com.

Vivalytic Bordetella – lietošanas norādījumi

Atsauces

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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

 ⁰¹²³ CE zīme, ietverot kompetentās iestādes identifikācijas numuru



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

Wprowadzenie

Pateczka krztuśca (*Bordetella pertussis*) to mały, gram-ujemny, patogen tlenowy w otoczkach, bez zdolności ruchu, wytwarzający różne toksyny i czynniki wirulencji, w tym toksyny krztuśca (PT), hemaglutyninę włókienną (FHA), cytotoksynę tchawiczą, pertaktynę, toksynę ciepłowrażliwą i cyklazę adenylanową/hemolizynę. Pateczka *Bordetella* namnaża się na nabłonku rzęskowym śluzówki w drogach oddechowych, powodując miejscowe zniszczenie śluzówki. Niektóre z toksyn dodatkowo upośledzają układ odpornościowy i powodują uszkodzenie tkanek [1, 2].

B. pertussis jest podstawowym patogenem powodującym krztusiec. Zakażenie pateczkami *B. parapertussis* lub *B. holmesii* również może dawać obraz kliniczny przypominający krztusiec, ale przebieg jest zwykle łagodniejszy i krótszy niż w przypadku choroby spowodowanej przez pateczkę *B. pertussis*.

Krztusiec jest wysoce zakaźny i przenosi się drogą kropelkową podczas kaszlu, kichania, a nawet rozmowy.

Choroba może trwać od kilku tygodni do kilku miesięcy. Początkowa infekcja u osób niezaszczepionych zwykle przebiega w trzech etapach:

- Faza nieżytowa (czas trwania: 1–2 tygodni; interwał 5–21 dni): ten etap charakteryzuje się objawami przeziębieniowymi z łagodnym kaszlem, zwykle bez gorączki lub najwyżej z umiarkowaną gorączką.
- Faza napadowa (czas trwania: 4–6 tygodni): na tym etapie występują klasyczne objawy kaszlu napadowego (kaszel przerywany), po którym następuje głęboki wdech. Atakom kaszlu często towarzyszy cofanie lepkiego śluzu prowadzące do wymiotów.
- Faza rekonwalescencji (czas trwania: 6–10 tygodni): kaszel stopniowo ustępuje.

Ze względu na często spotykany brak klasycznych objawów krztuśca, szczególnie u osób dorosłych, ale i u starszych dzieci oraz młodzieży, metody diagnostyki laboratoryjnej mają kluczowe znaczenie dla diagnostyki. U pacjentów z kaszlem (niezależnie od czasu jego trwania) wskazana jest laboratoryjna diagnostyka pod kątem krztuśca, jeśli mieli kontakt z potwierdzonym przypadkiem tej choroby lub występują u nich klasyczne objawy, takie jak ataki kaszlu, świst krtaniowy przy wdechu lub wymioty w następstwie ataków kaszlu, a także w przypadku długotrwałe utrzymującego się kaszlu (> 14 dni), nawet gdy te objawy nie są obserwowane. Zaszczepienie przeciw krztuścowi nie jest powodem wykluczenia z diagnostyki. Nawet jeśli występują klasyczne objawy, należy przeprowadzić diagnostykę laboratoryjną w celu potwierdzenia rozpoznania. Zalecane metody diagnostyki laboratoryjnej zależą od etapu choroby. W trakcie pierwszych 2–3 tygodni po rozpoczęciu kaszlu stanowczo zalecane jest zastosowanie hodowli lub techniki amplifikacji kwasu nukleinowego (NAT), zwykle PCR, w celu wykrycia wspomnianych patogenów w wymazach z nosogardzieli, wydzielinach nosowo-gardłowych lub materiale uzyskanym w drodze odsysania [1, 2].

Zawartość zestawu

15 kaset testu Vivalytic Bordetella do jakościowego wykrywania sekwencji genów swoistych dla bakterii *B. pertussis*, *B. parapertussis* i *B. holmesii* na podłożu transportowym eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Test Vivalytic Bordetella jest przeznaczony do stosowania z analizatorem Vivalytic one.

Przeznaczenie

Vivalytic Bordetella jest automatycznym, jakościowym testem diagnostycznym *in vitro*, bazującym na reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR) w czasie rzeczywistym i przeznaczonym do wykrywania kwasów nukleinowych bakterii *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii* w ludzkich wymazach nosowo-gardłowych w ramach rozpoznawania krztuśca, krztuśca rzekomego lub zakażeń krztuścopodobnych 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 *Bordetella* lub innej infekcji dróg oddechowych. Wyniki muszą być interpretowane łącznie z danymi z wywiadu lekarskiego, obrazem klinicznym i 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 użytkowania 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.
- 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 oraz praktyk 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 F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterylne końcówki pipet z filtrem 100–1000 µl
- Zestawy do pobierania wymazu:
elastyczne wymazówki flokowane FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Podłoże transportowe
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Odpowiednia odzież ochronna

Zasada testu

Test Vivalytic Bordetella 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 procesu oczyszczania. Bufor płuczący 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 wykrywania kwasów nukleinowych bakterii *B. pertussis* (docelowa sekwencja genów IS481), *B. parapertussis* (docelowa sekwencja genów pIS1001) i *B. holmesii* (docelowe sekwencje genów IS481, hIS1001) w wymazach z nosogardzieli (elastyczne wymazówki flokowane FLOQSwabs® 553C) na podłożu transportowym eNAT® (podłoże transportowe eNAT®, nr kat. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Próbki należy pobierać i przechowywać w sposób opisany w instrukcjach producenta[3].

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® [3]).

Przygotowanie próbek

Do pobierania wymazów z nosogardzieli należy stosować elastyczne wymazówki COPAN FLOQSwabs®. Każdą wymazówkę należy przenieść do 1 ml podłoża transportowego eNAT®. Wymazówkę należy złamać, a probówkę zamknąć. Potrząsnąć probówką zawierającą próbkę wymazu i podłoże eNAT® w celu uzyskania jednorodnej zawiesiny (unikać spieniania). Przenieść 300 µl zhomogenizowanej próbki do wejścia na próbki kasety, a następnie zamknąć pokrywę kasety. Umieścić kasetę w analizatorze Vivalytic *one*.

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 33 minutach, a przebieg testu może zostać wcześniej zakończony (patrz część „Zakończenie testu”).

Próbka jest klasyfikowana jako dodatnia pod względem bakterii *B. pertussis*, dodatnia pod względem bakterii *B. parapertussis*, dodatnia pod względem bakterii *B. holmesii*, ujemna lub nieważna bądź jako połączenie wymienionych wyżej kategorii. W przypadku dodatniego wykrycia co najmniej jednej z sekwencji docelowych 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 próbkach ujemnych wskazuje na pomyślne przeprowadzenie procedury oczyszczania i amplifikacji DNA i wyklucza zahamowanie reakcji PCR. Interpretację wyników przedstawiono w tabeli poniżej.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Wynik
+	-	-	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. holmesii</i> ² .
-	-	+	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. pertussis</i> i <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. parapertussis</i> i <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Próbka uznana za dodatnią pod względem bakterii <i>B. parapertussis</i> (!) ² .
-	+	-	+/-	Próbka uznana za ujemną (!) ³ .
-	-	-	+	Próbka uznana za ujemną.
-	-	-	-	Nieważna. ⁴

¹W przypadku dodatniego sygnału wskazującego na obecność bakterii *B. holmesii* nie można wykluczyć obecności bakterii *B. pertussis*, ponieważ oba gatunki mają identyczne sekwencje w amplifikowanym regionie IS481.

²Dodatnia pod względem bakterii *B. parapertussis* (!)

Próbki o wartościach zbliżonych do LoD mogą nie wykazywać sygnału dodatniego dla wszystkich zdefiniowanych sekwencji docelowych i w związku z tym są klasyfikowane jako ujemne pod względem bakterii *B. pertussis* i *B. holmesii*. Nie wyklucza to zakażenia wspomnianymi patogenami. Zaleca się powtórzenie badania.

³Ujemna (!)

Próbki o wartościach zbliżonych do LoD mogą nie wykazywać sygnału dodatniego dla wszystkich zdefiniowanych sekwencji docelowych i w związku z tym są klasyfikowane jako ujemne pod względem bakterii *B. pertussis*, *B. parapertussis* i *B. holmesii*. Nie wyklucza to zakażenia wspomnianymi patogenami. Takiego wyniku nie wolno wykorzystywać. Zaleca się powtórzenie badania.

⁴Zalecane jest ponowne przeprowadzenie testu.

⁵Seqwencje IS481 i pIS1001 mogą być również obecne w DNA bakterii *B. bronchiseptica* w wyniku insercji.

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 (△). 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. 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 (wczesne zakończenie)

W momencie wyświetlenia na ekranie ważnego, dodatniego wyniku pod względem bakterii *B. parapertussis* lub *B. holmesii* użytkownik ma możliwość zakończenia testu. Jeśli żadne inne sekwencje docelowe nie wymagają analizy, wystarczy zakończyć test. Wyniki oczekujące nie są wyświetlane.

Raport o teście

Drukowany raport z testu zawiera informacje o patogenie, wynikach i kontroli, a także o użytkowniku, próbce pacjenta i analizatorze Vivalytic *one*. Znajduje się w nim również pole na podpis.

Kontrola jakości

Jeżeli wymagają tego normy lokalne lub danego laboratorium, konieczne jest testowanie kontroli jakości. Kontrola zintegrowana (Human Control) obejmuje procedury pobierania próbki, oczyszczania kwasu nukleinowego, amplifikacji i wykrywania.

Jeśli konieczne jest zastosowanie referencyjnej metody badawczej na potrzeby kontroli jakości, można skorzystać z poniższych materiałów referencyjnych: AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Należy postępować zgodnie z instrukcjami producenta. Zrekonstruować materiał referencyjny na podłożu Copan eNAT®.

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. Podsumowanie bezpieczeństwa i skuteczności (SSP) będzie dostępne w europejskiej bazie danych o wyrobach medycznych (Eudamed), gdzie jest połączone z kodem Basic UDI-DI. Jeśli odpowiedni moduł bazy danych Eudamed będzie w pełni funkcjonalny, podsumowanie SSP będzie dostępne w publicznej witrynie internetowej (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Ograniczenia

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

Test Vivalytic Bordetella – instrukcja użytkowania

- 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. Zaleca się powtórzenie badania.
- Wynik dodatni nie musi oznaczać obecności żywych patogenów.
- Vivalytic Bordetella jest jakościowym testem bazującym na reakcji PCR w czasie rzeczywistym, który nie zapewnia wyniku ilościowego.
- Wynik dodatni pod względem sekwencji IS481 i hIS1001 może być spowodowany obecnością w próbce bakterii *B. holmesii*, jak również bakterii *B. pertussis* i *B. holmesii*.
- Wynik dodatni pod względem sekwencji IS481 można uznać za prawdopodobnie dodatni pod względem bakterii *B. pertussis*, jednak obecność bakterii *B. bronchiseptica* również może prowadzić do dodatniego sygnału sekwencji IS481. W razie potrzeby należy przeprowadzić dodatkowe testy w celu rozróżnienia między bakterią *B. bronchiseptica* a *B. pertussis*.

Ocena wydajności analitycznej

Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Granice wykrywalności (LoD) testu Vivalytic Bordetella 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, [tabela 1](#)).

Inkluzywność

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

Ekskluzywność / swoistość analityczna

Aby wykluczyć reaktywność krzyżową (ekskluzywność), przeprowadzono analizę *in silico* (zgodność w narzędziu BLAST) regionu docelowego bakterii *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii* w odniesieniu do sekwencji genomowej różnych innych patogenów reprezentujących powszechnie występujące patogeny dróg oddechowych lub blisko spokrewnione gatunki. W przypadku systemu wykrywania bakterii *Bordetella pertussis* można było wykryć zgodności sekwencji w obszarze sondy i startera dla szczepów bakterii *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, co wskazuje na możliwą amplifikację. W przypadku systemu wykrywania bakterii *Bordetella parapertussis* można było wykryć zgodności sekwencji w obszarze sondy i startera dla szczepów bakterii *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, co wskazuje na możliwą amplifikację. Nie potwierdzono obecności interferencji dla systemu wykrywania bakterii *Bordetella holmesii* ([tabela 3](#)).

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu Vivalytic Bordetella określono przy użyciu panelu z 3 różnymi stężeniami bakterii *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii*. W trzech ośrodkach badawczych każda mieszanina została przetestowana na tym samym zestawie aparatów Vivalytic przez tego samego operatora przy użyciu odpowiednio 3 serii, w 4 powtórzeniach, w ciągu 3 dni. Odsetek uzyskanych wyników dodatnich w zakresie różnych kombinacji skorelowano z odsetkiem oczekiwanych wyników dodatnich ([tabela 4a](#)).

Powtarzalność

Powtarzalność testu Vivalytic Bordetella określono przy użyciu panelu z 1 stężeniem ($3 \times c95$) bakterii *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii*. W 1 ośrodku badawczym każda mieszanina została

przetestowana w tym samym zestawie aparatów Vivalytic przez tego samego operatora przy użyciu 3 serii, w 20 powtórzeniach, 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. Nie wykryto żadnych interferencji.

Ocena wydajności klinicznej

Wyniki dotyczące czułości i swoistości uzyskano przy użyciu natywnych wymazów z nosogardzieli. Próbkę pobrano w środowisku klinicznym oraz porównano z wynikami uzyskanymi za pomocą metod referencyjnych.

561 wymazów z nosogardzieli na podłożu eNAT przetestowano w jednym ośrodku badawczym z zastosowaniem podejścia przesiewowego z potencjalnie dodatnimi próbkami klinicznymi. 8 próbek klinicznych okazało się dodatnimi pod względem jednego z trzech patogenów (*Bordetella parapertussis* we wszystkich przypadkach), co przełożyło się na współczynnik wyników dodatnich w zestawie próbek na poziomie 1,9% (8/411). Dodatkowo do 150 próbek wstępnie określonych jako ujemne dodano odpowiedni materiał referencyjny (po 50 próbek na patogen).

Łącznie 495 wyników włączono do zestawu danych uzyskanych z badań przeprowadzonych z wykorzystaniem testu referencyjnego (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™) i testu Vivalytic Bordetella, co pozwoliło uzyskać wyniki skuteczności podane w tabeli 6.

Wsparcie techniczne

Aby uzyskać wsparcie, pomoc techniczną lub odpowiedzi na dodatkowe pytania, należy skontaktować się z lokalnym dystrybutorem lub odwiedzić stronę firmy Bosch Vivalytic pod adresem www.bosch-vivalytic.com.

Piśmiennictwo

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 seryjny



Do użytku jednorazowego



Numer referencyjny



Należy zapoznać się z instrukcją użytkownika



Zawiera <n> testów



Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

₀₁₂₃ Oznaczenie CE z numerem identyfikacyjnym jednostki notyfikowanej



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

Úvod

Bordetella pertussis je malý gramnegativní, nepohyblivý, zapouzdřený aerobní patogen, který produkuje celou škálu toxinů a virulentních faktorů, včetně pertusového toxinu (PT), filamentového hemaglutininu (FHA), tracheálního cytotoxinu, pertaktinu, tepelně labilního toxinu a adenylátcyklázového hemolysinu. Množí se v řasinkovém epitelu sliznice dýchacích cest a způsobuje její lokální poškození. Některé toxiny také oslabují imunitní systém a mohou být příčinou poškození tkání. [1, 2]

B. pertussis je primárním patogenem, který vyvolává černý kašel. Infekce *B. parapertussis* nebo *B. holmesii* mohou vést ke klinickému obrazu podobnému černému kašli, avšak obvykle s mírnějším a kratším průběhem onemocnění, než je tomu u *B. pertussis*.

Černý kašel je vysoce nakažlivý a přenáší se respiračními kapénkami tvořenými při kašli, kýchání nebo dokonce mluvení.

Dávivý kašel může přetrvávat několik týdnů až měsíců. Obvyklým průběhem počáteční infekce u neočkovaných jedinců jsou tři stadia:

- Katarální fáze (trvá 1–2 týdny, interval 5–21 dní): Toto stadium je charakterizováno příznaky, které se podobají nachlazení, jako je rýma a mírný kašel, ale nejsou běžné vysoké horečky.
- Paroxysmální fáze (trvá 4–6 týdnů): V tomto stadium se vyskytují klasické příznaky záchvatovitého kašle (kokrhavý kašel) s následnými potížemi při nádechu. Záchvaty kašle jsou často doprovázeny regurgitací viskózního hlenu s následným zvracením.
- Fáze rekonvalescence (trvá 6–10 týdnů): Záchvaty kašle postupně odeznívají.

U černého kašle se často neobjevují klasické příznaky, a to zejména u dospělých, ale také u starších dětí a dospívajících pacientů. Pro jeho diagnostiku jsou tedy klíčové laboratorní diagnostické metody. Laboratorní diagnostika černého kašle by se měla provádět u pacientů s kašlem (navzdory délce jeho trvání), jestliže byl pacient v kontaktu s potvrzeným případem černého kašle, vyskytují se u něj klasické příznaky, jako jsou záchvaty kašle, inspirační stridor nebo zvracení následující záchvaty kašle, nebo v případech delšího přetrvávajícího kašle (> 14 dní), a to i při nepřítomnosti těchto příznaků. Pacienti očkovaní proti černému kašli nejsou vyloučeni. Laboratorní diagnostika by se měla provést také pro potvrzení onemocnění i při výskytu klasických příznaků. Doporučené metody laboratorní diagnostiky závisí na stadiu onemocnění. Během prvních 2 až 3 týdnů po nástupu kašle se důrazně doporučuje využít kultivaci nebo techniku amplifikace nukleových kyselin (NAT), obvykle PCR, pro detekci těchto patogenů z hlubokých nasofaryngeálních výtěrů, nasofaryngeálních sekretů, nebo z materiálu získaného odsáváním. [1, 2]

Obsah balení

15 testovacích kazet Vivalytic Bordetella pro kvalitativní detekci specifických sekvencí genů *B. pertussis*, *B. parapertussis* a *B. holmesii* v transportním médiu eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Test Vivalytic Bordetella je konfigurován pro použití spolu s analyzátozem Vivalytic one.

Účel použití

Test Vivalytic Bordetella je automatický kvalitativní diagnostický test *in vitro* založený na polymerázové řetězové reakci (PCR) v reálném čase pro detekci nukleových kyselin *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii* z lidských nasofaryngeálních výtěrů jako pomůcka při diagnostice černého kašle, parapertuse nebo podobných infekcí u 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 *Bordetella* nebo jinou infekci dýchacích cest. 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 analyzátoru Vivalytic *one* (kapitola bezpečnostní informace o výrobku). Používejte pouze kazety Vivalytic a příslušenství schválené pro analyzátor Vivalytic *one*. Při manipulaci se vzorky pacientů a kazetami dbejte na to, aby nedošlo ke kontaminaci. Pokud dojde k rozlití 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.
- 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 bezpečnostní 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 F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem 100–1 000 µl
- Soupravy k odběru výtěrů:
Odběrový tampon Flocked Swab FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportní médium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný oděv

Princip testu

Vivalytic Bordetella 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 / médium

Test je určen k detekci nukleových kyselin *B. pertussis* (sekvence cílového genu IS481), *B. parapertussis* (sekvence cílového genu pIS1001) a *B. holmesii* (sekvence cílového genu IS481, hIS1001) vzorků nasofaryngeálních výtěrů (odběrový tampon Flocked Swab FLOQSwabs® 553C) v transportním médiu eNAT® (transportní médium eNAT® Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.). Odebírejte a skladujte vzorky, jak je uvedeno v pokynech od výrobce [3]. 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® [3]).

Příprava vzorku

Použijte flexibilní stěrovou tyčinku COPAN FLOQSwabs® pro odběr nasofaryngeálního vzorku pacienta. Každý stěr je přenesen do 1 ml transportního média eNAT®. Zlomte tyčinku a zavřete zkumavku. Protřeptejte zkumavku obsahující vzorek ze stěru v médiu eNAT®, aby došlo k homogenizaci (nesmí ale dojít ke zpěnění). Naplňte 300 µl homogenizovaného vzorku do vstupu pro vzorky na kazetě a zavřete víčko kazety. Vložte kazetu do analyzátoru Vivalytic one.

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 33 minut a běh testu lze ukončit dříve (viz kapitola Ukončení testu).

Vzorky jsou klasifikovány jako *B. pertussis* pozitivní, *B. parapertussis* pozitivní, *B. holmesii* pozitivní, negativní, nebo neplatné, případně kombinace výše uvedeného. V případě pozitivní detekce jednoho či více cílů 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 úspěšnou purifikaci DNA a amplifikaci a vylučuje inhibici reakce PCR. Interpretace výsledků je uvedena v následující tabulce.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Výsledek
+	-	-	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. pertussis</i> a <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. parapertussis</i> a <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Vzorek je považován za pozitivní na <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Vzorek je považován za negativní (!). ³
-	-	-	+	Vzorek je považován za negativní.
-	-	-	-	Neplatný. ⁴

¹V případě pozitivního signálu na *B. holmesii* nelze vyloučit smíšený vzorek s *B. pertussis*, jelikož tyto dva druhy sdílejí shodné sekvence v amplifikované oblasti IS481.

²*B. parapertussis* pozitivní (!)

Může se stát, že vzorky v blízkosti LoD nebudou vykazovat pozitivní signál pro všechny definované cíle, a proto jsou klasifikovány jako negativní na *B. pertussis* a *B. holmesii*. Tím se nevyklučuje infekce těmito patogeny. Doporučuje se test opakovat.

³Negativní (!)

Může se stát, že vzorky v blízkosti LoD nebudou vykazovat pozitivní signál pro všechny definované cíle, a proto jsou klasifikovány jako negativní na *B. pertussis*, *B. parapertussis* a *B. holmesii*. Tím se nevyklučuje infekce těmito patogeny. Výsledek nesmí být použit. Doporučuje se test opakovat.

⁴Doporučuje se provést test znovu.

⁵Inzerční prvky IS481 a pIS1001 mohou být přítomny také u *B. bronchiseptica*.

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. 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 (předčasné ukončení)

Když je platný pozitivní výsledek na *B. parapertussis* nebo *B. holmesii* zobrazen na obrazovce, uživatel může test ukončit. Test ukončete pouze tehdy, není-li nutné analyzovat další cíle. Průběžné výsledky se nezobrazují.

Zpráva o testu

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

Kontrola kvality

Pokud to vyžadují vaše místní nebo laboratorní standardy, je nutné také provést kontrolu kvality. Integrovaná kontrola (Human Control) zahrnuje procesy odběru vzorku, purifikace nukleových kyselin, amplifikace a detekce. V případě potřeby referenční testovací metody pro kontrolu kvality lze použít tyto referenční materiály:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Dodržujte pokyny výrobce. Referenční materiál rozpustte v médiu Copan eNAT®. 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. Souhrn údajů o bezpečnosti a funkční způsobilosti (SSP) bude k dispozici v evropské databázi zdravotnických prostředků (Eudamed), kde jsou prostředky propojeny se základním UDI-DI. V případě, že odpovídající modul v Eudamed bude plně funkční, SSP bude k dispozici na veřejné webové stránce (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Omezení

Výsledky testu Vivalytic Bordetella musí interpretovat výhradně vyškolený zdravotník. Výsledky testu Vivalytic Bordetella 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. Doporučuje se test opakovat.
- Pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat, že jsou přítomny životaschopné patogeny.
- Vivalytic Bordetella je kvantitativní test PCR v reálném čase a neposkytuje kvantitativní výsledek.
- Pozitivita IS481 a hIS1001 může být způsobena buďto přítomností *B. holmesii*, nebo přítomností *B. pertussis* a *B. holmesii* ve vzorku.
- Pozitivitu IS481 lze považovat za pravděpodobnou na *B. pertussis* pozitivitu, ačkoli k pozitivnímu signálu IS481 může vést také *B. bronchiseptica*. V případě potřeby je třeba provést další testy pro diferenciaci *B. bronchiseptica* a *B. pertussis*.

Vyhodnocení analytické výkonnosti

Analytická senzitivita (limit detekce)

Limit detekce (LoD) testu Vivalytic Bordetella byl stanoven jako nejnižší koncentrace analytu, kterou lze trvale detekovat (≥ 95 % vzorků testovaných v běžných laboratorních podmínkách s použitím definovaného typu vzorku, tabulka 1).

Inkluzivita

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

Exkluzivita / analytická specifita

Pro vyloučení zkřížené reaktivity (exkluzivita) byla provedena analýza *in silico* (uspořádání BLAST) cílové oblasti *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii* oproti genomové sekvenci různých dalších patogenů reprezentujících běžné respirační patogeny a blízké příbuzných druhů. V případě detekčního systému *Bordetella pertussis* je možné detekovat shody sekvence v oblasti sondy a primeru pro kmeny *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, z čehož lze usuzovat na možnou amplifikaci. V případě detekčního systému *Bordetella parapertussis* je možné detekovat shody sekvence v oblasti sondy a primeru pro kmeny *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, z čehož lze usuzovat na možnou amplifikaci. Neexistují žádné důkazy rušení detekčního systému *Bordetella holmesii* ([tabulka 3](#)).

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Vivalytic Bordetella byla stanovena pomocí panelu 3 různých koncentrací *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii*. Na 3 testovacích místech byla každá směs testována na stejné sadě přístrojů Vivalytic stejnou obsluhou se 3 šaržemi ve 4 replikátech ve 3 různých dnech. Získané míry positivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou positivity ([tabulka 4a](#)).

Opakovatelnost

Opakovatelnost testu Vivalytic Bordetella byla stanovena pomocí panelu s 1 koncentrací ($3 \times c95$) *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii*. Na 1 testovacím místě byla každá směs testována na stejné sadě přístrojů Vivalytic stejnou obsluhou se 3 šaržemi ve 20 replikátech, což poskytlo celkem 60 pozorování na cílový patogen. Získané míry positivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou positivity ([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. Nebyla detekována žádná interference.

Vyhodnocení klinické výkonnosti

Výsledky citlivosti a specifity odvozené z nativních vzorků nasofaryngeálních výtěrů. Vzorky byly odebrány v klinickém prostředí a porovnány s výsledky referenční metody.

561 vzorků nasofaryngeálních výtěrů v eNAT bylo testováno na jednom studijním centru pomocí screeningu s přístupem k potenciálním klinicky pozitivním vzorkům. 8 klinických vzorků bylo pozitivních na jeden ze tří patogenů (všechny *Bordetella parapertussis*), což vedlo k míře positivity u této sady vzorků 1,9 % (8/411). Kromě toho bylo 150 vzorků, které byly předběžně charakterizovány jako negativní, doplněno odpovídajícím referenčním materiálem (50 vzorků na každý patogen).

Do získaného souboru dat bylo zařazeno celkem 495 výsledků z testování pomocí referenčního testu (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR pro BD MAX™*) a Vivalytic Bordetella, což vedlo k výsledkům funkční způsobilosti uvedeným v [tabulce 6](#).

Technická podpora

Pokud potřebujete jakoukoli podporu, technickou pomoc nebo máte další otázky, kontaktujte svého místního distributora nebo navštivte webovou stránku Bosch Vivalytic na adrese www.bosch-vivalytic.com.

Odkazy na literaturu

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbols



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*

 Označení CE zahrnuje identifikační číslo notifikovaného orgánu



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

Úvod

Bordetella pertussis je malý gramnegatívny, imobilný, zapuzdrený aeróbný patogén, ktorý produkuje rôzne toxíny a faktory virulencie, vrátane pertusického toxínu (PT), filamentózneho hemaglutinínu (FHA), tracheálneho cytotoxínu, pertaktínu, tepelne labilného toxínu a adenylátcyklázového hemolyzínu. *Bordetella* sa množí na riasinkovom epiteli sliznice dýchacích ciest, čo spôsobuje lokálnu deštrukciu sliznice. Niektoré z toxínov tiež narúšajú imunitný systém a spôsobujú poškodenie tkaniva. [1, 2]

B. pertussis je primárny patogén spôsobujúci čierny kašeľ. Infekcie *B. parapertussis* alebo *B. holmesii* môžu tiež viesť ku klinickému obrazu podobnému čiernemu kašľu, ale priebeh je zvyčajne miernejší a kratší ako u ochorenia spôsobeného *B. pertussis*.

Čierny kašeľ je vysoko nákazlivý a prenáša sa kvapôčkovou infekciou generovanou kašľom, kýchaním a dokonca aj rozprávaním.

Čierny kašeľ môže trvať niekoľko týždňov až mesiacov. Typická počiatková infekcia u neočkovaných jedincov prebieha v troch štádiách:

- Katarálna fáza (trvanie 1 – 2 týždne; interval 5 – 21 dní): Toto štádium je charakterizované príznakmi podobnými prechladnutiu, ako sú prechladnutie a mierny kašeľ sprevádzaný zvyčajne žiadnou alebo len miernou horúčkou.
- Paroxyzmálna fáza (trvanie 4 – 6 týždňov): V tomto štádiu sa vyskytujú klasické príznaky záchvatov kašľa (suchý kašeľ), po ktorých nasledujú ťažkosti pri nádychu. Záchvaty kašľa sú často sprevádzané regurgitáciou viskózneho hlienu s následným zvracaním.
- Rekonvalescentná fáza (trvanie 6 – 10 týždňov): Záchvaty kašľa postupne ustupujú.

Keďže čierny kašeľ sa často neprejavuje klasickými príznakmi, najmä u dospelých, ale aj u starších detí a dospelých, pre diagnostiku sú kľúčové laboratórne diagnostické metódy. U pacientov s kašľom (bez ohľadu na jeho trvanie) by sa mala vykonať laboratórna diagnostika čierneho kašľa, ak došlo ku kontaktu s potvrdeným prípadom čierneho kašľa, alebo ak sú prítomné klasické príznaky ako záchvaty kašľa, inspiračný stridor, vracanie po záchvatoch kašľa; alebo v prípade dlhšieho pretrvávajúceho kašľa (trvanie dlhšie ako 14 dní), aj keď tieto chýbajú. Týka sa to aj pacientov, ktorí dostali vakcínu proti čiernemu kašľu. Aj keď sa vyskytnú klasické príznaky, mala by sa na potvrdenie vykonať laboratórna diagnostika. Odporúčaná laboratórna diagnostická metóda závisí od štádia ochorenia. Počas prvých 2 až 3 týždňov po nástupe kašľa sa dôrazne odporúča použiť kultiváciu alebo techniku amplifikácie nukleovej kyseliny (NAT), zvyčajne PCR, na detekciu týchto patogénov z hlbokých výterov z nosohltanu, zo sekrétov z nosohltanu alebo z materiálu získaného odsávaním. [1, 2]

Obsah balenia

15 testovacích kaziet Vivalytic Bordetella na kvalitatívnu detekciu špecifických génových sekvencií *B. pertussis*, *B. parapertussis* a *B. holmesii* v transportnom médiu eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Test Vivalytic Bordetella je nakonfigurovaný na použitie s analyzátorom Vivalytic one.

Účel použitia

Test Vivalytic Bordetella je automatizovaný kvalitatívny diagnostický test *in vitro* založený na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR) v reálnom čase na detekciu nukleových kyselín *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii* z výterov z nosohltanu s cieľom pomôcť pri diagnostike čierneho kašľa, parapertussis alebo infekcií podobných čiernemu kašľu u symptomatických osôb.

Výsledky by nemali byť použité ako jediný základ na diagnostiku, liečbu alebo iné rozhodnutia o ošetrovaní pacienta. Pozitívne výsledky nevylučujú súběžnú infekciu inými patogénmi. Zistené agensy nemusia byť definitívnou príčinou ochorenia. Negatívne výsledky nevylučujú infekciu *Bordetella* alebo inú infekciu dýchacích ciest. 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 zdravotníkmi v laboratórnych podmienkach, ako sú nemocničné laboratória a referenčné laboratória.

Vivalytic Bordetella – návod na použitie

Bezpečnostné informácie

Tento návod na použitie obsahuje iba informácie špecifické pre test. Ďalšie varovania a pokyny nájdete v návode na použitie dodanom s vašim analyzátorom Vivalytic *one* (kapitola Bezpečnosť zariadenia). Používajte len kazety Vivalytic a príslušenstvo schválené pre analyzátor Vivalytic *one*. Dbajte na to, aby ste zabránili akejkolvek 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.
- Netraste kazetou, ktorá obsahuje vzorku.
- Kazetu neatáčajte hore nohami.
- Kazetu umiestnite iba na čistý a rovný povrch.
- Nepoužívajte typy vzoriek, médií a objemy, ktoré nie sú schválené na tento test.
- 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 F09G300115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilné filtračné pipetovacie špičky 100 – 1000 µl
- Súpravy na odber vzorky výterom:
Ohybné tampónové tyčinky FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportné médium:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný odev

Princíp testu

Test Vivalytic Bordetella 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. Väzbový 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 detekciu nukleových kyselín *B. pertussis* (cieľová génová sekvencia IS481), *B. parapertussis* (cieľová génová sekvencia pIS1001) a *B. holmesii* (cieľové génové sekvencie IS481, hIS1001) zo vzoriek výterov z nosohltana (ohybné tampónové tyčinky FLOQSwabs® 553C) v transportnom médiu eNAT® (transportné médium eNAT® ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vzorky odoberajte a skladujte podľa pokynov výrobcu [3].

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® [3]).

Príprava vzorky

Na odber vzoriek z nosohltana od pacientov použite ohybnú tampónovú tyčinku COPAN FLOQSwabs®. Každú tampónovú tyčinku preneste do 1 ml transportného média eNAT®. Zlomte tampónovú tyčinku a zatvorte skúmavku. Skúmavku so vzorkou na tampónovej tyčinke v médiu eNAT® pretrepte, aby sa homogenizovala (zabráňte vytvoreniu peny). Umiestnite 300 µl homogenizovanej vzorky do otvoru na vzorky na kazete a zatvorte veko kazety. Kazetu vložte do analyzátora Vivalytic one.

Nepoužívajte viskózne vzorky, ktoré sa ťažko pipetujú.

Výsledok testu

Po automatickom spracovaní vzorky analyzátorom Vivalytic one sa výsledok testu zobrazí na obrazovke analyzátora Vivalytic one. Časový interval na získanie výsledku je zhruba 50 min. Výsledky pre vzorky s vysokým titrom sú k dispozícii za menej než 33 min a testovanie sa môže ukončiť skôr (pozri kapitolu Ukončenie testu).

Vzorka je klasifikovaná buď ako *B. pertussis* pozitívna, *B. parapertussis* pozitívna, *B. holmesii* pozitívna, negatívna alebo neplatná, alebo ako kombinácia vyššie uvedených. V prípade pozitívnej detekcie jedného alebo viacerých cieľov sa test považuje za platný, aj keď je kontrola Human Control negatívna.

Detekcia kontroly celého procesu na báze ľudských buniek (Human Control) v negatívnych vzorkách preukazuje úspešný postup purifikácie a amplifikácie DNA a vylučuje inhibíciu reakcie PCR. Interpretácia výsledkov je uvedená v tabuľke nižšie.

Vivalytic Bordetella – návod na použitie

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Výsledok
+	-	-	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. pertussis</i> a <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. parapertussis</i> a <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Vzorka sa považuje za pozitívnu na <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Vzorka sa považuje za negatívnu (!). ³
-	-	-	+	Vzorka sa považuje za negatívnu.
-	-	-	-	Neplatné. ⁴

¹V prípade pozitívneho signálu na *B. holmesii* nemožno vylúčiť zmiešanú vzorku s *B. pertussis*, pretože tieto dva druhy zdieľajú identické sekvencie v rámci amplifikovanej oblasti IS481.

²Pozitívne na *B. parapertussis* (!)

Vzorky blízko limitu detekcie nemusia vykazovať pozitívny signál pre všetky definované cieľové gény, a preto sa klasifikujú ako negatívne na *B. pertussis* a *B. holmesii*. To nevylučuje infekciu týmito patogénmi. Odporúčame opätovné testovanie.

³Negatívne (!)

Vzorky blízko limitu detekcie nemusia vykazovať pozitívny signál pre všetky definované cieľové gény, a preto sa klasifikujú ako negatívne na *B. pertussis*, *B. parapertussis* a *B. holmesii*. To nevylučuje infekciu týmito patogénmi. Výsledok nesmie byť použitý. Odporúčame opätovné testovanie.

⁴Odporúča sa opakované testovanie.

⁵Vkladacie prvky IS481 a pIS1001 môžu byť prítomné aj v *B. bronchiseptica*.

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. 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 analyzátoru Vivalytic one (pozri návod na použitie analyzátoru Vivalytic one). Reštartujte analyzátor Vivalytic one. Ak problém pretrváva, kontaktujte zákazníčku podporu svojho miestneho distribútora.

Ukončenie testu (predčasné ukončenie)

Keď sa na obrazovke zobrazí platný pozitívny výsledok na *B. parapertussis* alebo *B. holmesii*, používateľ má možnosť test dokončiť. Test ukončíte iba vtedy, ak sa nemajú analyzovať žiadne ďalšie ciele. Nespracované výsledky sa nezobrazia.

Protokol o teste

V tlačenom protokole o teste sa uvádzajú patogén, výsledky, kontrola a informácie o používateľovi, vzorke pacienta a analyzátoře Vivalytic *one* spolu s miestom na podpis.

Kontrola kvality

Ak to vyžadujú vaše miestne alebo laboratórne normy, je nutné vykonať testovanie na kontrolu kvality. Integrovaná kontrola (Human Control) pokrýva procesy odberu vzoriek, purifikácie nukleových kyselín, ich amplifikácie a detekcie.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Dodržiujte pokyny výrobcu. Rekonštituujte referenčný materiál v médiu Copan eNAT®.

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

V prípade opakovaných falošných výsledkov vzoriek na kontrolu kvality sa obráťte na zákaznícku 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 pôsobí. Súhrn bezpečnosti a výkonu (SSP) bude dostupný v Európskej databáze zdravotníckych pomôcok (Eudamed), kde je prepojený so základným identifikátorom UDI-DI. Ak bude príslušný modul v databáze Eudamed plne funkčný, súhrn SSP bude k dispozícii na verejnej webovej stránke (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Obmedzenia

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

- Negatívny výsledok nevylučuje, 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. Odporúčame opätovné testovanie.
- Pozitívny výsledok nemusí nutne znamenať, že sú prítomné životaschopné patogény.
- Test Vivalytic Bordetella je kvalitatívny PCR test v reálnom čase a neposkytuje kvantitatívny výsledok.
- Pozitívne sekvencie IS481 a IS1001 môžu byť spôsobené buď prítomnosťou *B. holmesii*, alebo prítomnosťou *B. pertussis* a *B. holmesii* vo vzorke.
- Pozitívnu sekvenciu IS481 možno považovať za pravdepodobný pozitívny signál na *B. pertussis*, hoci *B. bronchiseptica* môže tiež viesť k pozitívnemu signálu v sekvencii IS481. V prípade potreby by sa malo vykonať ďalšie testovanie na rozlíšenie medzi *B. bronchiseptica* a *B. pertussis*.

Vivalytic Bordetella – návod na použitie

Hodnotenie analytickej výkonnosti

Analytická citlivosť (limit detekcie)

Limit detekcie (LoD) testu Vivalytic Bordetella bol stanovený ako najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať ($\geq 95\%$ vzoriek testovaných za bežných laboratórnych podmienok s použitím definovaného typu vzorky, [tabuľka 1](#)).

Inkluzivita

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

Exkluzivita/analytická špecifickosť

Na vylúčenie krížovej reaktivity (exkluzivity) sa vykonala analýza *in silico* (zarovnanie BLAST) cieľovej oblasti *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii* s genomickou sekvenciou rôznych iných patogénov, ktoré predstavujú bežné respiračné patogény alebo úzko príbuzné druhy. V prípade detekčného systému *Bordetella pertussis* bolo možné detegovať sekvenčné zhody v oblasti próby a primeru pre kmene *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, čo môže znamenať amplifikáciu. V prípade detekčného systému *Bordetella parapertussis* bolo možné detegovať sekvenčné zhody v oblasti próby a primeru pre kmene *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, čo môže znamenať amplifikáciu. Nenašli sa žiadne dôkazy interferencie pre detekčný systém *Bordetella holmesii* ([tabuľka 3](#)).

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu Vivalytic Bordetella sa stanovila pomocou panelu s 3 rôznymi koncentraciami *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii*. V 3 testovacích prevádzkach sa testovala každá zmes na rovnakom súbore nástrojov Vivalytic a test vykonal ten istý operátor s 3 šaržami v 4 opakovaní počas 3 dní. Získané miery pozitivity pri rôznych kombináciách sa prepojili s očakávanou mierou pozitivity ([tabuľka 4a](#)).

Opakovateľnosť

Opakovateľnosť testu Vivalytic Bordetella sa stanovila pomocou panelu s 1 koncentráciou ($3 \times c_{95}$) *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* a *Bordetella holmesii*. Na 1 testovacom pracovisku bola zmes testovaná na tej istej súprave prístrojov Vivalytic tým istým operátorom s 3 šaržami v 20 opakovaniach, t. j. 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. Neboli zistené žiadne interferencie.

Hodnotenie klinickej výkonnosti

Výsledky citlivosti a špecifickosti získané z natívnych odberov vzoriek z nosohltana. Vzorky sa odobrali v klinickom prostredí a porovnali sa s výsledkami referenčných metód.

561 vzoriek výterov z nosohltana v médiu eNAT bolo testovaných na jednom mieste štúdie pomocou skríningu s potenciálne klinicky pozitívnymi vzorkami. 8 klinických vzoriek bolo pozitívnych na jeden z troch patogénov (všetky *Bordetella parapertussis*), čo viedlo k miere pozitivity v rámci súboru vzoriek 1,9 % (8/411). Okrem toho bolo 150 negatívne vopred charakterizovaných vzoriek zmiešaných s príslušným referenčným materiálom (50 vzoriek na patogén).

Celkovo bolo do súboru údajov získaných z testovania s referenčným testom (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR pre BD MAX™*) a Vivalytic Bordetella zahrnutých 495 výsledkov, čo viedlo k výsledkom výkonnosti uvedeným v [tabuľke 6](#).















Technická podpora

Ak potrebujete akúkoľvek podporu, technickú pomoc alebo máte ďalšie otázky, obráťte sa na svojho miestneho distribútora alebo navštívte webovú lokalitu Bosch Vivalytic na adrese www.bosch-vivalytic.com.

Referencie

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 <i>in vitro</i> |
|  Označenie CE vrátane identifikačného čísla notifikovaného orgánu | |
|  Napipetujte uvedený objem vzorky do vstupného otvoru kazety, ktorý je označený čiernym trojuholníkom. | |

Bevezetés

A *Bordetella pertussis* egy kisméretű, Gram-negatív, nem mozgó, tokkal rendelkező, aerob kórokozó, amely többféle toxint és virulenciafaktort termel, többek között pertussis toxint (PT), filamentózus hemagglutinint (FHA), tracheális citotoxint, pertactint, hőlabilis toxint és adenilát-cikláz hemolizint. A Bordetella a légutak nyálkahártyájának csillós hámnján szaporodik, ami a nyálkahártya helyi pusztulásához vezet. A toxinok némelyike az immunrendszert is károsítja, és szövethárosodást okoz. [1, 2] A *B. pertussis* a számarköhögés elsődleges kórokozója. A *B. parapertussis* vagy a *B. holmesii* általi fertőzés is mutathat a számarköhögéshez hasonló klinikai képet, de a betegség lefolyása általában enyhébb és rövidebb, mint a *B. pertussis* által okozott betegségé.

A számarköhögés rendkívül fertőző, és cseppfertőzéssel terjed köhögés, tüsszentés, vagy akár beszéd útján.

A számarköhögés több hétig, vagy akár hónapokig is eltarthat. Oltatlan személyeknél a kezdeti fertőzés jellemzően három stádiumban zajlik:

- Katarrális fázis (időtartama 1-2 hét; intervallum 5-21 nap): Ebben a stádiumban megfázásszerű tünetek jellemzőek, például nátha és enyhe köhögés, de láz általában nincs vagy csak mérsékelt.
- Paroxizmális fázis (időtartama 4-6 hét): Ebben a stádiumban a klasszikus tünetek a köhögési rohamok (staccato-köhögés), melyeket „húzó” belégzési hang követ. A köhögési rohamokat gyakran nyúlós váladék felöklendzése kíséri, amelyet hányás követ.
- Lábadozási fázis (időtartama 6-10 hét): A köhögési rohamok fokozatosan alábbhagynak.

A számarköhögés gyakran nem a klasszikus tünetekkel jelentkezik, különösen felnőtteknél, de idősebb gyermekeknél és serdülőknél sem, ezért a diagnosztikában kulcsfontosságúak a laboratóriumi diagnosztikai módszerek. Köhögő betegeknek (a köhögés időtartamától függetlenül) el kell végezni a számarköhögés laboratóriumi diagnosztikáját, ha a beteg kapcsolatba került egy megerősített számarköhögéses esettel, vagy ha a klasszikus tünetek, mint a köhögési rohamok, a belégzést kísérő sípoló légzés vagy a köhögési rohamokat követő hányás jelen vannak; vagy hosszabb ideig tartó tartós köhögés (>14 nap időtartam) esetén még akkor is, ha a felsorolt klasszikus tünetek hiányoznak. A számarköhögés elleni védőoltásban részesült betegek nem jelentenek kivételt ez alól. Még ha jelentkeznek is a klasszikus tünetek, a megerősítéshez akkor is el kell végezni a laboratóriumi diagnosztikát. Az ajánlott laboratóriumi diagnosztikai módszer a betegség stádiumától függ. A köhögés kezdete utáni első 2-3 hétben erősen ajánlott tenyésztést vagy nukleinsav-amplifikációs technikát (NAT), általában PCR-t alkalmazni a kórokozók kimutatására mélyről vett orrgarat-tamponmintából, orrgarati váladékból vagy leszívással nyert anyagból. [1, 2]

A csomag tartalma

15 Vivalytic Bordetella tesztpatron a *B. pertussis*, a *B. parapertussis* és a *B. holmesii* kórokozókra specifikus génszekvenciák kvalitatív kimutatására eNAT® szállítóközegben (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

A Vivalytic Bordetella tesztet Vivalytic *one* analízátorral kell használni.

Rendeltetészerű használat

A Vivalytic Bordetella teszt egy automatizált kvalitatív *in vitro* diagnosztikai teszt, amely valós idejű polimeráz láncreakción (PCR) alapul a *Bordetella pertussis*, a *Bordetella parapertussis* és a *Bordetella holmesii* kórokozókól származó nukleinsavak kimutatására emberi orrgarat-tamponból, hogy segítse a tüneteket mutató egyéneknél a számarköhögés, a parapertussis vagy a számarköhögés-szerű fertőzések 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 eredmény nem zárja ki a Bordetella általi fertőzést vagy más légúti fertőzést. 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, laborató-

riumi környezetben, például kórházi laboratóriumokban és referencialaboratóriumokban.

Biztonsági információk

Ez a használati útmutató csak a teszthez kapcsolódó információkat tartalmaz. A Vivalytic *one* analizátorhoz mellékelt használati útmutatóban további figyelmeztetéseket és utasításokat talál (az eszköz biztonsági információit taglaló fejezetben). Csak Vivalytic *one* analizátorhoz 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 higiéniát, 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 biológiai mintákról, szállítóedényekről és használt patronokról fel kell tételezni, 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* analizátor (referenciaszám: F09G300115)
- Pipettázó (100–1000 µl)
- Steril szűrős pipettahegyek, 100–1000 µl
- Vattapálcás mintavevőkészletek:
FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.) rugalmas pelyhesített tampon
- Szállítóközeg:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Megfelelő védőruházat

A teszt alapelve

A Vivalytic Bordetella 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 percnél belül. Ez biztosítja a higiéniát, és megelőzi a teljesítmény pára miatti csökkenését. Negatívan befolyásolja a teszt teljesítményét, ha huzamosabb ideig pára éri.

Reagensek

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

A reagensek 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 teszt a *B. pertussis* (IS481 célszekvencia), a *B. parapertussis* (pIS1001 célszekvencia) és a *B. holmesii* (IS481, hIS1001 célszekvenciák) nukleinsavainak kimutatására szolgál orrgarat-tamponmintákból (FLOQSwabs® 553C rugalmas pelyhesített tampon) eNAT® szállítóközegben (eNAT® szállítóközeg Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

A mintákat a gyártói utasításokban megjelöltek szerint vegye le és tárolja [3]. 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 útmutatóját [3]).

Minta-előkészítés

Használjon COPAN FLOQSwabs® rugalmas vattapálcát az orrgaratból történő mintavételre. A keneteket helyezze 1 ml eNAT® szállítóközegbe. Törje le a vattapálca szárát, és zárja le a csövet. Rázással homogenizálja az eNAT® közegben lévő kenetmintát tartalmazó mintacsövet (de ne képződjön hab). Töltsön 300 µl homogenizált mintát a patron mintabemenetébe, és zárja le a patron fedelét. Helyezze a patron a Vivalytic *one* analizátorba. Ne használjon viszkózus, nehezen pipettázható mintákat.

Teszteredmény

A minta Vivalytic *one* analizátorral történő automatikus feldolgozását követően a teszteredmény megjelenik a Vivalytic *one* analizátor képernyőjén. Az eredmény eléréséhez szükséges idő körülbelül 50 perc. Magas titerű minták esetében az eredmény már kevesebb mint 33 perc alatt megjelenik, és a teszt futtatás korábban is befejezhető (lásd a Teszt befejezése című fejezetet).

A minta besorolása lehet *B. pertussis* kórokozóra pozitív, *B. parapertussis* kórokozóra pozitív, *B. holmesii* kórokozóra pozitív, negatív vagy érvénytelen, vagy ezek kombinációja. Ha a teszt kimutatott egy vagy több célszekvenciát, az eredmény akkor is érvényesnek minősül, ha a Human Control negatív.

A humánsejt-alapú teljes folyamatkontroll (Human Control) kimutatása negatív mintákban sikeres DNS-tisztítási és amplifikálási folyamatot jelez, és kizárja a PCR-reakció gátlását. Az eredmények értelmezését az alábbi táblázat tartalmazza.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Eredmény
+	-	-	+/-	A minta <i>B. pertussis</i> kórokozóra pozitívnak minősül.
+	+	-	+/-	A minta <i>B. holmesii</i> kórokozóra pozitívnak minősül. ¹
-	-	+	+/-	A minta <i>B. parapertussis</i> kórokozóra pozitívnak minősül.
+	-	+	+/-	A minta <i>B. pertussis</i> és <i>B. parapertussis</i> kórokozókra pozitívnak minősül.
+	+	+	+/-	A minta <i>B. parapertussis</i> és <i>B. holmesii</i> kórokozókra pozitívnak minősül. ¹
-	+	+	+/-	A minta <i>B. parapertussis</i> kórokozóra pozitívnak minősül (!). ²
-	+	-	+/-	A minta negatívnak minősül (!). ³
-	-	-	+	A minta negatívnak minősül.
-	-	-	-	Érvénytelen. ⁴

¹Amennyiben *B. holmesii* kórokozóra pozitív eredményt kapunk, nem zárható ki a *B. pertussis* kórokozóval kevert minta, mert a két faj az IS481 amplifikált régióban megegyező szekvenciákkal rendelkezik.

²*B. parapertussis* kórokozóra pozitív (!)

A kimutatási határhoz közeli minták nem feltétlenül mutatnak pozitív jelet minden meghatározott célszekvenciára, ezért a teszt *B. pertussis* és *B. holmesii* kórokozókra negatívként sorolja be ezeket. Ez nem zárja ki az ezen kórokozók általi fertőzést. Ajánlott ismételt tesztelni.

³Negatív (!)

A kimutatási határhoz közeli minták nem feltétlenül mutatnak pozitív jelet minden meghatározott célszekvenciára, ezért a teszt *B. pertussis*, *B. parapertussis* és *B. holmesii* kórokozókra negatívként sorolja be ezeket. Ez nem zárja ki az ezen kórokozók általi fertőzést. Az eredmény nem használható. Ajánlott ismételt tesztelni.

⁴Ajánlott ismét tesztelni.

⁵Az IS481 és a pIS1001 inszerciós elemek is jelen lehetnek a *B. bronchiseptica* kórokozóban.

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.

Érvénytelen vagy sikertelen tesztek

Egy teszt akkor minősül érvénytelennek, ha sem a cél DNS-t, sem a Human Controlot nem mutatja ki. Az érvénytelen futtatás oka lehet a minta gyenge minősége, ha részben vagy teljesen hiányzik belőle a humán sejtanyag. A teszt indítása előtt figyeljen oda a megfelelő mintatípusra, mintavételre és mintatárolásra, valamint patronokra. Szükség szerint ismétlje 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.

A teszt befejezése (korai befejezés)

A felhasználónak lehetősége van befejezni a tesztet, amint érvényes, *B. parapertussis* vagy *B. holmesii* kórokozóra pozitív eredmény jelenik meg a képernyőn. Csak akkor fejezze be a tesztet, ha nincs szükség további targetek elemzésére. A függőben lévő eredmények nem jelennek meg.

Tesztjelentés

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

Minőség-ellenőrzés

Ha a helyi laboratórium szabályai előírják, minőség-ellenőrzés céljából is kell tesztelni. Az integrált kontroll (Human Control) lefedi a mintavételt, nukleinsav-tisztítást, amplifikálást és kimutatást.

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

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Szíveskedjék betartani a gyártói utasításokat. Állítsa helyre a referenciaanyagot Copan eNAT® közegben.

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* analizátor vagy a környezete szennyeződött. Hagyja abba a Vivalytic *one* analizátor használatát, és tisztítsa meg az eszközt a Vivalytic *one* analizátor használati útmutatójában leírtak szerint.

Ha a minőség-ellenőrzési minták ismételten 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. A biztonság és a teljesítmény összefoglalója (SSP) elérhető lesz az orvostechikai eszközök európai adatbázisában (Eudamed), ahol össze van kapcsolva az alapvető UDI-DI azonosítóval. Ha az Eudamed megfelelő modulja teljes mértékben működésbe lép, akkor az SSP elérhető lesz a nyilvános weboldalon (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Korlátozások

A Vivalytic Bordetella teszt eredményeit kizárólag képzett egészségügyi szakember értelmezheti. A Vivalytic Bordetella teszt eredményét 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. Ajánlott ismételten tesztelni.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes kórokozók jelenlétét.
- A Vivalytic Bordetella kvalitatív valós idejű PCR-teszt, amely nem ad kvantitatív eredményt.
- A pozitív IS481 és hIS1001 eredményt vagy a *B. holmesii* jelenléte, vagy a *B. pertussis* és a *B. holmesii* jelenléte okozhatja a mintában.
- A pozitív IS481 valószínűleg *B. pertussis* kórokozóra pozitívnak tekinthető, bár a *B. bronchiseptica* is eredményezhet pozitív IS481 jelet. Szükség esetén további vizsgálatokat kell végezni a *B. bronchiseptica* és a *B. pertussis* megkülönböztetésére.

Atipikus teljesítmény értékelése

Analitikai érzékenység (kimutatási határ)

A Vivalytic Bordetella teszt kimutatási határát (LoD) az analit azon legalacsonyabb koncentrációjaként határozták meg, amely következetesen kimutatható (a rutin laboratóriumi körülmények között vizsgált minták $\geq 95\%$ -ában, meghatározott mintatípus felhasználásával, [1. táblázat](#)).

Inkluzivitás

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

Exkluzivitás / analitikai specificitás

A keresztreaktivitás kizárására (az exkluzivitás biztosítására) *in silico* elemzéssel (BLAST illesztéssel) összehasonlították a *Bordetella pertussis*, a *Bordetella parapertussis* és a *Bordetella holmesii* cél régióját különböző gyakori légzőszervi kórokozók és szoros rokonságban lévő fajok egyes képviselőinek genomi szekvenciáival. A *Bordetella pertussis* kimutatási rendszere esetében a próba és a primer területén szekvenciaegyezéseket lehetett kimutatni a *Bordetella bronchiseptica* NCTC 10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 törzseivel, így előfordulhat azok amplifikációja. A *Bordetella parapertussis* kimutatási rendszere esetében a próba és a primer területén szekvenciaegyezéseket lehetett kimutatni a *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 törzseivel, így előfordulhat azok amplifikációja. A *Bordetella holmesii* kimutatási rendszere esetében nem volt bizonyíték interferenciára ([3. táblázat](#)).

Reprodukálhatóság

A Vivalytic Bordetella teszt reprodukálhatóságát a *Bordetella pertussis*, a *Bordetella parapertussis* és a *Bordetella holmesii* 3 különböző koncentrációját tartalmazó panellel határozták meg. Minden keveréket mindhárom helyszínen tesztelték egyazon Vivalytic készülékekkel és kezelővel, 3 tétellel, 4 ismétlésben, 3 napon. A különféle kombinációknál kapott pozitív arányt összevetették a várt pozitív aránnyal ([4.a táblázat](#)).

Megismételhetőség

A Vivalytic Bordetella teszt megismételhetőségét a *Bordetella pertussis*, a *Bordetella parapertussis* és a *Bordetella holmesii* 1 koncentrációját ($3 \times c_{95}$) tartalmazó panellel határozták meg. A keveréket 1 vizsgálati helyszínen a Vivalytic készülékek ugyanazon készletével, ugyanaz a kezelő 3 tétellel, 20 ismétlésben tesztelte, ami kórokozónként összesen 60 megfigyelést eredményezett. A különféle kombinációknál kapott pozitív arányt összevetették a várt pozitív 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. Nem mutattak ki interferenciát.

Klinikai teljesítmény értékelése

Az érzékenységet és a specificitást natív orrgarat-tamponmintákból határozták meg. A mintákat klinikai környezetben gyűjtötték, és referenciamódszerek eredményeivel hasonlították össze.

561 orrgarat-tamponmintát vizsgáltak eNAT közegben egy vizsgálati helyszínen, szűrési megközelítéssel a potenciálisan klinikailag pozitív mintákkal. 8 klinikai minta volt pozitív a három kórokozó egyikére (mind *Bordetella parapertussis*), ami 1,9%-os (8/411) pozitív arányt jelent a mintasorozaton belül. Ezenkívül 150, előzetesen negatívként leírt mintát spike-oltak a megfelelő referenciaanyaggal (kórokozónként 50 minta).

Összesen 495 eredményt vontak be a referenciateszttel (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™*) és a Vivalytic Bordetella teszttel nyert adatsorba, ami a [6. táblázatban](#) látható teljesítményeredményekhez vezetett.

Műszaki támogatás

Ha további támogatásra vagy műszaki segítségre van szüksége, illetve további kérdései vannak, lépjen kapcsolatba helyi forgalmazójával, vagy keresse fel a www.bosch-vivalytic.com Bosch Vivalytic webhelyet.

Hivatkozások

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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

CE₀₁₂₃ CE-jelölés a bejelentett szervezet azonosítószámával együtt



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

Introducere

Bordetella pertussis este un patogen mic, gram-negativ, imobil, încapsulat, aerob, care produce diferite toxine și factori de virulență, inclusiv toxina pertussis (PT), hemaglutinina filamentoasă (FHA), citotoxina traheală, pertactina, toxina termolabilă și hemolizina adenilat ciclază. *Bordetella* se multiplică pe epiteliul ciliat al mucoasei respiratorii, ducând la distrugerea locală a acesteia. Unele dintre toxine afectează, de asemenea, sistemul imunitar și duc la leziuni tisulare. [1, 2]

B. pertussis este principalul patogen care cauzează tusea convulsivă.

Infecțiile cu *B. parapertussis* sau *B. holmesii* pot să ducă, de asemenea, la un tablou clinic similar cu tusea convulsivă, dar evoluția este de obicei mai ușoară și mai scurtă decât cea a unei afecțiuni cauzate de *B. pertussis*.

Tusea convulsivă este extrem de contagioasă și este transmisă prin picăturile de secreții respiratorii generate prin tuse, strănut și chiar vorbit.

Pertussis poate să dureze câteva săptămâni până la câteva luni. Infecția inițială tipică la persoane nevaccinate progresează în trei etape:

- faza catarală (durată de 1–2 săptămâni; interval de 5–21 de zile): această etapă este caracterizată prin simptome asemănătoare unei răceli, cu o tuse uscată și ușoară, însă, de obicei, fără febră sau cu febră moderată.
- faza paroxistică (durată de 4–6 săptămâni): în această etapă, apar simptomele clasice de accese de tuse (tuse de tip „staccato”), urmate de respirație dificilă. Atacurile de tuse sunt de obicei însoțite de regurgitarea mucusului vâscos, urmată de vomă.
- Faza de convalescență (durată de 6–10 săptămâni): accesele de tuse se reduc gradual.

Deoarece tusea convulsivă nu se prezintă, de multe ori, cu simptomele clasice, în special la adulți, dar și la copiii de vârste mai mari și adolescenți, metodele de diagnosticare în laborator sunt esențiale pentru diagnosticare. La pacienții cu tuse (indiferent de durată), diagnosticul de laborator pentru tusea convulsivă ar trebui să fie efectuat dacă a existat un contact cu un caz confirmat de tuse convulsivă sau dacă sunt prezente simptomele clasice, precum atacurile de tuse, stridor inspirator sau vomă după atacurile de tuse; sau în cazul unei tuse care persistă pe o perioadă mai lungă (o durată >14 zile), chiar dacă acestea sunt absente. Pacienții cu vaccin antipertussis nu sunt excluși. Chiar dacă apar simptome clasice, diagnosticul de laborator ar trebui să fie efectuat pentru confirmare. Metoda de diagnostic de laborator recomandată depinde de etapa bolii. În primele 2–3 săptămâni de la debutul tusei, se recomandă utilizarea unei culturi sau a tehnicii amplificării acidului nucleic (NAT), de obicei PCR, pentru a detecta acești patogeni din tampoane nazofaringiene de profunzime, secreții nazofaringiene sau materii obținute prin aspirație. [1, 2]

Conținutul ambalajului

15 cartușe de testare Vivalytic Bordetella pentru detectarea calitativă a secvențelor de gene specifice *B. pertussis*, *B. parapertussis* și *B. holmesii* în mediul de transport eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Testul Vivalytic Bordetella este configurat spre a fi folosit cu un analizor Vivalytic one.

Destinația de utilizare

Testul Vivalytic Bordetella 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* și *Bordetella holmesii* din tampoane nazofaringiene de la oameni, pentru a ajuta la punerea diagnosticului de pertussis, parapertussis sau infecții similare cu pertussis la persoane 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 *Bordetella* sau o altă infecție a tractului respirator. 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 punga 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.
- 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 deșeuri 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.

Echipe suplimentare și consumabile necesare, dar nefurnizate

- Analizor Bosch Vivalytic one (număr de referință F09G300115)
- Pipetor (100 – 1.000 µl)
- Vârfuri sterile de pipetă cu filtru 100 – 1000 µl
- Truse de recoltare a tampoanelor:
Tampon flocat flexibil FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Mediu de transport:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Îmbrăcăminte adecvată de protecție

Principiul testului

Vivalytic Bordetella este un test calitativ, bazat pe PCR în timp real.

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 exemplu, 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 detectării acizilor nucleici de *B. pertussis* (secvența țintă a genei IS481), *B. parapertussis* (secvența țintă a genei pIS1001) și *B. holmesii* (secvența țintă a genei IS481, hIS1001) în probe de tampon nazofaringian (tampon flocat flexibil FLOQSwabs® 553C flexibil) în mediu de transport eNAT® (mediu de transport eNAT® ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Recoltați și depozitați probele așa cum este indicat în instrucțiunile producătorului [3].

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® [3]).

Pregătirea probei

Utilizați un tampon flexibil COPAN FLOQSwabs® pentru recoltarea probelor de tampoane nazofaringiene. Fiecare tampon este transferat într-un mediu de transport eNAT® de 1 ml. Rupeți tamponul și închideți eprubeta. Agitați eprubeta cu proba de tampon în mediu eNAT® în vederea omogenizării (evitați spumarea). Introduceți 300 µl de probă omogenizată în compartimentul pentru probă al cartușului și închideți capacul cartușului. Introduceți cartușul în analizorul Valytic one.

Nu utilizați probe vâscoase care sunt dificil de pipetat.

Rezultatul testului

După procesarea automată a probei cu analizorul Valytic one, rezultatul testului este afișat pe ecranul analizorului Valytic one. Durata până la obținerea rezultatului este de aproximativ 50 de minute. Pentru probele cu titruri ridicate, rezultatele sunt disponibile după mai puțin de 33 de minute, iar testul poate fi încheiat mai repede (consultați capitolul Terminarea testului).

Proba este clasificată ca fiind pozitivă pentru *B. pertussis*, pozitivă pentru *B. parapertussis*, pozitivă, negativă sau nevalidă pentru *B. holmesii* sau o combinație a celor menționate mai sus. În cazul detectării pozitive a uneia sau a mai multor ținte, testul este considerat valid chiar dacă Human Control este negativ.

Întregul proces de control bazat pe detectarea celulelor umane (Human Control) în probele negative arată o procedură de amplificare și de purificare ADN reușită și exclude o inhibare a reacției PCR. Interpretarea rezultatelor este afișată în tabelul de mai jos.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Rezultat
+	-	-	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. pertussis</i> și <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. parapertussis</i> și <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Proba este considerată pozitivă pentru <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Proba este considerată negativă (!). ³
-	-	-	+	Proba este considerată negativă.
-	-	-	-	Invalid. ⁴

¹În cazul unui semnal pozitiv pentru *B. holmesii*, o probă mixtă cu *B. pertussis* nu poate să fie exclusă, deoarece cele două specii au în comun secvențe identice în regiunea amplificată IS481.

²Pozitivă la *B. parapertussis* (!)

S-ar putea ca probele aflate aproape de LoD să nu arate un semnal pozitiv pentru toate țintele definite și sunt, prin urmare, clasificate drept negative pentru *B. pertussis* și *B. holmesii*. Aceasta nu exclude o infecție cu respectivii patogeni. Se recomandă retestarea.

³Negativă (!)

S-ar putea ca probele aflate aproape de LoD să nu arate un semnal pozitiv pentru toate țintele definite și sunt, prin urmare, clasificate drept negative pentru *B. pertussis*, *B. parapertussis* și *B. holmesii*. Aceasta nu exclude o infecție cu respectivii patogeni. Rezultatul nu trebuie utilizat. Se recomandă retestarea.

⁴Se recomandă repetarea testării.

⁵Elementele inserționale IS481 și pIS1001 pot, de asemenea, să fie prezente în *B. bronchiseptica*.

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. 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 (finalizare anticipată)

Imediat ce un rezultat pozitiv valid pentru *B. parapertussis* sau *B. holmesii* este afișat pe ecran, utilizatorul are opțiunea de a finaliza testul. Finalizați testul doar dacă nu mai trebuie analizate alte ținte. Rezultatele în așteptare nu vor fi afișate.

Raportul de test

În raportul de test tipărit sunt prezentați, cu un câmp de semnătură, agentul patogen, rezultatele, controlul și informațiile despre utilizator, proba pacientului și analizorul Vivalytic *one*.

Controlul calității

Trebuie efectuate teste de control al calității dacă acest lucru este prevăzut de standardele locale sau de laborator. Controlul integrat (Human Control) acoperă procesele de recoltare a probei, purificare a acidului nucleic, amplificare și detectare.

În cazul în care este necesară o metodă de testare de referință pentru controlul calității, pot fi utilizate următoarele materiale de referință:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Urmați instrucțiunile producătorului. Reconstituiți materialul de referință în mediul Copan eNAT®.

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. Rezumatul caracteristicilor de siguranță și performanță (SSP) va fi disponibil în baza de date europeană privind dispozitivele medicale (Eudamed), unde este asociat cu UDI-DI de bază. Dacă modulul respectiv din Eudamed va fi complet funcțional, SSP va fi disponibil pe site-ul web public (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limitări

Rezultatele testului Vivalytic Bordetella trebuie interpretate numai de către un profesionist calificat în domeniul sănătății. Rezultatele testului Vivalytic Bordetella 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. Se recomandă retestarea.
- Un rezultat pozitiv nu înseamnă neapărat că sunt prezenți patogeni viabili.
- Vivalytic Bordetella este un test PCR calitativ în timp real și nu oferă un rezultat cantitativ.
- Un rezultat pozitiv IS481 și hIS1001 poate să fie cauzat de prezența *B. holmesii* sau *B. pertussis* și *B. holmesii* în probă.
- Un rezultat pozitiv IS481 poate să fie considerat ca probabil pozitiv la *B. pertussis*, dar și *B. bronchiseptica* poate să ducă la un semnal IS481 pozitiv. Dacă este necesar, trebuie efectuat un test suplimentar pentru a diferenția *B. bronchiseptica* de *B. pertussis*.

Evaluarea performanțelor analitice

Sensibilitate analitică (limită de detecție)

Limita de detecție (LoD) a testului Vivalytic Bordetella a fost determinată la cea mai scăzută concentrație a analitului care poate fi detectată uniform ($\geq 95\%$ din probele testate în condiții normale de laborator folosind un anumit tip de probă, [tabelul 1](#)).

Inclusivitate

Pentru a evalua inclusivitatea, a fost efectuată o analiză *in silico* (alinieră BLAST) a secvenței genomice a unor tulpini de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* și *Bordetella holmesii* diferite, relevante comparativ cu secvența primerilor PCR și sonda de hidroliză folosite în testul Vivalytic Bordetella pentru amplificarea și detectarea patogenilor respectivi. Inclusivitatea a putut să fie indicată pentru organismele enumerate în [tabelul 2](#).

Exclusivitate/Specificitate analitică

Pentru a exclude reactivitatea încrucișată (exclusivitatea), a fost realizată o analiză *in silico* (alinieră BLAST) a regiunii țintă a *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* și *Bordetella holmesii* comparativ cu secvența genomică a mai multor tipuri de agenți patogeni reprezentând agenți patogeni respiratori comuni sau specii înrudite. În ceea ce privește sistemul de detectare a *Bordetella pertussis*, s-au putut detecta potriviri de secvențe în zona sondei și a primerului pentru tulpinile de *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, ceea ce concluzionează o posibilă amplificare. În ceea ce privește sistemul de detectare a *Bordetella parapertussis*, s-au putut detecta potriviri de secvențe în zona sondei și a primerului pentru tulpinile de *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, ceea ce concluzionează o posibilă amplificare. Nu au existat dovezi de interferență pentru sistemul de detectare a *Bordetella holmesii* ([tabelul 3](#)).

Reproductibilitatea

Reproductibilitatea testului Vivalytic Bordetella a fost stabilită folosind un panel cu 3 concentrații diferite de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* și *Bordetella holmesii*. 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, respectiv în 3 zile. Ratele de pozitivare obținute pentru diferitele combinații au fost corelate cu ratele estimate de pozitivare ([tabelul 4a](#)).

Repetabilitatea

Repetabilitatea testului Vivalytic Bordetella a fost stabilită folosind un panel cu 1 concentrație ($3 \times c95$) de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* și *Bordetella holmesii*. 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, respectiv, 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. Nu au fost detectate interferențe.

Evaluarea performanțelor clinice

Rezultatele de sensibilitate și specificitate derivate din probele de tampoane nazofaringiene native. Probele au fost colectate într-un mediu clinic și comparate cu rezultatele metodelor de referință.

561 de probe de tampoane nazofaringiene în eNAT au fost testate într-un centru de studiu folosind o abordare de screening cu probe potențial pozitive clinic. 8 probe clinice au fost găsite pozitive pentru unul dintre cei trei patogeni (toate *Bordetella parapertussis*), ducând la o rată pozitivă într-un set de probe de 1,9% (8/411). Suplimentar, 150 de probe pre-caracterizate drept negative au fost îmbogățite cu materialul de referință respectiv (50 de probe per patogen).

În total, 495 de rezultate au fost incluse în setul de date obținut din testarea cu un test de referință (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR pentru BD MAX™) și Vivalytic Bordetella, ducând la rezultatele de performanță indicate în tabelul 6.

Asistență tehnică

Dacă aveți nevoie de ajutor, de asistență tehnică sau aveți întrebări suplimentare, contactați distribuitorul local sau vizitați site-ul web Bosch Vivalytic la adresa www.bosch-vivalytic.com.

Bibliografie

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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*

 ₀₁₂₃ Marcajul CE incl. numărul de identificare al organului notificat



Pipetați volumul indicat de probă în compartimentul pentru probă al cartușului, marcat de triunghiul negru.

Uvod

Bordetella pertussis mali je gram-negativni, nepokretan, kapsuliran aerobni patogen koji proizvodi razne toksine i čimbenike virulencije, uključujući toksin pertusisa (PT), filamentozni hemaglutinin (FHA), trahealni citotoksin, pertaktin, toplinski labilan toksin i adenilat ciklaza hemolizin. *Bordetella* se razmnožava na cilijarnom epitelu respiratorne sluznice, što uzrokuje lokalno uništenje sluznice. Neki toksini također oslabljuju imunološki sustav i uzrokuju oštećenje tkiva. [1, 2]

B. pertussis primarni je uzročnik hripavca. Infekcija bakterijom *B. parapertussis* ili *B. holmesii* također može uzrokovati kliničku sliku sličnu hripavcu, ali tijek je obično blaži i kraći od onoga za bolest uzrokovanu bakterijom *B. pertussis*.

Hripavac je visoko zarazan i prenosi se respiratornim kapljicama koje nastaju kašljanjem, kihanjem, a čak i govorenjem.

Pertussis može trajati nekoliko tjedana do mjeseci. Tipična početna infekcija u necijepljenih pojedinaca razvija se u tri faze:

- kataralna faza (trajanje 1 – 2 tjedna; interval 5 – 21 dan): ovu fazu obilježavaju simptomi kao kod prehlade, kao što su prehlada i blagi kašalj, ali obično bez povišene temperature ili samo s umjereno povišenom temperaturom.
- Paroksizmalna faza (trajanje 4 – 6 tjedana): u ovoj fazi javljaju se klasični napadaji kašlja (staccato kašalj), praćeni otporom pri udisaju. Napadaji kašlja često su popraćeni regurgitacijom viskozne sluzi, nakon čega slijedi povraćanje.
- Konvalescentna faza (trajanje 6 – 10 tjedana): napadaji kašlja postepeno se smanjuju.

S obzirom na to da pertussis obično nema klasične simptome, posebice u odraslih, ali i u starije djece i adolescenata, laboratorijske dijagnostičke metode ključne su za dijagnostiku. U pacijenata s kašljem (neovisno o njegovu trajanju) laboratorijsku dijagnostiku za pertussis potrebno je obaviti ako je postojao kontakt s potvrđenim slučajem pertusisa ili ako su prisutni klasični simptomi kao što su napadaji kašlja, stridor pri udisaju ili povraćanje nakon napadaja kašlja; ili ako je kašalj dulje prisutan (u trajanju > 14 dana), čak i ako nema drugih simptoma. Pacijenti koji su primili cjepivo protiv pertusisa nisu isključeni. Čak i ako se pojave klasični simptomi, potrebno je obaviti laboratorijsku dijagnostiku kao potvrdu. Preporučena laboratorijska dijagnostička metoda ovisi o fazi bolesti. Tijekom prva 2 do 3 tjedna nakon pojave kašlja svakako se preporučuje uporaba kulture ili tehnike umnožavanja nukleinske kiseline (NAT), obično PCR-a, za otkrivanje tih patogena iz dubokih nazofaringealnih brisova, nazofaringealnog sekreta ili materijala dobivenog usisom. [1, 2]

Sadržaj pakiranja

15 patrona testnih uzoraka Vivalytic Bordetella za kvalitativno otkrivanje specifičnih sekvenci gena bakterija *B. pertussis*, *B. parapertussis* i *B. holmesii* u transportnom mediju eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Test Vivalytic Bordetella konfiguriran je za uporabu s analizatorom Vivalytic one.

Namjena

Test Vivalytic Bordetella automatizirani je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test koji se temelji na lančanoj reakciji polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu za otkrivanje nukleinskih kiselina iz bakterija *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii* iz ljudskih nazofaringealnih briseva kao pomoć u dijagnozi infekcija pertusisa, parapertusisa ili infekcija sličnih pertussisu u simptomatičnih 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 *Bordetella* ili drugu infekciju dišnog sustava. Rezultati moraju biti klinički povezani s povijesti bolesti pacijenta, 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 prolje 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.
- 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 F09G300115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilni vrhovi pipeta s filtrom, 100 – 1000 µl
- Kompleti za prikupljanje briseva:
Fleksibilni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportni medij:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prikladna zaštitna odjeća

Načelo testa

Vivalytic Bordetella 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 za otkrivanje nukleinskih kiselina bakterije *B. pertussis* (ciljna sekvenca gena IS481), *B. paraptussis* (ciljna sekvenca gena pIS1001) i *B. holmesii* (ciljna sekvenca gena IS481, hIS1001) iz nazofaringealnih uzoraka brisa (fleksibilni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 553C) u transportnom mediju eNAT® (transportni medij eNAT® ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Prikupite i pohranite uzorke kao što je naznačeno u uputama proizvođača [3]. 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® [3]).

Priprema uzoraka

Upotrijebite fleksibilni štapić COPAN FLOQSwabs® za prikupljanje nazofaringealnih uzoraka brisa. Svaki se štapić prenosi u 1 ml eNAT® transportnog medija. Slomite štapić i zatvorite epruvetu. Protresite epruvetu s uzorkom koja sadrži uzorak brisa u mediju za homogenizaciju eNAT® (izbjegavajte stvaranje pjene). Napunite jažicu za uzorak patrone s 300 µl homogeniziranog uzorka i zatvorite poklopac patrone. Umetnite patronu u analizator Vivalytic *one*.

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 33 minute i testiranje se može ranije prekinuti (pogledajte poglavlje Završetak testa).

Uzorak se klasificira kao pozitivan na *B. pertussis*, pozitivan na *B. paraptussis*, pozitivan na *B. holmesii*, negativan ili nevažeci ili kao kombinacija navedenog. U slučaju pozitivnog otkrivanja jednog ili više ciljeva test se smatra valjanim čak i ako je kontrola Human Control negativna.

Otkrivanje kontrole cijelog postupka temeljene na ljudskim stanicama (Human Control) u negativnim uzorcima prikazuje uspješnu purifikaciju DNK-a i proces amplifikacije te isključuje inhibiciju PCR reakcije. Tumačenje rezultata navedeno je u tablici u nastavku.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Rezultat
+	-	-	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. pertussis</i> i <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. parapertussis</i> i <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Uzorak se smatra pozitivnim na <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Uzorak se smatra negativnim (!). ³
-	-	-	+	Uzorak se smatra negativnim.
-	-	-	-	Nevažeći. ⁴

¹U slučaju pozitivnog signala za *B. holmesii* ne može se isključiti miješani uzorak s bakterijom *B. pertussis* jer dva uzorka dijele identične sekvence unutar pojačane regije sekvence IS481.

² Pozitivno na *B. parapertussis* (!)

Uzorci blizu LoD-a možda neće prikazivati pozitivan signal za sve definirane ciljeve i zato su klasificirani kao negativni na *B. pertussis* i *B. holmesii*. To ne isključuje infekciju s tim patogenima. Preporučuje se ponovno testiranje.

³ Negativno (!)

Uzorci blizu LoD-a možda neće prikazivati pozitivan signal za sve definirane ciljeve i zato su klasificirani kao negativni na *B. pertussis*, *B. parapertussis* i *B. holmesii*. To ne isključuje infekciju s tim patogenima. Rezultati se ne smiju upotrebljavati. Preporučuje se ponovno testiranje.

⁴Preporučuje se ponovno testiranje.

⁵Elementi za umetanje IS481 i pIS1001 mogu biti prisutni i u bakteriji *B. bronchiseptica*.

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.

Nevažeći ili neuspješni testovi

Test se smatra nevažećim ako se ne otkrije ciljani DNK ni kontrola Human Control. Mogući razlozi za nevažeći test mogu biti loša kvaliteta uzorka zbog djelomičnog ili potpunog odsustva ljudskog staničnog tkiva u uzorku. 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 uporabu analizatora Vivalytic *one*). Ponovno pokrenite analizator Vivalytic *one*. Ako se problem nastavi, obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Završetak testa (rani završetak)

Čim se na zaslonu prikaže valjan, pozitivan rezultat za *B. parapertussis* ili *B. holmesii*, korisnik može završiti test. Završite test samo ako nema daljnjih ciljeva za analizu. Rezultati u tijeku se ne prikazuju.

Izveštaj o testu

U ispisanom izvještaju o testu patogen, rezultati i informacije o korisniku, uzorku pacijenta 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. Integrirana kontrola (Human Control) obuhvaća proces prikupljanja uzoraka, purifikacije nukleinske kiseline, amplifikaciju i otkrivanje.

U slučaju da je potrebna referentna metoda testiranja kontrole kvalitete, mogu se upotrijebiti sljedeći referentni materijali:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Sljedite upute proizvođača. Rekonstituirajte referentni materijal u mediju Copan eNAT®.

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 uporabu 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. Sažetak sigurnosti i učinkovitosti (SSP) bit će dostupan u Europskoj bazi podataka za medicinske proizvode (Eudamed), gdje je povezan s osnovnim UDI-DI-jem. Ako će određeni model u bazi Eudamed biti u potpunosti funkcionalan, SSP će biti dostupan na javnom web-mjestu (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Ograničenja

Rezultate testa Vivalytic Bordetella smiju tumačiti samo obučeni zdravstveni djelatnici. Rezultati testa Vivalytic Bordetella ne smiju se upotrebljavati kao jedini parametri 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. Preporučuje se ponovno testiranje.
- Pozitivan rezultat ne znači nužno da su prisutni održivi patogeni.
- Vivalytic Bordetella kvalitativni je PCR test u stvarnom vremenu i ne pruža kvantitativne rezultate.
- Pozitivan IS481 i hIS1001 može biti uzrokovan prisustvom bakterije *B. holmesii* ili prisustvom bakterije *B. pertussis* i *B. holmesii* u uzorku.
- Pozitivan IS481 može se smatrati mogućim pozitivnim na *B. pertussis*, iako i *B. bronchiseptica* može dovesti do pozitivnog signala IS481. Prema potrebi treba provesti dodatna testiranja za razlikovanje bakterije *B. bronchiseptica* od *B. pertussis*.

Procjena analitičkih performansi

Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Granica otkrivanja testa (LoD) Vivalytic Bordetella određena je kao najniža koncentracija analita koja se može dosljedno otkriti ($\geq 95\%$ uzoraka testiranih u rutinskim laboratorijskim uvjetima s pomoću definirane vrste uzorka, [tablica 1](#)).

Uključivost

Za procjenu uključivosti provedena je *in silico* analiza (usklađivanje BLAST) genomske sekvence različitih relevantnih sojeva bakterija *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii* naspram sekvence PCR početnica i probe za hidrolizu upotrijebljenih u testu Vivalytic Bordetella za amplifikaciju i otkrivanje odgovarajućih patogena. Uključivost se može pokazati za organizme navedene u [tablici 2](#).

Ekskluzivnost / analitička specifičnost

Kako bi se isključila unakrsna reaktivnost (ekskluzivnost), provedena je *in silico* analiza (usklađivanje BLAST) ciljnih regija bakterija *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii* naspram sekvence genoma raznih drugih patogena koji predstavljaju uobičajene respiratorne patogene ili blisko povezane vrste. Za sustav otkrivanja bakterije *Bordetella pertussis* mogla su se otkriti podudaranja sekvenci u području probe i početnice za sojeve NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 bakterije *Bordetella bronchiseptica*, što upućuje na moguću amplifikaciju. Za sustav otkrivanja bakterije *Bordetella parapertussis* mogla su se otkriti podudaranja sekvenci u području probe i početnice za sojeve KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 bakterije *Bordetella bronchiseptica*, što upućuje na moguću amplifikaciju. Nije bilo dokaza interferencije za sustav otkrivanja bakterije *Bordetella holmesii* ([tablica 3](#)).

Ponovljivost

Ponovljivost testa Vivalytic Bordetella utvrđena je uporabom panela s 3 različite koncentracije bakterije *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii*. Na tri ispitna mjesta svaku je mješavinu testirao isti rukovatelj na istom kompletu instrumenata Vivalytic s 3 serije u 4 ponavljanja tijekom 3 dana. Dobivene stope pozitivnosti za različite kombinacije povezano su s očekivanom stopom pozitivnosti ([tablica 4.a](#)).

Obnovljivost

Obnovljivost testa Vivalytic Bordetella utvrđena je uporabom panela s 1 koncentracijom ($3 \times c95$) bakterije *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* i *Bordetella holmesii*. Na jednom ispitnom mjestu mješavinu je testirao isti rukovatelj na istom kompletu instrumenata Vivalytic s 3 serije u 20 ponavljanja, čime se dobilo ukupno 60 opservacija po ciljnom patogenu. Dobivene stope pozitivnosti za različite kombinacije povezano 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. Nisu otkrivene interferencije.

Procjena kliničkih performansi

Rezultati osjetljivosti i specifičnosti dobiveni iz nativnih nazofaringealnih uzoraka brisa. Uzorci su prikupljeni u kliničkom okruženju i uspoređeni s rezultatima dobivenima s pomoću referentnih metoda.

561 nazofaringealan uzorak brisa u transportnom mediju eNAT testiran je u jednom ispitivačkom centru tehnikom probira s potencijalno klinički pozitivnim uzorcima. Otkriveno je da je 8 kliničkih uzoraka pozitivno na jedan od tri patogena (sve *Bordetella parapertussis*), što je dovelo do pozitivne stope unutar skupa uzoraka od 1,9 % (8/411). Osim toga, 150 unaprijed karakteriziranim negativnim uzorcima dodan je odgovarajući referentni materijal (50 uzoraka po patogenu).

Ukupno je 495 rezultata uključeno u skup podataka dobivenih testiranjem s pomoću referentnog testa (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR za BD MAX™*) i Vivalytic Bordetella, što je dovelo do rezultata učinkovitosti prikazanih u [tablici 6](#).

Tehnička podrška

Ako vam je potrebna podrška ili tehnička pomoć ili imate dodatnih pitanja, obratite se lokalnom distributeru ili posjetite web-mjesto Bosch Vivalytic, www.bosch-vivalytic.com.

Literatura

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 proizvod

 ₀₁₂₃ Oznaka CE uključujući identifikacijski broj prijavljenog tijela



Pipetirajte naznačeni volumen uzorka u jažicu za uzorak patrone kako je označeno crnim trokutom.

Uvod

Bordetella pertussis je majhen, gram negativen, nepremičen, enkapsuliran, aerobni patogen, ki proizvaja različne toksine in dejavnike virulence. Med proizvedene toksine vključujemo pertussis (PT), filamentni hemaglutinin (FHA), trahealni citotoksin, pertaktin, toplotno labilni toksin in hemolizin adenilat ciklaze. *Bordetella* se razmnožuje na ciliatnem epiteliju sluznice dihal in povzroča lokalno uničenje sluznice. Nekateri toksini slabijo tudi imunski sistem in povzročajo poškodbe tkiv. [1, 2]

B. pertussis je glavni patogen, ki povzroča oslovski kašelj. Tudi okužbe z *B. parapertussis* ali *B. holmesii* lahko povzročijo klinično sliko, podobno oslovskemu kašlju, vendar je potek običajno blažji in krajši kot pri bolezni, ki jo povzroča *B. pertussis*.

Oslovski kašelj je zelo nalezljiv in se prenaša z dihalnimi kapljicami, ki nastanejo pri kašljanju, kihanju in celo govorjenju.

Kašelj lahko traja od nekaj tednov do nekaj mesecev. Tipična začetna okužba pri necepljenih osebah poteka v treh stopnjah:

- Kataralna faza (trajanje 1–2 tedna; interval 5–21 dni): Za to fazo so značilni prehladu podobni simptomi, kot sta prehlad in blag kašelj, vendar običajno ni vročine ali je ta le zmerna.
- Paroksizmalna faza (trajanje 4–6 tednov): V tej fazi se pojavijo klasični simptomi kašlja (staccato kašelj), ki mu sledi težko dihanje. Napade kašlja pogosto spremlja regurgitacija viskozne sluzi, ki ji sledi bruhanje.
- Konvalescentna faza (trajanje 6–10 tednov): Kašelj počasi pojenja.

Ker se oslovski kašelj pogosto ne kaže s klasičnimi simptomi, zlasti pri odraslih, pa tudi pri starejših otrocih in mladostnikih, so za diagnostiko ključne laboratorijske diagnostične metode. Pri bolnikih s kašljem (ne glede na trajanje) je treba opraviti laboratorijsko diagnostiko na oslovski kašelj, če je bil bolnik v stiku s potrjenim primerom oslovskega kašlja ali če so prisotni klasični simptomi, kot so napadi kašlja, inspiratorni stridor ali bruhanje po napadih kašlja; ali v primeru daljšega vztrajnega kašlja (> 14 dni), in celo če ti simptomi niso prisotni. Bolniki, ki so prejeli cepivo proti oslovskemu kašlju, niso izključeni. Tudi če se pojavijo klasični simptomi, je treba za potrditev opraviti laboratorijsko diagnostiko. Priporočena laboratorijska diagnostična metoda je odvisna od stopnje bolezni. V prvih 2 do 3 tednih po začetku kašlja je zelo priporočljivo uporabiti kulturo ali tehniko pomnoževanja nukleinskih kislin (NAT), običajno PCR, za odkrivanje teh patogenov iz globokih nazofaringealnih brisov, nazofaringealnih izločkov ali materiala, pridobljenega s sesanjem. [1, 2]

Vsebina embalaže

15 testnih kartuš Vivalytic Bordetella za kvalitativno odkrivanje specifičnih genskih zaporedij *B. pertussis*, *B. parapertussis* in *B. holmesii* v prenosnem mediju eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Test Vivalytic Bordetella je konfiguriran za uporabo z analizatorjem Vivalytic one.

Predvidena uporaba

Test Vivalytic Bordetella je avtomatiziran, kakovostni, *in vitro* diagnostični test, ki temelji na verižni reakciji s polimerazo (PCR) v realnem času. Namenjen je odkrivanje nukleinskih kislin *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* in *Bordetella holmesii* v človeških brisih nosu in žrela za pomoč pri diagnozi pertussis, parapertussis ali pertussis podobne okužbe 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 z *Bordetella* ali druge okužbe dihal. 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.
- 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 F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilne konice za pipeto s filtrom, 100–1000 µl
- Kompleti za odvzem brisa:
Fleksibilna palčka z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prenosni medij:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ustrezna zaščitna oblačila

Princip testa

Vivalytic Bordetella 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 vlažni 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 odkrivanju nukleinskih kislin *B. pertussis* (ciljno zaporedje genov IS481), *B. parapertussis* (ciljno zaporedje genov pIS1001) in *B. holmesii* (ciljni zaporedji genov IS481, hIS1001) iz vzorcev brisov iz nosu in žrela (fleksibilna palčka z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 553C) v prenosnem mediju eNAT® (prenosni medij eNAT® ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Vzorke zbirajte in shranjujte v skladu s proizvajalčevimi navodili za uporabo [3].

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® [3]).

Priprava vzorcev

Uporabite fleksibilno palčko COPAN FLOQSwabs® za odvzem nazofaringealnih vzorcev bolnikov. Vsak bris prenesite v 1 ml prenosnega medija eNAT®. Palčko odломite in epruveto zaprite. Epruveto z vzorcem brisa v mediju eNAT® pretresite zaradi homogenizacije (izognite se penjenju). 300 µl homogeniziranega vzorca dodajte v vhodno mesto za vzorce in zaprite pokrov kartuše. Kartušo vstavite v analizator Vivalytic one.

Ne uporabljajte viskoznih vzorcev, ki jih je težko pipetirati.

Rezultati testa

Po samodejni obdelavi vzorca z analizatorjem Vivalytic one se rezultat testa prikaže na zaslону analizatorja Vivalytic one. Čas do pridobitve rezultata je približno 50 minut. Rezultati vzorcev z visokim titrom so na voljo v manj kot 33 minutah, testni postopek pa je mogoče zaključiti prej (glejte razdelek »Dokončanje testa«).

Vzorec se razvrsti kot *B. pertussis* pozitiven, *B. parapertussis* pozitiven, *B. holmesii* pozitiven, negativen ali neveljaven ali kot kombinacija prej omenjenih. V primeru pozitivnega odkritja ene od ciljnih bakterij ali več velja, da je test veljaven, tudi če je kontrola Human Control negativna.

Odkrivanje človeške celice na podlagi kontrole celotnega procesa (Human Control) v negativnih vzorcih prikazuje uspešno čiščenje DNK in postopek pomnoževanja ter izključuje zaviranje reakcije PCR. Interpretacija rezultatov je navedena v spodnji preglednici.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Rezultat
+	-	-	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. pertussis</i> in <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. parapertussis</i> in <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Vzorec velja kot pozitiven za <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Vzorec velja kot negativen (!). ³
-	-	-	+	Vzorec velja kot negativen.
-	-	-	-	Neveljavno. ⁴

¹V primeru pozitivnega signala za *B. holmesii* ni mogoče izključiti mešanega vzorca z *B. pertussis*, saj imata obe vrsti enaka zaporedja v amplificirani regiji IS481.

²Pozitiven za *B. parapertussis* (!)

Vzorci, ki so blizu LoD, morda ne kažejo pozitivnega signala za vse definirane tarče in so zato razvrščeni kot negativni za *B. pertussis* in *B. holmesii*. To ne izključuje okužbe s temi patogeni. Priporočeno je, da se test ponovi.

³Negativen (!)

Vzorci, ki so blizu LoD, morda ne kažejo pozitivnega signala za vse definirane tarče in so zato razvrščeni kot negativni za *B. pertussis*, *B. parapertussis* in *B. holmesii*. To ne izključuje okužbe s temi patogeni. Rezultata se ne sme uporabiti. Priporočeno je, da se test ponovi.

⁴Priporočeno je ponovno testiranje.

⁵Insercijski elementi IS481 in pIS1001 so lahko prisotni tudi pri *B. bronchiseptica*.

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 neprepričljive 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. 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.

Končanje testa (zgodnji zaključek)

Kakor hitro je na zaslonu prikazan veljaven pozitiven rezultat za *B. parapertussis* ali *B. holmesii*, ima uporabnik možnost, da test konča. Test zaključite le v primeru, ko ni treba analizirati drugih ciljnih bakterij. Nedokončani rezultati ne bodo prikazani.

Poročilo o testu

V natisnjem poročilu o testu so patogen, rezultati, kontrola in podatki o uporabniku, bolnikovem vzorcu 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. Integrirana kontrola (Human Control) krije postopke zbiranja vzorcev, čiščenja nukleinske kisline, okrepitev in zaznavanje.

Če je za nadzor kakovosti potrebna referenčna preskusna metoda, se lahko uporabijo naslednji referenčni materiali:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Upoštevajte proizvajalčeva navodila. Referenčni material obnovite v gojišču Copan eNAT®.

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 s 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. Povzetek varnosti in učinkovitosti (SSP) bo na voljo v evropski zbirki podatkov o medicinskih pripomočkih (Eudamed), kjer je povezan z osnovnim UDI-DI. Če bo zadevni modul v sistemu Eudamed v celoti deloval, bo SSP na voljo na javnem spletnem mestu (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Omejitve

Rezultate testa Vivalytic Bordetella smejo interpretirati le usposobljeni zdravstveni delavci. Rezultatov testa Vivalytic Bordetella se ne sme uporabljati kot edini parameter 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 značilnosti se rezultatov ne sme uporabiti za diagnostično vrednotenje. Priporočeno je, da se test ponovi.
- Pozitiven rezultat ne pomeni nujno, da so navzoči živi povzročitelji bolezni.
- Vivalytic Bordetella je kvalitativen test PCR v realnem času in ne zagotavlja kvantitativnega rezultata.
- Pozitivna IS481 in HIS1001 sta lahko posledica prisotnosti *B. holmesii* ali prisotnosti *B. pertussis* in *B. holmesii* v vzorcu.
- Pozitiven IS481 se lahko šteje za verjetno pozitivnega na *B. pertussis*, čeprav lahko tudi *B. bronchiseptica* povzroči pozitiven signal IS481. Po potrebi je treba opraviti dodatne preiskave za razlikovanje med *B. bronchiseptica* in *B. pertussis*.

Ovrednotenje analitske učinkovitosti

Analitska občutljivost (meja zaznavanja)

Meja zaznavanja testa (LoD) Vivalytic Bordetella 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, [tabela 1](#)).

Vključenost

Za oceno vključenosti je bila izvedena analiza *in silico* (poravnava BLAST) genomskega zaporedja različnih ustreznih sevov *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* in *Bordetella holmesii* z zaporedjem primerjev PCR in hidrolizne sonde, ki se uporabljajo v testu Vivalytic Bordetella za pomnoževanje in odkrivanje zadevnih patogenov. Vključenost je bilo mogoče pokazati za organizme, navedene v [tabeli 2](#).

Izključenost/analitska specifičnost

Za izključitev navzkrižne reaktivnosti (ekskluzivnosti) je bila izvedena analiza *in silico* (poravnava BLAST) ciljnega območja *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* in *Bordetella holmesii* z genomskim zaporedjem različnih drugih patogenov, ki predstavljajo skupne respiratorne patogene ali tesno povezane vrste. Pri sistemu za odkrivanje bakterije *Bordetella pertussis* je bilo za seve *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 mogoče zaznati ujemanje zaporedja v območju sonde in primerja, kar kaže na možno pomnoževanje. Pri sistemu za odkrivanje bakterije *Bordetella parapertussis* je bilo za seve *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 mogoče zaznati ujemanje zaporedij v območju sonde in primerja, kar kaže na možno pomnoževanje. Pri sistemu za odkrivanje *Bordetella holmesii* ni bilo dokazov o motnjah ([tabela 3](#)).

Reproduktivnost

Reproduktivnost testa Vivalytic Bordetella je bila vzpostavljena s pomočjo panela s tremi različnimi koncentracijami *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* in *Bordetella holmesii*. Na treh testnih mestih je vsako mešanico na istem kompletu instrumentov Vivalytic testiral isti izvajalec v treh serijah in štirih ponovitvah v treh dneh. Dobljene stopnje pozitivnosti za različne kombinacije so bile povezane s pričakovano stopnjo pozitivnosti ([tabela 4a](#)).

Ponovljivost

Ponovljivost testa Vivalytic Bordetella je bila vzpostavljena s pomočjo panela z eno koncentracijo ($3 \times c95$) za *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* in *Bordetella holmesii*. Na 1 testnem mestu je vsako mešanico na istem kompletu instrumentov Vivalytic testiral isti izvajalec s 3 serijami v 20 ponovitvah, 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 [tabela 5](#) za snovi, ki lahko povzročijo interferenco testa. Motnje niso bile zaznane.

Ovrednotenje klinične učinkovitosti

Rezultati občutljivosti in specifičnosti, pridobljeni na podlagi izvornih vzorcev brisov iz nosu in žrela. Vzorci so bili zbrani v kliničnem okolju in primerjani s tistimi iz referenčnih metod.

561 vzorcev nazofaringealnih brisov v eNAT je bilo testiranih na enem mestu študije z uporabo presejalnega pristopa s potencialno klinično pozitivnimi vzorci. 8 kliničnih vzorcev je bilo pozitivnih na enega od treh patogenov (vsi *Bordetella parapertussis*), kar pomeni, da je bila stopnja pozitivnih vzorcev 1,9 % (8/411). Poleg tega je bilo 150 negativno predoznačenih vzorcev prepojenih z ustreznim referenčnim materialom (50 vzorcev na patogen).

V nabor podatkov, pridobljenih s testiranjem z referenčnim testom (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR za BD MAX™) in testom Vivalytic Bordetella, je bilo skupaj vključenih 495 rezultatov, kar je privedlo do rezultatov učinkovitosti, prikazanih v [tabeli 6](#).

Tehnična podpora

Če potrebujete podporo, tehnično pomoč ali imate dodatna vprašanja, se obrnite na lokalnega distributerja ali obiščite spletno mesto družbe Bosch Vivalytic, ki je na voljo na naslovu www.bosch-vivalytic.com.

Reference

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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, vključno z identifikacijsko številko priglašene organa



Indicirano količino vzorca pipetirajte v odprtino v kartuši, kot to označuje črn trikotnik.

Въведение

Bordetella pertussis е малък грам-отрицателен неподвижен, капсулиран аеробен патоген, който произвежда различни токсини и фактори вирулентност, включително коклюшен токсин (PT), нишковиден хемаглутинин (FHA), трахеален цитотоксин, пертактин, термолабилен токсин и аденилат циклазен хемолизин. *Bordetella* се размножава върху ресничестия епител на респираторната лигавица, причинявайки локална деструкция на лигавицата. Някои от токсините увреждат също и имунната система и водят до увреждане на тъканите. [1, 2]

B. pertussis е основният патоген, причиняващ коклюш. Инфекциите с *B. parapertussis* или *B. holmesii* могат да са причина за клинична картина, подобна на коклюш, но ходът на заболяването обикновено е по-лек и по-кратък от този на заболяване, причинено от *B. pertussis*.

Коклюшът е силно заразен и се предава по въздушно-капков път чрез капчиците, отделяни при кашлица, кихане и дори при говорене.

Коклюшът може да продължи няколко седмици до месеци. Типичната първоначална инфекция при неваксинирани лица протича в три стадия:

- Катарална фаза (продължителност 1-2 седмици; интервал 5-21 дни): Този етап се характеризира с грипоподобни симптоми, като настинка и лека кашлица, но обикновено без или само с умерена температура.
- Пароксизмална фаза (продължителност 4-6 седмици): По време на този стадий има класически симптоми на пристъпи на кашлица (стакато кашлица), последвани от болка вдишване. Пристъпите на кашлица често са придружени от регургитация на вискозна слюз, последвана от повръщане.
- Конвалесцентна фаза (продължителност 6-10 седмици): Пристъпите на кашлица постепенно отшумяват.

Тъй като коклюшът често не се проявява с класическите симптоми, особено при възрастни, но и при по-големи деца и юноши, лабораторните диагностични методи са от решаващо значение за диагностиката. При пациенти с кашлица (независимо от нейната продължителност) трябва да се направят лабораторни диагностични изследвания за коклюш, ако е имало контакт с потвърден случай на коклюш или са налице класически симптоми, като пристъпи на кашлица, инспираторен стридор или повръщане след кашлица; както и в случай на по-продължителна упорита кашлица (с продължителност > 14 дни), дори и те да липсват. Не са изключени пациенти, които са ваксинирани срещу коклюш. Дори при поява на класически симптоми трябва да се извършат лабораторни диагностични изследвания за потвърждение. Препоръчваният лабораторен диагностичен метод зависи от стадия на заболяването. През първите 2 до 3 седмици след появата на кашлица настоятелно се препоръчва да се използва посявка или техника с амплификация на нуклеинова киселина (NAT), обикновено PCR, за откриване на тези патогени от дълбоки назофарингеални натривки, назофарингеални секрети или материал, получен чрез изсмукване. [1, 2]

Съдържание на опаковката

15 касети с тест Vivalytic Bordetella за качествено откриване на *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. holmesii* специфични генни секвенции в транспортна среда eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Тестът Vivalytic Bordetella е конфигуриран за употреба с един анализатор Vivalytic one.

Предназначение

Тестът Vivalytic Bordetella е автоматизиран качествен *in vitro* диагностичен тест, базиран на полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време за откриване на нуклеинови киселини от *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и *Bordetella holmesii* от човешки назофарингеални натривки в помощ при диагностицирането на коклюш, паракоклюш или подобни на коклюш инфекции при 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 *Bordetella*

или друга инфекция на дихателните пътища. 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.
- 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 F09G300115)
- Пипетор (100–1000 µl)
- Стерилни върхове за пипети с филтър 100–1000 µl
- Комплекти за вземане на натривки:
Гъвкав флокиран тампон FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Транспортна среда:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Подходящо защитно облекло

Принцип на теста

Vivalytic Bordetella е качествен тест на основата на PCR в реално време.

Условия за съхранение и употреба

Продуктът е стабилен до срока на годност, ако се съхранява при температура от + 15 °С до + 25 °С. 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 °С до + 25 °С, 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 елуиращ 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. Елуиращият 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 откриване на нуклеинови киселини на *B. pertussis* (целева гена секвенция IS481), *B. parapertussis* (целева гена секвенция rIS1001) и *B. holmesii* (целеви гени секвенции IS481, hIS1001) в проби от назофарингеални натривки (гъвкав флокиран тампон FLOQSwabs® 553C) в транспортна среда eNAT® (транспортна среда eNAT® реф. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Вземайте и съхранявайте пробите, както е посочено в инструкциите на производителя [3].

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 °С до -80 °С (вижте инструкции за употреба на транспортна среда eNAT® [3]).

Подготовка на пробата

Използвайте гъвкав тампон COPAN FLOQSwabs® за взимане на проби от назофарингеални натривки. Всеки тампон се прехвърля в 1 ml транспортна среда eNAT®. Счупете тампона и затворете епруветката. Разклатете епруветката с проба, съдържаща тампона с пробата, в среда eNAT® за хомогенизиране (избягвайте образуването на пяна). Напълнете 300 µl от хомогенизираната проба във входа за проби на касетата и затворете капака на касетата. Поставете касетата в анализатора Vivalytic one.

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 33 минути и тестовият цикъл може да бъде прекратен по-рано (вижте глава „Прекратяване на теста“).

Пробата се класифицира като положителна за *B. pertussis*, положителна за *B. parapertussis*, положителна за *B. holmesii*, отрицателна или невалидна или като комбинация от горните. В случай на положително откриване на една или повече цели тестът се счита за валиден, дори ако Human Control е отрицателна.

Откриването на контрола на целия процес на базата на човешки клетки (Human Control) при отрицателни проби показва успешна процедура на пречистване и амплификация на ДНК и изключва инхибиране на PCR реакцията. Интерпретирането на резултатите е показано в таблицата по-долу.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Резултат
+	-	-	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. pertussis</i> и <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. parapertussis</i> и <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Пробата се счита за положителна за <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Пробата се счита за отрицателна (!). ³
-	-	-	+	Пробата се счита за отрицателна.
-	-	-	-	Невалидна. ⁴

¹В случай на положителен сигнал за *B. holmesii* смесена проба с *B. pertussis* не може да бъде изключена, тъй като двата вида споделят идентични секвенции в амплифицираната област на IS481.

²Положителни за *B. parapertussis* (!)

Проби с резултат, близък до LoD, може да не покажат положителен сигнал за всички дефинирани таргети и поради това се класифицират като отрицателни за *B. pertussis* и *B. holmesii*. Това не изключва инфекция с тези патогени. Препоръчва се повторно тестване.

³Отрицателен (!)

Проби с резултат, близък до LoD, може да не покажат положителен сигнал за всички дефинирани таргети и поради това се класифицират като отрицателни за *B. pertussis*, *B. parapertussis* и *B. holmesii*. Това не изключва инфекция с тези патогени. Резултатът не трябва да се използва. Препоръчва се повторно тестване.

⁴Препоръчва се повторно тестване.

⁵Инсерционните елементи IS481 и pIS1001 могат също да присъстват и в *B. bronchiseptica*.

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. 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 теста (ранно завършване)

Веднага след като се определи валидността на теста и на екрана се покаже положителен резултат за *B. parapertussis* или *B. holmesii*, потребителят има възможност да завърши теста. Завършете теста само ако не се изисква анализ на по-нататъшни цели. Изчакващи резултати няма да бъдат изведени.

Доклад от теста

В отпечатания протокол от теста са изброени патогените, резултатите, контрола и информацията за потребител, проба на пациента 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. Вграденият контрол (Human Control) обхваща процесите на взимане на проба, пречистване, амплификация и откриване на нуклеинова киселина.

В случай че е необходим референтен метод за тестване за контрол на качеството, могат да се използват следните референтни материали: AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Моля, следвайте инструкциите на производителя. Реконституирайте референтния материал в среда Copan eNAT®.

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. Резюме то за безопасност и ефективност (SSP) ще бъде достъпно в Европейската база данни на медицинските изделия (Eudamed), където е свързано с основния UDI-DI. Ако съответният модул в Eudamed бъде напълно функционален, SSP ще бъде достъпен на публичния уебсайт (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Ограничения

Резултатите от теста Vivalytic Bordetella трябва да се интерпретират само от обучен медицински специалист. Резултатите от теста Vivalytic Bordetella не трябва да се използват като единствен параметър за диагностика.

- 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_d). В случай на атипични характеристики резултатите не могат да се използват за диагностична интерпретация. Препоръчва се повторно тестване.
- Положителният резултат не означава непременно наличието на жизнеспособни патогени.
- Vivalytic Bordetella е качествен PCR тест в реално време и не предоставя количествен резултат.
- Положителните IS481 и hIS1001 могат да бъдат причинени от наличието на *B. holmesii* или *B. pertussis* и *B. holmesii* в пробата.
- Положителна IS481 може да се счита като вероятно положителен за *B. pertussis*, макар че *B. bronchiseptica* също може да води до сигнал за положителна IS481. Ако е необходимо трябва да се направи допълнително тестване, за да се диференцират *B. bronchiseptica* и *B. pertussis*.

Оценка на аналитичното представяне

Чувствителност на анализа (граница на откриване)

Границата на откриване (LoD) на теста Vivalytic Bordetella 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, [Таблица 1](#)).

Инклузивност

За да се оцени инклузивността, е проведен *in silico* анализ (BLAST подравняване) на геномната последователност на различни свързани щамове *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и *Bordetella holmesii* спрямо последователността от PCR праймерите и сондата за хидролиза, използвани в теста Vivalytic Bordetella за амплификация и откриване на съответните патогени. Инклузивността може да бъде показана за организми, 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и *Bordetella holmesii* спрямо геномната последователност на различни други патогени, представляващи често срещани респираторни патогени или тясно свързани видове. При системата за откриване на *Bordetella pertussis* съвпаденията в областта на сондата и праймера могат да бъдат открити за щамове на *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, което води до заключение за възможна амплификация. При системата за откриване на *Bordetella parapertussis* съвпаденията на секвенциите в областта на сондата и праймера могат да бъдат открити за щамове на *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, което води до заключение за възможна амплификация. Няма данни за интерференция за системата за откриване на *Bordetella holmesii* ([Таблица 3](#)).

Възпроизводимост

Възпроизводимостта на теста Vivalytic Bordetella е установена посредством панел с 3 различни концентрации на *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и *Bordetella holmesii*. В 3 тестови центъра всяка смес е тествана на един и същ набор от инструменти Vivalytic от един и същ оператор с 3 LOT съответно в 4 повторения за 3 дни. Получените нива на положителност за различните комбинации са корелирани с очаквания процент на положителност ([Таблица 4а](#)).

Повторяемост

Повторяемостта на теста Vivalytic Bordetella е установена с помощта на панел с 1 концентрация ($3 \times c95$) на *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* и *Bordetella holmesii*. 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 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 4б](#)).

Смущения

Смущенията са оценени за ендогенни и екзогенни вещества, които потенциално присъстват в пробата от пациента. Направете справка с [Таблица 5](#) за вещества, които имат потенциал да предизвикат смущения в теста. Не са открити интерференции.

Оценка на клиничното представяне

Резултати за чувствителност и специфичност, получени от проби от нативни назофарингеални натривки. Пробите бяха събрани в клинична среда и сравнени с резултатите от референтните методи.

561 проби от назофарингеални натривки в eNAT са тествани в един център по проубране с помощта на скринингов подход с потенциално положителни клинични проби. За 8 клинични проби е установено, че са положителни за един от трите патогена (всички *Bordetella parapertussis*), водещи до честота на положителния резултат в рамките на набора от проби 1,9% (8/411). Освен това 150 предварително характеризирани като отрицателни проби са обогатени със съответен референтен материал (по 50 проби на патоген).

Общо 495 резултата са включени в набора от данни, получен от тестване с референтен тест (Bordetella Speciation Plus Toxin - OSR за BD MAX™) и Vivalytic Bordetella, при което са получени резултати за ефективност, посочени в [Таблица 6](#).

Техническа поддръжка

Ако се нуждаете от каквато и да било подкрепа или техническа помощ или ако имате допълнителни въпроси, моля, свържете се с Вашия местен дистрибутор или посетете уебсайта на Bosch Vivalytic на www.bosch-vivalytic.com.

Референции

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 <i>in vitro</i> диагностика |
|  CE 0123
СЕ маркировка, включително идентификационен номер на нотифицирания орган | |
|  Отпипетирайте посочения обем от пробата във входа за проба на касетата, както е отбелязано с черния триъгълник. | |

Εισαγωγή

Η *Bordetella pertussis* είναι ένα μικρό, αρνητικό κατά Gram, ακίνητο, αερόβιο παθογόνο που περιβάλλεται από κάψα, το οποίο παράγει μια σειρά τοξινών και μολυσματικών παραγόντων, συμπεριλαμβανομένης της κοκκυτικής τοξίνης (PT), της νηματοειδούς αιμοσυγκολλητίνης (FHA), της τραχειακής κυτταροτοξίνης, της θερμοευαίσθητης τοξίνης και της αιμολυσίνης αδενυλικής κυκλάσης. Η *Bordetella* πολλαπλασιάζεται στο κροσσώτο επιθήλιο του αναπνευστικού βλεννογόνου, προκαλώντας τοπική καταστροφή του βλεννογόνου. Ορισμένες από τις τοξίνες βλάπτουν επίσης το ανοσοποιητικό σύστημα και προκαλούν βλάβες στους ιστούς. [1, 2]

Η *B. pertussis* είναι το κύριο παθογόνο που προκαλεί κοκκύτη. Οι λοιμώξεις από *B. parapertussis* ή *B. holmesii* μπορούν επίσης να οδηγήσουν σε κλινική εικόνα παρόμοια με εκείνη του κοκκύτη, αλλά η πορεία είναι συνήθως ηπιότερη και συντομότερη από εκείνη της νόσου που προκαλείται από *B. pertussis*.

Ο κοκκύτης είναι εξαιρετικά μεταδοτικός και μεταδίδεται μέσω αναπνευστικών σταγονιδίων που δημιουργούνται από το βήχα, το φτέρνισμα, ακόμη και από την ομιλία.

Ο κοκκύτης μπορεί να διαρκέσει αρκετές εβδομάδες έως και μήνες. Η συνήθης αρχική λοίμωξη σε ανεμβολίαστα άτομα εξελίσσεται σε τρία στάδια:

- Καταρροϊκή φάση (διάρκεια 1-2 εβδομάδες, διάστημα 5-21 μέρες): Αυτό το στάδιο χαρακτηρίζεται από συμπτώματα που μοιάζουν με κρουσολόγημα, όπως συνάχι και ήπιος βήχας, αλλά συνήθως χωρίς ή με ήπιο πυρετό.
- Παροξυσμική φάση (διάρκεια 4-6 εβδομάδες): Σε αυτό το στάδιο υπάρχουν τα κλασικά συμπτώματα των εξάρσεων βήχα (στακάτο), που ακολουθούνται από εισπνευστικό σιγμό. Οι κρίσεις βήχα συχνά συνοδεύονται από παλινδρόμηση παχύρρευστης βλέννας που ακολουθείται από εμετό.
- Φάση αποδρομής (διάρκεια 6-10 εβδομάδες): Οι κρίσεις βήχα σταδιακά υποχωρούν.

Καθώς ο κοκκύτης συχνά δεν εμφανίζεται με τα κλασικά συμπτώματα, ιδιαίτερα στους ενήλικες, αλλά και σε μεγαλύτερα παιδιά και εφήβους, οι εργαστηριακές διαγνωστικές μέθοδοι είναι ζωτικής σημασίας για τη διάγνωση. Σε ασθενείς με βήχα (ανεξάρτητα από τη διάρκειά του), η εργαστηριακή διάγνωση για κοκκύτη θα πρέπει να πραγματοποιείται εάν έχει υπάρξει επαφή με επιβεβαιωμένο κρούσμα κοκκύτη ή εάν υπάρχουν τα κλασικά συμπτώματα, όπως κρίσεις βήχα, εισπνευστικός συριγμός ή εμετός μετά τις κρίσεις βήχα ή σε περίπτωση επίμονου βήχα μεγαλύτερης διάρκειας (διάρκειας >14 ημερών), ακόμη και εάν αυτά απουσιάζουν. Οι ασθενείς που έχουν κάνει εμβόλιο κατά του κοκκύτη δεν αποκλείονται. Ακόμη και αν εμφανιστούν τα κλασικά συμπτώματα, θα πρέπει να γίνεται εργαστηριακή διάγνωση για επιβεβαίωση. Η συνιστώμενη εργαστηριακή διαγνωστική μέθοδος εξαρτάται από το στάδιο της νόσου. Κατά τη διάρκεια των πρώτων 2 έως 3 εβδομάδων μετά την έναρξη του βήχα, συνιστάται ρητά η χρήση καλλιέργειας ή τεχνικής ενίσχυσης νουκλεϊκών οξέων (NAT), συνήθως PCR, για την ανίχνευση αυτών των παθογόνων από βαθιά ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα, ρινοφαρυγγικές εκκρίσεις ή υλικό που λαμβάνεται με αναρρόφηση. [1, 2]

Περιεχόμενα συσκευασίας

15 κασέτες εξέτασης Vivalytic Bordetella για την ποιοτική ανίχνευση των ειδικών γονιδιακών αλληλουχιών της *B. pertussis*, *B. parapertussis* και *B. holmesii* σε μέσο μεταφοράς eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Η εξέταση Vivalytic Bordetella έχει διαμορφωθεί για χρήση με αναλυτή Vivalytic one.

Προοριζόμενη χρήση

Η εξέταση Vivalytic Bordetella είναι μια αυτοματοποιημένη ποιοτική εξέταση για διάγνωση *in vitro* βάσει αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε πραγματικό χρόνο για την ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων από *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* και *Bordetella holmesii* από ανθρώπινα ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα για τη διευκόλυνση της διάγνωσης κοκκύτη, παρακοκκύτη ή λοιμώξεων που μοιάζουν με κοκκύτη σε άτομα με συμπτώματα.

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 τη λοίμωξη από *Bordetella* ή άλλη λοίμωξη του αναπνευστικού συστήματος. 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 κασέτων. Σε 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 διασφαλίσετε 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.
- 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 F09G300115)
- Συσκευή πιπέτας (100–1000 μl)
- Αποστειρωμένα ακροφύσια πιπέτας φίλτρου 100–1.000 μl
- Κιτ συλλογής επιχρίσματος με στειλεό: Εύκαμπτος στειλεός με τριχίδια FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Μέσο μεταφοράς: eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία

Αρχή της εξέτασης

Η εξέταση Vivalytic Bordetella 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 κεκαθαυμένα νουκλεϊκά οξέα στο τέλος της διαδικασίας εκχύλισης.

Τύπος δείγματος/Μέσο

Η εξέταση προορίζεται για την ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων των *B. pertussis* (αλληλουχία στοχευμένων γονιδίων IS481), *B. parapertussis* (αλληλουχία στοχευμένων γονιδίων rIS1001) και *B. holmesii* (αλληλουχία στοχευμένων γονιδίων IS481, hIS1001) σε ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα (εύκαμπτος στειλεός με τριχίδια FLOQSwabs® 553C) σε μέσο μεταφοράς eNAT® (μέσο μεταφοράς eNAT® με κωδικό είδους 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Συλλέγετε και φυλάσσετε τα δείγματα όπως υποδεικνύεται στις οδηγίες του κατασκευαστή [3].

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® [3]).

Προετοιμασία δείγματος

Χρησιμοποιήστε έναν εύκαμπτο στειλεό COPAN FLOQSwabs® για τη συλλογή των ρινοφαρυγγικών επιχρισμάτων. Κάθε στειλεός μεταφέρεται σε 1 ml μέσου μεταφοράς eNAT®. Λυγίστε τον στειλεό και κλείστε το σωληνάριο. Ανακινήστε το δοκιμαστικό σωληνάριο που περιέχει το επίχρισμα σε μέσο eNAT® για ομογενοποίηση (αποφύγετε τη δημιουργία αφρού). Προσθέστε 300 μl ομογενοποιημένου δείγματος στην υποδοχή δείγματος της κασέτας και κλείστε το καπάκι της κασέτας. Τοποθετήστε την κασέτα στον αναλυτή Vivalytic *one*.

Μη χρησιμοποιείτε παχύρρευστα δείγματα τα οποία είναι δύσκολα στην αναρρόφηση 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 33 λεπτά και η εξέταση μπορεί να τερματιστεί νωρίτερα (δείτε το κεφάλαιο Τερματισμός εξέτασης).

Το δείγμα κατηγοριοποιείται είτε ως θετικό για *B. pertussis* είτε ως θετικό για *B. parapertussis* είτε ως θετικό για *B. holmesii* είτε ως αρνητικό ή μη έγκυρο, είτε ως συνδυασμός των προαναφερθέντων. Σε περίπτωση θετικής ανίχνευσης ενός ή περισσότερων στόχων, 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 υποδεικνύει την επιτυχή διαδικασία καθαρισμού και ενίσχυσης του DNA και αποκλείει την αναστολή της αντίδρασης PCR. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Αποτέλεσμα
+	-	-	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. pertussis</i> και <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. parapertussis</i> και <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	Το δείγμα θεωρείται αρνητικό (!). ³
-	-	-	+	Το δείγμα θεωρείται αρνητικό.
-	-	-	-	Μη έγκυρο. ⁴

¹Σε περίπτωση θετικού σήματος για *B. holmesii*, δεν μπορεί να αποκλειστεί ένα μεικτό δείγμα με *B. pertussis*, καθώς τα δύο είδη μοιράζονται πανομοιότυπες αλληλουχίες εντός της ενισχυμένης περιοχής της IS481.

²Θετικό για *B. parapertussis* (!)

Τα δείγματα που βρίσκονται κοντά στο όριο ανίχνευσης ενδέχεται να μην εμφανίσουν θετικό σήμα για όλους τους οριζόμενους στόχους και, ως εκ τούτου, κατηγοριοποιούνται ως αρνητικά για *B. pertussis* και *B. holmesii*. Αυτό δεν αποκλείει λοίμωξη από αυτά τα παθογόνα. Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.

³Αρνητικό (!)

Τα δείγματα που βρίσκονται κοντά στο όριο ανίχνευσης ενδέχεται να μην εμφανίσουν θετικό σήμα για όλους τους οριζόμενους στόχους και, ως εκ τούτου, κατηγοριοποιούνται ως αρνητικά για *B. pertussis*, *B. parapertussis* και *B. holmesii*. Αυτό δεν αποκλείει λοίμωξη από αυτά τα παθογόνα. Το αποτέλεσμα δεν πρέπει να χρησιμοποιηθεί. Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.

⁴Συνιστάται επανάληψη της εξέτασης.

⁵Οι αλληλουχίες παρεμβολής IS481 και pIS1001 μπορούν επίσης να υπάρχουν στη *B. bronchiseptica*.

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. 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 (Πρόωρος τερματισμός)

Μόλις εμφανιστεί στην οθόνη ένα έγκυρο, θετικό αποτέλεσμα για *B. parapertussis* ή *B. holmesii*, ο χρήστης έχει την επιλογή να ολοκληρώσει την εξέταση. Η εξέταση πρέπει να τερματίζεται μόνο αν δεν χρειάζεται να αναλυθούν άλλοι στόχοι. Τα αποτελέσματα σε εκκρεμότητα δεν προβάλλονται.

Αναφορά εξέτασης

Στην εκτυπωμένη αναφορά εξέτασης, τα παθογόνα, τα αποτελέσματα, ο μάρτυρας και πληροφορίες για τον χρήστη, το δείγμα του ασθενούς 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. Ο ενσωματωμένος μάρτυρας (Human Control) καλύπτει τις διαδικασίες συλλογής δείγματος, καθαρισμού νουκλεϊκού οξέος, ενίσχυσης και ανίχνευσης.

Σε περίπτωση που απαιτείται μέθοδος εξέτασης αναφοράς για έλεγχο ποιότητας, μπορείτε να χρησιμοποιήσετε τα παρακάτω υλικά αναφοράς:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Ακολουθείτε τις οδηγίες του κατασκευαστή. Ανασυστήστε το υλικό αναφοράς σε μέσο Copan eNAT®.

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. Η περίληψη ασφάλειας και κλινικής απόδοσης (SSP) θα είναι διαθέσιμη στην ευρωπαϊκή βάση δεδομένων για τα ιατροτεχνολογικά προϊόντα (Eudamed), όπου συνδέεται με το βασικό UDI-DI. Εάν η αντίστοιχη ενότητα στο Eudamed είναι πλήρως λειτουργική, το SSP θα είναι διαθέσιμο στον δημόσιο ιστότοπο (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα της εξέτασης Valytic Bordetella πρέπει να ερμηνεύονται μόνο από εκπαιδευμένο επαγγελματία υγείας. Τα αποτελέσματα της εξέτασης Valytic Bordetella 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_q). Σε περίπτωση άτυπων χαρακτηριστικών, τα αποτελέσματα δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστική ερμηνεία. Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν σημαίνει απαραίτητα ότι υπάρχουν βιώσιμα παθογόνα.
- Το Valytic Bordetella είναι μια ποιοτική εξέταση βάσει PCR πραγματικού χρόνου και δεν παρέχει ποσοτικό αποτέλεσμα.
- Θετικό IS481 και HIS1001 μπορεί να οφείλεται είτε στην παρουσία *B. holmesii* είτε στην παρουσία *B. pertussis* και *B. holmesii* στο δείγμα.
- Θετικό IS481 μπορεί να θεωρηθεί ως πιθανό θετικό για *B. pertussis*, παρόλο που η *B. bronchiseptica* μπορεί επίσης να οδηγήσει σε θετικό σήμα IS481. Εάν χρειάζεται, θα πρέπει να διενεργηθούν πρόσθετες εξετάσεις για τη διαφοροποίηση της *B. bronchiseptica* και της *B. pertussis*.

Αξιολόγηση της αναλυτικής απόδοσης

Αναλυτική ευαισθησία (Όριο ανίχνευσης)

Ως όριο ανίχνευσης (LoD) της εξέτασης Valytic Bordetella 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, [Πίνακας 1](#)).

Συμπερίληψη

Για την αξιολόγηση της συμπερίληψης, πραγματοποιήθηκε ανάλυση *in silico* (ευθυγράμμιση BLAST) της αλληλουχίας του γονιδιώματος διαφόρων συναφών στελεχών *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* και *Bordetella holmesii* έναντι της αλληλουχίας των εκκινητών PCR και του ανιχνευτή υδρόλυσης που χρησιμοποιούνται στην εξέταση Valytic Bordetella για την ενίσχυση και την ανίχνευση των αντίστοιχων παθογόνων. Συμπερίληψη θα μπορούσε να καταδειχθεί για τους οργανισμούς που παρατίθενται στον [Πίνακα 2](#).

Αποκλεισμός/Αναλυτική ειδικότητα

Προκειμένου να αποκλειστεί η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα (αποκλεισμός), πραγματοποιήθηκε ανάλυση *in silico* (ευθυγράμμιση BLAST) της περιοχής στόχου της *Bordetella pertussis*, της *Bordetella parapertussis* και της *Bordetella holmesii* έναντι των αλληλουχιών γονιδιώματος διαφόρων άλλων κοινών παθογόνων του αναπνευστικού ή στενών συγγενικών ειδών. Για το σύστημα ανίχνευσης της *Bordetella pertussis*, οι αντιστοιχίες αλληλουχιών στην περιοχή ανιχνευτή και εκκινητών θα μπορούσαν να ανιχνευθούν για τα στελέχη της *Bordetella bronchiseptica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, καταλήγοντας σε πιθανή ενίσχυση. Για το σύστημα ανίχνευσης της *Bordetella parapertussis*, οι αντιστοιχίες αλληλουχιών στην περιοχή ανιχνευτή και εκκινητών θα μπορούσαν να ανιχνευθούν για τα στελέχη της *Bordetella bronchiseptica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, καταλήγοντας σε πιθανή ενίσχυση. Δεν υπήρξαν στοιχεία παρεμβολής για το σύστημα ανίχνευσης της *Bordetella holmesii* ([Πίνακας 3](#)).

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Valytic Bordetella διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* και *Bordetella holmesii*. Σε 3 περιοχές εξέτασης, κάθε μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Valytic από τον ίδιο χειριστή σε 3 παρτίδες σε 4 επαναληπτικά δείγματα σε 3 ημέρες, αντίστοιχα. Τα ποσοστά θετικότητας που προέκυψαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς συσχετίστηκαν με το αναμενόμενο ποσοστό θετικότητας ([Πίνακας 4α](#)).

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα της εξέτασης Vivalytic Bordetella διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 1 συγκέντρωση (3x c95) της *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* και *Bordetella holmesii*. Σε 1 περιοχή εξέτασης, το μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Vivalytic από τον ίδιο χειριστή με 3 παρτίδες σε 20 επαναληπτικά δείγματα, 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. Ανατρέξτε στον Πίνακα 5 για ουσίες που μπορεί δυνητικά να προκαλέσουν παρεμβολές στην εξέταση. Δεν ανιχνεύθηκαν παρεμβολές.

Αξιολόγηση της κλινικής απόδοσης

Αποτελέσματα ευαισθησίας και ειδικότητας που προκύπτουν από εγγενή ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε κλινικό περιβάλλον και υποβλήθηκαν σε σύγκριση με αποτελέσματα μεθόδων αναφοράς.

Εξετάστηκαν 561 ρινοφαρυγγικά επιχρίσματα σε μέσο eNAT σε μία περιοχή μελέτης χρησιμοποιώντας μια προσέγγιση διαλογής με δυνητικώς θετικά κλινικά δείγματα. 8 κλινικά δείγματα βρέθηκαν θετικά για ένα από τα τρία παθογόνα (όλα για τη *Bordetella parapertussis*), με αποτέλεσμα το ποσοστό θετικών δειγμάτων στο σύνολο των δειγμάτων να είναι 1,9% (8/411). Επιπλέον, 150 αρνητικώς προχαρακτηρισμένα δείγματα ενοφθαλμίστηκαν με αντίστοιχο υλικό αναφοράς (50 δείγματα ανά παθογόνο).

Συνολικά, συμπεριλήφθηκαν 495 αποτελέσματα στο σύνολο των δεδομένων που προέκυψαν από τη δοκιμή με εξέταση αναφοράς (*Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR for BD MAX™*) και Vivalytic Bordetella, οδηγώντας στα αποτελέσματα απόδοσης που παρουσιάζονται στον Πίνακα 6.















Τεχνική υποστήριξη

Εάν χρειάζεστε οποιαδήποτε υποστήριξη, τεχνική βοήθεια ή έχετε πρόσθετες ερωτήσεις, επικοινωνήστε με τον τοπικό σας διανομέα ή επισκεφτείτε τον ιστότοπο της Bosch Vivalytic στη διεύθυνση www.bosch-vivalytic.com.

Βιβλιογραφία

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 |  | in vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν |
|  | Σήμανση CE, συμπεριλαμβανομένου του αριθμού αναγνώρισης του κοινοποιημένου οργανισμού | | |
|  | Διανέμεται με πιπέτα τον υποδεικνυόμενο όγκο δείγματος στην υποδοχή δείγματος της κασέτας, όπως επισημαίνεται με το μαύρο τρίγωνο. | | |

Introducción

Bordetella pertussis es un patógeno gramnegativo aeróbico, inmóvil, encapsulado que produce varias toxinas y factores de virulencia, entre ellos la toxina pertussis (PT), la hemaglutinina filamentosa (FHA), la citotoxina traqueal, la pertactina, la toxina termolábil y la toxina adenilato ciclasa hemolisina. La *Bordetella* se multiplica en el epitelio ciliado de la mucosa respiratoria provocando la destrucción local de la mucosa. Algunas de las toxinas también pueden afectar al sistema inmunitario y provocar daños en los tejidos. [1, 2]

B. pertussis es el principal patógeno causante de tos ferina. Las infecciones por *B. parapertussis* o *B. holmesii* también pueden provocar un cuadro similar a la tos ferina, pero el transcurso suele ser más leve y breve que el de la enfermedad provocada por la *B. pertussis*.

La tos ferina es altamente contagiosa y se transmite a través de las secreciones respiratorias generadas al toser, estornudar o incluso hablar.

La bacteria *Pertussis* puede durar varias semanas e incluso meses. La infección inicial típica en personas no vacunadas se desarrolla en tres fases:

- Fase catarral (duración 1-2 semanas; intervalo 5-21 días): esta fase se caracteriza por síntomas parecidos a los de un resfriado, como frío y tos leve, pero normalmente sin fiebre o fiebre moderada.
- Fase paroxística (duración 4-6 semanas): en esta fase se manifiestan los síntomas clásicos de ataques de tos (tos entrecortada), seguidos de arrastre inspiratorio. Los ataques de tos suelen ir acompañados de regurgitación de moco viscoso seguido de vómito.
- Fase de convalecencia (duración 6-10 semanas): los ataques de tos van desapareciendo gradualmente.

Dado que la pertussis no suele manifestarse con los síntomas clásicos, especialmente en adultos, aunque tampoco en niños mayores o adolescentes, los métodos de diagnóstico en laboratorio resultan cruciales para el diagnóstico. En pacientes con tos (independientemente de su duración), debería realizarse un diagnóstico de laboratorio para pertussis si ha existido contacto con un caso de pertussis confirmado o cuando se manifiestan síntomas clásicos como ataques de tos, estridor inspiratorio o vómitos después de los ataques de tos; también en aquellos casos de tos persistente prolongada (> 14 días de duración), incluso sin síntomas. No deben excluirse los pacientes que hayan sido vacunados de pertussis. Incluso en presencia de síntomas clásicos debería realizarse un diagnóstico de laboratorio para confirmación. El método de diagnóstico de laboratorio recomendado depende de la fase de la enfermedad. Durante las primeras 2 a 3 semanas desde el inicio de la tos, lo más recomendable es utilizar una técnica de cultivo o de amplificación de ácidos nucleicos (NAT), normalmente PCR, para detectar estos patógenos a partir de hisopos nasofaríngeos profundos, secreciones nasofaríngeas o material obtenido mediante succión. [1, 2]

Contenido del paquete

15 cartuchos de prueba Vivalytic Bordetella para la detección cualitativa de secuencias de genes específicos de *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii* en medio de transporte eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

La prueba Vivalytic Bordetella está configurada para su uso en un analizador Vivalytic one.

Uso previsto

La prueba Vivalytic Bordetella 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* a partir de hisopos nasofaríngeos humanos para ayudar en el diagnóstico de infecciones de pertussis, parapertussis o similares a pertussis 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 *Bordetella* u otra infección del tracto respiratorio. Los resultados deben correlacionarse clínicamente con el historial del paciente, las observaciones clínicas y la información epi-

demiológica. 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 abertura 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.
- 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 F09G300115)
- Pipeteador (100-1000 µl)
- Puntas de pipeta con filtro estériles 100-1.000 µl
- Kits de recogida con hisopo:
 - hisopo flocado flexible FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Medio de transporte:
 - eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ropa protectora adecuada

Principio de la prueba

Vivalytic Bordetella 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

Esta prueba está indicada para la detección de ácidos nucleicos de *B. pertussis* (secuencia de diana genética IS481), *B. parapertussis* (secuencia de diana genética pIS1001) y *B. holmesii* (secuencias de dianas genéticas IS481, hIS1001) en muestras de hisopos nasofaríngeos (hisopo flocado flexible FLOQSwabs® 553C) en medio de transporte eNAT® (medio de transporte eNAT® n.º de catálogo 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Recoja y conserve las muestras tal y como se indica en las instrucciones del fabricante [3].

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® [3]).

Preparación de la muestra

Utilice un hisopo COPAN FLOQSwabs® flexible para la recogida de muestras de hisopo nasofaríngeas. Transfiera cada hisopo a 1 ml de medio de transporte eNAT®. Rompa el hisopo y cierre el tubo. Agite el tubo de muestra que contiene el hisopo de muestra en medio eNAT® para su homogenización (evite la formación de espuma). Introduzca 300 µl de muestra homogenizada en la entrada para muestra del cartucho y cierre la tapa del cartucho. Inserte el cartucho en el analizador Vivalytic one.

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 33 minutos, momento en que puede finalizarse la prueba (consulte el capítulo Finalización de la prueba).

La muestra se clasifica como *B. pertussis* positiva, *B. parapertussis* positiva, *B. holmesii* positiva, negativa o no válida, o como una combinación de las anteriores. En el caso de la detección positiva de una o más de las dianas, la prueba se considera válida incluso si el control Human Control es negativo.

La detección del control basado en células humanas para la totalidad del proceso (Human Control) en muestras negativas indica un procedimiento correcto de purificación y amplificación de ADN y descarta una inhibición de la reacción PCR. La interpretación de los resultados se indica en la tabla que figura a continuación.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultado
+	-	-	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. parapertussis</i> .
+	-	+	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. pertussis</i> y <i>B. parapertussis</i> .
+	+	+	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. parapertussis</i> y <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	La muestra se considera positiva para <i>B. parapertussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	La muestra se considera negativa (!). ³
-	-	-	+	La muestra se considera negativa.
-	-	-	-	No válida. ⁴

¹En el caso de una señal positiva para *B. holmesii*, no se puede excluir una muestra mixta con *B. pertussis*, ya que las dos especies comparten secuencias idénticas dentro de la región amplificada de IS481.

²*B. parapertussis* positiva (!)

Es posible que las muestras próximas al LoD no muestren una señal positiva para todas las dianas definidas, por lo que se clasifican como negativas para *B. pertussis* y *B. holmesii*. Esto no excluye una infección con estos patógenos. En estos casos, se recomienda repetir la prueba.

³Negativa (!)

Es posible que las muestras próximas al LoD no muestren una señal positiva para todas las dianas definidas, por lo que se clasifican como negativas para *B. pertussis*, *B. parapertussis* y *B. holmesii*. Esto no excluye una infección con estos patógenos. No debe utilizarse este resultado. En estos casos, se recomienda repetir la prueba.

⁴Se recomienda la repetición de la prueba.

⁵Los elementos de secuencias de inserción IS481 y pIS1001 también pueden estar presentes en *B. bronchiseptica*.

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 (△). 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. 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 (finalización temprana)

En cuanto se muestre en pantalla un resultado válido positivo para *B. parapertussis* o *B. holmesii*, el usuario tiene la opción de finalizar la prueba. Finalice la prueba si no necesita seguir analizando más dianas. Los resultados pendientes no se mostrarán.

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, la muestra del 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. El control integrado (Human Control) cubre los procesos de recogida de la muestra, purificación de ácidos nucleicos, amplificación y detección.

Si se requiere un método de prueba de referencia para el control de calidad, se pueden usar los materiales de referencia siguientes:

AMPLIRUN® BORDETELLA PERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC078, Vircell S.L. España).

AMPLIRUN® BORDETELLA PARAPERTUSSIS TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC077, Vircell S.L. España).

AMPLIRUN® BORDETELLA HOLMESII TOTAL CONTROL (NEUTRAL MATRIX) (MC168, Vircell S.L. España).

Siga las instrucciones del fabricante. Reconstituya el material de referencia en medio Copan eNAT®.

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. El resumen de seguridad y rendimiento (SSP) estará disponible en la base de datos europea de productos sanitarios (Eudamed), en la que se enlaza al UDI-DI básico. Si el módulo respectivo en Eudamed es totalmente funcional, el SSP estará disponible en el sitio web público (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limitaciones

Los resultados de la prueba Vivalytic Bordetella únicamente deben ser interpretados por un profesional de la salud capacitado. Los resultados de la prueba Vivalytic Bordetella 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. En estos casos, se recomienda repetir la prueba.
- Un resultado positivo no indica necesariamente que existan patógenos viables.
- Vivalytic Bordetella es una prueba cualitativa basada en la PCR a tiempo real y no proporciona un resultado cuantitativo.
- Un resultado positivo para IS481 y hIS1001 puede deberse a la presencia de *B. holmesii* o a la presencia de *B. pertussis* y *B. holmesii* en la muestra.
- Un resultado positivo para IS481 puede ser considerado como posible positivo para *B. pertussis*, aunque *B. bronchiseptica* también puede generar una señal IS481 positiva. Si es necesario, deben realizarse pruebas adicionales para diferenciar *B. bronchiseptica* y *B. pertussis*.

Evaluación del rendimiento analítico

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección (LoD) de la prueba Vivalytic Bordetella se determinó con la concentración más baja de analito que puede detectarse de manera constante (≥ 95 % de muestras analizadas en condiciones rutinarias de laboratorio con un tipo definido de muestra, [tabla 1](#)).

Inclusividad

Para evaluar la inclusividad, se realizó un análisis *in silico* (alineación BLAST) de la secuencia genómica de diferentes cepas relevantes de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* con relación a la secuencia de los cebadores de PCR y la sonda de hidrólisis utilizados en la prueba Vivalytic Bordetella para la amplificación y detección de los patógenos respectivos. Se determinó la inclusividad para los organismos incluidos 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii* con relación a la secuencia genómica de otros patógenos distintos representativos de patógenos respiratorios comunes o de especies estrechamente relacionadas. Para el sistema de detección de *Bordetella pertussis* se pudieron detectar secuencias coincidentes en el área de la sonda y los cebadores para las cepas NCTC 10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595 de *Bordetella bronchiseptica*, lo que sugiere una posible amplificación. Para el sistema de detección de *Bordetella parapertussis* se pudieron detectar secuencias coincidentes en el área de la sonda y los cebadores para las cepas KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823 de *Bordetella bronchiseptica*, lo que sugiere una posible amplificación. No hubo evidencia alguna de interferencias para el sistema de detección de *Bordetella holmesii* ([tabla 3](#)).

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba Vivalytic Bordetella se estableció con un panel de 3 concentraciones distintas de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii*. En los 3 centros de prueba, el mismo operador se encargó de analizar cada mezcla en el mismo conjunto de instrumentos Vivalytic utilizando 3 lotes en 4 réplicas durante 3 días, respectivamente. 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 Bordetella se estableció con un panel de 1 concentración ($3 \times c95$) de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* y *Bordetella holmesii*. 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, 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. No se detectaron interferencias.

Evaluación del rendimiento clínico

Los resultados de sensibilidad y especificidad se derivaron de muestras de hisopos nasofaríngeos. Las muestras se recogieron en un entorno clínico y se compararon con los resultados obtenidos de los métodos de referencia. Se analizaron 561 muestras de hisopos nasofaríngeos en eNAT en un centro de estudio utilizando un enfoque de cribado con muestras clínicas potencialmente positivas. 8 muestras clínicas resultaron positivas para uno de los tres patógenos (todas *Bordetella parapertussis*), lo que supone una tasa de positividad en el conjunto de muestras del 1,9 % (8/411). Además se añadieron 150 muestras caracterizadas previamente como negativas junto con el material de referencia correspondiente (50 muestras por patógeno).

En total se incluyeron 495 resultados en el conjunto de datos obtenidos del análisis con una prueba de referencia (Bordetella Speciation Plus Toxin - OSR for BD MAX™) y Vivalytic Bordetella, lo que conforma los resultados de rendimiento que se muestran en la [tabla 6](#).

Asistencia técnica

Si necesita ayuda, asistencia técnica o tiene alguna duda, póngase en contacto con su distribuidor local o visite la página web de Bosch Vivalytic www.bosch-vivalytic.com.

Referencias

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN Instructions for Use of 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 sanitario para diagnóstico *in vitro*

 **CE**₀₁₂₃ Marcado CE y número de identificación del organismo notificado



Pipetee el volumen de muestra indicado en la entrada para muestra del cartucho, como lo marca el triángulo negro.

Introdução

A bactéria *Bordetella pertussis* é um pequeno agente patogénico gram-negativo, imóvel, encapsulado e aeróbio que produz uma variedade de toxinas e fatores de virulência, incluindo a toxina pertussis (PT), a hemaglutinina filamentosa (FHA), a citotoxina traqueal, a pertactina, a toxina termolábil e a hemolisina-adenilato ciclase. A *Bordetella* multiplica-se no epitélio ciliado da mucosa respiratória, causando a destruição localizada da mucosa. Algumas das toxinas também afetam o sistema imunitário e causam danos nos tecidos. [1, 2]

A *B. pertussis* é o principal agente patogénico desencadeador da tosse convulsa. As infeções por *B. parapertussis* ou *B. holmesii* também podem desencadear um quadro clínico semelhante ao da tosse convulsa, no entanto, a evolução é tipicamente mais ligeira e mais curta do que a de uma doença causada por *B. pertussis*.

A tosse convulsa é altamente contagiosa e transmite-se através de gotículas respiratórias expelidas pela tosse, espirro e até pela fala.

A pertússis pode persistir por várias semanas ou meses. A típica infeção inicial em indivíduos não vacinados evolui em três fases:

- Fase catarral (duração de 1-2 semanas; intervalo de 5 a 21 dias): Esta fase é caracterizada por sintomas semelhantes aos de uma constipação, por exemplo, constipação e tosse ligeira, contudo, geralmente sem febre ou apenas com febre moderada.
- Fase paroxística (duração de 4 a 6 semanas): Nesta fase, verificam-se os sintomas clássicos de acessos de tosse (tosse paroxística), acompanhadas de estridor inspiratório. Os ataques de tosse são frequentemente acompanhados de regurgitação de muco viscoso, seguida de vômitos.
- Fase de convalescença (duração de 6 a 10 semanas): Os ataques de tosse diminuem gradualmente.

Tendo em conta que a pertússis não apresenta muitas vezes os sintomas clássicos, especialmente no caso de adultos, mas também em crianças mais velhas e adolescentes, os métodos de diagnóstico laboratorial são cruciais para o diagnóstico. Em pacientes com tosse (independentemente da sua duração), o diagnóstico laboratorial para a pertússis deve ser realizado se tiver havido contacto com um caso confirmado de pertússis ou na presença de sintomas clássicos como ataques de tosse, estridor inspiratório ou vômitos após os ataques de tosse; ou no caso de uma tosse persistente prolongada (>14 dias de duração), ainda que os sintomas estejam ausentes. Os pacientes que tenham sido vacinados contra a pertússis não estão excluídos. Mesmo na presença de sintomas clássicos, deve ser realizado um diagnóstico laboratorial para confirmação. O método de diagnóstico laboratorial recomendado depende da fase da doença. Durante as primeiras duas a três semanas após o início da tosse, é altamente recomendável utilizar uma cultura ou uma técnica de amplificação de ácidos nucleicos (NAT), normalmente PCR, para detetar estes agentes patogénicos a partir de exsudados nasofaríngeos profundos, secreções nasofaríngeas ou material obtido por aspiração. [1, 2]

Conteúdo da embalagem

15 Cartuchos de teste Vivalytic Bordetella para a deteção qualitativa de sequências genéticas específicas da *B. pertussis*, *B. parapertussis* e *B. holmesii* no meio de transporte eNAT® (eNAT® 608C, COPAN Italia s.p.a.).

O teste Vivalytic Bordetella está configurado para ser utilizado com um analisador Vivalytic one.

Utilização prevista

O teste Vivalytic Bordetella 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 *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* a partir de exsudados nasofaríngeos humanos para ajudar no diagnóstico de pertússis, parapertussis ou infeções semelhantes à pertússis em 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. Resulta-

dos negativos não excluem uma infecção por Bordetella ou outra infecção do trato respiratório. Os resultados devem ser clinicamente correlacionados com o histórico do paciente, observações clínicas e informação epidemiológica. São necessárias outras informações de diagnóstico para determinar o estado de infecção 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 detecção 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.
- 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 F09G300115)
- Pipetador (100 a 1000 µl)
- Pontas de pipeta de filtro esterilizadas 100 a 1000 µl
- Kits de colheita de exsudados:
Zaragatoa tufada flexível FLOQSwabs® 553C (COPAN Italia s.p.a.)
- Meio de transporte:
eNAT® 608C (COPAN Italia s.p.a.)
- Roupa de proteção adequada

Princípio de teste

O Vivalytic Bordetella é um teste qualitativo baseado na 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 destina-se a detetar ácidos nucleicos de *B. pertussis* (sequência genética alvo IS481), *B. parapertussis* (sequência genética alvo pIS1001) e *B. holmesii* (sequências genéticas alvo IS481, hIS1001) de amostras de exsudado nasofaríngeo (zaragatoa tufada flexível FLOQSwabs® 553C) em meio de transporte eNAT® (meio de transporte eNAT® Ref. 608C, COPAN Italia s.p.a.).

Efetue a colheita de amostras e armazene-as conforme indicado nas instruções do fabricante [3].

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® [3]).

Preparação da amostra

Utilize uma zaragatoa flexível COPAN FLOQSwabs® para a colheita de amostras de exsudado nasofaríngeo. Cada zaragatoa com exsudado é transferida para 1 ml de meio de transporte eNAT®. Quebre a zaragatoa e feche o tubo. Agite o tubo de amostra que contém a amostra de exsudado em meio eNAT® para homogeneização (evite a formação de espuma). Deite 300 µl de amostra homogeneizada na entrada de amostra do cartucho e feche a tampa do cartucho. Insira o cartucho no analisador Vivalytic one.

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 aproximadamente 50 min. Para amostras de título alto, os resultados ficam disponíveis em menos de 33 minutos e a execução do teste pode ser concluída mais cedo (consulte o capítulo Terminar o teste).

A amostra é classificada como positiva para *B. pertussis*, positiva para *B. parapertussis*, positiva para *B. holmesii*, negativa ou inválida ou como uma combinação das anteriores. No caso de uma deteção positiva de um ou mais alvos o teste é considerado válido mesmo que o Human Control seja negativo.

A deteção do controlo do processo inteiro baseado em células humanas (Human Control), em amostras negativas indica um procedimento de purificação e amplificação de ADN bem-sucedido e exclui uma inibição da reação PCR. A interpretação dos resultados é indicada na tabela a seguir.

IS481 ⁵	hIS1001	pIS1001 ⁵	Human Control	Resultado
+	-	-	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. pertussis</i> .
+	+	-	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. holmesii</i> . ¹
-	-	+	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. paraper-tussis</i> .
+	-	+	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. pertussis</i> e para <i>B. paraper-tussis</i> .
+	+	+	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. paraper-tussis</i> e para <i>B. holmesii</i> . ¹
-	+	+	+/-	A amostra é considerada positiva para <i>B. paraper-tussis</i> (!). ²
-	+	-	+/-	A amostra é considerada negativa (!). ³
-	-	-	+	A amostra é considerada negativa.
-	-	-	-	Inválido. ⁴

¹No caso de um sinal positivo para *B. holmesii*, não é possível excluir uma amostra mista com *B. pertussis*, uma vez que as duas espécies partilham sequências idênticas na região amplificada de IS481.

²*B. paraper-tussis* positiva (!)

As amostras próximas do limite de deteção (LoD) poderão não apresentar um sinal positivo para todos os alvos definidos e, por conseguinte, são classificadas como negativas para *B. pertussis* e *B. holmesii*. Isto não exclui uma infeção por estes agentes patogénicos. É recomendado repetir o teste.

³Negativa (!)

As amostras próximas do limite de deteção (LoD) poderão não apresentar um sinal positivo para todos os alvos definidos e, por conseguinte, são classificadas como negativas para *B. pertussis*, *B. paraper-tussis* e *B. holmesii*. Isto não exclui uma infeção por estes agentes patogénicos. O resultado não deve ser utilizado. É recomendado repetir o teste.

⁴Recomenda-se a repetição do teste.

⁵Os elementos de inserção IS481 e pIS1001 também podem estar presentes na *B. bronchiseptica*.

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. 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 (conclusão antecipada)

Assim que aparecer no ecrã um resultado positivo, válido para *B. paraper-tussis* ou *B. holmesii*, o utilizador tem a opção de terminar o teste. Apenas termine o teste se mais nenhum alvo necessitar de ser analisado. Resultados pendentes não serão apresentados.

Relatório de testes

No relatório de teste impresso estão indicados o agente patogénico, os resultados, controlos e informações sobre o utilizador, amostra do paciente amostra 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. O controlo integrado (Human Control) cobre os processos de colheita de amostra, purificação de ácido nucleico, amplificação e deteção.

No caso de ser necessário um método de testes de referência para controlo de qualidade, podem ser utilizados os seguintes materiais de referência: AMPLIRUN® CONTROLO TOTAL BORDETELLA PERTUSSIS (MATRIZ NEUTRA) (MC078, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® CONTROLO TOTAL BORDETELLA PARAPERTUSSIS (MATRIZ NEUTRA) (MC077, Vircell S.L. Spain).

AMPLIRUN® CONTROLO TOTAL BORDETELLA HOLMESII (MATRIZ NEUTRA) (MC168, Vircell S.L. Spain).

Siga as instruções do fabricante. Reconstitua o material de referência em meio Copan eNAT® medium.

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. O Compêndio de Segurança e Desempenho (SSP) estará disponível na base de dados europeia sobre dispositivos médicos (Eudamed), na qual está interligada à Basic UDI-DI. Se o respetivo módulo na Eudamed estiver totalmente funcional, o SSP estará disponível no website público (<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>).

Limitações

Os resultados do teste Vivalytic Bordetella apenas devem ser interpretados por um profissional de saúde com a devida formação. Os resultados do teste Vivalytic Bordetella 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. É recomendado repetir o teste.
- Um resultado positivo não significa necessariamente que estejam presentes agentes patogénicos viáveis.
- O Vivalytic Bordetella é um teste qualitativo PCR em tempo real e não fornece um resultado quantitativo.
- Um IS481 e um hIS1001 positivos podem ser causados pela presença de *B. holmesii* ou pela presença de *B. pertussis* e *B. holmesii* na amostra.
- Um IS481 positivo pode ser considerado como provavelmente positivo para *B. pertussis*, embora a *B. bronchiseptica* também possa conduzir a um sinal positivo para IS481. Se necessário, devem ser realizados testes adicionais para diferenciar a *B. bronchiseptica* da *B. pertussis*.

Avaliação de desempenho analítico

Sensibilidade analítica (limite de detecção)

O limite de detecção (LoD) do teste Vivalytic Bordetella foi determinado como a concentração mais baixa de analito que pode ser detetada de forma consistente ($\geq 95\%$ amostras testadas em condições laboratoriais usando um tipo de amostra definido, [tabela 1](#)).

Inclusividade

Para avaliar a inclusividade, foi realizada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) da sequência genômica de várias estirpes relevantes de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii* em relação à sequência dos primers PCR e à amostra de hidrólise usada no teste Vivalytic Bordetella para amplificação e detecção dos respetivos agentes patogénicos. Foi possível demonstrar inclusividade nos organismos listados na [tabela 2](#).

Exclusividade/Especificidade analítica

Para excluir reatividade cruzada (exclusividade), foi efetuada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*, em relação à sequência genômica de vários outros agentes patogénicos que representam agentes patogénicos respiratórios comuns ou espécies estreitamente relacionadas. Para o sistema de detecção de *Bordetella pertussis*, foi possível detetar correspondências de sequência na área da sonda e do primer para as estirpes *Bordetella bronchispetica* NCTC10543, MBORD731, NCTC8344, E001, MBORD595, concluindo uma possível amplificação. Para o sistema de detecção de *Bordetella parapertussis*, foi possível detetar correspondências de sequência na área da sonda e do primer para as estirpes *Bordetella bronchispetica* KM22, BB5, FR3523, FR2017, FR3823, concluindo uma possível amplificação. Não houve qualquer evidência de interferência no sistema de detecção de *Bordetella holmesii* ([tabela 3](#)).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Vivalytic Bordetella foi estabelecida usando um painel com 3 concentrações diferentes de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*. Cada mistura foi testada em 3 locais de teste, no mesmo conjunto de equipamentos Vivalytic, pelo mesmo operador com 3 lotes, em 4 réplicas em 3 dias, respetivamente. 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 Bordetella foi estabelecida usando um painel com 1 concentração de ($3 \times c95$) de *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* e *Bordetella holmesii*. Em 1 local de teste, a mistura foi testada no mesmo conjunto de equipamentos Vivalytic pelo mesmo operador com 3 lotes em 20 réplicas, 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. Não foram detetadas interferências.

Avaliação de desempenho clínico

Os resultados da sensibilidade e especificidade derivaram de amostras de exsudado nasofaríngeo. As amostras foram colhidas num ambiente clínico e comparadas com resultados de métodos de referência.

561 amostras de exsudado nasofaríngeo no eNAT foram testadas num local de estudo utilizando uma abordagem de rastreio com amostras clínicas potencialmente positivas. 8 amostras clínicas foram consideradas positivas para um dos três agentes patogénicos (todas *Bordetella parapertussis*), perfazendo uma taxa de positividade no conjunto de amostras de 1,9% (8/411). Além disso, foram adicionadas 150 amostras negativas pré-caracterizadas com o respetivo material de referência (50 amostras por agente patogénico). No total, foram incluídos 495 resultados no conjunto de dados obtido a partir de testes com um teste de referência (Bordetella Speciation Plus Toxin – OSR para BD MAX™) e Vivalytic Bordetella, conduzindo aos resultados de desempenho apresentados na [tabela 6](#).















Apoio técnico

Se necessitar de assistência, ajuda técnica ou tiver mais alguma pergunta, entre em contacto com o seu distribuidor local ou visite o website da Bosch Vivalytic em www.bosch-vivalytic.com.

Referências

- [1] https://www.rki.de/DE/Content/Infekt/EpidBull/Merkblaetter/Ratgeber_Pertussis.html (status 30.11.2023)
- [2] van der Zee A, Schellekens JF, Mooi FR. Laboratory Diagnosis of Pertussis. Clin Microbiol Rev. 2015 Oct; 28(4): 1005-26. doi: 10.1128/CMR.00031-15. PMID: 26354823; PMCID: PMC4575397.
- [3] COPAN 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 <i>in vitro</i> |
|  | Marca CE, incluindo o número de identificação do Organismo Notificado | | |
|  | Pipete o volume de amostra indicado na entrada de amostra do cartucho conforme marcado pelo triângulo preto. | | |

WARNING**Hazard component in cartridge**

(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

P280	Wear protective gloves and eye/face protection.
P301+P312	IF SWALLOWED: Call a POISON CENTER/ doctor if you feel unwell.
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>B. pertussis</i>	200 genome copies/mL
<i>B. parapertussis</i>	200 genome copies/mL
<i>B. holmesii</i>	200 genome copies/mL

*Based on determination by using Vircell material (MC078, MC077, MC168) for a spiking approach in eNAT® (COPAN) supplemented with approximately 10.000 Human Bronchial/Tracheal Epithelial Cells (hPBTEC).

Table 2 – Inclusivity

<i>Bordetella pertussis</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>
<i>Bordetella holmesii</i>

Strains validated for inclusivity via BLAST alignment.

Table 3 – Exclusivity

<i>Acinetobacter</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Schaalia odontolytica</i> (<i>Actinomyces odontolyticus</i>)	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
Mastadenovirus	<i>Legionella</i>
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Bacillus cereus</i>	Measles morbillivirus
<i>Bacillus subtilis</i>	Metapneumovirus
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>
Bocaparvovirus	<i>Morganella morganii</i>
<i>Bordetella avium</i>	Mumps orthorubulavirus
<i>Bordetella bronchiseptica</i>	<i>Mycobacterium avium</i>
<i>Bordetella hinzii</i>	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
<i>Bordetella petrii</i>	Metamycoplasmataceae
<i>Bordetella trematum</i>	<i>Neisseria</i>
<i>Burkholderia</i>	<i>Nocardia asteroides</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Oligella ureolytica</i>
<i>Nakaseomyces glabratus</i> (<i>Candida glabrata</i>)	<i>Pandoraea oxalativorans</i>
<i>Chlamydia pneumoniae</i>	Human respirovirus 1
<i>Chlamydia trachomatis</i>	Human orthorubulavirus 2
<i>Citrobacter freundii</i>	Human respirovirus 3
<i>Clostridioides difficile</i>	Human orthorubulavirus 4
<i>Orthocoronavirinae</i>	<i>Parvimonas micra</i>
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	Parechovirus A
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
Cytomegalovirus	<i>Pneumocystis jirovecii</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
Enterovirus	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Human gammaherpesvirus 4 (Eppstein-Barr Virus)	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Cupriavidus pauculus</i>
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	HRSV-A
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	HRSV-B
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Human alphaherpesvirus 1	<i>Staphylococcus</i>
Human alphaherpesvirus 2	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
Influenza A	<i>Streptococcus</i>
Influenza B	<i>Ureaplasma urealyticum</i>
<i>Klebsiella</i>	Human alphaherpesvirus 3

Table 4a Reproducibility							
Target	c	No of total tests	No of pos. tests	No of neg. tests	Proportion of positive/negative results (%)	95 % Wilson-Score confidence interval (%)	95 % Pearson-Clopper confidence interval (%)
none	blank	108	0	108	100	96.57 % – 100 %	96.64 % – 100 %
Bordetella pertussis	3x c95	108	108	0	100	96.57 % – 100 %	96.64 % – 100 %
	c100	108	107	1	99.1	94.94 % – 99.84 %	94.95 % – 99.98 %
Bordetella parapertussis	3x c95	108	108	0	100	96.57 % – 100 %	96.64 % – 100 %
	c100	108	108	0	100	96.57 % – 100 %	96.64 % – 100 %
Bordetella holmesii	3x c95	108	104	4	96.3	90.86 % – 98.55 %	90.79 % – 98.98 %
	c100	108	107	1	99.1	94.94 % – 99.84 %	94.95 % – 99.98 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement

c100 = 100 % predicted positive agreement

Table 4 b Repeatability						
Target	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 (%)
<i>Bordetella pertussis</i>	1	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	2	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	3	20	19	95.0	76.39 % – 99.11 %	75.13 % – 99.87 %
	Total	60	59	98.3	91.14 % – 99.71 %	91.06 % – 99.96 %
<i>Bordetella para-pertussis</i>	1	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	2	20	19	95.0	76.39 % – 99.11 %	75.13 % – 99.87 %
	3	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	Total	60	59	98.3	91.14 % – 99.71 %	91.06 % – 99.96 %
<i>Bordetella holmesii</i>	1	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	2	20	19	95.0	76.39 % – 99.11 %	75.13 % – 99.87 %
	3	20	20	100.0	83.89 % – 100 %	83.16 % – 100 %
	Total	60	59	98.3	91.14 % – 99.71 %	91.06 % – 99.96 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement

Table 5 – Tested Substances for Interference

EDTA whole blood; 2 % (v/v)

Aspirin 500 mg; 5 mg/mL

Azithromycin HEXAL® 500 mg; 5 mg/mL

Budesonid Easyhaler® 0.2 mg/Dosis; 25 mg/mL

SILOMAT DMP pastille; 0.1 mg/mL

DOLO-DOBENDAN 1.4 mg/10 mg throat lozenge; 2.5 % (w/v)

Em-eukal classic bonbons; 0.26 % (w/v)

IBU ratiopharm 400 mg akut analgesic tablet; 10 mg/mL

Mometason-ratiopharm® hay fever spray; 2.5 mg/mL

Nasivin® Spray; 10 % (v/v)

Otri-Allergie Spray Fluticason; 5 % (v/v)

Paracetamol ratiopharm 500 mg; 10 mg/mL

Rhinomer nasal spray; 15 % (v/v)

Salbuhexal N 200 puff dosing aerosol; 0.1 % (v/v)

Tamiflu® 75 mg; 3.75 mg/mL

TobraZid®; 4 µg/mL

Turixin®; 10 mg/mL

Vaseline; 1 % (w/v)

DOREGRIPPIN tablet; 0.075 mg/mL

Wick cough solvent sirup; 5 % (v/v)

Interference was experimentally verified at 3x c95 for *Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis* and *Bordetella holmesii* using a spiking approach in eNAT® (COPAN) supplemented with approximately 10.000 Human Bronchial/Tracheal Epithelial Cells (hPBTEC).

Table 6 – Clinical Sensitivity (PPA) and Specificity (NPA) for samples in eNAT® (95 % confidence interval, clinical study)

Pathogen	Sensitivity (PPA) (95%-width of CI)	Specificity (NPA) (95%-width of CI)
<i>Bordetella pertussis</i>	94.0 % (83.45 – 98.75 %)	100.0 % (96.84 – 100.0 %)
<i>Bordetella parapertussis</i>	100.0 % (93.51 – 100.0 %)	95.5 % (89.71 – 98.51 %)
<i>Bordetella holmesii</i>	100.0 % (90.97 – 100.0 %)	97.6 % (93.20 – 99.51 %)
Total	97.9 % (94.03 – 99.57 %)	97.7 % (95.56 – 99.01 %)

Table 7 – Document History

Revision 01	Initial document
Revision 02/03	Pre-release changes

For more information see
www.bosch-vivalytic.com

