



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

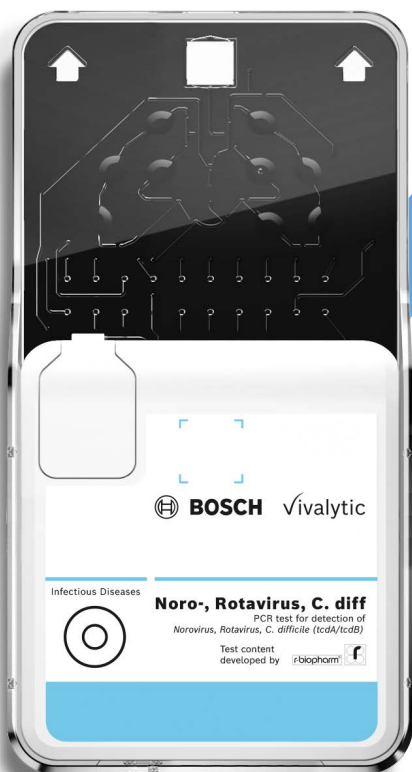
mail@szabo-scandic.com

www.szabo-scandic.com

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



BOSCH



vivalytic

Noro-, Rotavirus, C. diff

PCR test for detection of
*Norovirus, Rotavirus,
C. difficile (tcdA/tcdB)*

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
Eesti keel	65
Latviski	72
Polski	79
Čeština	86
Slovenčina	93
Magyar	100
Română	107
Hrvatski	114
Slovenščina	121
Български	128
Ελληνικά	136
Español	144
Português	151
Annex	158

Introduction

Clostridioides difficile (*C. difficile*) is a gram-positive, spore-forming anaerobic bacillus consisting of toxigenic and non-toxigenic strains. *C. difficile* is one of the most common pathogens of nosocomial diarrhea, especially in patients with antibiotic-associated diarrhea. In recent years, the number and severity of cases has increased in Europe and worldwide.¹ The symptoms of *C. difficile* infection (CDI) ranges from mild diarrhea to severe life-threatening pseudomembranous colitis, although colonization of *C. difficile* does not necessarily lead to a symptomatic infection. The disruption of the balance of gut microorganisms e.g. due to antibiotic treatment may cause toxigenic *C. difficile* to establish, dominate colonization and might be the start of CDI.² Factors involved in the pathogenesis of *C. difficile*, are the genes *tcdA* and *tcdB* that code for toxin A (enterotoxin) and toxin B (cytotoxin) which are located in a 19.6 kb chromosomal region called the pathogenicity locus (PaLoc). Most pathogenic strains are toxin A and B positive (A+B+), but some pathogenic variant isolates may be toxin A negative and B positive (A-B+). They are the cause of *C. difficile*-associated diseases.³ Some strains of toxigenic *C. difficile* also produce a toxin called *C. difficile* transferase (CDT), or binary toxin.⁴

Norovirus belongs to the virus class Caliciviridae and is known to be a seasonal disease. It is a highly contagious pathogen that is responsible for the majority of cases of acute gastroenteritis worldwide. Norovirus infections in humans are mainly caused by genogroup II and I, while genogroup II being the predominant cause of Norovirus outbreaks. Infections of the gastrointestinal tract by Norovirus are characterized by sudden onset symptoms such as nausea, vomiting, diarrhea, and abdominal pain. The virus is particularly prevalent in communal settings such as hospitals, schools, and nursing homes, where it can easily spread from person to person. The illness typically lasts only a few days but can cause more severe complications in immunocompromised individuals or the elderly.^{5,6,7}

Rotavirus belongs to the virus class Reoviridae. It is a significant cause of acute gastroenteritis, particularly in infants and young children. Its viral infection of the gastrointestinal tract is characterized by symptoms such as severe diarrhea, vomiting, fever, and dehydration. Rotavirus-associated gastroenteritis can lead to severe complications, including hospitalization and even death, making it a major public health concern. Efforts to prevent and control rotavirus infections, such as through vaccination programs, have been crucial in reducing the burden of this disease. Acute gastroenteritis caused by both Norovirus and Rotavirus are self-limiting diseases although if untreated can cause a critical course of disease especially in the youngest or elderly.^{7,8,9,10}

Package Contents

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff test cartridges for the detection of *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB* toxin genes), human Norovirus genogroup I/ II and Rotavirus type A.

Pathogen List		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogroup I/II	Rotavirus Type A

Intended Use

The Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff test is an automated qualitative *in vitro* diagnostic test based on real-time polymerase chain reaction (PCR) for the detection of nucleic acids from toxigenic *Clostridioides difficile* (toxin genes *tcdA/tcdB*), Human Norovirus genogroup I/ II and Human Rotavirus type A from swabs samples from liquid or soft human stool to aid in the diagnosis of acute gastrointestinal infections of symptomatic individuals.

Results should not be used as the sole basis for diagnosis, treatment or other patient management decisions. Positive results do not exclude co-infection with other pathogens. The agent(s) detected may not be the definite cause of disease. Negative results do not exclude a *C. difficile*, Norovirus, Rotavirus infection or another gastrointestinal infection. Results must be clinically correlated with patient history, clinical observations and epidemiological information. Other diagnostic information is necessary to determine

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instructions for Use

patient infection status. Intended for use with a Vivalytic *one* analyser by healthcare professionals only in laboratory settings.

Safety Information

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

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



WARNING

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

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

Additional Equipment & Consumables Required but not Provided

- Bosch Vivalytic *one* analyser (reference number F09G300115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile filter pipette tips 100 –1000 µl
- Swab collection kits
 - Regular Flocked Swab FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transport medium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Suitable protective clothing

Test Principle

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff is a qualitative real-time PCR based test.

Storage and 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 Type / Medium

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

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

In case the sample is not processed immediately after sample collection, nucleic acids will be preserved in eNAT® transport medium for up to 4 weeks at room temperature and at 4 °C and up to 6 months at –20 °C to –80 °C (see Instructions for Use eNAT® transport medium 11).

Sample Preparation

Use a Regular Flocked Swab FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) to collect a small amount of stool by inserting the tip of the flocked swab into the stool sample and rotate it. Bloody, slimy, or watery area of stools should be selected and collected. After collection, examine the swab to make sure there is fecal material visible on the tip. In case it is not, again insert the flocked swab into the stool sample and rotate taking care that all the area of the swab tip is in contact with the sample. Make sure that the swab is just covered with stool and remove excess stool by gently rotating the swab against the rim of the sample. After collection transfer the swab into the 2 ml Copan eNAT® tube with eNAT® transport medium. Hold the swab shaft between thumb and finger, mash and mix the stool specimen against the side of the tube to evenly disperse and suspend the specimen in the preservation medium. Hold the swab shaft close to the rim of the tube, bend it at a 180 degrees angle to break it off at the marked breakpoint. Discard the broken upper part of the swab shaft and tighten the cap. Shake the sample tube containing the swab sample and eNAT® medium (COPAN Italia s.p.a.) thoroughly at least for 10 seconds for homogenization. Use a pipettor in order to fill 300 µl of homogenized patient sample in the sample input of the cartridge. Ensure to only pipet from the supernatant (top of the sample) to prevent the carryover of stool particles. In case of an excess amount of particles in the sample it is recommended to place the sample tube on a flat surface and let the particles sediment for 5 minutes.

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 58 min. For high titer specimens results are available after less than 41 min and the test run can be terminated earlier (see Chapter Test Termination).

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

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

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instructions for Use

Norovirus genogroup I/II	Rotavirus Type A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validity	Result
-	-	+	+/-	valid	Sample is considered <i>C. difficile</i> positive.
-	+	+	+/-	valid	Sample is considered Rotavirus and <i>C. difficile</i> positive.
+	-	+	+/-	valid	Sample is considered Norovirus and <i>C. difficile</i> positive.
+	+	+	+/-	valid	Sample is considered Norovirus, Rotavirus and <i>C. difficile</i> positive.
-	+	-	+/-	valid	Sample is considered Rotavirus positive.
+	+	-	+/-	valid	Sample is considered Norovirus and Rotavirus positive.
+	-	-	+/-	valid	Sample is considered Norovirus positive.
-	-	-	+	valid	Sample is considered negative
-	-	-	-	invalid	Not evaluable. ¹

¹Retesting is recommended

PCR – Curve and C_q Value

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

Invalid or Failed Tests

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

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

Test Termination

As soon as a valid, positive result is shown for one of the three pathogens on the screen, the user has the option to finish the test.

Test Report

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

Notice to Users in EU

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

Limitations

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

- A negative result does not exclude pathogens being present in the sample at a level below assay sensitivity or other pathogens being present not covered by this assay.
- There is a risk of false negative or false positive results due to improperly collected, transported, or handled samples.
- In borderline cases atypical PCR characteristics (e. g. flat curve with low or high C_q -value) can occur. In case of atypical characteristics results are not allowed to be used for diagnostic interpretation. Inconclusive results are marked by the software. Retesting is advised.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* is a qualitative real-time PCR test and does not provide a quantitative result.
- A positive result does not necessarily mean that viable pathogens are present.
- The test detects *C. difficile* carrying *tcdA/tcdB* genes, but does not differentiate between toxin producing and non-toxin producing strains
- A negative result does not preclude a Norovirus, Rotavirus, *C. difficile* or co-infection. It is recommended that negative tested samples are interpreted in the context with additional laboratory data
- An excess amount of stool may have inhibitory effects on the assay performance.
- A reduced performance was observed for *tcdA+/tcdB-* *C. difficile* strains
- An excess amount of Rotavirus A virus particles can lead to a reduced performance of the *C. difficile* PCR
- No exclusivity for Rotavirus Type C (porcine Rotavirus) could be achieved. Therefore a misidentification of Rotavirus Type C as Type A cannot be excluded.

Analytical Performance Evaluation

Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The limit of detection of the Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* test was determined as the lowest concentration of analyte that can be consistently detected (≥ 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 Noroviruses, Rotaviruses and *Clostridioides difficile* strains against the sequence of the PCR primers and hydrolysis probe used in the Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* test for amplification and detection of the respective pathogens was performed. Inclusivity could be shown for strains listed in [Table 2](#).

Exclusivity / Analytical Specificity

To exclude cross-reactivity (exclusivity), an *in silico* analysis (BLAST alignment) of the target region of Norovirus, Rotavirus and *Clostridioides difficile* against the genomic sequence of various other pathogens representing common gastrointestinal pathogens or closely related species was conducted. For the detection system of Rotavirus, sequence matches in the probe and primer area could be detected for porcine Rotavirus (group C), concluding a possible amplification. There was no evidence of an interference for the detection system of Norovirus and *Clostridioides difficile*. ([Table 3](#)).

Reproducibility

The reproducibility of the Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* test was established using a panel with 3 different concentrations of Norovirus, Rotavirus and *Clostridioides difficile*. At 3 test sites, each mix was tested on the same set of Vivalytic instruments by the same operator with 3 LOTS in 4 replicates on 3 days, respectively. The obtained positivity rates for the different combinations were correlated to the expected positivity rate ([Table 4a](#)).

Repeatability

The repeatability of the Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* test was established using a panel with 1 concentration (3x c95) of Norovirus, Rotavirus

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instructions for Use

and *Clostridioides difficile*. At 1 test site, the mix was tested on the same set of Vivalytic instruments by the same operator with 3 LOTS in 20 replicates, respectively, yielding a total of 60 observations per target pathogen. The obtained positivity rates for the different combinations were correlated to the expected positivity rate (Table 4b).

Interferences

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

Clinical Performance Evaluation

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

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

In case of reference testing samples were prepared according to recommendations of used reference methods. In total, 159 samples were analysed. Sensitivity or Positive Percent Agreement (PPA) was calculated as $100\% \times TP / (TP+FN)$. Specificity or Negative Percent Agreement was calculated as $100\% \times TN / (TN+FP)$. The results of the clinical performance evaluation are shown in Table 6, Table 7 and Table 8.















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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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 |
-  CE mark
-  Pipette the indicated sample volume in the sample input of the cartridge as marked by the black triangle.

Einleitung

Clostridioides difficile (*C. difficile*) ist ein gram-positives, sporenbildendes, anaerobes Bakterium, das toxische und nicht-toxische Stämme umfasst. *C. difficile* ist einer der häufigsten Erreger nosokomialer Durchfallerkrankungen, insbesondere bei Patienten mit antibiotikaassoziierter Diarrhö. In den letzten Jahren haben Anzahl und Schwere der Fälle in Europa und weltweit zugenommen.¹ Die Symptome einer Infektion mit *C. difficile* reichen von leichtem Durchfall bis hin zu einer schweren, lebensbedrohlichen pseudomembranösen Kolitis, wobei eine Kolonisierung mit *C. difficile* nicht zwangsläufig zu einer symptomatischen Infektion führt. Die Störung des Gleichgewichts der Darmmikroorganismen, z. B. durch eine Antibiotikabehandlung, kann dazu führen, dass sich toxische *C. difficile*-Stämme ansiedeln, die Besiedlung dominieren und eine Infektion auslösen.²

Krankheitsrelevant sind bei *C. difficile* die Gene *tcdA* und *tcdB*, die für Toxin A (Enterotoxin) und Toxin B (Cytotoxin) codieren und sich in einer 19,6 Kilobasenpaare (kb) umfassenden chromosomalen Region befinden, die als Pathogenitätslocus (PaLoc) bezeichnet wird. Die meisten pathogenen Stämme sind Toxin-A- und -B-positiv (A+B+), einige pathogene Isolate können jedoch Toxin-A-negativ und -B-positiv (A-B+) sein. Sie sind die Auslöser von *C. difficile*-assozierten Erkrankungen.³ Einige toxische *C. difficile*-Stämme produzieren zusätzlich das binäre Toxin *C. difficile*-Transferase (CDT).⁴

Das Norovirus gehört zur Virusklasse der Caliciviridae und ist als Auslöser einer saisonalen Krankheit bekannt. Es ist ein hochgradig ansteckender Erreger, der weltweit für die meisten Fälle von akuter Gastroenteritis verantwortlich ist. Norovirus-Infektionen beim Menschen werden hauptsächlich durch die Genogruppe II und I verursacht, wobei die Genogruppe II die vorherrschende Ursache für Norovirus-Ausbrüche ist. Infektionen des Magen-Darm-Trakts durch Noroviren sind durch plötzlich auftretende Symptome wie Übelkeit, Erbrechen, Durchfall und Bauchschmerzen gekennzeichnet. Das Virus kommt besonders häufig in Einrichtungen wie Krankenhäusern, Schulen und Pflegeheimen vor, wo es leicht von Mensch zu Mensch übertragen werden kann. Die Krankheit dauert in der Regel nur ein paar Tage, kann aber bei immungeschwächten oder älteren Menschen schwere Komplikationen verursachen.^{5,6,7}

Das Rotavirus gehört zu der Virusklasse der Reoviridae. Es ist eine der häufigsten Ursachen für akute Gastroenteritis, insbesondere bei Säuglingen und Kleinkindern. Die virale Infektion des Magen-Darm-Trakts ist durch Symptome wie schweren Durchfall, Erbrechen, Fieber und Dehydrierung gekennzeichnet. Die Rotavirus-assoziierte Gastroenteritis kann zu schwerwiegenden Komplikationen führen, einschließlich Hospitalisierung und Tod. Deshalb stellt sie ein großes Problem für die öffentliche Gesundheit dar. Bemühungen zur Prävention und Kontrolle von Rotavirus-Infektionen, z. B. durch Impfaktionen, haben entscheidend dazu beigetragen, die Belastung durch diese Krankheit zu verringern. Eine akute durch Norovirus und Rotavirus verursachte Gastroenteritis ist eine selbstlimitierende Krankheit, die jedoch unbehandelt einen kritischen Krankheitsverlauf nehmen kann, insbesondere bei sehr jungen oder älteren Menschen.^{7,8,9,10}

Inhalt

15 Valytic Noro-, Rotavirus-, C. diff-Testkartuschen für den Nachweis von *Clostridioides difficile* (Toxingene *tcdA/tcdB*), des humanen Norovirus Genogruppe I/II und des Rotavirus Typ A.

Liste der Krankheitserreger		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus Genogruppe I/II	Rotavirus Typ A

Zweckbestimmung

Der Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff-Test ist ein automatisierter qualitativer In-vitro-Diagnostiktest basierend auf der Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) zum Nachweis der Nukleinsäuren in toxischem *Clostridioides difficile* (Toxingene *tcdA/tcdB*), humanem Norovirus der Genogruppe I/II und humanem Rotavirus Typ A aus Abstrichproben von flüssigem oder ungeformtem humanem Stuhl zur Unterstützung der Diagnose von akuten gastrointestinalen Infektionen bei symptomatischen Personen.

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

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 Feuchteinwirkung. 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.
- Beachten Sie die Grundsätze der guten Laborpraxis.
- Biologische Proben, Transportmedien und verwendete Kartuschen sollten als potentiell infektiös behandelt und entsprechende Schutzmaßnahmen angewendet werden. Potenziell infektiöses Probenmaterial und Kartuschen sind gemäß entsprechender Laborpraxis zu handhaben. Proben und Kartuschen sind gemäß regionaler und laborspezifischer Standards zu entsorgen.
- Halten Sie sich an nationale Sicherheitsvorschriften und -praktiken.

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

Zusätzlich benötigte Ausrüstung und Verbrauchsmaterialien (nicht mitgeliefert)

- Bosch Vivalytic *one* Analyser (Referenznummer F09G300115)
- Pipettor (100–1000 µl)
- Sterile Filterpipettenspitzen 100–1000 µl
- Probenabstrichsysteme
 - FLOQSwabs® 552C, beflockte Tupfer, regulär (COPAN Italia S.p.A.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geeignete Schutzkleidung

Testprinzip

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff ist ein qualitativer Test auf Real-Time-PCR-Basis.

Lager- und Gebrauchstemperatur

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

Reagenzien

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

Die Kartusche enthält die Reagenzien PCR-Bead, Bindepuffer, Waschpuffer und Elutionspuffer. Das PCR-Bead enthält die DNA-Polymerase sowie Primer und Sonden. Der Bindepuffer erleichtert die Bindung von Nukleinsäuren während des Aufreinigungsprozesses. Der Waschpuffer ist eine Formulierung aus verschiedenen Salzen und Lösungsmitteln, um Verunreinigungen wie z. B. Proteine während des Extraktionsprozesses zu entfernen. Der Elutionspuffer ist ein salzarmer Puffer und enthält die aufgereinigten Nukleinsäuren am Ende des Extraktionsprozesses.

Probentyp/-medium

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

Die Proben sind gemäß Herstelleranleitung zu entnehmen und zu lagern.

Falls die Probe nicht sofort nach der Probengewinnung analysiert wird, sind die Nukleinsäuren in eNAT® Transportmedium bei Raumtemperatur und bei 4 °C bis zu 4 Wochen bzw. bei -20 °C bis -80 °C bis zu 6 Monate haltbar (siehe Gebrauchsanweisung des eNAT® Transportmediums¹¹).

Probenvorbereitung

Nehmen Sie mit einem regulären beflockten Tupfer (FLOQSwabs®, COPAN Italia S.p.A.) eine kleine Menge Stuhl auf, indem Sie die Spitze des beflockten Tupfers in die Stuhlprobe eintauchen und drehen. Es sollten gezielt blutige, schleimige oder wässrige Bereiche der Stuhlprobe ausgewählt und aufgenommen werden. Vergewissern Sie sich nach der Probengewinnung, dass an der Tupferspitze Stuhlprobenmaterial sichtbar ist. Ist dies nicht der Fall, tauchen Sie den beflockten Tupfer erneut in die Stuhlprobe ein und drehen Sie ihn. Achten Sie darauf, dass alle Bereiche der Tupferspitze mit der Probe in Kontakt kommen. Stellen Sie sicher, dass der Tupfer nur mit einer dünnen Stuhlschicht bedeckt ist und entfernen Sie überschüssigen Stuhl durch vorsichtiges Drehen des Tupfers gegen den Rand des Probenröhrchens. Geben Sie den Tupfer nach der Probengewinnung in das Copan eNAT® 2-ml-Röhrchen mit eNAT® Transportmedium. Halten Sie den Stiel des Tupfers zwischen Daumen und Zeigefinger und drücken Sie den Tupfer in drehenden Bewegungen gegen die Röhrchenwand, sodass die Stuhlprobe gleichmäßig im Konservierungsmedium verteilt und gelöst wird. Halten Sie den Stiel des Tupfers nahe am Röhrchenrand fest, biegen Sie ihn um 180 Grad und brechen Sie ihn an der markierten Bruchstelle ab. Entsorgen Sie den abgebrochenen oberen Teil des Tupfers und verschließen Sie das Röhrchen mit dem Deckel. Schütteln Sie das Probenröhrchen mit der Abstrichprobe und dem eNAT® Medium (COPAN Italia s.p.a.) mindestens 10 Sekunden lang gründlich, um die Probe zu homogenisieren. Geben Sie 300 µl der homogenisierten Patientenprobe mit einem Pipettor in die Probeneingabe der Kartusche. Achten Sie darauf, nur aus dem Überstand (oberer Teil der Probe) zu pipettieren, um eine Verschleppung von Stuhlpartikeln zu vermeiden. Bei zu vielen Partikeln in der Probe empfiehlt es sich, das Probenröhrchen auf eine ebene Oberfläche zu stellen und die Partikel 5 Minuten lang sedimentieren zu lassen.

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

Testergebnis

Nach der automatischen Verarbeitung der Probe mit dem Valytic *one* Analyser wird das Testergebnis auf dem Bildschirm des Valytic *one* Analysers angezeigt. Das Ergebnis wird nach ca. 58 Minuten angezeigt. Für Proben mit hohem Titer liegen die Ergebnisse nach weniger als 41 Minuten vor und der Testlauf kann vorzeitig beendet werden (siehe Abschnitt „Beendigung des Tests“).

Die Probe wird entweder als *C. difficile*-positiv, Rotavirus- und *C. difficile*-positiv, Norovirus- und *C. difficile*-positiv, Norovirus- und Rotavirus- und *C. difficile*-positiv, Rotavirus-positiv, Norovirus- und Rotavirus-positiv, Norovirus-positiv, -negativ oder ungültig klassifiziert. Bei einem positiven Nachweis eines Erregers wird der Test als valide gewertet, selbst wenn die Human Control negativ ist.

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

Norovirus Genogruppe I/II	Rotavirus Typ A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validität	Ergebnis
-	-	+	+/-	valide	Die Probe gilt als <i>C. difficile</i> -positiv.
-	+	+	+/-	valide	Die Probe gilt als Rotavirus- und <i>C. difficile</i> -positiv.
+	-	+	+/-	valide	Die Probe gilt als Norovirus- und <i>C. difficile</i> -positiv.
+	+	+	+/-	valide	Die Probe gilt als Norovirus-, Rotavirus- und <i>C. difficile</i> -positiv.
-	+	-	+/-	valide	Die Probe gilt als Rotavirus-positiv.
+	+	-	+/-	valide	Die Probe gilt als Norovirus- und Rotavirus-positiv.
+	-	-	+/-	valide	Die Probe gilt als Norovirus-positiv.
-	-	-	+	valide	Die Probe gilt als negativ.
-	-	-	-	invalide	Nicht auswertbar. ¹

¹Eine erneute Testung wird empfohlen.

PCR – Kurve und C_q-Wert

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

Invalide oder fehlgeschlagene Tests

Ein Test wird als invalide eingestuft, wenn weder Ziel-DNA noch Human Control detektiert werden. Mögliche Ursache für einen invaliden Testlauf ist eine schlechte Probenqualität aufgrund von zu wenig oder keinem humanen Zellmaterial in der Probe. Ergebnisse werden auch für invalide Läufe angezeigt, dürfen jedoch nicht für eine diagnostische Interpretation verwendet werden.

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Gebrauchsanweisung

Achten Sie auf die Verwendung des korrekten Probenotyps, 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

Sobald ein valides, positives Ergebnis für einen der drei Erreger auf dem Bildschirm angezeigt wird, hat der Anwender die Möglichkeit, den Test zu beenden.

Testbericht

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

Hinweis an Anwender in der EU

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

Einschränkungen

Die Ergebnisse des Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff-Tests dürfen ausschließlich durch geschulte Mitarbeiter mit entsprechendem medizinischem Hintergrund interpretiert werden. Das Ergebnis des Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff-Tests darf nicht als alleiniger Parameter zur Diagnose genutzt werden.

- Ein negatives Ergebnis schließt nicht die Anwesenheit des Pathogens unterhalb der Nachweisgrenze oder das Vorkommen eines anderen Pathogens aus, das nicht durch diesen Test abgedeckt ist.
- Unsachgemäß entnommene, transportierte oder gelagerte Proben bergen das Risiko falsch-negativer oder falsch-positiver Ergebnisse.
- In Grenzfällen können atypische PCR-Merkmale (z. B. flache Kurve mit niedrigem oder hohem C_q -Wert) auftreten. Bei atypischen Merkmalen dürfen die Ergebnisse nicht für eine diagnostische Interpretation verwendet werden. Nicht eindeutige Ergebnisse werden von der Software markiert. Eine erneute Testung wird empfohlen.
- Beim Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff handelt es sich um einen qualitativen Real-Time-PCR-Test, der kein quantitatives Ergebnis bereitstellt.
- Ein positives Testergebnis zeigt nicht notwendigerweise die Anwesenheit infektiöser Erreger an.
- Der Test weist *C. difficile*-Stämme mit den Genen *tcdA/tcdB* nach, differenziert jedoch nicht zwischen toxischen und nicht-toxischen Stämmen.
- Ein negatives Ergebnis schließt eine Infektion mit Norovirus, Rotavirus, *C. difficile* oder eine Koinfektion nicht aus. Es wird empfohlen, negativ getestete Proben im Zusammenhang mit weiteren Labordaten zu interpretieren.
- Eine zu große Stuhlmenge kann die Leistung des Tests beeinträchtigen.
- Bei *tcdA+/tcdB-* *C. difficile*-Stämmen wurde eine geringere Leistung beobachtet.
- Ein Überschuss an Rotavirus A-Partikeln kann zu einer verminderten Leistung der *C. difficile*-PCR führen.
- Es konnte keine Exklusivität für Rotavirus Typ C (porcines Rotavirus) erreicht werden. Daher kann eine Fehlidentifizierung des Rotavirus Typ C als Typ A nicht ausgeschlossen werden.

Analytische Validierung

Analytische Sensitivität (Nachweisgrenze)

Die Nachweisgrenze des Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff-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 Norovirus-, Rotavirus- und *Clostridioides difficile*-Stämme zum Abgleich mit der Sequenz der PCR-Primer und Hydrolyse-Sonde aus dem Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-Test zur Amplifikation und Detektion der jeweiligen Erreger durchgeführt. Für die in [Tabelle 2](#) aufgeführten Stämme konnte die Inklusivität belegt werden.

Exklusivität/analytische Spezifität

Um eine Kreuzreaktivität (Exklusivität) auszuschließen, wurde eine *in silico*-Analyse (BLAST-Abgleich) der Zielregion von Norovirus, Rotavirus und *Clostridioides difficile* zum Abgleich mit der Genomsequenz verschiedener anderer Erreger durchgeführt, die häufige gastrointestinale Erreger bzw. eng verwandte Arten darstellen. Beim Nachweis des Rotavirus konnten Sequenzübereinstimmungen im Bereich der Sonde und des Primers für das porcine Rotavirus (Gruppe C) nachgewiesen werden, was auf eine mögliche Amplifikation schließen lässt. Es gab keine Hinweise auf eine Störung des Nachweises von Norovirus und *Clostridioides difficile* ([Tabelle 3](#)).

Reproduzierbarkeit

Die Reproduzierbarkeit des Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-Tests wurde anhand eines Panels mit 3 unterschiedlichen Konzentrationen von Norovirus, Rotavirus und *Clostridioides difficile* 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 Noro-, Rotavirus, C. diff-Tests wurde anhand eines Panels mit 1 Konzentration ($3 \times c95$) von Norovirus, Rotavirus und *Clostridioides difficile* 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.

Klinische Validierung

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

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

Für die Referenztests wurden die Proben entsprechend den Empfehlungen der verwendeten Referenzmethoden vorbereitet. Insgesamt wurden 159 Proben analysiert. Sensitivität oder positive prozentuale Übereinstimmung in Prozent (PPA) wurden wie folgt berechnet: $100 \% \times TP / (TP+FN)$. Spezifität oder negative prozentuale Übereinstimmung (NPA) wurden wie folgt berechnet: $100 \% \times TN / (TN+FP)$. Die Ergebnisse der klinischen Validierung sind in den Tabellen 6, 7 und 8 zusammengefasst.

Technischer Support

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

Literatur

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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



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

Inleiding

Clostridioides difficile (*C. difficile*) is een grampositieve, sporenvormende anaerobe bacil die bestaat uit toxigene en niet-toxigene stammen. *C. difficile* is een van de meest voorkomende verwekkers van nosocomiale diarree, vooral bij patiënten met antibiotica-geassocieerde diarree. De laatste jaren is het aantal en de ernst van de gevallen in Europa en wereldwijd toegenomen.¹ De symptomen van een *C. difficile*-infectie (CDI) variëren van milde diarree tot ernstige, levensbedreigende, pseudomembraneuze colitis, hoewel kolonisatie van *C. difficile* niet noodzakelijkerwijs tot een symptomatische infectie leidt. De verstoring van het evenwicht van micro-organismen in de darmen, bijvoorbeeld door behandeling met antibiotica, kan ervoor zorgen dat de toxigene *C. difficile* zich vestigt, de kolonisatie domineert en het begin vormen van CDI.²

Factoren die betrokken zijn bij de pathogenese van *C. difficile*, zijn de genen *tcdA* en *tcdB*, die coderen voor toxine A (enterotoxine) en toxine B (cytotoxine) en die zich bevinden in een chromosomaal gebied van 19,6 kb dat de pathogeniciteitslocus (PaLoc) wordt genoemd. De meeste pathogene stammen zijn toxine A en B positief (A+B+), maar sommige pathogene variantisolaten kunnen toxine A negatief en B positief (A-B+) zijn. Ze zijn de oorzaak van *C. difficile*-geassocieerde ziekten.³ Sommige stammen van toxigene *C. difficile* produceren ook een toxine genaamd *C. difficile*-transferase (CDT), of binair toxine.⁴

Norovirus behoort tot de virusklasse Caliciviridae en staat bekend als een seizoensgebonden ziekte. Het is een zeer besmettelijk pathogeen die verantwoordelijk is voor de meeste gevallen van acute gastro-enteritis wereldwijd. Norovirus-infecties bij mensen worden voornamelijk veroorzaakt door genogroep II en I, waarbij genogroep II de overheersende oorzaak van norovirus-uitbraken is. Infecties van het maagdarmkanaal door het norovirus worden gekenmerkt door plotseling optredende symptomen zoals misselijkheid, braken, diarree en buikpijn. Het virus komt vooral voor in gemeenschappelijke instellingen zoals ziekenhuizen, scholen en verpleeghuizen, waar het gemakkelijk van persoon tot persoon kan worden verspreid. De ziekte duurt meestal maar een paar dagen, maar kan ernstigere complicaties veroorzaken bij immuungecompromitteerde personen of ouderen.^{5,6,7}

Rotavirus behoort tot de virusklasse Reoviridae. Het is een belangrijke oorzaak van acute gastro-enteritis, vooral bij baby's en jonge kinderen. De virale infectie van het maagdarmkanaal wordt gekenmerkt door symptomen zoals ernstige diarree, braken, koorts en uitdroging. Rotavirus-geassocieerde gastro-enteritis kan leiden tot ernstige complicaties, waaronder ziekenhuisopname en zelfs overlijden, waardoor het een belangrijk probleem voor de volksgezondheid is. Inspanningen om rotavirus-infecties te voorkomen en onder controle te houden, zoals vaccinatieprogramma's, zijn van cruciaal belang geweest om de last van deze ziekte te verminderen. Acute gastro-enteritis veroorzaakt door zowel het norovirus als het rotavirus zijn zelflimiterende ziekten, hoewel ze onbehandeld een kritiek ziekteverloop kunnen veroorzaken, vooral bij de jongsten of ouderen.^{7,8,9,10}

Inhoud van de verpakking

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testpatronen voor de detectie van *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB*-toxinegenen), humaan norovirus genogroep I/II en rotavirus type A.

Lijst met ziekteverwekkers		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus-genogroep I/II	Rotavirus type A

Beoogd gebruik

De Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-test, is een geautomatiseerde, kwalitatieve, *in vitro* diagnostische test op basis van real-time polymerasekettingreactie (PCR) voor de detectie van nucleïnezuren van toxigene *Clostridioides difficile* (toxinegenen *tcdA/tcdB*), humaan norovirus genogroep I/II en humaan rotavirus type A uit monsters van vloeibare of zachte menselijke ontlasting om te helpen bij de diagnose van acute gastro-intestinale infecties van symptomatische personen.

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

Veiligheidsinformatie

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

Voor *in vitro* diagnostisch gebruik door opgeleide gezondheidswerkers.



WAARSCHUWING

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

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

Aanvullende vereiste, maar niet meegeleverd verbruiksartikelen

- Bosch Vivalytic *one*-analysator (referentienummer F09G300115)
- Pipet (100–1000 µl)
- Steriele filterpipetpunten 100 –1000 µl
- Verzamelkits voor uitstrijkjes
 - FLOQSwabs® normaal gevlokt wattenstaafje 552C (COPAN Italia S.p.A.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Geschikte beschermende kleding

Testprincipe

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff is een kwalitatieve, real-time PCR-gebaseerde 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.

Monstertype/medium

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

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

Als het monster niet onmiddellijk na de monsterafname wordt verwerkt, worden de nucleïnezuren in eNAT®-transportmedium maximaal 4 weken bij kamertemperatuur en 4 °C en maximaal 6 maanden bij –20 °C tot –80 °C bewaard (zie gebruiksaanwijzing van eNAT®-transportmedium¹¹).

Monstervoorbereiding

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

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Gebruiksaanwijzing

10 seconden goed om te homogeniseren. Gebruik een pipet om 300 µl gehomogeniseerd patiëntmonster in de monsterringang van de cassette te doen. Zorg ervoor dat u alleen het supernatant (de bovenkant van het monster) pipetteert om te voorkomen dat er ontlastingsdeeltjes meekomen. Als er te veel deeltjes in het monster zitten, is het aan te raden om de monsterbuis op een plat oppervlak te plaatsen en de deeltjes 5 minuten te laten bezinken. Gebruik geen viskeuze monsters die moeilijk te pipetteren zijn.

Testresultaat

Na automatische verwerking van het monster met de Valytic *one*-analysator wordt het testresultaat op het scherm van de Valytic *one*-analysator getoond. De tijd tot het resultaat is ongeveer 58 min. Voor speciemens met een hoge titer zijn de resultaten na minder dan 41 min beschikbaar en kan de testruin eerder beëindigd worden (zie hoofdstuk Beëindiging van de test).

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

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

Norovirus-genogroep I/II	Rotavirus type A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Geldigheid	Resultaat
-	-	+	+/-	geldig	Het monster wordt als <i>C. difficile</i> -positief beschouwd.
-	+	+	+/-	geldig	Het monster wordt als rotavirus- en <i>C. difficile</i> -positief beschouwd.
+	-	+	+/-	geldig	Het monster wordt als norovirus- en <i>C. difficile</i> -positief beschouwd.
+	+	+	+/-	geldig	Het monster wordt als norovirus-, rotavirus- en <i>C. difficile</i> -positief beschouwd.
-	+	-	+/-	geldig	Het monster wordt als rotavirus-positief beschouwd.
+	+	-	+/-	geldig	Het monster wordt als norovirus- en rotavirus-positief beschouwd.
+	-	-	+/-	geldig	Het monster wordt als norovirus-positief beschouwd.
-	-	-	+	geldig	Het monster wordt als negatief beschouwd.
-	-	-	-	ongeldig	Niet toetsbaar. ¹

¹Opnieuw testen wordt aanbevolen

PCR – Curve en C_q-waarde

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

Ongeldige of mislukte testen

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

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

Beëindiging van de test

Zodra er een geldig, positief resultaat voor een van de drie pathogenen op het scherm wordt weergegeven, heeft de gebruiker de optie om de test te beëindigen.

Testrapport

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

Kennisgeving aan gebruikers in de EU

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

Beperkingen

De resultaten van de Vivalytic Noro-, Rotavirus-, C. diff-test mogen alleen door een getrainde zorgverlener worden geïnterpreteerd. De resultaten van de Vivalytic Noro-, Rotavirus-, C. diff-test mogen niet als enige parameter voor diagnose gebruikt worden.

- Een negatief resultaat sluit niet uit dat er pathogenen in het monster aanwezig zijn in concentraties die lager liggen dan de gevoeligheidsgrens van de test of dat er pathogenen aanwezig zijn die niet met deze test worden bepaald.
- Er bestaat een risico op fout-negatieve of fout-positieve resultaten als gevolg van onjuist verzamelde, overgebrachte of gehanteerde monsters.
- In grensgevallen kunnen atypische PCR-kenmerken (bijv. vlakke curve met lage of hoge C_q-waarde) voorkomen. Bij atypische kenmerken mogen de resultaten niet worden gebruikt voor diagnostische interpretatie. Twijfelachtige resultaten worden door de software gemarkeerd. Opnieuw testen wordt aanbevolen.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff is een kwalitatieve, real-time PCR-test en geeft geen kwantitatief resultaat.
- Een positief resultaat betekent niet noodzakelijkerwijs dat er levensvatbare ziektekiemen aanwezig zijn.
- De test detecteert *C. difficile* met *tcdA/tcdB*-genen, maar maakt geen onderscheid tussen toxineproducerende en niet-toxineproducerende stammen
- Een negatief resultaat sluit een norovirus, rotavirus, *C. difficile* of co-infectie niet uit. Het wordt aanbevolen om negatieve geteste monsters te interpreteren in combinatie met aanvullende laboratoriumgegevens
- Een overmatige hoeveelheid ontlasting kan remmende effecten hebben op de testprestaties.
- Er werd een verminderde prestatie waargenomen voor *tcdA+/tcdB- C. difficile*-stammen.
- Een overmaat aan rotavirus A-virusdeeltjes kan leiden tot een verminderde prestatie van de *C. difficile* PCR.
- Er kon geen exclusiviteit voor rotavirus type C (varkens-rotavirus) worden bereikt. Daarom kan een verkeerde identificatie van rotavirus type C als type A niet worden uitgesloten.

Evaluatie van de analytische prestaties

Analytische gevoeligheid (detectielimiet)

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

Inclusiviteit

Om de inclusiviteit te evalueren, werd een *in silico* analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van de genoomsequentie van verschillende relevante Nawardsen, rotavirussen en *Clostridioides difficile*-stammen tegen de sequentie van de PCR-primers en hydrolyseprobe die gebruikt worden in de Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-test voor amplificatie en detectie van de respectieve pathogenen. Inclusiviteit kon worden aangetoond voor stammen in [tabel 2](#).

Exclusiviteit/analytische specificiteit

Om kruisreactiviteit (exclusiviteit) uit te sluiten, werd een *in silico*-analyse (BLAST-uitlijning) uitgevoerd van het doelgebied van het norovirus, rotavirus en *Clostridioides difficile* tegen de genomische sequentie van verschillende andere pathogenen die gewone gastro-intestinale pathogenen of nauw verwante soorten vertegenwoordigen. Voor het detectiesysteem van rotavirus konden sequentie-overeenkomsten in het probe- en primergebied worden gedetecteerd voor varkens-rotavirus (groep C), wat een mogelijke amplificatie tot gevolg had. Er was geen bewijs van interferentie voor het detectiesysteem van norovirus en *Clostridioides difficile* ([tabel 3](#)).

Reproduceerbaarheid

De reproduceerbaarheid van de Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 3 verschillende concentraties norovirus, rotavirus en *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff-test werd vastgesteld met behulp van een panel met 1 concentratie ($3 \times c95$) norovirus, rotavirus en *Clostridioides difficile*. 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.

Evaluatie van de klinische prestaties

Gevoeligheids- en specificiteitsresultaten op basis van monsters van vloeibare en zachte menselijke ontlasting. De monsters werden in een klinische omgeving verzameld en vergeleken met de resultaten van referentiemethoden.

Monsters voor testen met Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-cassettes werden vers gebruikt of ingevroren voor opslag en bereid zoals hierboven beschreven in eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

In het geval van referentietesten werden monsters bereid volgens de aanbevelingen van de gebruikte referentiemethoden. In totaal werden er 159 monsters geanalyseerd. De gevoeligheid of positieve procentuele overeenkomst (PPA) werd berekend als $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificiteit of negatieve procentuele overeenkomst werd berekend als $100\% \times TN / (TN + FP)$. De resultaten van de evaluatie van de klinische prestaties zijn weergegeven in [tabel 6](#), [tabel 7](#) en [tabel 8](#).

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbolen

Fabrikant



Serienummer



Fabricagedatum



Temperatuurgrens



Vervalddatum



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



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

Introduction

Le *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) est un bacille anaérobie sporulé Gram positif constitué de souches toxigènes et non-toxigènes. *C. difficile* est l'un des pathogènes les plus répandus des diarrhées nosocomiales, notamment chez les patients atteints de diarrhées associées aux antibiotiques. Ces dernières années, le nombre et la gravité des cas ont augmenté en Europe et dans le monde entier¹. Les symptômes de l'infection à *C. difficile* (ICD) vont d'une légère diarrhée à une colite pseudomembraneuse grave et potentiellement mortelle, même si la colonisation à *C. difficile* n'entraîne pas nécessairement une infection symptomatique. La perturbation de l'équilibre des micro-organismes intestinaux, en raison d'un traitement antibiotique par exemple, peut entraîner le développement de bactéries *C. difficile* toxigènes, qui dominent alors la colonisation et peuvent provoquer une ICD². Les facteurs impliqués dans la pathogenèse de *C. difficile* sont les gènes *tcdA* et *tcdB* codant pour la toxine A (entérotoxine) et la toxine B (cytotoxine) qui sont localisés dans une région chromosomique de 19,6 kb appelée le locus de pathogénicité (PaLoc). La plupart des souches pathogènes sont des toxines A et B positives (A+B+), mais certains isolats de variants pathogènes peuvent être des toxines A négative et B positive (A-B+). Elles sont responsables des maladies associées à *C. difficile*³. Certaines souches de *C. difficile* toxigènes produisent également une toxine appelée *C. difficile* transférase (CDT) ou toxine binaire⁴.

Le norovirus appartient à la classe des virus Caliciviridae et est connu pour être une maladie saisonnière. Il s'agit d'un agent pathogène très contagieux, responsable de la majorité des cas de gastro-entérite aiguë dans le monde. Les infections à norovirus chez l'homme sont principalement causées par les génogroupes II et I, le génogroupe II étant la cause prédominante des épidémies de norovirus. Les infections du tractus gastro-intestinal par le norovirus se caractérisent par l'apparition soudaine de symptômes tels que des nausées, des vomissements, des diarrhées et des douleurs abdominales. Le virus est particulièrement répandu dans les lieux collectifs tels que les hôpitaux, les écoles et les maisons de retraite, où il peut facilement se propager d'une personne à l'autre. La maladie ne dure généralement que quelques jours mais peut entraîner des complications plus graves chez les personnes immunodéprimées ou les personnes âgées^{5,6,7}.

Le rotavirus appartient à la classe des virus Reoviridae. Il s'agit d'une cause importante de gastro-entérite aiguë, en particulier chez les nourrissons et les jeunes enfants. Cette infection virale du tractus gastro-intestinal se caractérise par des symptômes tels que diarrhée sévère, vomissements, fièvre et déshydratation. La gastro-entérite associée au rotavirus peut entraîner des complications graves, y compris l'hospitalisation et même la mort, ce qui en fait un problème majeur de santé publique. Les efforts de prévention et de contrôle des infections à rotavirus, notamment par le biais de programmes de vaccination, ont joué un rôle crucial dans la réduction du fardeau de cette maladie. Les gastro-entérites aiguës causées par les norovirus et les rotavirus sont des maladies qui se résolvent d'elles-mêmes, mais qui, si elles ne sont pas traitées, peuvent connaître une évolution critique, en particulier chez les plus jeunes ou les personnes âgées.^{7,8,9,10}

Contenu de l'emballage

15 cartouches de test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff pour la détection de *Clostridioides difficile* (gènes de toxine *tcdA/tcdB*), norovirus humain du génogroupe I/II et rotavirus type A.

Liste des agents pathogènes		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus du génogroupe I/II	Rotavirus type A

Usage prévu

Le test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 *Clostridioides difficile* toxigène (gènes de toxine *tcdA/tcdB*), de norovirus humain du génogroupe I/II et de rotavirus humain de type A à partir d'échantillons sur écouvillons de

selles humaines liquides ou molles pour aider au diagnostic des infections gastro-intestinales aiguës 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 *C. difficile*, norovirus, rotavirus ou une autre infection gastro-intestinale. Les résultats doivent être corrélés cliniquement à l'historique du patient, aux observations cliniques et aux informations épidémiologiques. Des informations de diagnostic complémentaires sont nécessaires pour déterminer le statut infectieux du patient. Destiné à une utilisation avec un analyseur Vivalytic *one* par les professionnels de santé uniquement dans des contextes de laboratoires.

Informations de sécurité

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

Pour un usage de diagnostic *in vitro* par des professionnels de santé formés.



AVERTISSEMENT

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

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

Équipement et consommables complémentaires et nécessaires mais non fournis

- Analyseur Bosch Vivalytic one (numéro de référence F09G300115)
- Pipette (100–1 000 µL)
- Embouts de pipettes de filtres stériles 100–1000 µL
- Kits de prélèvement sur écouvillon
 - Écouvillon floqué ordinaire FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Milieu de transport
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vêtements de protection adaptés

Principe du test

Le test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Type/milieu d'échantillon

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

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

Si jamais l'échantillon n'est pas traité immédiatement après le prélèvement d'échantillon, les acides nucléiques seront conservés dans le milieu de transport eNAT® jusqu'à 4 semaines à température ambiante et à 4 °C et jusqu'à 6 mois entre -20 °C et -80 °C (voir le manuel de l'utilisateur du milieu de transport eNAT®¹¹).

Préparation des échantillons

Utilisez un écouvillon floqué ordinaire FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pour prélever une petite quantité de selles en insérant l'embout de l'écouvillon floqué dans l'échantillon de selles et en le faisant tourner. Les zones sanguinolentes, visqueuses ou liquides des selles doivent être sélectionnées et prélevées. Après le prélèvement, examinez l'écouvillon pour vous assurer que de la matière fécale est visible sur l'embout. Si ce n'est pas le cas, insérez à nouveau l'écouvillon floqué dans l'échantillon de selles et faites-le tourner en vous assurant que toute la zone de l'embout de l'écouvillon est en contact avec l'échantillon. Assurez-vous que l'écouvillon est juste recouvert de selles et éliminez l'excès de selles en faisant tourner doucement l'écouvillon contre le bord de l'échantillon. Après avoir prélevé l'écouvillon, transférez l'écouvillon sur le tube Copan eNAT® de 2 ml avec le milieu de transport eNAT®. Maintenez la tige de l'écouvillon entre le pouce et l'index, écrasez et mélangez l'échantillon de selles contre le côté du tube pour répartir uniformément et suspendre l'échantillon dans le milieu de conser-

vation. Maintenez la tige de l'écouvillon près du bord du tube, pliez-la à un angle de 180 degrés pour la rompre au niveau du point de rupture marqué. Jetez la partie supérieure rompue de la tige de l'écouvillon et serrez le capuchon. Agitez vigoureusement le tube contenant l'échantillon sur écouvillon et le milieu eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) pendant au moins 10 secondes pour l'homogénéiser. Utilisez une pipette afin de remplir 300 µl d'échantillon de patient homogénéisé dans l'entrée échantillon de la cartouche. Veillez à ne pipeter que le surnageant (partie supérieure de l'échantillon) afin d'éviter le transfert de particules de selles. En cas d'excès de particules dans l'échantillon, il est recommandé de placer le tube échantillon sur une surface plane et de laisser les particules sédimenter pendant 5 minutes. 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 58 minutes. Pour les échantillons à titre élevé, les résultats sont disponibles en moins de 41 min. et le test peut être clôturé plus tôt (voir le chapitre Fin du test).

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

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

Norovirus du génogroupe I/II	Rotavirus type A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validité	Résultat
-	-	+	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à rotavirus et <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à norovirus et <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à norovirus, rotavirus et <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à rotavirus.
+	+	-	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à norovirus et rotavirus.
+	-	-	+/-	valide	L'échantillon est considéré positif à norovirus.
-	-	-	+	valide	L'échantillon est considéré négatif.
-	-	-	-	invalide	Non évaluable ¹ .

¹Il est recommandé de recommencer le test.

PCR – courbe et valeur C_q

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

Échecs ou tests invalides

Un test est considéré comme invalide si aucun ADN cible et aucun Human Control n'est détecté. Une raison possible de l'invalidité d'un test peut être la mauvaise qualité de l'échantillon ou due à une absence partielle ou complète de matériel cellulaire humain dans l'échantillon. Les résultats s'affichent pour un test invalide mais ne peuvent pas servir à interpréter le diagnostic. 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 Valytic *one* sont respectées (reportez-vous au manuel de l'utilisateur de l'analyseur Valytic *one*). Redémarrez l'analyseur Valytic *one*. Si le problème persiste, contactez le service client de votre distributeur local.

Fin du test

Dès qu'un résultat positif valide est affiché à l'écran pour l'un des trois agents pathogènes, l'utilisateur a la possibilité de finir le test.

Rapport de test

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

Avis aux utilisateurs de l'UE

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

Limites

Les résultats du test Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff doivent être interprétés exclusivement par un professionnel de santé formé. Les résultats du test Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff ne doivent pas être utilisés comme seul paramètre pour un diagnostic.

- Un résultat négatif n'exclut pas la présence d'agents pathogènes dans l'échantillon à un niveau inférieur à la sensibilité du test ou la présence d'autres agents pathogènes non couverts par ce test.
- Il existe un risque de résultats faux négatifs ou faux positifs résultant d'échantillons prélevés, transportés ou manipulés de manière inappropriée.
- Dans les cas limites, des caractéristiques de PCR atypiques peuvent survenir (par ex. courbe plane avec valeur C_q faible ou élevée). En cas de caractéristiques atypiques, les résultats ne peuvent pas être utilisés pour l'interprétation du diagnostic. Les résultats non concluants sont marqués par le logiciel. Il est recommandé de recommencer le test.
- Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff est un test PCR qualitatif en temps réel qui ne fournit pas de résultats quantitatifs.
- Un résultat positif n'implique pas forcément la présence de pathogènes viables.
- Le test détecte les souches de C. difficile portant les gènes *tcdA/tcdB*, mais ne fait pas la distinction entre les souches produisant des toxines et les souches ne produisant pas de toxines.
- Un résultat négatif n'exclut pas la présence de norovirus, rotavirus, C. difficile ou d'une co-infection. Il est recommandé d'interpréter les échantillons présentant des résultats négatifs dans leur contexte avec les données de laboratoire additionnelles.
- Une quantité excessive de selles peut avoir des effets inhibiteurs sur les performances de test.
- Une performance réduite a été observée pour les souches de C. difficile *tcdA+/tcdB-*.
- Une quantité excessive de particules du virus rotavirus A peut entraîner une réduction des performances de la PCR C. difficile.
- Il n'a pas été possible d'obtenir l'exclusivité pour le rotavirus de type C (rotavirus porcin). On ne peut donc pas exclure une identification erronée du rotavirus de type C comme étant de type A.

Évaluation des performances analytiques

Sensibilité analytique (limite de détection)

La limite de détection du test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 de norovirus, rotavirus et *Clostridioides difficile* pertinentes par rapport à la séquence des amorces PCR et la sonde d'hydrolyse utilisées dans le test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff pour l'amplification et la détection des agents pathogènes correspondants a été réalisée. L'inclusivité peut être démontrée pour les souches listées dans le [Tableau 2](#).

Exclusivité / Spécificité analytique

Pour exclure la réactivité croisée (exclusivité), une analyse *in silico* (alignement BLAST) de la région cible de norovirus, rotavirus et *Clostridioides difficile* par rapport à la séquence génomique de divers autres pathogènes représentant des pathogènes gastro-intestinaux communs ou des espèces étroitement apparentées a été réalisée. Pour le système de détection de rotavirus, des correspondances de séquence dans la zone de la sonde et de l'amorce ont pu être détectées pour le rotavirus porcin (groupe C), concluant à une amplification possible. Aucune interférence n'a été constatée pour le système de détection du norovirus et de *Clostridioides difficile* ([Tableau 3](#)).

Reproductibilité

La reproductibilité du test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff a été établie à l'aide d'un panel présentant 3 concentrations différentes de norovirus, rotavirus et *Clostridioides difficile*. Sur trois sites d'essai, chaque mélange a été testé sur le même ensemble d'instruments Vivalytic par le même opérateur avec 3 LOTS, en 4 réplicats sur 3 jours, respectivement. Les taux de positivité obtenus pour les différentes combinaisons ont été corrélés au taux de positivité attendu ([Tableau 4a](#)).

Répétabilité

La répétabilité du test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff a été établie à l'aide d'un panel présentant 1 concentration ($3 \times c_{95}$) de *Clostridioides difficile*. 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.

Évaluation des performances cliniques

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

Les échantillons utilisés pour les tests avec les cartouches Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff venaient d'être préparés ou avaient été congelés pour le stockage et préparés comme décrit ci-dessus dans le milieu eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Pour les tests de référence, les échantillons ont été préparés conformément aux recommandations des méthodes de référence utilisées. Au total, 159 échantillons ont été analysés. La sensibilité ou le pourcentage de concordance positif (PPA) a été calculé comme étant $100 \% \times TP / (TP + FN)$. La spécificité ou le pourcentage de concordance négatif a été calculé comme étant $100 \% \times TN / (TN + FP)$. Les résultats de l'évaluation des performances cliniques sont présents dans le [Tableau 6](#), le [Tableau 7](#) et le [Tableau 8](#).

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symboles



Fabricant



Numéro de série



Date de fabrication



Limite de température



Date de péremption



Ne pas utiliser si l'emballage est endommagé



Numéro de lot



À usage unique seulement



Numéro de référence



Consulter le manuel de l'utilisateur



Contient <n> tests



Appareil médical de diagnostic *in vitro*

CE₀₁₂₃ Marquage CE



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

Introduzione

Clostridioides difficile (*C. difficile*) è un bacillo anaerobio gram-positivo e sporigeno, costituito da ceppi tossigeni e non tossigeni. *C. difficile* è uno dei patogeni più comuni della diarrea nosocomiale, soprattutto nei pazienti con diarrea associata ad antibiotici. Negli ultimi anni, il numero e la gravità dei casi sono aumentati in Europa e nel mondo.¹ I sintomi dell'infezione da *C. difficile* (CDI) vanno da una lieve diarrea a una grave colite pseudomembranosa potenzialmente letale, anche se la colonizzazione di *C. difficile* non porta necessariamente a un'infezione sintomatica. L'alterazione dell'equilibrio dei microrganismi intestinali, ad esempio a causa di un trattamento antibiotico, può provocare l'insediamento di *C. difficile* tossigeno, che domina la colonizzazione e potrebbe dare inizio alla CDI.²

I fattori coinvolti nella patogenesi di *C. difficile*, sono i geni *tcdA* e *tcdB* che codificano la tossina A (enterotossina) e la tossina B (citotossina), localizzati in una regione cromosomica di 19,6 kb denominata locus di patogenicità (Pa-Loc). La maggior parte dei ceppi patogeni è positiva alle tossine A e B (A+B+), ma alcuni isolati patogeni varianti possono essere negativi alla tossina A e positivi alla B (A-B+). Questi sono la causa delle malattie associate a *C. difficile*.³ Alcuni ceppi di *C. difficile* tossigeni producono anche una tossina chiamata *C. difficile* transferasi (CDT), ossia tossina binaria.⁴

Il norovirus appartiene alla classe dei virus Caliciviridae ed è noto per essere una malattia stagionale. È un agente patogeno altamente contagioso, responsabile della maggior parte dei casi di gastroenterite acuta nel mondo. Le infezioni da norovirus nell'uomo sono causate principalmente dai genogruppi II e I; il genogruppo II è la causa predominante delle epidemie di norovirus. Le infezioni del tratto gastrointestinale da norovirus sono caratterizzate da sintomi a insorgenza improvvisa come nausea, vomito, diarrea e dolore addominale. Il virus è particolarmente diffuso in ambienti collettivi come ospedali, scuole e case di cura, dove può facilmente trasmettersi da persona a persona. La malattia dura in genere pochi giorni, ma può causare complicanze più gravi nei soggetti immunocompromessi o negli anziani.^{5,6,7}

Il rotavirus appartiene alla classe dei virus Reoviridae. È una causa significativa di gastroenterite acuta, soprattutto nei neonati e nei bambini piccoli. L'infezione virale del tratto gastrointestinale è caratterizzata da sintomi quali diarrea grave, vomito, febbre e disidratazione. La gastroenterite associata al rotavirus può portare a gravi complicanze, tra cui il ricovero in ospedale e persino il decesso, fattori che lo rendono un importante problema di salute pubblica. Gli sforzi volti a prevenire e controllare le infezioni da rotavirus, ad esempio attraverso programmi di vaccinazione, sono stati fondamentali per ridurre l'impatto di questa malattia. Le gastroenteriti acute causate da norovirus e rotavirus sono malattie autolimitanti, ma se non trattate possono causare un decorso critico della malattia, soprattutto nei più giovani o negli anziani.^{7,8,9,10}

Contenuto della confezione

15 Cartucce per test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff per il rilevamento di *Clostridioides difficile* (geni della tossina *tcdA/tcdB*), norovirus umano di genogruppo I/II e rotavirus di tipo A.

Elenco dei patogeni		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogruppo I/II	Rotavirus di tipo A

Destinazione d'uso

Il test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff è un test diagnostico qualitativo *in vitro* automatizzato basato sulla reazione a catena della polimerasi (PCR) in tempo reale per il rilevamento degli acidi nucleici dei geni tossigeni *Clostridioides difficile* (geni della tossina *tcdA/tcdB*) norovirus umano di genogruppo I/II e rotavirus di tipo A da campioni di tamponi di feci umane liquide o molli per aiutare nella diagnosi di infezioni gastrointestinali acute di individui sintomatici.

I risultati non dovrebbero essere utilizzati come unica base per la diagnosi e la terapia e le altre decisioni che riguardano la gestione del paziente. I risultati positivi non escludono la possibilità di co-infezione con altri patogeni. L'agente (o agenti) rilevato potrebbe non essere l'unica causa della patologia. I risultati negativi non escludono un'infezione da *C. difficile*, norovirus o

rotavirus o un'altra infezione gastrointestinale. I risultati potrebbero essere clinicamente correlati alle osservazioni cliniche sull'anamnesi del paziente e alle altre informazioni epidemiologiche. Sono necessarie altre informazioni diagnostiche per determinare lo stato infettivo del paziente. Il test può essere utilizzato solo con un analizzatore Vivalytic *one* da parte di operatori sanitari in contesti di laboratorio.

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.
- Per garantire il corretto svolgimento del test, rispettare le buone pratiche di laboratorio.
- Le provette biologiche, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere considerate come in grado di trasferire gli agenti infettivi e quindi devono essere maneggiati con cura. Maneggiare i campioni e le cartucce potenzialmente infettive dei pazienti in base alle norme nazionali di laboratorio e procedere al loro smaltimento secondo le norme regionali e di laboratorio.
- Rispettare le norme e le pratiche di sicurezza nazionali.

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

Apparecchiatura e consumabili aggiuntivi richiesti ma non forniti

- Analizzatore Bosch Vivalytic *one* (numero di riferimento F09G300115)
- Pipettatore (100-1000 µl)
- Puntali sterili per pipette 100-1000 µl
- Kit tampone di raccolta
 - Tampone floccato standard FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Liquido di trasporto
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Indumenti protettivi adeguati

Principio del test

Il test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Tipo/Liquido campione

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

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

Se il campione non viene processato immediatamente dopo il prelievo, gli acidi nucleici si conservano nel terreno di trasporto eNAT® fino a 4 settimane a temperatura ambiente e a 4 °C e fino a 6 mesi a una temperatura compresa tra -20 °C e -80 °C (vedere le istruzioni d'uso del terreno di trasporto eNAT®¹¹).

Preparazione del campione

Utilizzare un tampone floccato standard FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) per raccogliere una piccola quantità di feci inserendo la punta del tampone floccato nel campione di feci e ruotandolo. È necessario selezionare e raccogliere le aree sanguinolente, viscidose o acquose delle feci. Dopo la raccolta, esaminare il tampone per assicurarsi che il materiale fecale sia visibile sulla punta. In caso contrario, inserire nuovamente il tampone floccato nel campione di feci e ruotare facendo attenzione che tutta l'area della punta del tampone venga a contatto con il campione. Assicurarsi che il tampone sia appena coperto dalle feci e rimuovere le feci in eccesso ruotando delicatamente il tampone contro il bordo del campione. Dopo il prelievo, trasferire il tampone nella provetta Copan eNAT® da 2 ml con il terreno di trasporto eNAT®. Tenendo l'asta del tampone tra pollice e l'indice, schiacciare e mescolare il campione di feci contro il lato della provetta per disperdere e sospendere uniformemente il campione nel terreno di conservazione. Tenere l'asta del tampone vicino al bordo della provetta, piegarla formando un angolo di 180 gradi per romperla nel punto di rottura segnato. Gettare la parte superiore rotta del tampone e chiudere il tappo. Agitare la provetta contenente il campione del tampone e il terreno eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) con attenzione per almeno 10 secondi per consentire l'omogeneizzazione. Utilizzare un pipettatore per introdurre 300 µl di campione paziente omogeneizzato nell'ingresso per campione della cartuccia. Assicurarsi di prelevare solo il surnatante (parte superiore del campione) per evitare il trasporto di particelle di feci. In caso di eccesso di particelle nel campione, si raccomanda di posizionare la provetta su una superficie piana e di lasciare sedimentare le particelle per 5 minuti.

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 58 minuti. Per i campioni

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Istruzioni d'uso

ad alto titolo, i risultati sono disponibili entro 41 minuti, dopo i quali è possibile concludere il ciclo di test (vedere il capitolo Fine del test).

Il campione viene classificato come *C. difficile* positivo, rotavirus e *C. difficile* positivo, norovirus e *C. difficile* positivo, norovirus e rotavirus e *C. difficile* positivo, norovirus positivo, norovirus e rotavirus positivo, norovirus positivo, negativo o non valido. In caso di rilevamento positivo di un patogeno, il test è considerato valido anche se Human Control è negativo.

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

Norovirus genogruppo I/II	Rotavirus di tipo A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Validità	Risultato
-	-	+	+/-	valido	Il campione è considerato <i>C. difficile</i> positivo.
-	+	+	+/-	valido	Il campione è considerato rotavirus e <i>C. difficile</i> positivo.
+	-	+	+/-	valido	Il campione è considerato norovirus e <i>C. difficile</i> positivo.
+	+	+	+/-	valido	Il campione è considerato positivo a norovirus, rotavirus e <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	valido	Il campione è considerato rotavirus positivo.
+	+	-	+/-	valido	Il campione è considerato norovirus e rotavirus positivo.
+	-	-	+/-	valido	Il campione è considerato norovirus positivo.
-	-	-	+	valido	Il campione è considerato negativo.
-	-	-	-	non valido	Non valutabile. ¹

¹ È consigliabile ripetere il test.

PCR – Curva e valore C_q

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

Test non valido o non riuscito

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

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

Fine del test

Quando sullo schermo viene visualizzato un risultato valido e positivo per uno dei tre patogeni visualizzati sullo schermo, l'utente ha la possibilità di terminare il test.

Report del test

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

Note per gli utenti nell'UE

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

Limiti

I risultati del test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff devono essere interpretati solo da un operatore sanitario qualificato. I risultati del test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff non devono essere utilizzati come unico parametro per la diagnosi.

- Un risultato negativo non esclude la presenza di patogeni nel campione a un livello inferiore alla soglia di sensibilità o di altri patogeni non coperti dal saggio.
- Se i campioni vengono raccolti, trasportati o maneggiati in modo errato, ciò può dare origine a risultati falsi positivi o falsi negativi.
- In alcuni casi limite si possono verificare delle caratteristiche PCR atipiche (ad es. curva piatta con valore C_q basso o alto). In caso di risultati con caratteristiche atipiche, questi non potranno essere utilizzati per l'interpretazione diagnostica. I risultati inconcludenti vengono contrassegnati come tali dal software. Si raccomanda di ripetere il test.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff è un test PCR qualitativo in tempo reale e non fornisce un risultato quantitativo.
- Un risultato positivo non significa automaticamente che sono presenti patogeni virali.
- Il test rileva *C. difficile* portatore dei geni *tcdA/tcdB*, ma non distingue tra ceppi produttori di tossine e ceppi non produttori di tossine.
- Un risultato negativo non preclude la presenza di infezione da norovirus, rotavirus, *C. difficile* o una co-infezione. Si raccomanda di interpretare i campioni negativi analizzati nel contesto di ulteriori dati di laboratorio.
- Una quantità eccessiva di feci può avere effetti inibitori sulle prestazioni del saggio.
- È stata osservata una prestazione ridotta per i ceppi *tcdA+/tcdB-* di *C. difficile*.
- Un eccesso di particelle virali di rotavirus A può portare a una riduzione delle prestazioni del PCR *C. difficile*.
- Non è stato possibile ottenere l'esclusività per il rotavirus di tipo C (rotavirus suino). Pertanto, non si può escludere un'errata identificazione del rotavirus di tipo C come tipo A.

Valutazione delle prestazioni analitiche**Sensibilità analitica (limite di sensibilità)**

Il limite di sensibilità del test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 norovirus, rotavirus e *Clostridioides difficile* rilevanti rispetto alla sequenza dei primer PCR e della sonda di idrolisi utilizzati nel test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff per l'amplificazione e il rilevamento dei rispettivi patogeni. È stato possibile dimostrare l'inclusività per i ceppi elencati nella [tabella 2](#).

Esclusività / Specificità analitica

Per escludere la reattività incrociata (esclusività), è stata condotta un'analisi *in silico* (allineamento BLAST) della regione target di norovirus, rotavirus e *Clostridioides difficile* rispetto alla sequenza genomica di vari altri patogeni che rappresentano patogeni comuni dell'apparato gastrointestinale o di specie strettamente correlate. Per il sistema di rilevamento del rotavirus, è stato possibile rilevare corrispondenze di sequenza nell'area della sonda e del primer per il rotavirus suino (gruppo C), concludendo una possibile amplificazione. Non è stata rilevata alcuna interferenza per il sistema di rilevamento di norovirus e *Clostridioides difficile* ([tabella 3](#)).

Riproducibilità

La riproducibilità del test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff è stata stabilita utilizzando un pannello con 3 diverse concentrazioni di norovirus, rotavirus e *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff è stata stabilita utilizzando un pannello con 1 concentrazione ($3 \times c95$) di norovirus, rotavirus e *Clostridioides difficile*. 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.

Valutazione delle prestazioni cliniche

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

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

Nel caso di test di riferimento, i campioni sono stati preparati secondo le raccomandazioni dei metodi di riferimento utilizzati. Complessivamente sono stati analizzati 159 campioni. La sensibilità o PPA (concordanza positiva espressa in percentuale) è stata calcolata come $100\% \times TP / (TP + FN)$. La specificità o NPA (concordanza negativa espressa in percentuale) è stata calcolata come $100\% \times TN / (TN + FP)$. I risultati della valutazione delle prestazioni cliniche sono riportati nella [tabella 6](#), [tabella 7](#) e [tabella 8](#).

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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

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

Innledning

Clostridioides difficile (*C. difficile*) er en grampositiv, sporedannende anaerob stavbakterie som består av toksigene og ikke-toksigene stammer. *C. difficile* er et av de vanligste patogenene ved nosokomial diaré, spesielt hos pasienter med antibiotikaassosiert diaré. De siste årene har antallet og alvorlighetsgraden av tilfellene økt i Europa og resten av verden.¹ Symptomene på en *C. difficile*-infeksjon (CDI) varierer fra mild diaré til alvorlig livstruende pseudomembranøs kolitt, selv om kolonisering av *C. difficile* ikke nødvendigvis fører til en symptomatisk infeksjon. Forstyrrelser i balansen mellom tarmens mikroorganismer, f.eks. på grunn av antibiotikabehandling, kan føre til at toksigen *C. difficile* etablerer seg, dominerer koloniseringen og kan være starten på CDI.²

Faktorer involvert i patogenesen for *C. difficile*, er genene *tcdA* og *tcdB* som koder for toksin A (enterotoksin) og toksin B (cytotoksin), som er lokalisert i et 19,6 kb kromosomalt område kalt patogenitetsloket (PaLoc). De fleste patogene stammene er toksin A- og B-positive (A+B+), men noen patogene varianter kan være toksin A-negative og B-positive (A-B+). De er årsakene til *C. difficile*-assosierte sykdommer.³ Noen stammer av toksigen *C. difficile* produserer også et toksin som kalles *C. difficile*-transferase (CDT), eller binært toksin.⁴

Norovirus tilhører virusklassen Caliciviridae og er kjent for å være en sesongbetont sykdom. Det er et svært smittomt patogen som er ansvarlig for de fleste tilfeller av akutt gastroenteritt på verdensbasis. Norovirusinfeksjoner hos mennesker forårsaker hovedsakelig av genogruppe II og I, mens genogruppe II er den dominerende årsaken til norovirusutbrudd. Infeksjoner i mage-tarm-kanalen med norovirus kjennetegnes av plutselig forekommende symptomer som kvalme, oppkast, diaré og magesmerter. Viruset er spesielt utbredt i offentlige miljøer som sykehus, skoler og sykehjem, der det lett kan spre seg fra person til person. Sykdommen varer vanligvis bare noen få dager, men kan forårsake mer alvorlige komplikasjoner hos personer med nedsatt immunforsvar eller eldre.^{5,6,7}

Rotavirus tilhører virusklassen Reoviridae. Det er en viktig årsak til akutt gastroenteritt, særlig hos spedbarn og små barn. Infeksjon med dette viruset i mage-tarm-kanalen kjennetegnes av symptomer som alvorlig diaré, oppkast, feber og dehydrering. Rotavirusassosiert gastroenteritt kan føre til alvorlige komplikasjoner, inkludert sykehusinnleggelse og til og med død, noe som gjør det til et stort folkehelseproblem. Arbeidet med å forebygge og kontrollere rotavirusinfeksjoner, for eksempel gjennom vaksinasjonsprogrammer, har vært avgjørende for å redusere sykdomsbyrden. Akutt gastroenteritt forårsaket av både norovirus og rotavirus er selvbegrensende sykdommer, selv om de ubehandlet kan føre til et kritisk sykdomsforløp, spesielt hos de yngste eller eldre.^{7,8,9,10}

Pakkens innhold

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testkassetter for påvisning av *Clostridioides difficile* (toksingener *tcdA/tcdB*), humant norovirus-genogruppe I/II og rotavirus type A.

Liste over patogener		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus-genogruppe I/II	Rotavirus type A

Tiltenkt bruk

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen er en automatisert kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test basert på polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid for påvisning av nukleinsyrer fra toksigen *Clostridioides difficile* (toksingener *tcdA/tcdB*), humant norovirus-genogruppe I/II og humant rotavirus type A fra prøver med flytende eller myk avføring fra mennesker. Testen skal bidra til diagnostisering av akutte gastrointestinale infeksjoner hos symptomatiske personer.

Resultatene skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose eller andre beslutninger om pasientbehandling. Positive resultater utelukker ikke samtidig infeksjon med andre patogener. Det/de påviste agenset/-ene er kanskje ikke den definte sykdomsårsaken. Negative resultater utelukker ikke en infeksjon med *C. difficile*, norovirus, rotavirus eller annen gastrointestinal infek-

sjon. Resultater må samsvare klinisk med pasienthistorikken, kliniske observasjoner og epidemiologisk informasjon. Andre diagnostiske opplysninger er nødvendig for å fastsette pasientens infeksjonsstatus. Testen er beregnet for bruk med en Vivalytic *one*-analysator av helsepersonell i laboratoriemiljøer.

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 enhetsikkerhet). Bruk kun kassetter og tilbehør fra Vivalytic som er godkjent for bruk med Vivalytic *one*-analysatoren. Vær forsiktig for å unngå kontaminering når du håndterer pasientprøver og kassetter. Hvis det søles prøvemateriale på kassetten, skal den ikke brukes. Kast kassetten.

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



ADVARSEL

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

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

Tilleggsutstyr og forbruksvarer som kreves, men som ikke følger med

- Bosch Vivalytic *one*-analysator (referansenummer F09G300115)
- Pipette (100–1000 µl)
- Sterile filterpipettespisser 100–1000 µl
- Prøvetakingssett
 - Standard flokket vattpinne FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Egnede verneutstyr

Testprinsipp

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Prøvetype/medium

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

Prøver skal tas og oppbevares slik det er angitt i produsentens instruksjoner. Dersom prøven ikke behandles umiddelbart etter prøvetaking, vil nukleinsyrene bli bevart i eNAT®-transportmediet i opptil 4 uker ved romtemperatur og ved 4 °C og opptil 6 måneder ved -20 °C til -80 °C (se bruksanvisningen for eNAT® transportmedium¹¹).

Prøveklargjøring

Bruk en Standard flokket vattpinne FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) for å ta prøve av en liten mengde avføring ved å stikke tuppen av den flokkede vattpinnen inn i avføringsprøven og rotere rundt. Se gjerne etter blodig, slimete eller vannaktig avføring, og ta prøve av dette materialet. Når prøven er tatt, må du sjekke at avføring er synlig på tuppen av vattpinnen. Hvis den ikke er det, stikker du den flokkede vattpinnen inn i avføringsprøven igjen. Roter pinnen slik at hele tuppen av vattpinnen kommer i kontakt med prøvematerialet. Sørg for at vattpinnen er akkurat dekket av avføring, og fjern overflødig avføring ved å rotere vattpinnen forsiktig mot kanten av prøven. Etter prøvetaking overføres vattpinnen til 2 ml Copan eNAT®-røret med eNAT®-transportmediet. Hold skaftet på vattpinnen mellom tommelen og fingeren. Mos og bland avføringsprøven mot siden av røret for å spre og suspendere prøven jevnt i konserveringsmiddelet. Før skaftet på vattpinnen nær kanten av røret, og bøy det i en 180 graders vinkel. Knekk pinnen ved det markerte knekkpunktet. Kast den knekte øvre delen av vattpinneskaftet, og sett på korken. Rist prøverøret med vattpinneprøven og eNAT®-medium (COPAN Italia s.p.a.), grundig i minst 10 sekunder for homogenisering. Overfør 300 µl homogenisert pasientprøve i prøveinntaket på kassetten ved hjelp av en pipette. Sørg for å kun pipettere fra supernatanten (toppen av prøven) for å unngå at avføringspartikler følger med. Hvis det er for mange partikler i prøven, anbefales det å plassere prøverøret på en flat overflate og la partiklene sedimentere i 5 minutter.

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 58 minutter før resultatet er klart. Når det gjelder prøver med høye titre, er resultater tilgjengelig etter mindre enn 41 minutter, og testkjøringen kan avsluttes tidligere (se kapitlet om testavslutning).

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

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

Norovirus-genogruppe I/II	Rotavirus type A	C. difficile (tcdA/tcdB)	Human Control	Gyldighet	Resultat
-	-	+	+/-	gyldig	Prøven anses som C. difficile-positiv.
-	+	+	+/-	gyldig	Prøven anses som rotavirus- og C. difficile-positiv.
+	-	+	+/-	gyldig	Prøven anses som norovirus- og C. difficile-positiv.
+	+	+	+/-	gyldig	Prøven anses som norovirus-, rotavirus- og C. difficile-positiv.
-	+	-	+/-	gyldig	Prøven anses som rotavirus-positiv.
+	+	-	+/-	gyldig	Prøven anses som norovirus- og rotavirus-positiv.
+	-	-	+/-	gyldig	Prøven anses som norovirus-positiv.
-	-	-	+	gyldig	Prøven anses som negativ.
-	-	-	-	ugyldig	Kan ikke evalueres. ¹

¹Gjentatt testing anbefales

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. Resultatene vises for en ugyldig test, men disse kan ikke brukes til diagnostisk tolkning. Vær nøye med å bruke riktig prøvetype, prøvetaking og oppbevaring av prøven og 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

Så fort det vises et gyldig, positivt resultat for et av de tre patogenene på skjermen, kan brukeren fullføre testen.

Testrapport

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

Merknad til brukere i EU

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

Begrensninger

Resultatene av Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen skal kun tolkes av helsepersonell som har fått opplæring i dette. Resultatene av Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen skal ikke brukes som eneste grunnlag for diagnose.

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

Analytisk ytelseevaluering

Analytisk følsomhet (deteksjonsgrense)

Deteksjonsgrensen for Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen ble bestemt som den laveste konsentrasjonen av analytten som kan påvises konsekvent (≥ 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 norovirus-, rotavirus- og *Clostridioides difficile*-stammer mot sekvensen til PCR-primere og hydrolyseproben som ble brukt i Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen, for amplifikasjon og påvisning av de respektive patogenene. Inklusivitet kan vises for stammer som er oppført i [tabell 2](#).

Eksklusivitet / analytisk spesifisitet

For å utelukke kryssreaktivitet (eksklusivitet) ble det utført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenstilling) av målregionen for norovirus, rotavirus og *C. difficile* opp mot genomsekvensen til forskjellige andre patogener som utgjør vanlige gastrointestinale patogener eller nært beslektede arter. For påvisningssystemet for rotavirus kunne det påvises sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for porcint rotavirus (gruppe C), noe som konkluderte med en mulig amplifisering. Det var ingen tegn på interferens for påvisningssystemet for norovirus og *Clostridioides difficile* ([tabell 3](#)).

Reproduserbarhet

Reproduserbarheten av Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 3 ulike konsentrasjoner av norovirus, rotavirus og *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff-testen ble etablert ved hjelp av et panel med 1 konsentrasjon ($3 \times c95$) av norovirus, rotavirus og *Clostridioides difficile*. 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.

Klinisk ytelseevaluering

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

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

Ved referansetesting ble prøvene klargjort i henhold til anbefalingene for referansemetodene som ble brukt. Det ble analysert totalt 159 prøver. Sensitivitet eller positivt prosentamsvar (PPA) ble beregnet som $100\% \times TP / (TP + FN)$. Spesifisitet eller negativt prosentamsvar ble beregnet som $100\% \times TN / (TN + FP)$. Resultatene av den kliniske ytelseevalueringen er vist i tabell 6, tabell 7 og tabell 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. *J Med Virol* 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. *Arch Virol* 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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



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

Inledning

Clostridioides difficile (*C. difficile*) är en grampositiv, sporbildande anaerob bakterie bestående av toxinbildande och ej toxinbildande stammar. *C. difficile* är en av de vanligaste patogenerna vid nosokomial diarré, i synnerhet hos patienter med antibiotika-associerad diarré. På senare år har både antalet fall och allvarlighetsgraden ökat, såväl i Europa som resten av världen.¹

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

Involverade faktorer i patogenesen för *C. difficile* är generna *tcdA* och *tcdB* som kodar för toxin A (enterotoxin) och toxin B (cytotoxin) som finns i en 19,6 kb kromosomregion som kallas patogenicitetslokus (PaLoc). De flesta patogena stammar är toxin A- och B-positiva (A+B+), men vissa patogena varianter av isolat kan vara toxin A-negativa och B-positiva (A-B+). De är orsaken till *C. difficile*-associerade sjukdomar.³ Vissa stammar av toxinbildande *C. difficile* producerar även ett toxin som kallas *C. difficile*-transferas (CDT) eller binärt toxin.⁴

Norovirus tillhör familjen calicivirus som orsakar återkommande årliga epidemier. Det är en mycket smittsam patogen som är orsaken till majoriteten av fallen av akut gastroenterit i världen. Norovirusinfektioner hos människor orsakas huvudsakligen av genogrupp II och I, där genogrupp II är den dominerande orsaken till norovirusutbrott. Infektioner i mag- och tarmkanalen med norovirus kännetecknas av snabbt uppkommande symptom i form av bland annat illamående, kräkningar, diarré och buksmärter. Viruset är särskilt vanligt förekommande i offentliga miljöer som sjukhus, skolor och vårdboenden, där det lätt sprids från person till person. Sjukdomen varar normalt sett bara några dagar, men den kan orsaka mer allvarliga komplikationer hos personer med nedsatt immunförsvar eller hos äldre personer.^{5,6,7}

Rotavirus tillhör familjen reovirus. Det utgör en betydande orsak till akut gastroenterit, framför allt hos spädbarn och yngre barn. Det orsakar en virusinfektion i mag-tarmkanalen som kännetecknas av symptom som svår diarré, kräkningar, feber och uttorkning. Rotavirus-associerad gastroenterit kan orsaka allvarliga komplikationer som kan leda till sjukhusvistelse och till och med dödsfall, vilket gör det till ett allvarligt folkhälsoproblem. Åtgärder för att förebygga och kontrollera rotavirusinfektioner, t.ex. vaccinationsprogram, har varit viktiga när det gäller att minska bördan av den här sjukdomen. Akut gastroenterit orsakad av både norovirus och rotavirus är en självbegränsande sjukdom, men om den inte behandlas kan den få ett allvarligt förlopp hos framför allt väldigt unga eller gamla personer.^{7,8,9,10}

Förpackningens innehåll

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testpatroner för detektion av *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB*-toxingenerna), humant norovirus genogrupp I/II och rotavirus typ A.

Patogenlista		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogrupp I/II	Rotavirus typ A

Avsedd användning

Testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff är ett automatiskt kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test baserat på realtids-PCR (polymeraskedjereaktion) för detektion av nukleinsyror från toxinbildande *Clostridioides difficile* (toxingenerna *tcdA/tcdB*), humant norovirus genogrupp I/II och humant rotavirus typ A från pinnprover med flytande eller mjuk human avföring som ett hjälpmedel för diagnos av akut gastrointestinal infektion hos symptomatiska personer.

Resultaten ska inte användas som enda grund för val av diagnos, behandling eller andra beslut som rör patienten. Positiva resultat utesluter inte infektion med andra patogener. Agens(er) som detekteras är eventuellt inte den avgörande orsaken till sjukdomen. Negativa resultat utesluter inte en infektion med *C. difficile*, norovirus, rotavirus eller annan gastrointestinal

infektion. Resultaten måste överensstämma kliniskt med patienthistorik, kliniska observationer och epidemiologisk information. Annan diagnostisk information är nödvändig för att kunna bestämma patientens infektionsstatus. Endast avsett för användning av sjukvårdspersonal med ett Vivalytic *one*-analysinstrument i laboriemiljö.

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

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

Ytterligare utrustning och förbrukningsartiklar som krävs men som inte tillhandahålls

- Analysinstrumentet Bosch Vivalytic *one* (referensnummer F09G300115)
- Pipett (100–1 000 µl)
- Sterila filterpipettspetsar 100–1 000 µl
- Pinnprovtagningskit
 - Flockad standard-provpinne FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Lämpliga skyddskläder

Testprincip

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 probearbetningen är inkluderade i patronen. Bearbetningen inkluderar cellysning, extraktion av nukleinsyra, DNA-amplifiering och detektion.

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

Provtyp/medium

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

Samla in och förvara proverna enligt tillverkarens anvisningar.

Om provet inte bearbetas omedelbart efter provinsamling kan nukleinsyror förvaras i eNAT®-transportmedium i upp till 4 veckor i rumstemperatur och i 4 °C samt upp till 6 månader i -20 °C till -80 °C (se bruksanvisningen till eNAT®-transportmedium¹¹).

Provberedning

Använd en flockad standard-provpinne FLOQSwabs® (COPAN Italia S.p.A.) för att samla in en liten mängd avföringsprov genom att sätta in spetsen på den flockade pinnen i avföringsprovet och rotera den. Blodiga, slemmiga eller vattniga områden i avföringen ska väljas ut och samlas in. Efter provinsamlingen ska pinnen granskas för att säkerställa att faecesmaterial är synligt på spetsen. Om så inte är fallet ska den flockade pinnen åter sättas in i avföringsprovet och roteras. Var noga med att hela området på pinnspetsen är i kontakt med provet. Se till att pinnen är bara precis täckt med avföring och avlägsna överflödigt avföring genom att rotera pinnen försiktigt mot kanten av provet. Efter provinsamlingen ska pinnen överföras till ett 2 ml-Copan eNAT®-rör med eNAT®-transportmedium. Håll pinnskaftet mellan tummen och pekfingeret, mosa och blanda avföringsprovet mot sidan av röret så att provet löses upp och suspenderas jämnt i det konserverande mediet. Håll pinnskaftet nära rörets kant och böj det i 180 graders vinkel för att bryta av det vid brytmarkeringen. Kassera den avbrutna övre delen av pinnskaftet och sätt på locket. Skaka provröret som innehåller pinnprovet och eNAT®-medium (COPAN Italia s.p.a.) ordentligt i minst 10 sekunder så att provet homogeniseras. Använd en pipett för att fylla 300 µl av det homogeniserade patientprovet i provinmatningen på patronen. Se till att endast pipettera från supernatanten (provets översta del) för att förhindra överföring av avföringspartiklar. Om det är en för stor mängd partiklar i provet rekommenderar vi att du placerar provröret på en plan yta och låter partiklarna sjunka undan i 5 minuter.

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 58 minuter. För prover med hög titer är resultat tillgängliga efter mindre än 41 minuter och testkörningen kan avslutas tidigare (se kapitlet Avsluta testet).

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Bruksanvisning

Provet klassificeras antingen som *C. difficile*-positivt, rotavirus- och *C. difficile*-positivt, norovirus- och *C. difficile*-positivt, norovirus- och rotavirus- och *C. difficile*-positivt, rotavirus-positivt, norovirus- och rotavirus-positivt, norovirus-positivt, negativt eller ogiltigt. Vid en positiv detektion av en patogen betraktas testet som giltigt även om Human Control är negativt.

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

Norovirus genogrupp I/II	Rotavirus typ A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Giltighet	Resultat
-	-	+	+/-	giltigt	Provet betraktas som <i>C. difficile</i> -positivt.
-	+	+	+/-	giltigt	Provet betraktas som rotavirus- och <i>C. difficile</i> -positivt.
+	-	+	+/-	giltigt	Provet betraktas som norovirus- och <i>C. difficile</i> -positivt.
+	+	+	+/-	giltigt	Provet betraktas som norovirus-, rotavirus- och <i>C. difficile</i> -positivt.
-	+	-	+/-	giltigt	Provet betraktas som rotavirus-positivt.
+	+	-	+/-	giltigt	Provet betraktas som norovirus- och rotavirus-positivt.
+	-	-	+/-	giltigt	Provet betraktas som norovirus-positivt.
-	-	-	+	giltigt	Provet betraktas som negativt.
-	-	-	-	ogiltigt	Kan ej utvärderas. ¹

¹Omtestning rekommenderas

PCR – kurva och C_q-värde

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

Ogiltiga eller misslyckade tester

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

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

Avsluta testet

Så fort ett giltigt, positivt resultat visas för någon av de tre patogenerna på skärmen kan användaren välja att avsluta testet.

Testrapport

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

Information för användare i EU

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

Begränsningar

Resultaten från testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff får endast utvärderas av utbildad sjukvårdspersonal. Resultaten från testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff får inte användas som enda parameter för diagnos.

- Ett negativt resultat utesluter inte att det finns patogener i provet på en nivå under analysens sensitivitet eller att det finns andra patogener som inte omfattas av denna analys.
- Det finns risk för falskt negativa eller falskt positiva resultat till följd av prover som samlats in, transporterats eller hanterats på fel sätt.
- Vid gränsfall kan icke typiska PCR-egenskaper uppstå (t.ex. en plan kurva med lågt eller högt C_q-värde). Vid icke typiska egenskaper får resultat från analysen inte användas för diagnostisk tolkning. Osäkra resultat markeras av programvaran. Omtestning rekommenderas.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff är ett kvalitativt realtids-PCR-test och ger inget kvantitativt resultat.
- Ett positivt resultat innebär inte med säkerhet att livsdugliga patogener förekommer.
- Testet detekterar *C. difficile* som bär *tcdA/tcdB*-gener, men särskiljer inte mellan toxinbildande och icke toxinbildande stammar.
- Ett negativt resultat utesluter inte infektion med norovirus, rotavirus, *C. difficile* eller en coinfektion. Vi rekommenderar att prover som testats negativt tolkas med hänsyn till ytterligare laboratoriedata.
- En för stor mängd avföringsprov kan ha hämmande effekt på analysens prestanda.
- En lägre prestanda observerades för *C. difficile*-stammar som bär *tcdA+*/*tcdB-*
- En för stor mängd rotavirus A-partiklar kan leda till en lägre prestanda för *C. difficile* PCR
- Exklusivitet för rotavirus typ C (rotavirus hos gris) kunde inte uppnås. Det går därför inte att utesluta felidentifiering av rotavirus typ C som typ A.

Utvärdering av analytisk prestanda

Analytisk sensitivitet (detektionsgräns)

Detektionsgränsen för testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff fastställdes som den lägsta koncentrationen analyt som konsekvent kan detekteras (≥ 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 norovirus, rotavirus och *Clostridioides difficile* jämfördes med sekvensen för PCR-primers och hydrolysprober som används i testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff för amplifiering och detektion av respektive patogener. Inklusivitet kunde uppvisas för stammar som listas i [tabell 2](#).

Exklusivitet/analytisk specificitet

För att utesluta korsreaktivitet (exklusivitet) utfördes en *in silico*-analys (BLAST-anpassning) där målregionen för norovirus, rotavirus och *Clostridioides difficile* jämfördes med den genomiska sekvensen för andra patogener som representerar vanliga gastrointestinala patogener eller nära besläktade arter. För detektionssystemet för rotavirus kunde sekvensmatchningar i prob- och primerområdet detekteras för rotavirus hos gris (grupp C), vilket indikerar en möjlig amplifiering. Inga bevis på interferens kunde påvisas för detektionssystemet för norovirus och *Clostridioides difficile*. (Tabell 3).

Reproducerbarhet

Reproducerbarheten för testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff fastställdes genom att använda en panel med 3 olika koncentrationer av norovirus, rotavirus och *Clostridioides difficile*. Varje blandning testades på tre 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).

Repeterbarhet

Repeterbarheten för testet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff fastställdes genom att använda en panel med 1 koncentration ($3 \times c95$) av norovirus, rotavirus och *Clostridioides difficile*. 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.

Utvärdering av klinisk prestanda

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

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

Vid referenstestning bereddades proverna enligt rekommendationerna för respektive använd referensmetod. Totalt 159 prover analyserades. Sensitiviteten eller den procentuella överensstämmelsen för positiva resultat (PPA) beräknades som $100 \% \times TP / (TP + FN)$. Specificiteten eller den procentuella överensstämmelsen för negativa resultat beräknades som $100 \% \times TN / (TN + FP)$. Resultaten från utvärderingen av klinisk prestanda visas i tabell 6, tabell 7 och tabell 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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

CE₀₁₂₃ CE-märkning

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

Johdanto

Clostridioides difficile (*C. difficile*) on grampositiivinen, itiöitä muodostava anaerobinen basilli, jolla on sekä toksigeenisä että ei-toksigeenisä kantoja. *C. difficile* on yksi yleisimmistä sairaalasyntyisen ripulin patogeeneistä, erityisesti potilailla, joilla on antibioottilhoidon aiheuttama ripuli. Viime vuosina tapausten määrä ja vakavuus ovat lisääntyneet Euroopassa ja maailmanlaajuisesti.¹ *C. difficile* -infektion (CDI) oireet vaihtelevat lievästä ripulista vakavaan hengenvaaralliseen pseudomembranoottiseen koliittiin, vaikka pelkkä *C. difficile* -infektion kolonisaatio ei välttämättä johda oireiseen infekioon. Suoliston mikrobitasapainon häiriintyminen esimerkiksi antibioottilhoidon vuoksi voi mahdollistaa toksigeenisen *C. difficile* -kannan asettumisen suolistoon ja pääsemisen vallalle kolonisaatiossa, mikä voi olla CDI:n käynnistävä tekijä.² *C. difficile* -bakteerin patogeneesiin vaikuttavat tekijät ovat geenit *tcdA* ja *tcdB*, jotka koodaavat toksiniä A (enterotoksiini) ja toksiniä B (sytotoksiini). Ne sijaitsevat kromosomialueella 19,6 kb, jota kutsutaan patogeneisuuden lokukseksi (PaLoc). Useimmat patogeeniset kannat ovat positiivisia sekä toksiinille A että toksiinille B (A+B+), mutta joidenkin patogeenisien varianttien isolaatit voivat olla toksini A -negatiivisia mutta toksini B -positiivisia (A-B+). Ne ovat *C. difficile*en liittyvien sairauksien aiheuttajia.³ Jotkin toksigeenisistä *C. difficile* -kannoista tuottavat myös toksiniä, jota kutsutaan nimellä *C. difficile* -transferaasi (CDT) tai binääritoksiini.⁴

Norovirus kuuluu Calciviridae-virusluokkaan ja tunnetaan kausiluontoisena tautina. Se on erittäin tarttuva taudinaiheuttaja, joka aiheuttaa suurimman osan akuutista gastroenteriitista maailmanlaajuisesti. Norovirustartunnat ihmisillä johtuvat pääasiassa genoryhmästä II ja I, ja genoryhmä II on suurin norovirus epidemian aiheuttaja. Maha-suolikanavan infektiolle ovat ominaisia äkilliset oireet, kuten pahoinvointi, oksentelu, ripuli ja vatsakipu. Virusta esiintyy erityisesti yhteisöissä ympäristöissä, kuten sairaaloissa, kouluissa ja hoitokodeissa, joissa se voi levitä helposti ihmisestä toiseen. Sairaus kestää tyypillisesti vain muutaman päivän, mutta voi aiheuttaa vakavia komplikaatioita immuunipuutteisilla tai ikääntyneillä.^{5,6,7}

Rotavirus kuuluu Reoviridae-virusluokkaan. Se on merkittävä akuutin gastroenteriitin aiheuttaja erityisesti imeväisillä ja pikkulapsilla. Sen maha-suolikanavan virusinfektioille ovat ominaisia oireet, kuten vaikea ripuli, oksentelu, kuume ja kuivuminen. Rotavirukseen liittyvä gastroenteriitti voi johtaa vakaviin komplikaatioihin, kuten sairaalahoitoon ja jopa kuolemaan, mikä tekee siitä merkittävän kansanterveydellisen ongelman. Rotavirusinfektioiden ehkäiseminen ja hallinta esimerkiksi rokotosohjelmien avulla on ollut ratkaisevan tärkeää taudin aiheuttaman taakan vähentämiseksi. Sekä noroviruksen että rotaviruksen aiheuttama akuutti gastroenteriitti ovat itseään rajoittavia sairauksia, joskin hoitamattomana ne voivat aiheuttaa kriittisen sairauden erityisesti pikkulapsilla tai ikääntyneillä.^{7,8,9,10}

Pakkauksen sisältö

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus-, C. diff -testikasettia *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB*-toksiinigenit), ihmisen noroviruksen genoryhmän I/II ja rotavirustyyppiin A havaitsemiseksi.

Patogeeniluettelo		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Noroviruksen genoryhmä I/II	Rotavirustyyppi A

Käyttötarkoitus

Vivalytic Noro-, Rota- ja C. diff -testi on automatisoitu kvalitatiivinen, *in vitro*-diagnostinen testi, joka perustuu reaaliaikaiseen polymeraasiketjureaktioon (PCR). Testillä tunnistetaan toksigeenisen *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB*), ihmisen noroviruksen genoryhmän I/II ja ihmisen rotavirustyyppiin A nukleinihapot ihmisen nestemäisistä tai pehmeistä ulosteesta otetuista pyyhkäisyntäytteistä oireilevien yksilöiden akuuttien maha-suolikanavan infektioiden diagnosointia varten.

Tuloksia ei pidä käyttää ainoana perustana diagnoosin, hoidon tai muiden potilaanhallintapäätösten tekemiselle. Positiiviset tulokset eivät sulje pois muiden patogeenisien rinnakkaisinfektiota. Havaitut aineet eivät välttämättä ole sairauden lopullinen syy. Negatiiviset tulokset eivät sulje pois *C. difficile*-, norovirus-, rotavirus- tai muuta maha-suolikanavan infektiota. Tulosten täytyy

korreloida kliinisesti potilashistorian, kliinisten havaintojen ja epidemiologisten tietojen kanssa. Muita diagnostisia tietoja tarvitaan potilaan infektion tilan määrittämiseksi. Tarkoitettu vain terveydenhuollon ammattilaisten käyttöön Vivalytic *one* -analysointilaitteen kanssa laboratorioympäristöissä.

Turvallisuutta koskevia tietoja

Nämä käyttöohjeet sisältävät vain testikohtaista tietoa. Lisätietoja varoituksesta 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 henkilösuojaimia.
- 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.
- Noudata aina hyvää laboratorikäytäntöä, jotta testi suoritetaan asianmukaisesti.
- Biologisten näytteiden, siirtolaitteiden ja käytettyjen kasettien tulee katsoa pystyvän välttämään 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
- Näytetikkupakkaukset
 - Normaalikärkiset FLOQSwabs®-nukkatikut 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Väliaine
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Asianmukainen suojavaatetus

Testiperiaate

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-pohjainen testi.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – käyttöopas

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 puskuri, joka sisältää puhdistettuja nukleiinihappoja uutto-prosessin lopussa.

Näytetyyppi/väliaine

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

Kerää ja säilytä näytteitä valmistajan ohjeissa esitetyllä tavalla.

Jos näytettä ei käsitellä välittömästi näytteenoton jälkeen, nukleiinihapot säilyvät eNAT®-kuljetusväliaineessa enintään 4 viikkoa huoneenlämmössä ja enintään 6 kuukautta 4 °C:ssa ja -20 °C – -80 °C:ssa (katso eNAT®-kuljetusväliaineen käyttöohjeet¹¹).

Näytteen valmistelu

Kerää pieni määrä ulostetta normaalikärkisellä FLOQSwabs®-nukkatikulla (COPAN Italia s.p.a.) viemällä nukkatikun kärki ulostenäytteeseen ja kiertämällä tikkua paikallaan. Näytteen keräämistä varten kannattaa valita veristä, limaista tai vetistä ulosteen osaa. Katso keräämisen jälkeen, että näytetikon kärjessä varmasti näkyy ulostemateriaalia. Jos ei näy, työnnä nukkatikku uudelleen ulostenäytteeseen ja kierrä sitä niin, että näytetikon koko kärjen alue on varmasti kosketuksissa näytteeseen. Varmista, että näytetikku on juuri ja juuri ulosteen peitossa, ja poista ylimääräinen uloste kiertämällä näytepuikkoa varovasti näytteen reunaa vasten. Siirrä keräämisen jälkeen näytetikku 2 ml:n Copan eNAT® -putkeen, jossa on eNAT®-kuljetusväliainetta. Pitele näytetikku varresta peukalolla ja etusormella ja painele ja hiero ulostenäyte tikusta putken seinämää vasten niin, että näyte jakautuu tasaisesti ja suspendoituu säilytysaineeseen. Vie näytetikon varsi lähelle putken reunaa ja katkaise varsi merkitystä katkaisukohdasta vääntämällä vartta reunaa vasten 180 asteen kulmaan. Hävitä näytetikon varren irrotettu yläosa ja kierrä korkki kiinni. Ravista näytettä ja eNAT®-kuljetusväliainetta (COPAN Italia s.p.a.) sisältävää näyteputkea huolellisesti vähintään 10 sekunnin ajan homogenointia varten. Pipetoi 300 µl homogenoitua potilasnäytettä kasetin näytteensyöttöaukkoon. Varmista, että pipetoi vain kelluvasta nesteestä (näytteen yläosasta), jotta ulostehiukkaset eivät pääse mukaan. Jos näytteessä on liikaa hiukkasia, on suositeltavaa asettaa näyteputki tasaiselle pinnalle ja antaa hiukkasten saostua 5 minuuttia.

Älä käytä viskoosisia näytteitä, joita on vaikea pipetoida.

Testitulos

Kun näyte on käsitelty automaattisesti Vivalytic *one* -analysointilaitteella, testitulos näkyy Vivalytic *one* -analysointinäytteen näytössä. Testituloksen valmisteumisaika on noin 58 minuuttia. Korkean pitoisuuden näytteiden tulokset ovat käytettävissä alle 41 minuutissa, ja testin suorittaminen voidaan päättää etuajassa (katso luku Testin päättäminen).

Näyte luokitellaan joko *C. difficile* -positiiviseksi, rotavirus- ja *C. difficile* -positiiviseksi, norovirus ja *C. difficile* -positiiviseksi, norovirus- ja rotavirus- sekä *C. difficile* -positiiviseksi, rotaviruspositiiviseksi, norovirus- ja rotaviruspositiiviseksi, noroviruspositiiviseksi, negatiiviseksi tai virheelliseksi. Jos näyte tunnustetaan patogeenipositiviseksi, testi katsotaan onnistuneeksi, vaikka Human Control -ihmiskontrolli olisi negatiivinen.

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

Norovirusgenoryhmä I/II	Rotavirus-tyyppi A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Onnistuminen	Tulos
-	-	+	+/-	onnistui	Näytettä pidetään <i>C. difficile</i> -positiivisena.
-	+	+	+/-	onnistui	Näytettä pidetään rotavirus- ja <i>C. difficile</i> -positiivisena.
+	-	+	+/-	onnistui	Näytettä pidetään norovirus- ja <i>C. difficile</i> -positiivisena.
+	+	+	+/-	onnistui	Näytettä pidetään norovirus-, rotavirus- ja <i>C. difficile</i> -positiivisena.
-	+	-	+/-	onnistui	Näytettä pidetään rotaviruspositiivisena.
+	+	-	+/-	onnistui	Näytettä pidetään norovirus- ja rotaviruspositiivisena.
+	-	-	+/-	onnistui	Näytettä pidetään noroviruspositiivisena.
-	-	-	+	onnistui	Näytettä pidetään negatiivisena.
-	-	-	-	virheellinen	Ei arvioitavissa. ¹

¹ Testin uusiminen on suositeltavaa.

PCR – käyrä ja C_q-arvo

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

Virheelliset tai epäonnistuneet testit

Testi luokitellaan virheelliseksi, jos kohde-DNA:ta tai Human Control -ihmiskontrollia ei kumpaakaan havaita. Virheellinen tulos voi johtua näytteen huonosta laadusta, koska näytteessä on osittain tai ei lainkaan ihmisloluainesta. Virheellisen testin tulokset näytetään, mutta niitä ei saa käyttää diagnostiassa tulkinnessa. Kiinnitä huomiota oikeanlaiseen näytetyppiin, näytteenottoon sekä näytteiden ja kasettien säilytykseen ennen testin suorittamista. Toista analyysi tarvittaessa uudella näytteellä.

Jos testi epäonnistuu, tarkista ensin Vivalytic *one* -analysointilaitteen oikeat käyttöolosuhteet (katso lisätietoja Vivalytic *one* -analysointilaitteen käyttöohjeista). Käynnistä Vivalytic *one* -analysointilaitte uudelleen. Jos ongelma jatkuu, ota yhteyttä paikallisen jälleenmyyjän asiakastukeen.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – käyttöopas

Testin päättäminen

Kun kelvollinen, positiivinen tulos näkyy näytössä jollekin kolmesta patogeeneista, käyttäjä voi päättää testin.

Testiraportti

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

Ilmoitus käyttäjille EU:ssa

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

Rajoitukset

Vivalytic Noro- Rotavirus, C. diff -testin tuloksia saa tulkita vain koulutettu terveydenhuollon ammattilainen. Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff -testin tuloksia ei saa käyttää diagnoosin ainoana perusteena.

- 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 väärien kerätyistä, kuljetetuista tai käsitellyistä näytteistä.
- Rajatapauksissa voi esiintyä epätyypillisiä PCR-ominaisuuksia (esim. litteä käyrä, jonka C_q -arvo on alhainen tai korkea). Epätyypillisten ominaisuuksien kohdalla tuloksia ei saa käyttää diagnostisessa tulkinnassa. Ohjelma merkitsee ratkaisemattomat tulokset. Uudelleentestaus on suositeltavaa.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff on kvalitatiivinen reaaliaikainen PCR-testi, joka ei anna kvantitatiivisia tuloksia.
- Positiivinen tulos ei välttämättä tarkoita elinkykyisten patogeeneiden esiintymistä.
- Testi tunnistaa *C. difficile* -bakteerit, joilla on *tcdA*/*tcdB*-geeni, mutta testi ei erottele, ovatko kyseessä toksiinia tuottavat vai toksiinia tuottamattomat kannat.
- Negatiivinen tulos ei sulje pois norovirus- rotavirus- tai *C. difficile* -infektiota tai rinnakkaisinfektiota. On suositeltavaa tulkita negatiivisia testituloksia kontekstissa muiden laboratoriotietojen kanssa.
- Liian suuri ulostemäärä voi vaikuttaa inhihoivasti määrityksen suorituskyykyyn.
- Heikentynyt suorituskyyky havaittiin *tcdA*/*tcdB*- *C. difficile* -kannoilla.
- Liiallinen määrä rotavirus A -hiukkasia voi heikentää *C. difficile* PCR-testin suorituskyykyä.
- Tyypin C rotavirusta (sian rotavirus) koskevaa eksklusiivisuutta ei voitu saavuttaa. Tämän vuoksi rotavirustyyppin C virheellistä tunnistamista tyypiksi A ei voida sulkea pois.

Analyttisen suorituskyykyyn arviointi

Analyttinen herkkyys (tunnistusraja)

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff -testin tunnistusraja määritettiin pienimmäksi johdonmukaisesti havaituksi analyysin pitoisuudeksi (≥ 95 % näytteistä, testattu määritetyllä näytetyypillä rutiinilaboratorio-olosuhteissa). (Taulukko 1)

Inklusiivisuus

Inklusiivisuuden arvioimiseksi tehtiin *in silico* -analyysi (BLAST-kohdistus) erilaisten merkityksellisten norovirusten, rotavirusten ja *Clostridioides difficile* -kantojen genomisekvenssistä niiden PCR-primeerien ja hydrolyysikoettimien sekvenssille, joita käytetään Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff -testissä kyseisten patogeeneiden monistukseen ja tunnistamiseen. Inklusiivisuus voitiin osoittaa taulukossa 2 esitettyjen kantojen osalta.

Eksklusiivisuus / analyttinen tarkkuus

Ristireaktiivisuuden (eksklusiivisuuden) poissulkemiseksi suoritettiin norovirus-, rotavirus- ja *Clostridioides difficile* -kohdealueen *in silico*-analyysi (BLAST-kohdistus) maha-suolikanavan yleisten patogeenien tai niihin läheisesti liittyvien lajien genomisekvenssin perusteella. Rotaviruksen tunnistusjärjestelmässä voidaan havaita sekvenssivastaavuuksia koettimen ja primeerin alueella sian rotaviruksen (ryhmä C) osalta, mikä johtaa mahdolliseen monistukseen. Norovirus- ja *Clostridioides difficile* -tunnistusjärjestelmässä ei ollut häiriötä (taulukko 3).

Uusittavuus

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff -testin uusittavuus määritettiin käyttämällä paneelia, jossa oli kolme eri norovirus-, rotavirus- ja *Clostridioides difficile* -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 Noro-, Rotavirus, C. diff -testin toistettavuus määritettiin käyttämällä paneelia, jossa oli yhtä norovirus-, rotavirus- ja *Clostridioides difficile* -pitoisuutta (3×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

Häiriötä arvioitiin endogeenisissä ja eksogeenisissä aineissa, joita mahdollisesti esiintyy potilasnäytteessä. Katso taulukosta 5 lisätietoja aineista, jotka voivat häiritä testiä.

Kliinisen suorituskyvyn arviointi

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

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

Vertailutestinäytteet puolestaan valmisteltiin käytettyjen vertailumenetelmien omien suositusten mukaisesti. Yhteensä analysoitiin 159 näytettä.

Herkkyys (positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys, PPA) laskettiin kaavalla $100\% \times TP / (TP + FN)$. Tarkkuus (negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys) laskettiin kaavalla $100\% \times TN / (TN + FP)$. Kliinisen suorituskyvyn arvioinnin tulokset esitetään taulukossa 6, taulukossa 7 ja taulukossa 8.

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.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – käyttöopas

Lähdeviitteet

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Symbolit



Valmistaja



Sarjanumero



Valmistuspäivä



Lämpötilaraja



Viimeinen käyttöpäivä



Ei saa käyttää, jos pakkaus on vaurioitunut.



Eränumero



Kertakäyttöinen tuote



Tuotenumero



Katso lisätietoja käyttöoppaasta.



Sisältää <n> testiä



In vitro -diagnostiikkaan tarkoitettu lääkinällinen laite

CE₀₁₂₃ CE-merkintä



Pipetoi kasetin näytteensyöttöaukkoon mustan kolmion alla ilmoitettu näyttemäärä.

Introduktion

Clostridioides difficile (*C. difficile*) er en gram-positiv, sporedannende anaerob bakterie bestående af toksigene og non-toksigene stammer. *C. difficile* er et af de mest almindelige patogener i nosokomial diarré, især hos patienter med antibiotika-associeret diarré. I løbet af de seneste år er antallet og alvorligheden af tilfældene steget i Europa og resten af verden.¹ Symptomerne på *C. difficile*-infektion (CDI) varierer fra mild diarré til alvorlig livstruende pseudomembranøs colitis, selvom kolonisering af *C. difficile* ikke nødvendigvis fører til en symptomatisk infektion. Forstyrrelse af balancen i tarmenes mikroorganismer, f.eks. som følge af antibiotisk behandling, kan medføre, dannelse af toksigen *C. difficile*, som dominerer koloniseringen og kan starte CDI.²

Faktorer, der er involveret i patogenesen af *C. difficile*, er generne *tcdA* og *tcdB*, som koder for toksin A (enterotoksin) og toksin B (cytotoksin), som findes i et kromosomalt område på 19,6 kb kaldet PaLoc (Pathogenicity Locus (Sygdomsfremkaldende locus)). De fleste patogene stammer er toksin A- og B-positive (A+B+), men nogle isolater af patogene varianter kan være toksin A-negative og B-positive (A-B+). De er årsagen til *C. difficile*-associerede sygdomme.³ Nogle stammer af toxigenic *C. difficile* producerer også et toksin kaldet *C. difficile* transferase (CDT) eller binært toksin.⁴

Norovirus tilhører virusklassen calicivirus og er kendt som en sæsonbetinget sygdom. Det er et meget smitsomt patogen, som er årsagen til de fleste tilfælde af akutte infektioner i mave-tarmkanalen på verdensplan. Norovirusinfektioner hos mennesker skyldes primært genogruppe II og I, mens genogruppe II er den dominerende årsag til udbrud af norovirus. Infektioner i mave-tarmkanalen med norovirus er karakteriseret ved pludseligt opstået symptomer som f.eks. kvalme, opkastning, diarré og mavesmerter. Virussen er især udbredt i fællesmiljøer som f.eks. hospitaler, skoler, plejehjem, hvor den nemt kan sprede sig fra person til person. Sygdommen varer typisk kun nogle få dage men kan medføre mere alvorlige komplikationer hos personer med svækket immunforsvar eller ældre mennesker.^{5,6,7}

Rotavirus tilhører virusklassen reoviridae. Den er en væsentlig årsag til akutte infektioner i mave-tarmkanalen, især blandt spædbørn og småbørn. Dens virusinfektion i mave-tarmkanalen er karakteriseret ved symptomer som alvorlig diarré, opkastning, feber og dehydrering. Rotavirus-associeret infektion i mave-tarmkanalen kan medføre alvorlige komplikationer, herunder hospitalsindlæggelse og endda død, hvilket gør, at dette giver anledning til en stor bekymring for folkesundheden. Det har været afgørende at forhindre og kontrollere rotavirusinfektioner, f.eks. gennem vaccinationsprogrammer, for at reducere belastningen fra denne sygdom. Akut infektion i mave-tarmkanalen forårsaget af både norovirus og rotavirus er selvbegrænsende sygdomme, selvom de ubehandlet kan forårsage et kritisk sygdomsforløb, især blandt den yngste eller den ældste del af befolkningen.^{7,8,9,10}

Pakkens indhold

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testkassetter til detektion af *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB*-toksinger), human norovirus genogruppe I/II og rotavirus type A.

Liste over patogener		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogruppe I/II	Rotavirus type A

Beregnet anvendelse

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen er en automatisk kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test baseret på realtids-PCR (Polymerase Chain Reaction) til detektion af nukleinsyrer fra toksigen *Clostridioides difficile* (toksingerne *tcdA/tcdB*), human norovirus genogruppe I/II og human rotavirus type A fra pødeprøver fra flydende eller blød human fæces som en hjælp til diagnosticering af akutte infektioner i mave-tarmkanalen hos symptomatiske personer.

Resultaterne må ikke bruges som det eneste grundlag for diagnosticering, behandling eller andre beslutninger omkring patienthåndteringen. Positive resultater udelukker ikke coinfektion med andre patogener. De(t) detekterede stof(fer) er muligvis ikke den bestemte årsag til sygdommen. Negative resultater udelukker ikke en infektion med *C. difficile*, norovirus eller rotavirus

eller en anden infektion i mave-tarmkanalen. Resultaterne skal korreleres klinisk med patientens historik, kliniske observationer og epidemiologiske oplysninger. Andre diagnostiske oplysninger er nødvendige for at bestemme patientens infektionsstatus. Den er udelukkende beregnet til brug sammen med et Valytic *one*-analyseapparat af uddannet sundhedspersonale på laboratorier.

Sikkerhedsoplysninger

Denne brugsanvisning indeholder kun testspecifikke oplysninger. Se brugsanvisningen, der følger med Valytic *one*-analyseapparatet (kapitlet med oplysninger om enhedens sikkerhed), for at få oplysninger med yderligere advarsler og anvisninger. Brug kun Valytic-kassetter og -tilbehør, der er godkendt til Valytic *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 cassette, hvis den forseglede pose eller selve kassetten er synligt beskadiget.
- Berør eller rids ikke detektionsområdet på kassetten.
- Genbrug ikke en cassette.
- 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 kasetteposen. 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 cassette, der indeholder en prøve.
- Vend ikke kassetten på hovedet.
- Kassetten må kun placeres på en ren og flad overflade.
- Brug ikke prøvetyper, -medier og -mængder, der ikke er godkendt for testen.
- Overhold altid god laboratoriepraksis for at sikre, at denne test udføres og fungerer korrekt.
- Biologisk prøvemateriale, overførselsheder og brugte kassetter skal anses for at indeholde potentielt smittefarlige stoffer, der kræver standardmæssige forholdsregler. Håndter potentielt smittefarlige patientprøver og kassetter i overensstemmelse med nationale laboratoriestandarder, og bortskaf prøver og kassetter i overensstemmelse med regionale standarder og laboratoriestandarder.
- Overhold de nationale sikkerhedsforskrifter og den anbefalede praksis.

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

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

- Bosch Valytic *one*-analyseapparat (referencenummer F09G300115)
- Pipette (100-1000 µl)
- Sterile filterpipettespidser 100-1000 µl
- PODEPRØVETAGNINGSSÆT
 - Den almindelige podepind med fløjlstruktur FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportmedium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Passende beskyttelsestøj

Testprincip

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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, nukleinsyreekstraktion, DNA-forstærkning og -detektion.

Reagenserne er PCR-bead, bindingsbuffer, vaskebuffer og elueringsbuffer. PCR-bead'en indeholder DNA-polymerase, primere og prober. Bindingsbuffer giver mulighed for binding af nukleinsyre under oprensingsprocessen. Vaskebuffer er en formulering med forskellige salte og opløsningsmidler til fjernelse af urenheder, f.eks. proteiner, under ekstraktionsprocessen. Elueringsbuffer er en buffer med lavt saltindhold og indeholder oprenset nukleinsyre ved afslutningen af ekstraktionsprocessen.

Prøvetype/medie

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

Indsamlet og opbevar prøver som angivet i producentens anvisninger.

Hvis prøven ikke behandles umiddelbart efter prøvetagning, bliver nukleinsyrer konserveret i eNAT®-transportmedium i op til 4 uger ved stuetemperatur og ved 4 °C og op til 6 måneder ved -20 °C til -80 °C (se brugsanvisningen til eNAT®-transportmedium¹¹).

Prøveklargøring

Brug den almindelige podepind med fløjsstruktur FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) til at udtage en lille mængde fæces ved at sætte spidsen af podepinden med fløjsstrukturspids i fæcesprøven og dreje den rundt. Der skal vælges og udtages et blodigt, slimet eller vandigt område af fæces. Efter prøvetagning skal podepinden undersøges for at sikre, at der er tilstrækkeligt med fæcesmateriale på spidsen. Hvis ikke, skal podepinden med fløjsstrukturspids sættes i fæcesprøven og drejes rundt, så hele området med podepindens spids kommer i kontakt med prøven. Sørg for, at podeprøven kun lige er dækket af fæces, og fjern overskydende fæces ved forsigtigt at rotere podepinden mod kanten af prøverøret. Efter prøvetagning skal podepinden overføres til 2 ml Copan eNAT®-røret med eNAT®-transportmedium. Hold podepindens skaft mellem tommel- og pegefinger, mos og bland fæcesprøven mod siden af røret for at fordele og opløse prøven i konserveringsmediet. Hold podepindens skaft tæt på rørets kant, bøj den i en vinkel på 180 grader for at knække den ved det markerede punkt. Bortskaf den afbrækkede øvre del af podepindens skaft, og luk låget tæt i. Ryst prøverøret med podeprøven og eNAT®-medie (COPAN Italia s.p.a.) grundigt i mindst 10 sekunder for homogenisering. Brug en pipette til at fylde 300 µl homogeniseret patientprøve i kassetens prøveinput. Sørg for kun at pipettere fra supernatanten (toppen af prøven) for at forhindre kontaminering fra fæcespartikler. Hvis der er en overskydende mængde partikler i prøven, anbefales det at placere prøverøret på en flad overflade og lade partiklerne sedimentere i 5 minutter. 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. 58 min. For prøver med høj titer er resultaterne tilgængelige efter mindre end 41 min. og testkørslen kan afsluttes (se kapitlet Afslutning af test).

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Brugsanvisning

Prøven klassificeres som enten *C. difficile*-positiv, rotavirus- og *C. difficile*-positiv, norovirus- og *C. difficile*-positiv, norovirus- og rotavirus- samt *C. difficile*-positiv, rotaviruspositiv, norovirus- og rotaviruspositiv, noroviruspositiv, -negativ eller ugyldig. I tilfælde af en positiv detektion af et patogen anses testen for at være gyldig, også selvom Human Control er negativ.

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

Norovirus genogruppe I/II	Rotavirus type A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Gyldighed	Resultat
-	-	+	+/-	gyldig	Prøven anses for at være <i>C. difficile</i> -positiv.
-	+	+	+/-	gyldig	Prøven anses for at være rotavirus- og <i>C. difficile</i> -positiv.
+	-	+	+/-	gyldig	Prøven anses for at være norovirus- og <i>C. difficile</i> -positiv.
+	+	+	+/-	gyldig	Prøven anses for at være norovirus-, rotavirus- og <i>C. difficile</i> -positiv.
-	+	-	+/-	gyldig	Prøven anses for at være rotaviruspositiv.
+	+	-	+/-	gyldig	Prøven anses for at være norovirus- og rotaviruspositiv.
+	-	-	+/-	gyldig	Prøven anses for at være noroviruspositiv.
-	-	-	+	gyldig	Prøven anses for at være negativ.
-	-	-	-	ugyldig	Kan ikke vurderes. ¹

¹Gentestning anbefales

PCR – kurve og C_q-værdi

Der vises reeltids-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 celled materiale i prøven. Resultater vises for en ugyldig test men må ikke anvendes til fortolkningen af diagnosen. Sørg for at bruge den rigtige prøvetype, den rigtige prøveindsamling og opbevaring af prøven og kassetter inden testkørslen. Gentag om nødvendigt analysen med en ny prøve.

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

Afslutning af test

Så snart der vises et gyldigt positivt resultat for et af de tre patogener på skærmen, kan brugeren afslutte testen.

Testrapport

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

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.

Begrænsninger

Resultaterne af Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen må udelukkende fortolkes af uddannet sundhedspersonale. Resultaterne af Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-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. Uafklarede resultater mærkes af softwaren. Det anbefales at foretage en gentest.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff er en kvalitativ reeltids-PCR-test og giver ikke et kvantitativt resultat.
- Et positivt resultat betyder ikke nødvendigvis, at der er levedygtige patogener til stede.
- Testen detekterer *C. difficile*-bærende *tcdA/tcdB*-gener men skelner ikke mellem toksinproducerende og ikke-toksinproducerende stammer
- Et negativt resultat udelukker ikke tilstedeværelsen af norovirus, rotavirus, *C. difficile* eller en coinfektion. Det anbefales, at de prøver, der testes negative, fortolkes i sammenhæng med yderligere laboratoriedata
- En overskydende mængde fæces kan have hæmmende indvirkninger på analysens performance.
- Der blev observeret reduceret performance for *C. difficile*-stammer for *tcdA+/tcdB-*
- En overskydende mængde af rotavirus A-viruspartikler kan medføre reduceret performance for *C. difficile* PCR
- Der kunne ikke opnås nogen eksklusivitet for rotavirus type C (porcin rotavirus). En fejlidentifikation af rotavirus type C som type A kan derfor ikke udelukkes.

Evaluering af analytisk funktion

Analytisk følsomhed (detektionsgrænse)

Detektionsgrænsen for Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-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 norovira-, rotavira- og *Clostridioides difficile*-stammer mod sekvensen af de PCR-primere og den hydrolyseprobe, der blev brugt i Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen til amplifikation og detektion af de pågældende patogener. Inklusiviteten kunne vises for de stammer, der er angivet i [tabel 2](#).

Eksklusivitet/analytisk specificitet

For at udelukke krydsreaktivitet (eksklusivitet) blev der udført en *in silico*-analyse (BLAST-sammenligning) af target-regionen for norovirus, rotavirus og *Clostridioides difficile* mod den genomiske sekvens af forskellige andre patogener, der repræsenterer almindelige patogener i mave-tarmkanalen eller nært beslægtede arter. For detektionssystemet for rotavirus kunne der detekteres sekvensoverensstemmelser i probe- og primerområdet for porcine rotavirus (gruppe C) med konklusionen om en mulig amplifikation. Der blev ikke konstateret for detektionssystemet for norovirus og *Clostridioides difficile* ([tabel 3](#)).

Reproducerbarhed

Reproducerbarheden af Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen blev fastlagt ved brug af et panel med 3 forskellige koncentrationer af norovirus, rotavirus og *Clostridioides difficile*. 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](#)).

Repeterbarhed

Repeterbarheden af Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-testen blev bestemt ved brug af et panel med 1 koncentration ($3 \times c95$) af norovirus, rotavirus og *Clostridioides difficile*. 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.

Evaluering af klinisk funktion

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

Prøver til testning med Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff-kassetter var friske eller frosne til opbevaring og klargjort som beskrevet oven for i eNAT® (CO-PAN Italia S.p.A.).

I tilfælde af referencetestning blev prøver klargjort i henhold til anbefalingerne for anvendte referencemetoder. I alt blev 159 prøver analyseret. Følsomhed eller PPA (Positive Percent Agreement) blev beregnet som $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificitet eller NPA (Negative Percent Agreement) blev beregnet som $100\% \times TN / (TN + FP)$. Resultaterne af evaluering af klinisk funktion vises i [tabel 6](#), [tabel 7](#) og [tabel 8](#).















Teknisk support

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

Referencer

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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> -diagnostisering |
|  | CE-mærke | | |
|  | Pipetter den angivne prøvemængde markeret af den sorte trekant i kassetens prøveinput. | | |

Sissejuhatus

Clostridioides difficile (*C. difficile*) on grampositiivne, spoore moodustav anaeroobne bakter, mis koosneb toksigeensetest ja mittetoksigeensetest tüvedest. *C. difficile* on üks levinumaid haigustekitajaid nosokomiaalse kõhulahtisuse puhul, eelkõige antibiootikumidega seotud kõhulahtisusega patsientidel. Viimastel aastatel on haigusjuhtude arv ja nende raskusaste tõusnud nii Euroopas kui ka üle kogu maailma.¹ *C. difficile* infektsiooni (CDI) sümptomid varieeruvad kergest kõhulahtisusest raske eluohtliku pseudo-membranoosse koliidini, kuid bakteri *C. difficile* kolonisatsiooniga ei kaasne tingimata sümptomaatiline nakkus. Soolestiku mikroorganismide tasakaalu häirimine, nt antibiootikumravi tõttu, võib põhjustada toksigeense *C. difficile* teket, domineerida kolonisatsiooni ja võib käivitada CDI.²

C. difficile patogeneesiga seotud tegurid on geenid *tcdA* ja *tcdB*, mis kodeerivad toksiooni A (enterotoksiini) ja toksiooni B (tsütotoksiini), mis asuvad 19,6 kromosoomi suuruses piirkonnas, mida nimetatakse patogeensuse lookaaliks (PaLoc). Enamik patogeensid tüvesid on A- ja B-positiivsed (A+B+), kuid mõned patogeensed variandid võivad olla A-negatiivsed ja B-positiivsed (A-B+). Need põhjustavad bakteriga *C. difficile* seotud haiguseid.³ Mõned toksigeense *C. difficile* tüved sünteesivad ka binaarset toksiooni, mis kannab nime *C. difficile* transferaas (CDT).⁴

Noroviirus kuulub viiruste sugukonda Calciviridae ja kujutab endast hooajalist haigust. Tegemist on äärmiselt nakkava patogeeni, mis tingib ülemaailmselt suurema osa ägeda gastroenteriidi juhtudest. Inimestel põhjustavad noroviirusinfektsioone eeskätt II ja I genogrupp ning neist kahest põhjustab noroviirusesse haigestumise puhanguid peamiselt II genogrupp. Noroviirusest tingitud seedetrakti haaravatele infektsioonidele on omane sümptomite (näiteks iivelduse, oksendamise, kõhulahtisuse ja kõhuvalu) äkiline teke. Viirus on laialdaselt leviv kogukondlikult (näiteks haiglates, koolides ja hooldekodudes), kus see saab hõlpsalt ühelt nakatunult järgmisele kanduda. Tavaliselt taandub haigus paari päevaga, kuid see võib pärsitud immuunsusega või eakatel nakatunutel raskeid tüsistusi põhjustada.^{5,6,7}

Rotaviirus kuulub viiruste sugukonda Reoviridae. See on sagedane ägeda gastroenteriidi põhjus ning seda eeskätt imikute ja väikelaste seas. Sellele seedetrakti haaravale viirusinfektsioonile on omased järgmised sümptomid: tugev kõhulahtisus, oksendamine, palavik ja dehüdratsioon. Rotaviirusest tingitud gastroenteriidil võivad olla rasked järeloomid, mille näidete hulka kuuluvad haiglaravi ja isegi surm, mistõttu kujutab see endast olulist rahvatervisega seotud probleemi. Haiguskoormuse vähendamise seisukohast omavad kriitilist tähtsust rotaviirusinfektsioonide ennetamise ja ohjamise meetmed, näiteks vaktsineerimiskavad. Noroviirusest ja rotaviirusest tingitud äge gastroenteriit on isetaanduv haigus, kuid selle ravimata jätmisel võib haigusel eeskätt laste ning eakate puhul raskeid tüsistusi olla.^{7,8,9,10}

Pakendi sisu

15 testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff kassetti bakteri *Clostridioides difficile* (toksiinigeenide *tcdA/tcdB*), inimesi nakatava noroviiruse I/II genogrupi ja A-tüüpi rotaviiruse tuvastamiseks.

Patogeeni loend		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Noroviiruse I/II genogrupp	A-tüüpi rotaviirus

Sihotstarve

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff on automatiseeritud kvalitatiivne *in vitro* diagnostiline test, mis põhineb reaalaaja polümeraasi ahelreaktsioonil (PCR) ning võimaldab tuvastada toksigeense *Clostridioides difficile* (toksiinigeenide *tcdA/tcdB*), inimesi nakatava noroviiruse I/II genogrupi ja A-tüüpi rotaviiruse nukleiinhappeid inimese vedela või pehme väljaheite tampooniproovides ning diagnoosida sümptomaatilistel patsientidel ägedaid gastrointestinaalseid infektsioone.

Tulemusi ei tohi kasutada diagnoosi, ravi või teiste patsienti puudutavate otsuste ainsa lähtealusena. Positiivsed tulemused ei välista teiste patogeeni infektsiooni. Tuvastatud aine(d) ei pruugi olla haiguse ainuke tekitaja(d). Negatiivsed tulemused ei välista bakterist *C. difficile*, noroviirusest või rotaviirusest tingitud infektsiooni ega teisi gastrointestinaalseid infektsioone.

Tulemused tuleb viia kliiniliselt korrelatsiooni patsiendi anamneesi, kliiniliste leidude ja epidemioloogilise teabega. Patsiendi nakkusliku seisuhindamiseks on vajalik muu diagnostiline teave. Test on ette nähtud kasutamiseks tervishoiutöötajatele laborikeskkonnas analüsaatoriga Vivalytic *one*.

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 kassetide käsitsemisel peab olema saastumise vältimiseks ettevaatlik. Kui proov loksus kassetile, ei tohi kasseti kasutada ja selle peab kasutuselt kõrvaldama.

Ette nähtud koolitatud tervishoiutöötajatele *in vitro* diagnostiliseks kasutamiseks.



HOIATUS

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

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

Lisamaterjalid ja kulumaterjalid (nõutud, kuid ei ole kaasas)

- Analüsaator Bosch Vivalytic *one* (viitenumber F09G300115)
- Pipett (100–1000 µl)
- Steriilsed pipetiotsad 100–1000 µl
- Proovi kogumiskomplektid
 - Tavaline flokeeritud tampoon FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transpordisööde
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Sobiv kaitseriietus

Testi tööpõhimõte

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff on kvalitatiivne reaalaaja polümeraasi ahelreaktsioonil põhinev test.

Säilitamis- ja kasustingimused

Toode on stabiilne kuni aegumiskuupäevani, kui seda säilitada temperatuuril +15 °C kuni +25 °C. Säilitamis- ja kasustingimused leiab kas kassetilt, kotilt või karbit. Kasseti 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 tüüp / sõode

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

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

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

Proovi ettevalmistamine

Kasutage tavalist flokeeritud tampooni FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), et koguda väike kogus väljaheidet, sisestades flokeeritud tampooni otsa väljaheiteproovi ja pöörates seda. Verine, limane või vesine väljaheide tuleb välja valida ja kokku koguda. Pärast kogumist uurige tampooni veendumaks, et tampooni otsas on nähtav väljaheitmaterjal. Kui ei ole näha, sisestage tampoon uuesti väljaheiteproovi ja pöörake seda, hoolitsedes selle eest, et tampooni ots oleks kogu ulatuses prooviga kokkupuutes. Veenduge, et tampoon on kaetud üksnes väljaheitega, ning eemaldage ülemäärane väljaheide, keerates selleks tampooni ettevaatlikult proovikatsuti serva vastu. Pärast kogumist pange tampooniproov 2 ml Copan eNAT® -tuubi koos eNAT®-transpordikeskkonnaga. Hoidke tampoonivart pöidla ja sõrme vahel, hõõruge ja segage väljaheiteproov vastu tuubi külge, et proov säilituskeskkonnas ühtlaselt hajutada ja suspendeerida. Hoidke tampoonivart toru serva lähedal, painutage seda 180-kraadise nurga all, et murda see märgitud murdekohas katki. Visake ära tampoonivõlli katkine ülemine osa ja pingutage korki. Raputage tampooniproovi ja söödet eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) sisaldavat proovikatsuti vähemalt 10 sekundit katsuti sisu homogeniseerimiseks. Teisaldage pipeti abil 300 µl homogeniseeritud patsiendiproovi kasseti proovisüvendisse. Pipeteerige väljaheite osakeste ülekandmise välistamiseks üksnes supernatanti (proovi pealmist kihti). Kui proovis on ülemäärases koguses osakesi, on soovitatav asetada proovikatsuti ühetasasele pinnale ja lasta osakestel 5 minutit settida.

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 58 minutit. Kõrge tiitriga proovide puhul on tulemused kättesaadavad vähem kui 41 minuti pärast ja testimise võib lõpetada varem (vaadake jaotist „Analüüsi lõpetamine“).

Proov liigitatakse kas bakteri *C. difficile* suhtes positiivseks, rotaviiruse ja bakteri *C. difficile* suhtes positiivseks, noroviiruse ja bakteri *C. difficile* suhtes positiivseks, noroviiruse, rotaviiruse ja bakteri *C. difficile* suhtes positiivseks, rotaviiruse suhtes positiivseks, noroviiruse ja rotaviiruse suhtes positiivseks, noroviiruse suhtes positiivseks, negatiivseks või kehtetuks. Mõne patogeeni positiivse tuvastuse korral loetakse testi kehtivaks ka siis, kui inimese kontrollmaterjal (Human Control) on negatiivne.

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

Noroviiruse I/II genogrupp	A-tüüpi rotaviirus	C. difficile (tcdA / tcdB)	Human Control	Kehtivus	Tulemus
-	-	+	+/-	kehtiv	Proov loetakse bakteri C. difficile suhtes positiivseks.
-	+	+	+/-	kehtiv	Proov loetakse rotaviiruse ja bakteri C. difficile suhtes positiivseks.
+	-	+	+/-	kehtiv	Proov loetakse noroviiruse ja bakteri C. difficile suhtes positiivseks.
+	+	+	+/-	kehtiv	Proov loetakse noroviiruse, rotaviiruse ja bakteri C. difficile suhtes positiivseks.
-	+	-	+/-	kehtiv	Proov loetakse rotaviiruse suhtes positiivseks.
+	+	-	+/-	kehtiv	Proov loetakse noroviiruse ja rotaviiruse suhtes positiivseks.
+	-	-	+/-	kehtiv	Proov loetakse noroviiruse suhtes positiivseks.
-	-	-	+	kehtiv	Proov loetakse negatiivseks.
-	-	-	-	kehtetu	Ei ole hinnatav. ¹

¹ Soovitav on testi korrata.

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 (△). Soovitav on testi korrata.

Kehtetu või nurjunud test

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

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

Analüüsi lõpetamine

Kasutaja saab soovi korral analüüsi lõpetada kohe, kui ekraanile kuvatakse kolmest patogeenist ühe suhtes positiivne kehtiv tulemus.

Testi aruanne

Testi trükitud aruandes loetakse patogeenid, tulemused, kontrollmaterjalid ning teave kasutaja, patsiendi ja analüsaatori Vivalytic one kohta koos signatuuri väljaga.

Teave kasutajatele ELis

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

Piirangud

Testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff tulemusi võib tõlgendada üksnes asjaomase väljaõppe läbinud tervishoiutöötaja. Testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff tulemusi ei tohi kasutada diagnoosi ainsa alusena.

- Negatiivne tulemus ei välista patogeene esinemist proovis analüüsi tundlikkustasemest madalamal tasemel või patogeene olemasolu, mida analüüs ei tuvasta.
- Valesti kogutud, transporditud või käsitsetud proovide tõttu on valenegatiivsete või valepositiivsete tulemuste risk.
- Piirpealsetel juhtudel võivad esineda atüüpilised PCR-i näitajad (nt madala või kõrge C_q-väärtusega lauge kõver). Atüüpiliste näitajate korral ei tohi tulemusi diagnostikaks kasutada. Tarkvara märgistab ebaselged tulemused. Soovitav on testi korrata.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff on kvalitatiivne PCR-test, mis ei anna kvantitatiivseid tulemusi.
- Positiivne tulemus ei tähenda tingimata, et proovis on elujõulisi patogeene.
- Test tuvastab *tcdA/tcdB* geene kandva *C. difficile*, kuid ei tee vahet toksiini tootvatel ja toksiini mitte tootvatel tüvedel.
- Negatiivne tulemus ei välista noroviirusest, rotaviirusest või bakterist *C. difficile* tingitud infektsiooni ega mõnda koinfektsiooni. Soovitav on tõlgendada negatiivseid testitud proove koos täiendavate laboriandmetega.
- Väljaheite liiga suur kogus võib avaldada inhibeerivat mõju analüüsi tulemuslikkusele.
- *tcdA+/tcdB-* *C. difficile* tüvede puhul on täheldatud alanenud toimevõime näitajaid.
- A-tüüpi rotaviiruse osakeste ülemäärane hulk võib põhjustada *C. difficile* PCR-testi toimevõime näitajate alanemist.
- Välistada ei saa C-tüüpi rotaviiruse (sigade rotaviiruse) mõju analüüsitulemustele. Sellest johtuvalt võidakse C-tüüpi rotaviirus väärtustada A-tüüpi rotaviirusena.

Analüütiliste toimevõime näitajate hindamine

Analüütiline tundlikkus (tuvastamise piirang)

Testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff avastamispiir on määratluse kohaselt analüüdi madalaim kontsentratsioon, mida saab järjepidevalt tuvastada (tavapärastes laboritingimustes testitavatest kindlat tüüpi proovidest ≥ 95 %) ([tabel 1](#)).

Ühilduvus

Ühilduvuse hindamiseks viidi läbi erinevate asjakohaste noroviiruste, rotaviiruste ja bakteri *Clostridioides difficile* tüvede genoomijärjestuste *in silico* analüüs (BLAST-joondamine), mille raames võrreldi saadud tulemusi testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff tegemisel vastavate patogeene amplifitseerimiseks ning tuvastamiseks kasutatavate PCR-praimerite ja hüdrolüüsisoni järjestusega. Kaasamist saab tõendada tabelis 2 loetletud tüvedel.

Mitteühilduvus / analüütiline spetsiifilisus

Ristreaktiivsuse välistamiseks (mitteühilduvuse hindamiseks) viidi läbi noroviiruse, rotaviiruse ja bakteri *Clostridioides difficile* sihtala *in silico* analüüs (BLAST-joondamine), mille raames võrreldi saadud tulemusi mitmesuguste teiste sagedaste gastrointestinaalsete patogeene või lähedaselt seotud liikide genoomijärjestuste suhtes. Rotaviiruse tuvastussüsteemi puhul viitas sondi ja praimeri piirkonnas ühilduv järjestus sigade rotaviiruse (C-tüüpi rotaviiruse) tuvastamise ja potentsiaalse amplifikatsiooni võimalusele. Saadud tulemused ei osutanud noroviiruse ja bakteri *Clostridioides difficile* tuvastussüsteemi mõjutavale interferentsile ([tabel 3](#)).

Reprodutseeritavus

Testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff reprodutseeritavuse kindlaks määramisel kasutati noroviiruse, rotaviiruse ja bakteri *Clostridioides difficile* kolme erineva kontsentratsiooniga paneeli. Kolmes testimiskohas analüüsis sama töötaja iga segu kolme partiid tootesarja Vivalytic sama instrumentide komplektiga kolmel päeval nelja paralleelproovi kasutades. Erinevate kombinatsioonide saadud positiivsuse määrad viidi korrelatsiooni eeldatava positiivsuse määraga ([tabel 4a](#)).

Korratavus

Testi Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff korratavuse kindlaks määramisel kasutatakse noroviiruse, rotaviiruse ja bakteri *Clostridioides difficile* ühe kontsentratsiooniga (3 × c95) 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.

Kliiniliste toimivusnäitajate hindamine

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

Proovid Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff kassetidega testimiseks kasutati värskest või külmutati säilitamiseks ja valmistati eNAT®-is (COPAN Italia S.p.A.) vastavalt ülal kirjeldatule.

Võrdluskatsete puhul valmistati proovid ette vastavalt kasutatud võrdlusmeetodite soovitudele. Kokku analüüsiiti 159 proovi. Tundlikkus või positiivse protsendi kokkulepe (PPA) arvutati välja valemiga $100\% \times TP / (TP + FN)$. Spetsiifilisus või negatiivse protsendi kokkulepe arvutati välja valemiga $100\% \times TN / (TN + FP)$. Kliiniliste toimivusnäitajate hindamise tulemused on esitatud tabelis 6, tabelis 7 ja tabelis 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. *J Med Virol* 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. *Arch Virol* 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Sümbolid



Tootja



Seerianumber



Tootmiskuupäev



Temperatuuri piirväärtus



Aegumiskuupäev



Toodet ei tohi kasutada, kui selle pakend on kahjustatud



Partii number



Ainult ühekordseks kasutamiseks



Viitenumber



Tutvuge kasutusjuhendiga



Sisaldab <n> testi



in vitro diagnostikameditsiiniseade

CE₀₁₂₃ CE-märkis



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

Ievads

Clostridioides difficile (*C. difficile*) ir grampozitīva, sporas veidojoša anaeroba baktērija, kas sastāv no toksigēniem un netoksigēniem celmiem. *C. difficile* ir viens no visbiežāk sastopamajiem nozokomiālas caurejas izraisītājiem, jo īpaši pacientiem ar antibiotiku izraisītu caureju. Pēdējos gados Eiropā un visā pasaulē ir palielinājies saslimšanas gadījumu skaits un smaguma pakāpe.¹ *C. difficile* infekcijas (CDI) simptomi ir no vieglas caurejas līdz smagam dzīvībai bīstamam pseidomembranozām kolītam, lai gan *C. difficile* kolonizācija ne vienmēr izraisa simptomātisku infekciju. Zarnu mikroorganismu līdzsvara izjaukšana, piemēram, ārstēšanas ar antibiotikām dēļ, var izraisīt toksigēnās *C. difficile* izveidošanos un dominējošu kolonizāciju un var būt CDI sākums.²

C. difficile patogēnēzē iesaistītie faktori ir *tcdA* un *tcdB* gēni, kas kodē A toksīnu (enterotoksīnu) un B toksīnu (citotoksīnu), kuri atrodas 19,6 kb hromosomu apgabalā, ko dēvē par patogēniskuma lokusu (PaLoc). Vairums patogēno celmu ir A un B toksīnu pozitīvi (A+B+), bet daži patogēno variantu izolāti var būt A toksīnu negatīvi un B pozitīvi (A-B+). Tie ir ar *C. difficile* saistīto slimību cēlonis.³ Daži toksigēnās *C. difficile* celmi producē arī toksīnu, ko dēvē par *C. difficile* transferāzi (CDT) jeb bināro toksīnu.⁴

Norovīrusi pieder Caliciviridae vīrusu klasei un ir zināni kā sezonāli slimību izraisītāji. Tie ir ļoti lipīgi patogēni, kas izraisa vairumu daļu akūta gastroenterīta gadījumu visā pasaulē. Norovīrusu infekciju cilvēkiem galvenokārt izraisa II un I genogrupas vīrusi, bet II genogrupas vīrusi ir dominējošais norovīrusu infekcijas uzliesmojumu cēlonis. Norovīrusi izraisītām kuņģa-zarnu trakta infekcijām ir raksturīga pēkšņa simptomu, piemēram, nelabuma, vemšanas, caurejas un sāpju vēderā, parādīšanās. Šie vīrusi ir prevalējoši sabiedriskās vietās, piemēram, slimnīcās, skolās un aprūpes namos, kur tas var viegli izplatīties starp cilvēkiem. Slimība parasti ilgst tikai dažas dienas, bet var izraisīt smagākas komplikācijas cilvēkiem ar novājinātu imunitāti vai gados vecākiem cilvēkiem.^{5,6,7}

Rotavīrusi pieder Reoviridae vīrusu klasei. Tie ir nozīmīgs akūta gastroenterīta cēlonis, it īpaši zīdaiņiem un maziem bērniem. Šo vīrusu izraisītajai kuņģa-zarnu trakta infekcijai ir raksturīgi tādi simptomi kā smaga caureja, vemšana, drudzis un dehidratācija. Rotavīrusu izraisīts gastroenterīts var izraisīt smagas komplikācijas, tostarp hospitalizāciju un pat nāvi, un tādēļ tas ir nopietna sabiedrības veselības problēma. Rotavīrusu infekciju profilaksei un kontrolei, piemēram, izmantojot vakcinācijas programmas, ir bijusi izšķiroša nozīme šīs slimības sloga samazināšanā. Gan norovīrusu, gan rotavīrusu izraisītais akūtais gastroenterīts ir pašierobežojoša slimība. Tomēr neārstēta slimība var izraisīt kritisku slimības gaitu, jo īpaši bērniem un gados vecākiem cilvēkiem.^{7,8,9,10}

Iepakojuma saturs

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff testa kasetnes *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB* toksīna gēni), cilvēka norovīrusu I/II genogrupas un A tipa rotavīrusu noteikšanai.

Patogēnu saraksts		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovīrusu I/II genogrupa	A tipa rotavīrusi

Paredzētais lietojums

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

Rezultātus nedrīkst izmantot kā vienīgo pamatojumu diagnostikas, ārstēšanas vai citu lēmumu pieņemšanai par pacienta aprūpi. Pozitīvi rezultāti neizslēdz iespējamu vienlaicīgu inficēšanos ar vēl citiem patogēniem. Noteiktais(-ie) izraisītājs(-i) var nebūt konkrētās slimības cēlonis. Negatīvi rezultāti neizslēdz *C. difficile*, norovīrusa vai rotavīrusa infekciju vai citu kuņģa un zarnu trakta infekciju. Rezultāti ir jāinterpretē kontekstā ar pacienta vēsturi, klīniskajiem novērojumiem un epidemioloģisko stāvokli. Lai noteiktu pa-

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – lietošanas norādījumi

cienta infekcijas stāvokli, ir nepieciešami arī citi diagnostikas dati. Paredzēts lietošanai ar Vivalytic *one* analizatoru tikai veselības aprūpes speciālistiem laboratorijas apstākļos.

Drošības informācija

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

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



BRĪDINĀJUMS

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

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

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

- Bosch Vivalytic *one* analizators (atsauces numurs: F09G300115)
- Pipete-dozators (100–1000 µl)
- Sterili filtra pipetes uzgaļi, 100–1000 µl
- Uztriepes ņemšanas komplekti
 - Parasts Flocked Swab tipa uztriepes kociņš FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportēšanas barotne
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Piemērots aizsargapģērbs

Testa princips

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 jāizlie-to 15 minūšu laikā no +15 °C līdz +25 °C temperatūrā un relatīvajā mitrumā <65%. Tas nodrošina higiēnas prasību ievērošanu un ļauj izvairīties no veikt-spējas 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 noteik-šanu.

Tiek izmantoti šādi reaģenti: PQR pērlīte, saistīšanas buferšķīdums, mazgā-šanas buferšķīdums un eluācijas buferšķīdums. PQR pērlīte ir DNS polimerā-ze, praimeris un zondes. Saistīšanas buferšķīdums nodrošina nukleīnskābju saistīšanu attīrīšanas procesa laikā. Mazgāšanas buferšķīdums ir dažādu sāļu un šķīdinātāju preparāts, ko ekstrakcijas procesa laikā izmanto, lai at-brīvotos no tādiem sārņiem kā olbaltumvielas. Eluācijas buferšķīdumam ir buferviela ar zemu sāls saturu, kas ekstrakcijas procesa beigās satur attīrītās nukleīnskābes.

Parauga veids/barotne

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

Paraugi ir jāņem un jāuzglabā atbilstoši ražotāja norādījumiem.

Ja paraugs netiek apstrādāts uzreiz pēc tā ņemšanas, nukleīnskābes sagla-bājas 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 norādījumus¹¹).

Paraugu sagatavošana

Izmantojot parasto Flocked Swab tipa uztriepes kociņu FLOQSwabs® (CO-PAN Italia s.p.a.), savāciet nelielu daudzumu izkārņījumu, ievietojot flokētā uztriepes kociņa galu izkārņījumu paraugā un pagriezot to. Jāizvēlas un jāņem asiņainu, gļotainu vai ūdeņainu izkārņījumu paraugi. Pēc parauga ņem-šanas pārbaudiet uztriepes kociņu, lai pārliecinātos, ka uz tā gala ir redzams fekāliju materiāls. Ja tā nav, no jauna ievietojiet flokēto uztriepes kociņu izkārņījumu paraugā un pagrieziet, pievēršot uzmanību, lai viss kociņa gals saskartos ar paraugu. Nodrošini, lai uztriepes kociņš būtu tikai nedaudz pārklāts ar izkārņījumiem, un noņemiet liekos izkārņījumus, viegli pagriezot uztriepes kociņu pret parauga malu. Pēc parauga ņemšanas pārvietojiet uz-triepes kociņu uz 2 ml Copan eNAT® mēģeni ar eNAT® transportēšanas barot-ni. Turiet uztriepes kociņa kātu starp īkšķi un pirkstu, spiediet un samaisiet izkārņījumu paraugu pret mēģenes sāniem, lai paraugs tiktu vienmērīgi izklie-dēts un suspendēts konservantā. Turiet uztriepes kociņa kātu tuvu mēģenes sāniem un salieciet to 180 grādu leņķī, lai atdalītu to atzīmētajā nolaušanas vietā. Izmetiet nolauzto uztriepes kociņa kāta augšdaļu un aizveriet vāciņu. Rūpīgi sakratiet mēģeni ar uztriepes paraugu un eNAT® barotni (COPAN Italia s.p.a.) vismaz 10 sekunžu ilgumā, lai nodrošinātu homogenizāciju. Izmanto-jot pipeti-dozatoru, iepildiet 300 µl homogenizēta pacienta parauga kasetes parauga atverē. Lai novērstu izkārņījumu daļiņu pārnesšanu, veiciet pipetēša-nu tikai no virskārtas (parauga augšdaļas). Ja paraugā ir pārāk daudz daļiņu, ieteicams parauga mēģeni novietot uz līdzenas virsmas un ļaut daļiņām no-gulsnēties 5 minūšu ilgumā.

Neizmantojiet viskozus paraugus, kuru pipetēšana ir apgrūtināta.

Testa rezultāts

Pēc automātiskas parauga apstrādes ar analizatoru Vivalytic one testa rezul-tāts tiek parādīts analizatora Vivalytic one ekrānā. Rezultāta sasniegšanas laiks ir aptuveni 58 min. Augsta titra paraugiem rezultāti ir pieejami pēc mazāk nekā 41 min., un testa veikšanu var beigt ātrāk (skatiet nodaļu "Testa pārtraukšana").

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – lietošanas norādījumi

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

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

Norovīrusu I/II genogrūpa	A tipa rotavīrusi	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Derīgums	Rezultāts
-	-	+	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par <i>C. difficile</i> pozitīvu.
-	+	+	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par rotavīrusu un <i>C. difficile</i> pozitīvu.
+	-	+	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par norovīrusu un <i>C. difficile</i> pozitīvu.
+	+	+	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par norovīrusu, rotavīrusu un <i>C. difficile</i> pozitīvu.
-	+	-	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par rotavīrusu pozitīvu.
+	+	-	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par norovīrusu un rotavīrusu pozitīvu.
+	-	-	+/-	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par norovīrusu pozitīvu.
-	-	-	+	derīgs	Paraugs ir uzskatāms par nederīgu.
-	-	-	-	nederīgs	Nav novērtējams. ¹

¹ Ieteicams atkārtot testu.

PQR – līkne un C_q vērtība

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

Nederīgi vai neizdevušies testi

Tests tiek novērtēts kā nederīgs, ja netiek konstatēta ne mērķa DNS, ne cilvēka izcelsmes kontrolmateriāls (Human Control). Nederīgas testa izpildes iespējamie cēloņi var būt slikta parauga kvalitāte, par ko liecina daļēja vai pilnīga cilvēka šūnu materiāla neesamība paraugā. Nederīgam testam tiek parādīti rezultāti, taču tos nedrīkst interpretēt diagnostikas mērķiem. Pirms testa izpildes pievērsiet uzmanību paraugu veida atbilstībai, paraugu paņemšanas pareizībai, kā arī paraugu un kasešu glabāšanas noteikumu ievērošanai. Ja nepieciešams, atkārtojiet analīzi ar jaunu paraugu.

Ja tests neizdodas, vispirms pārbaudiet, vai Vivalytic *one* analizators darbojas pareizi (sk. Vivalytic *one* analizatora lietošanas norādījumus). Restartējiet Vivalytic *one* analizatoru. Ja problēma netiek novērsta, sazinieties ar vietējā izplatītāja klientu atbalsta dienestu.

Testa pārtraukšana

Tiklīdz ekrānā tiek parādīts derīgs pozitīvs rezultāts attiecībā uz kādu no trim patogēniem, lietotājs var pārtraukt testu.

Testa atskaite

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

Paziņojums lietotājiem Eiropas Savienībā

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

Ierobežojumi

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff testa rezultātus drīkst interpretēt tikai atbilstoši apmācīti veselības aprūpes profesionāļi. Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff testa rezultātus nedrīkst izmantot kā vienīgo parametru diagnozes noteikšanai.

- Negatīvs rezultāts neizslēdz patogēnu klātbūtni paraugā, ja to līmenis ir zem testa jutības robežas, vai citu patogēnu klātbūtni, kurus nevar noteikt ar šo testu.
- Vienmēr pastāv kļūdaini negatīvu vai kļūdaini pozitīvu rezultātu risks nepareizas paraugu ņemšanas, transportēšanas vai apstrādes dēļ.
- Robežgadījumos var iegūt netipiskus PQR raksturlielumus (piem., taisni nevis līkni ar zemu vai augstu C_q vērtību). Ja tiek iegūti netipiski raksturlielumu rezultāti, tos nav atļauts izmantot diagnostikas mērķiem. Programmatūra atzīmē nepārliciecināšus rezultātus. Šādos gadījumos ir ieteicams atkārtot testu.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff ir kvalitatīvs reālā laika PQR tests, un tas nenodrošina kvantitatīvu rezultātu.
- Pozitīvs rezultāts ne vienmēr norāda uz dzīvotspējīgu patogēnu klātbūtni.
- Tests konstatē *C. difficile* ar *tcdA/tcdB* gēniem, bet nenošķir toksīnu producējošos celmus no toksīnu neproducējošajiem celmiem.
- Negatīvs rezultāts neizslēdz norovīrusu, rotavīrusu vai *C. difficile* infekciju, kā arī koinfekciju. Ieteicams testēt paraugus ar negatīvu rezultātu interpretēt papildu laboratorijas datu kontekstā.
- Pārmērīgs izkārnījumu daudzums var inhibējoši ietekmēt testa veikspēju.
- Samazināta veikspēja tika novērota attiecībā uz *tcdA+/tcdB- C. difficile* celmiem.
- Pārmērīgs rotavīrusu A daļiņu daudzums var izraisīt *C. difficile* PQR veikspējas samazināšanos.
- Neizdevās panākt ekskluzivitāti attiecībā uz C tipa rotavīrusu (cūku rotavīrusu). Tāpēc nevar izslēgt C tipa rotavīrusa kļūdainu identificēšanu kā A tipa rotavīrusu.

Analītiskās veikspējas novērtējums

Analītiskā jutība (noteikšanas robeža)

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff testa noteikšanas robeža tika definēta kā zemākā analizējamās vielas koncentrācija, ko var konsekventi noteikt ($\geq 95\%$ paraugu, kas testēti parastos laboratorijas apstākļos, izmantojot noteikta veida paraugu) (1. tabulā).

Iekļaušana

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

Neiekļaušana/analītiskā specifika

Lai izslēgtu krusteniskās reaģētspējas iespējamību (neiekļaušanu), tika veikta norovīrusu, rotavīrusu un *Clostridioides difficile* mērķa apgabalu *in silico* analīze (BLAST atbilstība) kopā ar dažādu citu patogēnu genoma sekvenci, kas pārstāv plaši izplatītus kuņģa un zarnu trakta patogēnus vai tiem tuvas sugas. Rotavīrusu noteikšanas sistēmai varēja konstatēt sekvenču sakritības zonas un praimera zonā attiecībā uz cūku rotavīrusu (C grupa), kas liecina par iespējamu amplifikāciju. Norovīrusu un *Clostridioides difficile* noteikšanas sistēmas traucējumu pazīmes netika konstatētas (3. tabula).

Reproducējamība

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff testa reproducējamība tika noteikta, izmantojot paneli ar 3 dažādām norovīrusu, rotavīrusu un *Clostridioides difficile* 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 tabula).

Atkārtojamība

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

Traucējoša ietekme

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

Klīniskās veiktspējas novērtējums

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

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

References testēšanas gadījumā paraugus sagatavoja atbilstoši ieteikumiem, kas attiecināmi uz izmantojamajām references metodēm. Kopumā tika analizēti 159 paraugi. Jutība jeb pozitīvo rezultātu procentuālā sakritība (angliski – Positive Percent Agreement, PPA) tika aprēķināta pēc šādas formulas: $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifiskums jeb negatīvo rezultātu procentuālā sakritība (angliski – Negative Percent Agreement, NPA) tika aprēķināta pēc šādas formulas: $100\% \times TN / (TN + FP)$. Klīniskās veiktspējas novērtējuma rezultāti ir parādīti 6. tabulā, 7. tabulā un 8. tabulā.















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.

Atsauces

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Simboli

- | | | | |
|--|--|---|---|
|  | Ražotājs |  | Sērijas numurs |
|  | Ražošanas datums |  | Temperatūras ierobežojums |
|  | Derīguma termiņš |  | Nelietot, ja ir bojāts iepakojums |
|  | Partijas numurs |  | Paredzēts tikai vienreizējai lietošanai |
|  | Atsauces numurs |  | Skatiet lietošanas norādījumus |
|  | Satur <n> testus |  | In vitro diagnostikas medicīnas ierīce |
|  | CE zīme | | |
|  | Ar pipeti iepilniet norādīto parauga tilpumu kasetes parauga atverē, kā atzīmēts ar melno trīsstūri. | | |

Wprowadzenie

Clostridioides difficile (*C. difficile*) jest gram-dodatnią, tworzącą przetrwalniki bakterią beztlenową obejmującą szczepy toksynotwórcze i nietoksynotwórcze. *C. difficile* jest jednym z najczęstszych patogenów powodujących biegunkę szpitalną, szczególnie u pacjentów przyjmujących antybiotyki. W ostatnich latach liczba i ciężkość przypadków zachorowań wzrosła zarówno w Europie, jak i na całym świecie.¹ Objawy zakażenia bakterią *C. difficile* (CDI, *C. difficile* infection) są zróżnicowane – od łagodnej biegunki do ciężkiego, zagrażającego życiu rzekomobłoniastego zapalenia jelit – chociaż kolonizacja przez bakterie *C. difficile* niekoniecznie prowadzi do zakażenia objawowego.

Zaburzenie równowagi mikroorganizmów jelitowych, np. wskutek antybiotykoterapii, może powodować rozwój szczepów toksynotwórczych *C. difficile*, zdominowanie przez nie kolonizacji i zapoczątkowanie CDI².

Czynnikami związanymi z patogenezą *C. difficile* są geny *tcdA* i *tcdB* kodujące toksynę A (enterotoksyna) i toksynę B (cytotoksyna), które znajdują się w regionie chromosomalnym o wielkości 19,6 kb zwanym locus patogenności (PaLoc). Większość szczepów patogennych jest dodatnich pod względem toksyn A i B (A+B+), ale niektóre izolaty wariantów patogennych mogą być ujemne pod względem toksyny A i dodatnie pod względem toksyny B (A-B+). Są one przyczyną chorób związanych z bakterią *C. difficile*.³ Niektóre szczepy toksynotwórcze *C. difficile* wytwarzają również toksynę zwaną transferazą *C. difficile* (CDT, *C. difficile* transferase) lub toksyną binarną.⁴

Norowirus należy do rodziny kalciwirusów i jest znany z tego, że powoduje chorobę sezonową. Jest to wysoce zakaźny patogen odpowiedzialny za większość przypadków ostrego zapalenia żołądka i jelit na całym świecie. Zakażenia norowirusem u ludzi są wywoływane głównie przez genogrupy II i I, przy czym genogrupa II jest dominującą przyczyną epidemii norowirusa. Zakażenia przewodu pokarmowego wywołane przez norowirusy charakteryzują się nagłym wystąpieniem takich objawów, jak nudności, wymioty, biegunka i ból brzucha. Wirus jest szczególnie rozpowszechniony w przestrzeniach publicznych, takich jak szpitale, szkoły i domy opieki, gdzie może łatwo przenosić się z osoby na osobę. Choroba zwykle trwa tylko kilka dni, lecz u osób z obniżoną odpornością lub osób starszych może powodować poważniejsze powikłania.^{5,6,7}

Rotawirus należy do rodziny reowirusów. Jest istotną przyczyną ostrego zapalenia żołądka i jelit, szczególnie u niemowląt i małych dzieci. Spowodowane nim wirusowe zakażenie przewodu pokarmowego charakteryzuje się takimi objawami, jak ciężka biegunka, wymioty, gorączka i odwodnienie. Zapalenie żołądka i jelit wywołane rotawirusem może prowadzić do poważnych powikłań, w tym hospitalizacji, a nawet zgonu, co czyni je poważnym zagrożeniem dla zdrowia publicznego. Działania w kierunku zapobiegania i kontrolowania zakażeń rotawirusem, na przykład programy szczepień, mają kluczowe znaczenie w zmniejszaniu obciążenia tą chorobą. Ostre zapalenie żołądka i jelit wywołane zarówno przez norowirusy, jak i rotawirusy to choroby samoograniczające się, jednak nielezione mogą przebiegać w sposób krytyczny, szczególnie u osób najmłodszych lub starszych.^{7,8,9,10}

Zawartość zestawu

15 kaset testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff do wykrywania bakterii *Clostridioides difficile* (geny toksyn *tcdA/tcdB*), ludzkiego norowirusa genogrupy I/II i rotawirusa typu A.

Lista patogenów		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norowirus genogrupy I/II	Rotawirus typu A

Przeznaczenie

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff jest to automatyczny jakościowy test diagnostyczny in vitro bazujący na reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR, polymerase chain reaction) w czasie rzeczywistym i przeznaczony do wykrywania kwasów nukleinowych toksynotwórczych bakterii *Clostridioides difficile* (geny toksyn *tcdA/tcdB*), ludzkiego norowirusa genogrupy I/II i ludzkiego rotawirusa typu A w wymazach płynnego lub miękkiego ludzkiego stolca, mający służyć pomocą w rozpoznawaniu ostrych zakażeń żołądkowo-jelitowych u pacjentów objawowych.

Wyników nie należy wykorzystywać jako jedynej podstawy do rozpoznania, podejmowania leczenia lub innych decyzji związanych z opieką nad pacjentem. Wyniki dodatkowo nie wykluczają zakażenia innymi patogenami. Wykryte czynniki chorobotwórcze mogą nie stanowić zasadniczej przyczyny choroby. Wyniki ujemne nie wykluczają zakażenia bakterią *C. difficile*, norowirusem, rotawirusem ani innego zakażenia żołądkowo-jelitowego. 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.

Informacje dotyczące bezpieczeństwa

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

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



OSTRZEŻENIE

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

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

Dodatkowy sprzęt i materiały eksploatacyjne (wymagane, lecz niedostarczane)

- Analizator Bosch Vivalytic *one* (numer referencyjny F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterylne końcówki pipet z filtrem 100–1000 µl
- Zestawy do pobierania wymazu
 - Standardowe wymazówki fioletowe FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instrukcja użytkowania

- Podłoże transportowe
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Odpowiednia odzież ochronna

Zasada testu

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Rodzaj próbki/nośnik

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

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

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

Przygotowanie próbek

Za pomocą standardowej wymazówki flokowanej FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pobrać niewielką ilość stolca, wkładając do próbki stolca końcówkę flokowanej wymazówki i nią obracając. Wybrać i pobrać należy krwawą, śluzową lub wodnistą część stolca. Po pobraniu sprawdzić wymazówkę, aby upewnić się, że na końcówce widoczny jest materiał kałowy. Jeśli go nie widać, włożyć ponownie do próbki stolca flokowaną wymazówkę i obracać nią w taki sposób, aby jej końcówka miała styczność z próbką. Należy upewnić się, że wymazówka jest tylko pokryta kałem i usunąć jego nadmiar, delikatnie pocierając wymazówkę o krawędź próbki ruchem obrotowym. Po pobraniu umieścić wymazówkę w probówce Copan eNAT® o pojemności 2 ml zawierającej podłoże transportowe eNAT®. Przytrzymując trzonek wymazówki między kciukiem a palcem, rozgnieść próbkę stolca o ściankę probówki i ją wymieszać, aby równomiernie rozprowadzić i zawiesić próbkę w podłożu konserwującym. Przytrzymać trzonek wymazówki blisko krawędzi probówki i zgąć go pod kątem 180 stopni, aby utłamać w zaznaczonym punkcie przerwania. Wyrzucić złamaną górną część trzonka wymazówki i zamknąć probówkę zatyczką. Dokładnie wstrząsać probówką z wymazem i podłożem eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) przez co najmniej 10 sekund w celu homogenizacji. Za pomocą pipetora przenieść 300 µl zhomogenizowanej próbki pacjenta do wejścia na próbki w kasecie. Należy pipetować wyłącznie supernatant (w górnej części próbki), aby zapobiec przenoszeniu cząstek kału. W przypadku nadmiernej ilości cząstek w próbce zaleca się umieszczenie probówki na płaskiej powierzchni na 5 minut, aby cząstki mogły osiąść na dnie probówki. 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 58 minutach. W przypadku próbek o wysokim mianie wyniki dostępne są po mniej niż 41 minutach, a przebieg testu może zostać zakończony wcześniej (patrz część „Zakończenie testu”).

Próbkę klasyfikuje się jako dodatnią pod względem *C. difficile*, dodatnią pod względem rotawirusa i *C. difficile*, dodatnią pod względem norowirusa i *C. difficile*, dodatnią pod względem norowirusa i rotawirusa i *C. difficile*, dodatnią pod względem rotawirusa, dodatnią pod względem norowirusa i rotawirusa, dodatnią pod względem norowirusa, ujemną albo nieważną. W przypadku dodatniego wykrycia patogenu wynik testu jest uznawany za ważny, nawet jeśli kontrola ludzka (Human Control) jest ujemna.

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

Norowirus genogrupy I/II	Rotawirus typu A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Ważność	Wynik
-	-	+	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem rotawirusa i <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem norowirusa i <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem norowirusa, rotawirusa i <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem rotawirusa.
+	+	-	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem norowirusa i rotawirusa.
+	-	-	+/-	ważny	Próbka uznana za dodatnią pod względem norowirusa.
-	-	-	+	ważny	Próbka uznana za ujemną.
-	-	-	-	nieważny	Nie podlega ocenie. ¹

¹ Zalecane jest ponowne wykonanie testu

PCR – krzywa i wartość C_q

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

Testy nieważne lub zakończone niepowodzeniem

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

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

Zakończenie testu

W momencie wyświetlenia na ekranie ważnego, dodatniego wyniku w odniesieniu do jednego z trzech patogenów użytkownik ma możliwość zakończenia testu.

Raport o teście

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

Uwaga dla użytkowników w UE

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

Ograniczenia

Wyniki testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff mogą być interpretowane wyłącznie przez przeszkolonego pracownika ochrony zdrowia. Wyników testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff nie można traktować jako wyłącznej podstawy rozpoznania.

- Wynik ujemny nie wyklucza obecności patogenów w próbce w stężeniu poniżej czułości oznaczenia lub innego patogenu, którego to oznaczenie nie wykrywa.
- Istnieje ryzyko uzyskania wyników fałszywie ujemnych lub fałszywie dodatnich z powodu niewłaściwie pobranych, transportowanych lub przygotowanych próbek.
- W przypadkach granicznych może dojść do uzyskania atypowych charakterystyk reakcji PCR (np. płaska krzywa z niską lub wysoką wartością C_q). W przypadku atypowej charakterystyki nie można używać uzyskanych wyników do interpretacji diagnostycznej. Oprogramowanie zaznacza wyniki niejednoznaczne. Zaleca się powtórzenie badania.
- Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff jest to jakościowy test bazujący na reakcji PCR w czasie rzeczywistym, który nie zapewnia wyniku ilościowego.
- Wynik dodatni nie musi oznaczać obecności żywych patogenów.
- Test wykrywa bakterie *C. difficile* będące nosicielami genów *tcdA/tcdB*, ale nie rozróżnia szczepów wytwarzających toksyny i tych, które ich nie wywarzają.
- Wynik ujemny nie wyklucza zakażenia norowirusem, rotawirusem, bakterią *C. difficile* ani koinfekcji. Zaleca się, aby próbki z wynikiem ujemnym były interpretowane z uwzględnieniem dodatkowych danych laboratoryjnych.
- Zbyt duża ilość stolca może wpływać hamująco na działanie testu.
- W przypadku szczepów *tcdA+/tcdB- C. difficile* zaobserwowano zmniejszoną wydajność.
- Nadmierna liczba cząstek rotawirusa A może prowadzić do obniżenia wydajności PCR w kierunku *C. difficile*.
- Nie uzyskano wyłączoneści dla rotawirusa typu C (rotawirusa świńskiego). Dlatego nie można wykluczyć błędnej identyfikacji rotawirusa typu C jako typu A.

Ocena wydajności analitycznej

Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Granice wykrywalności testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 norowirusów, rotawirusów i szczepów *Clostridioides difficile* w odniesieniu do sekwencji starterów PCR i sondy hydrolitycznej, które są używane w teście Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff do amplifikacji i wykrywania odpowiednich patogenów. Inkluzywność można wykazać dla szczepów, które przedstawia [Tabela 2](#).

Ekskluzywność / swoistość analityczna

Aby wykluczyć reaktywność krzyżową (ekskluzywność), przeprowadzono analizę *in silico* (zgodność w narzędziu BLAST) regionu docelowego norowirusa, rotawirusa i bakterii *Clostridioides difficile* w odniesieniu do sekwencji genomowej różnych innych patogenów reprezentujących powszechnie występujące patogeny żołądkowo-jelitowe lub blisko spokrewnione gatunki. W przypadku systemu wykrywania rotawirusa można było wykryć zgodności sekwencji w obszarze sondy i startera dla rotawirusa świńskiego (grupa C), co wskazuje na możliwą amplifikację. Nie potwierdzono obecności interferencji dla systemu wykrywania norowirusa i bakterii *Clostridioides difficile* ([Tabela 3](#)).

Odtwarzalność

Odtwarzalność testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff określono przy użyciu panelu z 3 różnymi stężeniami norowirusa, rotawirusa i bakterii *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff określono przy użyciu panelu z 1 stężeniem ($3 \times c_{95}$) norowirusa, rotawirusa i bakterii *Clostridioides difficile*. W 1 ośrodku badawczym każda mieszanina została przetestowana na tym samym zestawie aparatów Vivalytic przez tego samego operatora przy użyciu 3 serii, w 20 powtórzeniach, co zapewniło łącznie 60 obserwacji na docelowy patogen. Odsetek uzyskanych wyników dodatnich w zakresie różnych kombinacji skorelowano z odsetkiem oczekiwanych wyników dodatnich ([Tabela 4b](#)).

Interferencje

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

Ocena wydajności klinicznej

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

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

W przypadku badań metodami referencyjnymi próbki przygotowano zgodnie z zaleceniami dotyczącymi stosowanych metod referencyjnych. Łącznie przeanalizowano 159 próbek. Czułość lub odsetek zgodności wyników dodatnich (PPA) obliczono za pomocą wzoru $100\% \times TP / (TP + FN)$. Swoistość lub odsetek zgodności wyników ujemnych obliczono według wzoru $100\% \times TN / (TN + FP)$. Wyniki oceny skuteczności klinicznej przedstawiono w Tabeli 6, Tabeli 7 i Tabeli 8.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instrukcja użytkowania

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565-572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743-1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91-99
- ¹¹COPAN 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 serii



Do użytku jednorazowego



Numer referencyjny



Należy zapoznać się z instrukcją użytkowania



Zawiera <n> testów



Wyrób medyczny do diagnostyki *in vitro*

 Oznaczenie CE



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

Úvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitivní, sporulující anaerobní bakterie skládající se z toxigenních a netoxigenních kmenů. *C. difficile* je jedním z nejčastějších patogenů nozokomiálních průjmů, zejména u pacientů s průjmem spojeným s antibiotiky. V posledních letech se počet a závažnost případů v Evropě i ve světě zvýšily.¹ Příznaky infekce *C. difficile* (CDI) se pohybují od mírného průjmu až po těžkou život ohrožující pseudomembranózní kolitidu, ačkoli kolonizace *C. difficile* nemusí nutně vést k symptomatické infekci. Narušení rovnováhy střevních mikroorganismů, např. v důsledku antibiotické léčby, může způsobit, že se toxigenní *C. difficile* usadí, dominuje kolonizaci a může být počátkem CDI.²

Faktory ovlivňujícími patogenezi *C. difficile* jsou geny *tcdA* a *tcdB* kódující toxin A (enterotoxin) a toxin B (cytotoxin), které se nacházejí v chromozomální oblasti o velikosti 19,6 kb zvané lokus patogenity (PaLoc). Většina patogenických kmenů je toxin A a B pozitivní (A+B+), ale některé izoláty patogenních variant mohou být toxin A negativní a B pozitivní (A-B+). Tyto kmeny jsou příčinou onemocnění vyvolaného *C. difficile*.³ Některé toxigenní kmeny *C. difficile* také produkují toxin zvaný *C. difficile* transferáza (CDT) nebo binární toxin.⁴

Norovirus patří do čeledi virů Caliciviridae a je znám tím, že vyvolává sezónní onemocnění. Jedná se o vysoce nakažlivý patogen, který je zodpovědný za většinu případů akutní gastroenteritidy na celém světě. Norovirové infekce u lidí způsobují především genoskupiny II a I, přičemž převládající příčinou norovirových epidemií je genoskupina II. Infekce trávicího traktu způsobené noroviry se vyznačují náhlým nástupem příznaků, jako je nevolnost, zvracení, průjem a bolesti břicha. Virus se vyskytuje zejména v komunitních zařízeních, jako jsou nemocnice, školy a domovy důchodců, ve kterých se může snadno šířit z jedné osoby na druhou. Onemocnění obvykle trvá jen několik dní, ale u osob s oslabenou imunitou nebo starších osob může způsobit závažnější komplikace.^{5,6,7}

Rotavirus patří do čeledi virů Reoviridae. Je významnou příčinou akutní gastroenteritidy, zejména u kojenců a malých dětí. Virová infekce gastrointestinálního traktu je charakterizována příznaky, jako je silný průjem, zvracení, horečka a dehydratace. Gastroenteritida způsobená rotaviry může vést k závažným komplikacím, včetně hospitalizace či dokonce úmrtí, což z ní činí významný problém pro veřejné zdraví. Úsilí o prevenci a kontrolu rotavirových infekcí, například prostřednictvím očkovacích programů, má zásadní význam pro snížení dopadu tohoto onemocnění. Akutní gastroenteritida způsobená noroviry i rotaviry je spontánně odeznívající onemocnění, neléčená však může mít kritický průběh, zejména u nejmladších nebo starších osob.^{7,8,9,10}

Obsah balení

15 testovacích kazet Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff pro detekci *Clostridioides difficile* (genů toxinu *tcdA/tcdB*), lidského noroviru genoskupiny I/II a rotaviru typu A.

Seznam patogenů		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus, genoskupina I/II	Rotavirus, typ A

Účel použití

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je automatický kvalitativní diagnostický test *in vitro* založený na polymerázové řetězové reakci (PCR) v reálném čase pro detekci nukleových kyselin toxigenních *Clostridioides difficile* (genů toxinu *tcdA/tcdB*), lidského noroviru genoskupiny I/II a rotaviru typu A ve výtěrech tekuté nebo měkké lidské stolice jako pomůcka při diagnostice akutních gastrointestinálních infekcí symptomatických jedinců.

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

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.
- Vždy postupujte podle správné laboratorní praxe a zajistěte řádnou výkonnost tohoto testu.
- Biologické vzorky, přenosové prostředky a použité kazety je třeba považovat za potenciálně schopné přenosu infekčních agens, vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Zacházejte s potenciálně infekčními vzorky pacientů a kazetami podle národních laboratorních standardů a vzorky likvidujte podle oblastních a laboratorních standardů.
- Dodržujte národní předpisy a postupy.

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

Další vybavení a požadované spotřební materiály, které nejsou součástí dodávky

- Analyzátor Bosch Vivalytic *one* (referenční číslo F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilní pipetovací špičky s filtrem 100–1 000 µl
- Soupravy k odběru stěrů
 - Klasické vložkové tampony FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportní médium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný oděv

Princip testu

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Typ vzorku/médium

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

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

V případě, že vzorek není zpracován ihned po odběru, budou nukleové kyseliny uchovávány v transportním médiu eNAT® po dobu až 4 týdnů při pokojové teplotě a při teplotě 4 °C, a až 6 měsíců při teplotě -20 až -80 °C (viz návod k použití transportního média eNAT®¹¹).

Příprava vzorku

K odběru malého množství stolice použijte odběrový klasický vložkový tampon FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), který vložíte do vzorku a otáčením špičky vatového tamponu vzorek stolice odeberete. Je třeba vybrat a odebrat oblasti stolice, ve kterých se vyskytuje krev, hlen nebo voda. Po odběru tampon prohlédněte, abyste se ujistili, že je na špičce vidět fekální materiál. V případě, že tomu tak není, znovu vložte vatový tampon do vzorku stolice a otáčejte s ním tak, aby celá plocha špičky tamponu byla v kontaktu se vzorkem. Ujistěte se, že tampon je pouze lehce pokryt stolicí; přebytečnou stolicí odstraňte jemným otáčením tamponu proti okraji vzorku. Po odběru přeneste tampon do 2ml zkumavky Copan eNAT® s transportním médiem eNAT®. Držte násadku tamponu mezi palcem a prstem, rozmačkejte a promíchejte vzorek stolice proti stěně zkumavky, aby se rovnoměrně rozptýlil a suspendoval v konzervačním médiu. Držte násadku tamponu blízko okraje zkumavky a ohněte ji pod úhlem 180 stupňů, abyste ji odlomili v označeném bodu zlomu. Zlikvidujte zlomenou horní část násadky tamponu a utáhněte uzávěr. Důkladně protřepejte vzorkovou zkumavku obsahující vzorek výtěru a médium eNAT® medium (COPAN Italia s.p.a.) po dobu alespoň 10 sekund, aby došlo k homogenizaci. Pomocí pipetory přeneste 300 µl homogenizovaného vzorku pacienta do vstupu pro vzorek na kazetě. Dbejte na to, abyste pipetovali pouze supernatant (vrchní část vzorku) a nedošlo tak k přenosu částic stolice. V případě nadměrného množství částic ve vzorku se doporučuje položit zkumavku se vzorkem na rovný povrch a nechat částice 5 minut sedimentovat.

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 58 min. U vzorků s vysokým titrem jsou výsledky k dispozici za méně než 41 minut a běh testu lze ukončit dříve (viz kapitola Ukončení testu).

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

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

Norovirus, genoskupina I/II	Rotavirus, typ A	C. difficile (tcdA/tcdB)	Human Control	Platnost	Výsledek
-	-	+	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na C. difficile.
-	+	+	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na rotavirus a C. difficile.
+	-	+	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na norovirus a C. difficile.
+	+	+	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na norovirus, rotavirus a C. difficile.
-	+	-	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na rotavirus.
+	+	-	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na norovirus a rotavirus.
+	-	-	+/-	platný	Vzorek je považován za pozitivní na norovirus.
-	-	-	+	platný	Vzorek je považován za negativní.
-	-	-	-	neplatný	Nelze vyhodnotit. ¹

¹ Doporučujeme provést test znovu.

PCR – křivka a hodnota C_q

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

Neplatné testy nebo selhání testů

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

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

Ukončení testu

Když je na obrazovce zobrazen platný pozitivní výsledek pro některý ze tří patogenů, uživatel může test ukončit.

Zpráva o testu

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

Upozornění uživatelům v EU

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

Omezení

Výsledky testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff musí interpretovat výhradně vyškolený zdravotník. Výsledky testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff nesmí být použity jako jediný parametr pro diagnózu.

- Negativní výsledek nevyklučuje přítomnost patogenů ve vzorku v hladině, která je nižší než citlivost testu, nebo jiných patogenů, které nejsou tímto testem pokryty.
- Existuje riziko falešně negativních nebo falešně pozitivních výsledků v důsledku nesprávně odebraného nebo přepravovaného vzorku či v důsledku nesprávné manipulace se vzorkem.
- V mezních případech mohou vzniknout atypické charakteristiky PCR (např. plochá křivka s nízkou nebo vysokou hodnotou C_q). V případě atypických charakteristik není dovoleno výsledky použít pro diagnostickou interpretaci. Software označí nejednoznačné výsledky. Doporučuje se test opakovat.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je kvalitativní test PCR v reálném čase a neposkytuje kvantitativní výsledek.
- Pozitivní výsledek nemusí nutně znamenat, že jsou přítomny životaschopné patogeny.
- Test detekuje *C. difficile* nosící geny *tcdA/tcdB*, ale nerozlišuje mezi kmeny produkujícími a neprodukcujícími toxiny.
- Negativní výsledek nevyklučuje infekci norovirem, rotavirem, *C. difficile* nebo koinfekci. Negativní testované vzorky se doporučuje interpretovat v kontextu s dalšími laboratorními údaji.
- Nadměrné množství stolice může mít inhibiční účinky na provedení testu.
- Byla pozorována snížená výkonnost u kmenů *C. difficile* tcdA+/tcdB-.
- Nadměrné množství virových částic rotaviru A může vést ke snížené výkonnosti testu *C. difficile*.
- Nebylo možné dosáhnout exkluzivity pro rotavirus typu C (prasečí rotavirus). Proto nelze vyloučit chybnou identifikaci rotaviru typu C jako typu A.

Vyhodnocení analytické výkonnosti**Analytická senzitivita (limit detekce)**

Limit detekce testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff byl stanoven jako nejnižší koncentrace analytu, kterou lze trvale detekovat ($\geq 95\%$ vzorků testovaných v běžných laboratorních podmínkách s použitím definovaného typu vzorku) ([tabulka 1](#)).

Inkluzivita

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

Exkluzivita / analytická specifita

Pro vyloučení zkřížené reaktivity (exkluzivita) byla provedena analýza *in silico* (uspořádání BLAST) cílové oblasti norovirů, rotavirů a *Clostridioides difficile* oproti genomové sekvenci různých dalších patogenů reprezentujících běžné gastrointestinální patogeny a blízké příbuzných druhů. V případě detekčního systému rotaviru je možné detekovat shody sekvence v oblasti sondy a primeru pro prasečí rotavirus (skupina C), z čehož lze usuzovat na možnou amplifikaci. Neexistují žádné důkazy rušení detekčního systému noroviru a *Clostridioides difficile* ([tabulka 3](#)).

Reprodukovatelnost

Reprodukovatelnost testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff byla stanovena pomocí panelu se 3 různými koncentracemi noroviru, rotaviru a *Clostridioides difficile*. 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 pozitivivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou pozitivivity ([tabulka 4a](#)).

Opakovatelnost

Opakovatelnost testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff byla stanovena pomocí panelu s 1 koncentrací ($3 \times c_{95}$) noroviru, rotaviru a *Clostridioides difficile*. 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 pozitivity pro různé kombinace byly korelovány s očekávanou mírou pozitivity (tabulka 4b).

Rušení

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

Vyhodnocení klinické výkonnosti

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

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

V případě referenčního testování byly vzorky připraveny podle doporučení použitých referenčních metod. Celkem bylo analyzováno 159 vzorků. Senzitivita či shoda pozitivních vzorků (PPA) byla vypočítána jako $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifita či shoda procenta negativních vzorků byla vypočítána jako $100\% \times TN / (TN + FP)$. Výsledky vyhodnocení klinické výkonnosti jsou uvedeny v tabulce 6, v tabulce 7 a v tabulce 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. *J Med Virol* 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. *Arch Virol* 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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*



Značka CE



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

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Návod na použitie

Úvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitívna anaeróbna baktéria tvoriaca spóry, ktorá sa skladá z toxigénnych a netoxigénnych kmeňov. *C. difficile* je jedným z najčastejších patogénov nozokomiálnych hnačiek, najmä u pacientov s hnačkou spojenou s antibiotikami. V posledných rokoch sa počet a závažnosť prípadov zvýšil v Európe a na celom svete.¹ Príznaky infekcie *C. difficile* (CDI) sa pohybujú od miernej hnačky až po závažnú život ohrozujúcu pseudomembranóznú kolitídu, hoci kolonizácia *C. difficile* nemusí nevyhnutne viesť k symptomatickej infekcii. Narušenie rovnováhy črevných mikroorganizmov, napr. v dôsledku antibiotickej liečby, môže spôsobiť usídlenie toxigénnej baktérie *C. difficile*, dominantnú kolonizáciu a môže byť začiatkom CDI.²

Faktory, ktoré sa podieľajú na patogenéze *C. difficile*, sú gény *tcdA* a *tcdB*, ktoré kódujú toxín A (enterotoxín) a toxín B (cytotoxín), ktoré sa nachádzajú v 19,6 kb chromozomálnej oblasti nazývanej lokus patogenity (PaLoc). Väčšina patogénnych kmeňov je toxín A a B pozitívna (A+B+), ale niektoré patogénne varianty izolátov môžu byť toxín A negatívne a B pozitívne (A-B+). Sú príčinou chorôb spojených s *C. difficile*.³ Niektoré toxigénne kmene *C. difficile* produkujú aj toxín nazývaný *C. difficile* transferáza (CDT) alebo binárny toxín.⁴

Norovírus patrí do triedy vírusov Caliciviridae a je známe, že spôsobuje sezónne ochorenie. Ide o vysoko nákazlivý patogén, ktorý je zodpovedný za väčšinu prípadov akútnej gastroenteritídy na celom svete. Norovírusové infekcie u ľudí sú spôsobené hlavne genoskupinou II a I, pričom genoskupina II je prevládajúcou príčinou epidémií spôsobených norovírusom. Pre infekcie gastrointestinálneho traktu spôsobené norovírusom je charakteristický náhly nástup príznakov, akými sú nevoľnosť, vracanie, hnačka a bolesť brucha.

Vírus sa rozširuje najmä v komunálnych priestoroch, ako sú nemocnice, školy a opatrovateľské domy, kde sa môže ľahko šíriť z človeka na človeka. Ochorenie zvyčajne trvá len niekoľko dní, ale môže spôsobiť závažnejšie komplikácie u imunokompromitovaných osôb alebo starších ľudí.^{5,6,7}

Rotavírus patrí do triedy vírusov Reoviridae. Je významnou príčinou akútnej gastroenteritídy, najmä u dočiat a malých detí. Jeho vírusová infekcia gastrointestinálneho traktu je charakterizovaná príznakmi, ako sú ťažká hnačka, vracanie, horúčka a dehydratácia. Gastroenteritída spojená s rotavírusom môže viesť k závažným komplikáciám vrátane hospitalizácie a dokonca smrti, čo z nej robí zásadný problém verejného zdravia. Úsilie o prevenciu a kontrolu rotavírusových infekcií, napríklad prostredníctvom očkovacích programov, bolo rozhodujúce pri znižovaní záťaže tohto ochorenia. Akútna gastroenteritída spôsobená norovírusom aj rotavírusom patrí medzi samoobmedzujúce ochorenia, hoci ak sa neliečia, môžu spôsobiť kritický priebeh ochorenia, najmä u najmladších alebo starších ľudí.^{7,8,9,10}

Obsah balenia

Testovacie kazety 15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff na detekciu *Clostridioides difficile* (gény toxínov *tcdA/tcdB*), ľudského norovírusu genoskupiny I/II a rotavírusu typu A.

Zoznam patogénov		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovírus genoskupiny I/II	Rotavírus typu A

Účel použitia

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je automatizovaný kvalitatívny *in vitro* diagnostický test založený na polymerázovej reťazovej reakcii (PCR) v reálnom čase na detekciu nukleových kyselín toxigénneho kmeňa *Clostridioides difficile* (gény toxínov *tcdA/tcdB*), ľudského norovírusu genoskupiny I/II a ľudského rotavírusu typu A z výterov tekutej alebo mäkkej ľudskej stolice na pomoc pri diagnostike akútnych gastrointestinálnych infekcií u symptomatických osôb.

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

Bezpečnostné informácie

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



POZOR

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

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

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

- Analyzátor Bosch Vivalytic *one* (referenčné číslo F09G300115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilné filtrovacie pipetovacie špičky 100 – 1000 µl
- Súpravy na odber vzorky výterom
 - Bežné tampónové tyčinky FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportné médium
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Vhodný ochranný odev

Princíp testu

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Návod na použitie

Reagencie

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

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

Typ vzorky/médium

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

Vzorky odoberajte a skladujte podľa pokynov výrobcu.

V prípade, že sa vzorka nespracuje ihneď po odbere, nukleové kyseliny sa uchovávajú v transportnom médiu eNAT® až 4 týždne pri izbovej teplote a pri 4 °C a až 6 mesiacov pri -20 °C až -80 °C (pozri návod na použitie transportného média eNAT®5¹¹).

Príprava vzorky

Na odber malého množstva stolice použite bežné tampónové tyčinky FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) tak, že do vzorky stolice vložíte špičku tampónovej tyčinky a otočíte ju. Mali by sa vybrať krvavé, hlienovité alebo vodnaté oblasti stolice a z nich urobiť odber. Po odbere skontrolujte tampónovú tyčinku, aby ste sa uistili, že na špičke je viditeľný fekálny materiál. V prípade, že nie je, opäť vložte tampónovú tyčinku do vzorky stolice a otočte ju, pričom dbajte na to, aby bola celá plocha špičky tampónovej tyčinky v kontakte so vzorkou. Uistite sa, že tampón je dostatočne pokrytý stolicou. Prebytočnú stolicu odstráňte jemným otáčaním tampónu o okraj vzorky. Po odbere preneste tampón do 2 ml skúmavky Copan eNAT® s transportným médiom eNAT®. Držte driek tampónovej tyčinky medzi palcom a prstom, rozťlačte a premiešajte vzorku stolice o stenu skúmavky, aby sa vzorka rovnomerne rozptýlila a suspendovala v konzervačnom médiu. Držte driek tampónovej tyčinky blízko okraja skúmavky, ohnite ju pod uhlom 180 stupňov a zlomte v označenom bode zlomu. Zlikvidujte odlomenú hornú časť tampónu a utiahnite uzáver. Dôkladne pretrepte skúmavku so vzorkou na tampónovej tyčinke a médiom eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) aspoň 10 sekúnd, aby sa obsah homogenizoval. Pomocou pipetora naplňte 300 µl homogenizovanej vzorky pacienta do otvoru na vzorky na kazete. Uistite sa, že pipetujete iba zo supernatantu (vrchná časť vzorky), aby ste zabránili prenosu častíc stolice. V prípade nadmerného množstva častíc vo vzorke sa odporúča položiť skúmavku so vzorkou na rovný povrch a nechať častice sedimentovať 5 minút. 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 58 min. Výsledky pre vzorky s vysokým titrom sú k dispozícii za menej než 41 min a testovanie sa môže ukončiť skôr (pozri kapitolu Ukončenie testu).

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

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

Norovírus genoskupiny I/II	Rotavírus typu A	C. difficile (tcdA/tcdB)	Human Control	Platnosť	Výsledok
-	-	+	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na C. difficile.
-	+	+	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na rotavírus a C. difficile.
+	-	+	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na norovírus a C. difficile.
+	+	+	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na norovírus, rotavírus a C. difficile.
-	+	-	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na rotavírus.
+	+	-	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na norovírus a rotavírus.
+	-	-	+/-	platné	Vzorka sa považuje za pozitívnu na norovírus.
-	-	-	+	platné	Vzorka sa považuje za negatívnu.
-	-	-	-	neplatné	Nie je možné vyhodnotiť. ¹

¹ Odporúča sa opakované testovanie

PCR – krivka a hodnota C_q

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

Neplatné alebo neúspešné testy

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

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

Ukončenie testu

Keď sa na obrazovke zobrazí platný pozitívny výsledok na jeden z troch patogénov, používateľ má možnosť test dokončiť.

Protokol o teste

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

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.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Návod na použitie

Obmedzenia

Výsledky testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff smie interpretovať iba vyškoľný zdravotnícky pracovník. Výsledky testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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. Výsledky, ktoré nie je možné interpretovať, sú označené softvérom. Odporúčame opätovné testovanie.
- Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je kvalitatívny PCR test v reálnom čase a neposkytuje kvantitatívny výsledok.
- Pozitívny výsledok nemusí nutne znamenať, že sú prítomné životaschopné patogény.
- Test deteguje kmeň *C. difficile* nesúci gény *tcdA/tcdB*, ale nerozlišuje medzi kmeňmi produkujúcimi toxín a kmeňmi neproduktujúcimi toxín.
- Negatívny výsledok nevylučuje infekciu norovírusom, rotavírusom, *C. difficile* alebo súbežnú infekciu. Odporúča sa, aby sa negatívne testované vzorky interpretovali v kontexte s ďalšími laboratórnymi údajmi.
- Nadmerné množstvo stolice môže mať inhibičný účinok na výkon testu.
- Znížená výkonnosť bola pozorovaná u kmeňov *C. difficile* nesúcej gény *tcdA+/tcdB*
- Nadmerné množstvo vírusových častíc rotavírusu A môže viesť k zníženiu výkonu testu PCR na *C. difficile*
- Nebolo možné dosiahnuť žiadnu exkluzivitu v prípade rotavírusu typu C (prasací rotavírus). Preto nemožno vylúčiť nesprávnu identifikáciu rotavírusu typu C ako typu A.

Hodnotenie analytickej výkonnosti

Analytická citlivosť (limit detekcie)

Limit detekcie Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff bol stanovený ako najnižšia koncentrácia analytu, ktorú možno konzistentne detegovať ($\geq 95\%$ vzoriek testovaných za bežných laboratórných podmienok s použitím definovaného typu vzorky) ([tabuľka 1](#)).

Inkluzivita

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

Exkluzivita/analytická špecifickosť

Na vylúčenie krížovej reaktivity (exkluzivity) sa vykonala analýza *in silico* (zarovnanie BLAST) cieľovej oblasti norovírusu, rotavírusu a *Clostridioides difficile* s genomickou sekvenciou rôznych iných patogénov, ktoré predstavujú bežné gastrointestinálne patogény alebo úzko príbuzné druhy. V prípade detekčného systému rotavírusu bolo možné detegovať sekvenčné zhody v oblasti próby a primeru pre prasací rotavírus (skupina C), čo môže znamenať amplifikáciu. Nenašli sa žiadne dôkazy interferencie pre detekčný systém norovírusu a *Clostridioides difficile* ([tabuľka 3](#)).

Reprodukovateľnosť

Reprodukovateľnosť testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff bola stanovená pomocou panelu s 3 rôznymi koncentraciami norovírusu, rotavírusu a *Clostridioides difficile*. 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 prepjli s očakávanou mierou pozitivity ([tabuľka 4a](#)).

Opakovateľnosť

Opakovateľnosť testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff sa stanovila pomocou panelu s 1 koncentráciou ($3 \times c_{95}$) norovírusu, rotavírusu a *Clostridioides difficile*. Na 1 testovacom pracovisku bola zmes testovaná na tej istej súprave prístrojov Vivalytic tým istým operátorom s 3 šaržami v 20 opakovaníach, t. j. s celkovým počtom 60 pozorovaní na cieľový patogén. Získané miery pozitívnosti pri rôznych kombináciách sa prepojiť s očakávanou mierou pozitívnosti (tabuľka 4b).

Interferencie

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

Hodnotenie klinickej výkonnosti

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

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

V prípade referenčného testovania boli vzorky pripravené podľa odporúčaní použitých referenčných metód. Celkom bolo analyzovaných 159 vzoriek. Citlivosť alebo pozitívna percentuálna zhoda (PPA) sa vypočítali ako $100\% \times TP / (TP + FN)$. Špecifickosť alebo negatívna percentuálna zhoda sa vypočítali ako $100\% \times TN / (TN + FP)$. Výsledky hodnotenia klinickej výkonnosti sú uvedené v tabuľke 6, tabuľke 7 a tabuľke 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol*. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes*. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. *J Med Virol* 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. *Arch Virol* 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Návod na použitie

Symbole



Výrobca



Výrobné číslo



Dátum výroby



Teplotný limit



Dátumu expirácie



Nepoužívajte, ak je obal poškodený



Číslo šarže



Len na jedno použitie



Referenčné číslo



Pozrite si návod na použitie



Obsahuje <n> testov



Diagnostická zdravotnícka pomôcka *in vitro*



Označenie CE



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

Bevezetés

A *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) Gram-pozitív, spóráképző anaerob bacillus, amelynek toxinogén és nem toxinogén törzsei is vannak. A *C. difficile* a nosocomiális hasmenés egyik leggyakoribb kórokozója, különösen az antibiotikumokkal összefüggésbe hozható hasmenésben szenvedő betegeknél. Az elmúlt években Európában és világszerte emelkedett az esetek száma és súlyossága.¹ A *C. difficile* által okozott fertőzés (*C. difficile* infection, CDI) tünetei az enyhe hasmenéstől a súlyos, életveszélyes álhártyás vastagbélgyulladásig terjednek, bár a *C. difficile* megtelepedése nem feltétlenül vezet tüneteket okozó fertőzéshez. Ha felborul a bél mikroorganizmusainak egyensúlya pl. antibiotikumos kezelés hatására, akkor megtelepedhet a toxinogén *C. difficile*, dominánssá válhat a mikrobiomban, és ezzel elkezdődhet a CDI.² A *C. difficile* patogenezisében szerepet játszanak a *tcdA* és a *tcdB* gének, amelyek az A toxint (enterotoxin) és a B toxint (citotoxin) kódolják, és amelyek egy 19,6 kb-os kromoszómaregióban, az úgynevezett patogenitási szigeten (PaLoc) találhatóak. A legtöbb patogén törzs pozitív az A és a B toxinokra (A+B+), de néhány patogén variáns izolátum lehet A negatív és B pozitív (A-B+). Ezek okozzák a *C. difficile* által okozott betegségeket.³ Egyes toxinogén *C. difficile* törzsek egy *C. difficile* transzferáz (CDT) nevű toxint is termelnek, amelyet bináris toxinnak is neveznek.⁴

A norovírus a Caliciviridae víruscsaládba tartozik, és ismert, hogy szezonális betegséget okoz. Ez egy rendkívül fertőző kórokozó, amely az akut gastroenteritises esetek többségéért felelős világszerte. Az emberi norovírus-fertőzéseket elsősorban a I-es és az I-es genocsoport okozza, míg a norovírus-kitöréseket elsősorban a II-es genocsoport tehető felelőssé. A gyomor-béltraktus norovírus-fertőzéseit hirtelen fellépő tünetek, például hányinger, hányás, hasmenés és hasi fájdalom jellemzi. A vírus különösen gyakori az olyan közösségi helyeken, mint a kórházak, az iskolák és az időotthonok, ahol könnyen terjedhet emberről emberre. A betegség általában csak néhány napig tart, de immunhiányos egyénekél vagy időseknél súlyosabb szövődményekhez vezethet.^{5,6,7}

A rotavírus a Reoviridae víruscsaládba tartozik. Ez a vírus az akut gastroenteritisz gyakori okozója, különösen csecsemőknél és kisgyermekknél. Az emésztőrendszer rotavírus-fertőzése olyan tünetekkel jár, mint a súlyos hasmenés, a hányás, a láz és a kiszáradás. A rotavírus által okozott gastroenteritisz súlyos szövődményekhez vezethet, beleértve a kórházi kezelést és akár halált is, így komoly közegészségügyi problémát jelent. A rotavírus-fertőzések megelőzésére és megfékezésére tett erőfeszítések, például a védőoltási programok révén, döntő szerepet játszottak a betegség által okozott terhek csökkentésében. A norovírus és a rotavírus által okozott akut gastroenteritisz önkorlátozó betegségek, bár kezeletlenül kritikus lefolyásúvá válhatnak, különösen a legfiatalabbaknál és az időseknél.^{7,8,9,10}

A csomag tartalma

15 Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff tesztpatron a *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB* toxin gének), a humán norovírus I-es és II-es genocsoport és a rotavírus A változat kimutatására.

Kórokozók listája		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovírus I-es és II-es genocsoport	Rotavírus A változat

Rendeltetészerű használat

A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff teszt egy automatizált kvalitatív *in vitro* diagnosztikai teszt, amely valós idejű polimeráz láncreakción (PCR) alapul a toxinogén *Clostridioides difficile* (*tcdA/tcdB* toxingének), a humán norovírus I-es és II-es genocsoport és a humán rotavírus A változata nukleinsavainak kimutatására folyékony vagy lágy emberi székletből származó tamponmintákból, hogy segítse a tüneteket mutató egyének akut gyomor-bélrendszeri fertőzéseinek diagnosztizását.

Az eredményeket nem szabad a diagnózis vagy a beteggel kapcsolatos egyéb döntések kizárólagos alapjául használni. A pozitív eredmény nem zárja ki a más kórokozó által okozott társfertőzést. Nem biztos, hogy a kimutatott kórokozó(k) betegség okozója vagy okozói. A negatív eredmények nem zárják ki

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Használati útmutató

a *C. difficile*, norovírus vagy rotavírus általi fertőzés vagy egyéb gyomor-bélrendszeri fertőzés lehetőségét. Az eredményeket klinikailag össze kell vetni a beteg kórtörténetével, az egészségügyi megfigyelésekkel és a járványügyi információkkal. A beteg fertőzési állapotának megállapításához egyéb diagnosztikai információkra is szükség van. Kizárólag egészségügyi szakemberek általi használatra szánták, Vivalytic one analizátorral, laboratóriumi környezetben.

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 higiénia, és megelőzi a teljesítmény pára miatti csökkenését. Negatívan befolyásolja a teszt teljesítményét, ha huzamosabb ideig pára éri.
- Ne rázza a mintát tartalmazó patronot.
- Ne fordítsa a patronot fejjel lefelé.
- A patronot csak tiszta és sík felületre helyezze.
- Ne használjon a teszthez nem jóváhagyott mintatípusokat, közeget és térfogatokat.
- A teszt megfelelő elvégzése érdekében mindig kövesse a jó laboratóriumi gyakorlatot.
- A biológiai mintákról, szállítóedényekről és használt patronokról fel kell 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® 552C (COPAN Italia s.p.a.) szabályos pelyhesített tampon
- Szállítóközeg
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Megfelelő védőruházat

A teszt alapelve

A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff kvalitatív, valós idejű PCR-alapú teszt.

Tárolási és használati feltételek

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

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.

Mintatípus/közeg

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

A mintákat a gyártói utasításokban megjelöltek szerint vegye le és tárolja. Amennyiben a mintát nem dolgozzák fel azonnal a mintavételt követően, a nukleinsavak az eNAT® szállítóközegben szobahőmérsékleten és 4°C-on 4 héig, –20 °C és –80 °C között tárolva 6 hónapig megőrződnek (lásd az eNAT® szállítóközeg használati útmutatóját¹¹).

Minta-előkészítés

Használjon FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) szabályos pelyhesített tamponokat kis mennyiségű széklet gyűjtésére úgy, hogy a pelyhesített tampon hegyét a székletmintába helyezi és megforgatja. A széklet véres, nyálkás vagy vizes részét kell kiválasztani és begyűjteni. A gyűjtést követően vizsgálja meg, látható-e a tampon hegyén széklet. Amennyiben nem, ismét helyezze a pelyhesített tampon a székletmintába, és forgassa meg, ügyelve arra, hogy a tampon hegyének teljes területe érintkezzen a mintával. Győződjön meg róla, hogy a tampont épp csak beborítja a széklet, és távolítsa el a felesleges székletet a tampon óvatos forgatásával a minta peremén. A begyűjtést követően helyezze át a tampont a 2 ml-es Copan eNAT® csőbe, amely eNAT® szállítóközeget tartalmaz. Tartsa a tampon szárát a hüvelykujja és egy másik ujj között, majd a cső oldalához nyomva pépesítse és keverje össze a székletmintát, hogy egyenletesen eloszoljon és szuszpendálódjon a tartósítóközegben. Tartsa a tampon szárát a cső pereméhez közel és hajlítsa meg 180 fokos szögben, hogy a megjelölt töréspontnál letörjön. Dobja ki a tampon szárának letört felső részét, és szorítsa meg a kupakot. A homogenizálás érdekében alaposan rázza a tamponmintát és az eNAT® médiumot (COPAN Italia s.p.a.) tartalmazó mintacsövet legalább 10 másodpercig. Pipettor használatával töltsön be 300 µl homogenizált betegmintát a patron mintabemenetébe. Ügyeljen rá, hogy csak a felülúszóból (a minta tetejéről) pipettázzon, hogy elkerülje a székletszemcsék átvitelét. Ha a mintában túl sok szemcse van, helyezze a mintacsövet sima felületre, és hagyja 5 percig, hogy a szemcsék leülepedjenek.

Ne használjon viszkózus, nehezen pipettázható mintákat.

Teszteredmény

A minta Valytic *one* analízátorral történő automatikus feldolgozását követően a teszteredmény megjelenik a Valytic *one* analízátor képernyőjén. Az eredmény eléréséhez szükséges idő körülbelül 58 perc. Magas titerű minták esetében az eredmény már kevesebb mint 41 perc alatt megjelenik, és a teszt futtatás korábban is befejezhető (lásd a Teszt befejezése című fejezetet).

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Használati útmutató

A minta besorolása lehet *C. difficile*-pozitív, rotavírus- és *C. difficile*-pozitív, norovírus- és *C. difficile*-pozitív, norovírus- és rotavírus- és *C. difficile*-pozitív, rotavírus-pozitív, norovírus- és rotavírus-pozitív, norovírus-pozitív, negatív vagy érvénytelen. Amennyiben egy kórokozóra pozitív eredmény születik, az akkor is érvényesnek minősül, ha a Human Control negatív.

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

Norovírus I-es és II-es genocsoport	Rotavírus A változat	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Érvényesség	Eredmény
-	-	+	+/-	érvényes	A minta <i>C. difficile</i> -pozitívnak minősül.
-	+	+	+/-	érvényes	A minta rotavírus- és <i>C. difficile</i> -pozitívnak minősül.
+	-	+	+/-	érvényes	A minta norovírus- és <i>C. difficile</i> -pozitívnak tekintendő.
+	+	+	+/-	érvényes	A minta norovírus-, rotavírus- és <i>C. difficile</i> -pozitívnak minősül.
-	+	-	+/-	érvényes	A minta rotavírus-pozitívnak minősül.
+	+	-	+/-	érvényes	A minta norovírus- és rotavírus-pozitívnak minősül.
+	-	-	+/-	érvényes	A minta norovírus-pozitívnak minősül.
-	-	-	+	érvényes	A minta negatívnak minősül.
-	-	-	-	érvénytelen	Nem kiértékelhető. ¹

¹ Ajánlott ismételten tesztelni.

PCR – görbe és C_q-érték

A valós idő (szoftveresen módosított) PCR-görbéket 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 ismételten tesztelni.

Érvénytelen vagy sikertelen tesztek

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

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

Teszt befejezése

Amint a képernyőn a három kórokozó egyikére vonatkozóan érvényes, pozitív eredmény jelenik meg, a felhasználónak lehetősége van a teszt befejezésére.

Tesztjelentés

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

Értesítés az EU-ban működő felhasználók számára

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

Korlátozások

A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff teszt eredményeit kizárólag képzett egészségügyi szakember értelmezheti. A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff teszt eredményeit nem szabad a diagnózis egyetlen paramétereként használni.

- A negatív eredmény nem zárja ki a kórokozóknak a teszt érzékenysége alatti szinten lévő jelenlétét a mintában és a teszt által nem lefedett egyéb kórokozókat.
- Helytelenül gyűjtött, szállított vagy kezelt minták esetén fennáll a hamis negatív vagy pozitív eredmények kockázata.
- Bizonyos határesetekben atipikus PCR-jellemzők fordulhatnak elő (pl. lapos görbe alacsony vagy magas C_q -értékkel). Atipikus jellemzők esetén tilos az eredményeket diagnosztikai értelmezésre használni. A kétes eredményeket a szoftver megjelöli. Ajánlott ismételt tesztelni.
- A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff kvalitatív valós idejű PCR-teszt, amely nem ad kvantitatív eredményt.
- A pozitív eredmény nem feltétlenül jelenti életképes kórokozók jelenlétét.
- A teszt kimutatja a *tcdA/tcdB* géneket hordozó *C. difficile*-t, de nem különbözteti meg a toxint termelő és a toxint nem termelő törzseket.
- A negatív eredmény nem zárja ki a norovírus, rotavírus vagy *C. difficile* általi fertőzést. Javasoljuk, hogy a negatív teszteredményű mintákat további laboratóriumi adatokkal összefüggésben értelmezzék.
- Túlzott mennyiségű széklet ronthatja a teszt teljesítményét.
- A *tcdA+/tcdB- C. difficile* törzseknél csökkent teljesítményt figyeltek meg.
- A rotavírus A vírusrészecskék túlzott mennyisége a *C. difficile* PCR teljesítményének csökkenéséhez vezethet.
- A rotavírus C változata (sertés rotavírus) esetében nem sikerült kizárólagosságot elérni. Ezért nem zárható ki, hogy a rotavírus C változatát tévesen A változatként azonosítják.

Atipikus teljesítmény értékelése**Analitikai érzékenység (kimutatási határ)**

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

Inkluzivitás

Az inkluzivitás értékelésére összehasonlították a különböző releváns norovírusok, rotavírusok és *Clostridioides difficile* törzsek genomai szekvenciáját *in silico* elemzéssel (BLAST illesztés) a Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff tesztben az adott kórokozók amplifikálására és kimutatására használt PCR-primerek és hidrolízis próba szekvenciájával. A [2. táblázat](#)ban felsorolt törzsek esetében kimutatható az inkluzivitás.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Használati útmutató

Exkluzivitás / analitikai specificitás

A keresztreaktivitás kizárására (az exkluzivitás biztosítására) *in silico* elemzéssel (BLAST illesztéssel) összehasonlították a norovírus, rotavírus és *Clostridioides difficile* célrégiját különböző gyakori gyomor-bélrendszeri kórokozók és szoros rokonságban lévő fajok egyes képviselőinek genomi szekvenciáival. A rotavírus kimutatási rendszere esetében a próba és a primer területén szekvenciaegyezéseket lehetett kimutatni a sertés rotavírussal (C csoport), így előfordulhat annak amplifikációja. A norovírus és a *Clostridioides difficile* kimutatási rendszere esetében nem volt bizonyíték interferenciára (3. táblázat).

Reprodukálhatóság

A Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff teszt reprodukálhatóságát 3 különböző norovírus-, rotavírus- és *Clostridioides difficile*-koncentrációt 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 Noro-, Rotavirus, C. diff teszt megismételhetőségét 1 norovírus-, rotavírus- és *C. difficile*-koncentrációt (3×c95) 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.

Klinikai teljesítmény értékelése

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

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

A referenciavizsgálatok esetében a mintákat az alkalmazott referenciamódszerek ajánlásainak megfelelően készítették el. Összesen 159 mintát elemeztek. Az érzékenységet vagy pozitív megfelelési arányt (PPA) a $100\% \times TP / (TP + FN)$ képlettel számították. A specificitást vagy negatív megfelelési arányt a $100\% \times TN / (TN + FP)$ képlettel számították. A klinikai teljesítmény értékelésének eredményét a 6. táblázat, 7. táblázat és 8. táblázat tartalmazza.














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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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 orvostechikai eszköz |
|  | CE-jelölés | | |

-  **300µl** Pipetázza a megadott mintamennyiséget a patron fekete háromszög-gel jelölt mintabemenetébe.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instrucțiuni de utilizare

Introducere

Clostridioides difficile (*C. difficile*) este un bacil anaerob gram-pozitiv formator de spori, care constă din tulpini toxigene și netoxigene. *C. difficile* este unul dintre cei mai comuni patogeni ai diareei nozocomiale, în special la pacienții cu diaree asociată antibioticelor. În ultimii ani, numărul și gravitatea cazurilor au crescut în Europa și în întreaga lume.¹ Simptomele infecției cu *C. difficile* (CDI) variază de la diaree ușoară la colită pseudomembranoasă severă cu potențial letal, deși colonizarea cu *C. difficile* nu duce neapărat la o infecție simptomatică. Perturbarea echilibrului microorganismelor din intestine, de exemplu, din cauza tratamentului cu antibiotice, este posibil să ducă la apariția *C. difficile* toxigene, să domine colonizarea și ar putea să reprezinte debutul CDI.²

Factorii implicați în patogeneză *C. difficile* sunt genele *tcdA* și *tcdB* care codifică toxina A (enterotoxina) și toxina B (citotoxina) care sunt localizate în regiunea cromozomială 19,6 kb denumită locus de patogenitate (PaLoc). Cele mai patologice tulpini sunt pozitive la toxina A și B (A+B+), dar unele izolate de variante patologice pot să fie negative la toxina A și pozitive la tulpina B (A-B+). Acestea sunt cauza bolilor asociate *C. difficile*.³ Unele tulpini de *C. difficile* toxigenă produc și o toxină denumită *C. difficile* transferază (CDT) sau toxină binară.⁴

Norovirusul aparține clasei de virusuri Caliciviridae și este cunoscut ca fiind o boală sezonieră. Este un agent patogen extrem de contagios care este responsabil pentru majoritatea cazurilor de gastroenterită acută din întreaga lume. Infecțiile cu Norovirus la om sunt cauzate în principal de genogrupurile II și I, genogrupul II fiind cauza predominantă a focarelor de Norovirus. Infecțiile tractului gastrointestinal provocate de Norovirus se caracterizează prin simptome cu debut brusc, cum ar fi greață, vărsături, diaree și dureri abdominale. Virusul este în special răspândit în mediile comunitare, cum ar fi spitale, școli și căminele de bătrâni, unde se poate răspândi cu ușurință de la o persoană la alta. Boala durează de obicei doar câteva zile, dar poate provoca complicații mai grave la persoanele imunocompromise sau la persoanele în vârstă.^{5,6,7}

Rotavirusul aparține clasei de virusuri Reoviridae. Este o cauză semnificativă pentru gastroenterită acută, în special la sugari și copii mici. Infecția sa virală a tractului gastrointestinal se caracterizează prin simptome precum diaree severă, vărsături, febră și deshidratare. Gastroenterita asociată Rotavirusului poate duce la complicații grave, inclusiv spitalizare și chiar deces, ceea ce face ca această boală să reprezinte o preocupare majoră pentru sănătatea publică. Eforturile de prevenire și control al infecțiilor cu Rotavirus, cum ar fi prin programe de vaccinare, au fost cruciale pentru reducerea poverii acestei boli. Gastroenterita acută cauzată atât de Norovirus, cât și de Rotavirus sunt boli autolimitante, deși, dacă nu sunt tratate, pot provoca o evoluție critică a bolii, în special la persoanele cele mai tinere sau la cele în vârstă.^{7,8,9,10}

Conținutul ambalajului

15 cartușe de testare Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff pentru detectarea *Clostridioides difficile* (genele toxinei *tcdA/tcdB*), a Norovirusului uman de genogrup I/II și a Rotavirusului de tip A.

Lista de patogeni		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogrup I/II	Rotavirus tip A

Destinația de utilizare

Testul Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 *Clostridioides difficile* (genele toxinei *tcdA/tcdB*), ai Norovirusului uman de genotipul I/II și ai Rotavirusului uman de tipul A din probe de materii fecale umane lichide sau cu consistență moale, pentru a ajuta la diagnosticarea infecțiilor gastrointestinale acute ale persoanelor simptomatice.

Rezultatele nu trebuie utilizate ca bază unică pentru diagnostic, tratament sau alte decizii de gestionare a pacienților. Rezultatele pozitive nu exclud infecția combinată cu alți agenți patogeni. Este posibil ca agentul detectat să nu fie cauza certă a bolii. Rezultatele negative nu exclud o infecție cu *C. di-*

fficile, Norovirus, Rotavirus sau o altă infecție gastrointestinală. Rezultatele trebuie să fie corelate clinic cu istoricul pacientului, cu observațiile clinice și cu informațiile epidemiologice. Alte informații diagnostice sunt necesare pentru a determina starea de infectare a pacientului. Destinat utilizării cu un analizor Vivalytic *one* de către profesioniști în domeniul sănătății numai în medii de laborator.

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.
- Urmați întotdeauna bunele practici de laborator pentru a asigura efectuarea corespunzătoare a acestui test.
- Specimenele biologice, dispozitivele de transfer și cartușele utilizate trebuie considerate capabile să transmită agenți infecțioși care necesită măsuri de precauție standard. Manipulați probele potențial infecțioase ale pacienților și cartușele potențial infecțioase ale pacienților în conformitate cu standardele naționale pentru laborator și eliminați la deșeurile probele și cartușele în conformitate cu standardele regionale și ale laboratorului.
- Respectați reglementările și practicile naționale privind siguranța.

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

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 obișnuit FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Mediu de transport
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Îmbrăcăminte adecvată de protecție

Principiul testului

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff este un test bazat pe PCR în timp real calitativ.

Condiții de depozitare și utilizare

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

Reactivi

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

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

Tip de probă/Mediu

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

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

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

Pregătirea probei

Folosiți un tampon flocat obișnuit FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) pentru a recolta o cantitate mică de fecale prin introducerea vârfului tamponului flocat în proba de fecale și rotirea acestuia. Zonele cu sânge, vâscoase sau apoase din fecale trebuie să fie selectate și recoltate. După recoltare, examinați tamponul pentru a vă asigura că există materii fecale vizibile în vârf. În cazul în care nu există, introduceți din nou tamponul flocat în proba de fecale și rotiți, având grijă ca toată zona vârfului tamponului să intre în contact cu proba. Asigurați-vă că tamponul este doar acoperit cu fecale și îndepărtați excesul de materii fecale rotind ușor tamponul pe marginea probei. După recoltare, transferați tamponul într-o eprubetă de 2 ml Copan eNAT® cu mediu de transport eNAT®. Țineți tija tamponului între degetul mare și un deget, amestecați și loviți proba de fecale de laterala eprubetei pentru a o distribui în mod egal și suspendați specimenul în mediul de conservare. Țineți tija tamponului aproape de marginea eprubetei, înclinați-o la un unghi de 180 de grade pentru a o rupe la punctul de rupere marcat. Aruncați partea superioară ruptă a tije tamponului și strângeți capacul. Agitați bine tubul de probă care conține proba de tampon și mediul eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) timp de cel puțin 10 secunde pentru omogenizare. Folosiți o pipetă pentru a umple 300 µl de probă de pacient omogenizată în compartimentul pentru probă al cartușului. Asigurați-vă că pipetați numai din supernatant (partea superioară a probei) pentru a preveni transferul particulelor de materii fecale. În cazul unei cantități excesive de particule în probă, vă recomandăm să poziționați tubul de probă pe o suprafață plană și să lăsați particulele să se sedimenteze timp de 5 minute.

Nu utilizați probe vâscoase care sunt dificil de pipetat.

Rezultatul testului

După procesarea automată a probei cu analizorul Vivalytic *one*, rezultatul testului este afișat pe ecranul analizorului Vivalytic *one*. Durata până la obținerea rezultatului este de aproximativ 58 de minute. Pentru probele cu titruri ridicate, rezultatele sunt disponibile după mai puțin de 41 de minute, iar testul poate fi încheiat mai repede (consultați capitolul Terminarea testului).

O probă este clasificată ca fiind pozitivă pentru *C. difficile*, pozitivă pentru Rotavirus și *C. difficile*, pozitivă pentru Norovirus și *C. difficile*, pozitivă pentru Norovirus și Rotavirus și *C. difficile*, pozitivă pentru Rotavirus, pozitivă pentru Norovirus și Rotavirus, pozitivă, negativă sau nevalidă pentru Norovirus. În cazul detectării pozitive a unui patogen, testul este considerat valid chiar și atunci când Human Control este negativ.

Detectarea controlului întregului proces bazat pe celule umane (Human Control) în probe negative arată o procedură de extracție reușită și exclude o inhibare a reacției PCR. Interpretarea rezultatelor este afișată în tabelul de mai jos.

Norovirus genogrup I/II	Rotavirus tip A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validitate	Rezultat
-	-	+	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Rotavirus și <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Norovirus și <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Norovirus, Rotavirus și <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Rotavirus.
+	+	-	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Norovirus și Rotavirus.
+	-	-	+/-	valid	Proba este considerată pozitivă pentru Norovirus.
-	-	-	+	valid	Proba este considerată negativă.
-	-	-	-	nevalid	Imposibil de evaluat. ¹

¹ Se recomandă repetarea testării

PCR – Curba și valoarea C_q

Curbele PCR în timp real (modificate de software) sunt afișate și clasificate ca fiind pozitive sau negative de către software. În cazul curbelor pozitive, se afișează valoarea C_q respectivă. Rezultatele neconcludente sunt marcate de software (△). Se recomandă retestarea.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instrucțiuni de utilizare

Teste nevalide sau eșuate

Un test este evaluat ca nevalid dacă nu este detectat nici ADN-ul țintă, nici Human Control. Un motiv posibil pentru o secvență nevalidă ar putea fi calitatea slabă a probei din cauza absenței parțiale sau totale a materialului celular uman în probă. Rezultatele sunt afișate pentru un test nevalid, dar nu se permite utilizarea acestora pentru interpretarea diagnosticului. Aordați atenție utilizării tipului corect de probă, colectării probei și depozitării probei și a cartușelor înainte de a efectua testul. Dacă este necesar, repetați analiza cu o probă nouă.

În cazul unui test eșuat, verificați mai întâi dacă există condițiile corecte de utilizare a analizorului Vivalytic *one* (consultați instrucțiunile de utilizare ale analizorului Vivalytic *one*). Reporniți analizorul Vivalytic *one*. Dacă problema persistă, contactați asistența pentru clienți a distribuitorului dumneavoastră local.

Terminarea testului

Imediat ce un rezultat pozitiv valid este afișat pe ecran pentru unul dintre cei trei patogeni, utilizatorul are opțiunea de a finaliza testul.

Raportul de test

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

Observație pentru utilizatorii din UE

Orice incident grav care a avut loc în legătură cu dispozitivul trebuie raportat producătorului și autorității competente a statului membru de rezidență al utilizatorului și/sau pacientului.

Limitări

Rezultatele testului Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff trebuie interpretate numai de către un profesionist în domeniul sănătății calificat. Rezultatele testului Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff nu trebuie utilizate ca reprezentând singurul parametru pentru diagnostic.

- Un rezultat negativ nu exclude faptul că agenții patogeni pot fi prezenți în probă la un nivel mai mic decât sensibilitatea analizei sau poate fi prezent un agent patogen care nu este acoperit de această analiză.
- Există riscul obținerii unor rezultate fals negative sau fals pozitive din cauza probelor recoltate, transportate sau manipulate necorespunzător.
- În cazuri limită pot apărea caracteristici PCR atipice (de exemplu, curbă plată cu valoare C_q mică sau mare). În cazul caracteristicilor atipice, rezultatele nu pot fi utilizate pentru interpretarea diagnosticului. Rezultatele neconcludente sunt marcate de software. Se recomandă retestarea.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff este un test PCR calitativ în timp real și nu oferă un rezultat cantitativ.
- Un rezultat pozitiv nu înseamnă neapărat că sunt prezenți patogeni viabili.
- Testul detectează genele *tcdA/tcdB* purtătoare de *C. difficile*, dar nu diferențiază între tulpinile producătoare de toxine și cele neproducătoare de toxine
- Un rezultat negativ nu exclude infecția cu Norovirus, Rotavirus, *C. difficile* sau o co-infecție. Se recomandă ca probele testate negativ să fie interpretate în contextul datelor de laborator suplimentare
- O cantitate de fecale în exces poate să aibă efecte inhibitoare asupra performanței testului.
- S-a observat o performanță scăzută pentru tulpinile *tcdA+/tcdB-C. difficile*
- O cantitate excesivă de particule de virus de tip Rotavirus A poate duce la o performanță scăzută a testului PCR pentru *C. difficile*
- Nu s-a putut obține exclusivitate pentru Rotavirusul de tip C (Rotavirus porcin). Prin urmare, nu poate fi exclusă o identificare greșită a Rotavirusului de tip C ca fiind de tip A.

Evaluarea performanțelor analitice

Sensibilitate analitică (limită de detecție)

Limita de detecție a testului Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff a fost determinată la cea mai scăzută concentrație a analitului care poate să fie detectată uniform ($\geq 95\%$ din probele testate în condiții normale de laborator folosind un anumit tip de probă) ([Tabelul 1](#)).

Inclusivitate

Pentru a evalua inclusivitatea, a fost efectuată o analiză *in silico* (aliniere BLAST) a secvenței genomice a unor tulpini de Norovirusuri, Rotavirusuri și *Clostridioides difficile* diferite comparativ cu secvența primerilor PCR și sonda de hidroliză folosite în testul Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff pentru amplificarea și detectarea patogenilor respectivi. Inclusivitatea a putut să fie indicată pentru tulpinile enumerate în [Tabelul 2](#).

Exclusivitate/Specificitate analitică

Pentru a exclude reactivitatea încrucișată (exclusivitatea), a fost realizată o analiză *in silico* (aliniere BLAST) a regiunii țintă a Norovirusurilor, Rotavirusurilor și a *Clostridioides difficile* comparativ cu secvența genomică a mai multor tipuri de agenți patogeni reprezentând agenți patogeni gastrointestinali comuni sau specii înrudite. În ceea ce privește sistemul de detectare a Rotavirusului, s-au putut detecta potriviri de secvențe în zona sondei și a primerului pentru Rotavirusul porcine (grupul C), ceea ce concluzionează o posibilă amplificare. Nu au existat dovezi de interferență pentru sistemul de detectare a Norovirusului și a *Clostridioides difficile* ([Tabelul 3](#)).

Reproductibilitatea

Reproductibilitatea testului Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff a fost stabilită folosind un panel cu 3 concentrații diferite de Norovirus, Rotavirus și *Clostridioides difficile*. În 3 centre de testare, fiecare amestec a fost testat pe același set de instrumente Vivalytic de către același operator cu 3 loturi în 4 replicări, 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 Noro-, Rotavirus, C. diff a fost stabilită folosind un panel cu 1 concentrație ($3 \times c95$) de Norovirus, Rotavirus și *Clostridioides difficile*. Într-un centru de testare, amestecul a fost testat pe același set de instrumente Vivalytic de către același operator cu 3 loturi, în 20 de replicări, 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.

Evaluarea performanțelor clinice

Rezultatele de sensibilitate și specificitate derivate din probele de fecale umane native, lichide și cu consistență moale. Probele au fost colectate într-un mediu clinic și comparate cu rezultatele metodelor de referință.

Probele pentru testarea cu cartușele Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff au fost folosite proaspete sau congelate pentru depozitare și preparate după cum a fost descris mai sus în eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

În cazul testării de referință, probele au fost preparate conform recomandărilor metodelor de referință folosite. În total, au fost analizate 159 de probe. Sensibilitatea sau concordanța procentuală pozitivă (CPP) a fost calculată ca $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specificitatea sau concordanța procentuală negativă a fost calculată ca $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultatele evaluării performanței clinice sunt prezentate în [Tabelul 6](#), [Tabelul 7](#) și [Tabelul 8](#).

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.

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instrucțiuni de utilizare

Bibliografie

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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*

CE₀₁₂₃ Marcaj CE



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

Uvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) jest gram-pozitivan anaerobni bacil koji stvara spore i koji se sastoji od toksigenih i netoksigenih sojeva. *C. difficile* jedan je od najčešćih uzročnika nozokomijalnog proljeva, osobito u bolesnika s proljevom uzrokovanim antibioticima. Posljednjih godina broj i težina slučajeva porasli su u Europi i svijetu.¹ Simptomi infekcije bakterijom *C. difficile* (CDI) kreću se od blagog proljeva do teškog pseudomembranoznog kolitisa opasnog po život, no kolonizacija bakterije *C. difficile* ne mora nužno dovesti do simptomatske infekcije. Poremećaj ravnoteže crijevnih mikroorganizama, npr. zbog liječenja antibioticima, može uzrokovati da toksigena bakterija *C. difficile* uspostavi dominantnu kolonizaciju i može biti početak CDI-ja.²

Čimbenici uključeni u patogenezu bakterije *C. difficile* jesu geni *tcdA* i *tcdB* koji kodiraju toksin A (enterotoksin) i toksin B (citotoksin) koji se nalaze u kromosomskoj regiji od 19,6 kb koja se naziva lokus patogenosti (PaLoc). Većina patogenih sojeva pozitivni su na toksin A i B (A+B+), ali neki izolati patogenih varijanti mogu biti negativni na toksin A i pozitivni na B (A-B+). Uzročnici su bolesti povezanih s bakterijom *C. difficile*.³ Neki sojevi toksigene bakterije *C. difficile* također proizvode toksin koji se naziva transferaza bakterije *C. difficile* (CDT) ili binarni toksin.⁴

Norovirus pripada porodici virusa Caliciviridae i poznat je kao sezonska bolest. Riječ je o izrazito zaraznom patogenu koji uzrokuje većinu slučajeva akutnog gastroenteritisa u svijetu. Infekcije norovirusom u ljudi uglavnom su uzrokovane genogrupom II i I, pri čemu je genogrupa II prevladavajući uzročnik epidemija norovirusa. Infekcije probavnog sustava norovirusom obilježava nagla pojava simptoma kao što su mučnina, povraćanje, proljev i bolovi u abdomenu. Ovaj je virus osobito čest u okruženjima u kojima boravi velik broj ljudi, primjerice bolnicama, školama i domovima za starije i nemoćne, gdje se lako može prenositi s osobe na osobu. Bolest obično traje samo nekoliko dana, no može uzrokovati teže komplikacije u imunokompromitiranih ili starijih osoba.^{5,6,7}

Rotavirus pripada porodici virusa Reoviridae. Značajan je uzročnik akutnog gastroenteritisa, osobito u dojenčadi i male djece. Virusnu infekciju probavnog sustava koju uzrokuje obilježavaju simptomi kao što su teški proljev, povraćanje, vrućica i dehidracija. Gastroenteritis povezan s rotavirusom može dovesti do ozbiljnih komplikacija, uključujući hospitalizaciju ili čak smrt, što ga čini velikim problemom za javno zdravlje. Mjere za prevenciju i suzbijanje infekcija rotavirusom, primjerice, programi cijepljenja, pokazali su se ključnima za smanjenje tereta ove bolesti. Akutni gastroenteritis uzrokovan norovirusom i rotavirusom samoograničavajuća je bolest, no ako se ne liječi, može uzrokovati kritičan oblik bolesti, osobito u mladih i starijih osoba.^{7,8,9,10}

Sadržaj pakiranja

Petnaest patrona testnih uzoraka Vivalytic Noro-, Rotavirus i *C. diff* za otkrivanje bakterije *Clostridioides difficile* (geni za proizvodnju toksina *tcdA/tcdB*), humanog norovirusa genogrupe I/II i rotavirusa tipa A.

Popis patogena		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogrupe I/II	Rotavirus tipa A

Namjena

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, *C. diff* automatizirani je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test koji se temelji na lančanoj reakciji polimerazom (PCR) u stvarnom vremenu za otkrivanje nukleinskih kiselina iz toksigene bakterije *Clostridioides difficile* (geni za proizvodnju toksina *tcdA/tcdB*), humanog norovirusa genogrupe I/II i rotavirusa tipa A iz uzoraka brisova tekuće ili meke ljudske stolice, a koji je namijenjen kao pomoć u dijagnozi akutnih gastrointestinalnih infekcija u simptomatskih pojedinaca.

Rezultati se ne smiju upotrebljavati kao jedini temelj za dijagnozu, liječenje ili druge odluke vezane za pacijenta. Pozitivni rezultati ne isključuju koinfekciju s drugim patogenima. Otkriveni agensi možda nisu konačan uzrok bolesti. Negativni rezultati ne isključuju infekciju bakterijom *C. difficile*, norovirusom ili rotavirusom ili drugu gastrointestinalnu infekciju. Rezultati moraju biti klinički povezani s povijesti bolesti pacijenata, kliničkim opservacijama i epidemiološkim informacijama. Potrebne su druge dijagnostičke informacije

kako bi se odredio status infekcije pacijenta. Namijenjen je upotrebi s analizatorom Vivalytic *one*, isključivo za zdravstvene djelatnike u laboratorijskim okruženjima.

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 obučениh zdravstvenih djelatnika.



UPOZORENJE

- Uvijek slijedite dobru laboratorijsku praksu da bi se osigurala ispravna učinkovitost testa.
- Obavezno nosite odgovarajuću osobnu zaštitnu opremu (OZO).
- Nemojte upotrebljavati patronu ako su zatvorena vrećica ili sama patrona vidljivo oštećene.
- Nemojte dirati ili grebati područje za detekciju na patroni.
- Nemojte ponovno upotrebljavati patronu.
- Nemojte upotrebljavati patrone kojima je prošao rok trajanja. Rok trajanja naveden je na pakiranju i na naljepnici patrone.
- Nemojte čekati duže od 15 minuta nakon otvaranja vrećice patrone da započnete testiranje. Time se održava higijena i izbjegava se smanjenje učinkovitosti zbog vlažnosti. Dugotrajno izlaganje vlazi negativno utječe na učinkovitost testa.
- Nemojte tresti patronu koja sadrži uzorak.
- Nemojte okretati patronu naopako.
- Patronu postavite isključivo na čistu i ravnu površinu.
- Nemojte upotrebljavati uzorke, medije i volumene koji nisu odobreni za ovaj test.
- Uvijek slijedite dobru laboratorijsku praksu da bi se osigurala ispravna učinkovitost testa.
- S biološkim uzorcima, prijenosnim uređajima i upotrijebljenim patronama treba postupati kao da mogu prenijeti zarazne tvari i zahtijevaju standardne mjere opreza. S potencijalno zaraznim uzorcima pacijenta i patronama postupajte u skladu s nacionalnim laboratorijskim standardima i odložite uzorke i patrone u skladu s regionalnim i laboratorijskim standardima.
- Pridržavajte se nacionalnih sigurnosnih propisa i postupaka.

Napomena: Dodatne informacije nalaze se u sigurnosno-tehničkom listu (SDS) proizvoda. Obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Potrebna dodatna oprema i potrošni materijal koji nije isporučen

- Analizator Bosch Vivalytic *one* (referentni broj F09G300115)
- Pipetor (100 – 1000 µl)
- Sterilni vrhovi pipeta s filtrom, 100 – 1000 µl
- Kompleti za prikupljanje briseva
 - Standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Transportni medij
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prikladna zaštitna odjeća

Načelo testa

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Vrsta/medij uzorka

Test je namijenjen upotrebi s uzorcima brisa stolice u mediju eNAT® (standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® 552C, transportni medij eNAT® ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Prikupite i pohranite uzorke kao što je naznačeno u uputama proizvođača.

U slučaju da se uzorak ne obradi odmah nakon uzimanja uzorka, nukleinske kiseline čuvat će se u transportnom mediju eNAT® do 4 tjedna na sobnoj temperaturi i na 4 °C i do 6 mjeseci na –20 °C do –80 °C (pogledajte upute za uporabu transportnog medija eNAT®¹¹).

Priprema uzorka

Upotrijebite standardni štapić sa sintetičkim vrhom FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) za prikupljanje male količine stolice tako da umetnete vrh štapića za bris u uzorak stolice i okrenete ga. Treba odabrati krvavo, sluzavo ili vodenasto područje stolice i prikupiti uzorak. Nakon prikupljanja pregledajte bris kako biste bili sigurni da je na vrhu vidljiv fekalni materijal. U slučaju da nije, ponovno umetnite štapić za bris u uzorak stolice i okrenite ga tako da pazite da cijelo područje vrha štapića bude u kontaktu s uzorkom. Pobrinite se da je štapić za bris prekriven stolicom i uklonite višak stolice tako da štapić lagano okrećete uz rub uzorka. Nakon prikupljanja prenesite štapić u epruvetu Copan eNAT® od 2 ml s transportnim medijem eNAT®. Držite štapić brisa između palca i prsta, zgnječite i pomiješajte uzorak stolice uz rub epruvete kako biste ga ravnomjerno raspršili i suspendirali u mediju za konzerviranje. Držite štapić brisa blizu ruba epruvete i savijte ga pod kutom od 180 stupnjeva kako biste ga prelomili na označenoj točki prijeloma. Bacite slomljeni gornji dio štapića brisa i zategnite čep. Dobro tresite epruvetu s uzorkom koja sadrži uzorak brisa i medij eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) 10 sekundi kako bi se homogenizirali. Pipetom dodajte 300 µl homogeniziranog uzorka pacijenta u jažicu za uzorak patrone. Pipetirajte samo supernatant (s vrha uzorka) kako biste spriječili prijenos čestica stolice. Ako je u uzorku prisutna prekomjerna količina čestica, preporučuje se staviti epruvetu s uzorkom na ravnu površinu i pričekati 5 minuta da se čestice natalože.

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 58 minuta. Za uzorke visokog titra rezultati su dostupni nakon manje od 41 minuta i testiranje se može ranije prekinuti (pogledajte poglavlje Završetak testa).

Uzorak se klasificira kao pozitivan na *C. difficile*, pozitivan na rotavirus i *C. difficile*, pozitivan na norovirus i *C. difficile*, pozitivan na norovirus i rotavirus i *C. difficile*, pozitivan na rotavirus, pozitivan na norovirus i rotavirus, pozitivan na norovirus, negativan ili nevažeci. U slučaju pozitivnog otkrivanja patogena test se smatra valjanim čak i ako je kontrola Human Control negativna.

Otkrivanjem kontrole cijelog postupka temeljene na ljudskim stanicama (kontrola Human Control) u negativnim uzorcima pokazuje se uspješan postupak ekstrakcije i isključuje se inhibicija PCR reakcije. Tumačenje rezultata navedeno je u tablici u nastavku.

Norovirus genogrupe I/II	Rotavirus tipa A	C. difficile (tcdA/tcdB)	Human Control	Valjanost	Rezultat
-	-	+	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na C. difficile.
-	+	+	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na rotavirus i C. difficile.
+	-	+	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na norovirus i C. difficile.
+	+	+	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na norovirus, rotavirus i C. difficile.
-	+	-	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na rotavirus.
+	+	-	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na norovirus i rotavirus.
+	-	-	+/-	važeći	Uzorak se smatra pozitivnim na norovirus.
-	-	-	+	važeći	Uzorak se smatra negativnim.
-	-	-	-	nevažeći	Nije moguće procijeniti. ¹

¹ Preporučuje se ponovno testiranje

PCR – Krivulja i vrijednost C_q

Prikazuju se krivulje PCR-a (modificirane softverom) u stvarnom vremenu i softver ih klasificira kao pozitivne ili negativne. U slučaju pozitivnih krivulja, prikazuje se određena vrijednost C_q. Softver označava nejasne rezultate (Δ). Preporučuje se ponovno testiranje.

Nevažeci ili neuspješni testovi

Test se smatra nevažecim ako se ne otkrije ciljani DNK ni kontrola Human Control. Mogući razlozi za nevažeci test mogu biti loša kvaliteta uzorka zbog djelomičnog ili potpunog odsustva ljudskog staničnog tkiva u uzorku. Za nevažeci se test prikazuju rezultati, ali se oni ne smiju upotrebljavati za dijagnostičko tumačenje. Pripazite da upotrebljavate ispravnu vrstu uzorka, prikupljanje uzorka i pohranu uzorka i patrona prije testiranja. Ako je potrebno, ponovite analizu s novim uzorkom.

U slučaju neuspješnog testa najprije provjerite ispravne radne uvjete analizatora Vivalytic one (pogledajte upute za upotrebu analizatora Vivalytic one). Ponovno pokrenite analizator Vivalytic one. Ako se problem nastavi, obratite se korisničkoj podršci lokalnog distributera.

Završetak testa

Čim se na zaslonu prikaže valjan, pozitivan rezultat za jedan od tri patogena, korisnik ima mogućnost završiti test.

Izveštaj o testu

U ispisanom izvještaju o testu patogen, rezultati i informacije o korisniku, pacijentu i analizatoru Vivalytic one navedeni su uz polje za potpis.

Obavijest korisnicima u EU-u

Svaki ozbiljan štetni događaj koji se dogodio u vezi s ovim proizvodom potrebno je prijaviti proizvođaču i nadležnom tijelu države članice u kojoj se korisnik i/ili pacijent nalaze.

Ograničenja

Rezultate testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff smiju tumačiti samo obučeni zdravstveni djelatnici. Rezultati testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff ne smiju se upotrebljavati kao jedini parametar za dijagnozu.

- Negativan test ne isključuje prisutnost patogena u uzorku na razini ispod razine osjetljivosti testa ili drugih patogena koji nisu pokriveni testom.
- Postoji rizik od lažno negativnih ili lažno pozitivnih rezultata zbog neispravnog prikupljanja ili transporta uzoraka ili rukovanja njima.
- U graničnim slučajevima može doći do netipičnih PCR karakteristika (npr. ravna krivulja s visokom ili niskom vrijednosti C_q). U slučaju netipičnih karakteristika rezultati se ne smiju upotrebljavati za dijagnostičko tumačenje. Softver označava nejasne rezultate. Preporučuje se ponovno testiranje.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff kvalitativni je PCR test u stvarnom vremenu i ne pruža kvantitativne rezultate.
- Pozitivan rezultat ne znači nužno da su prisutni održivi patogeni.
- Test otkriva *C. difficile* koji nosi gene *tcdA/tcdB*, ali ne razlikuje sojeve koji proizvode toksine i sojeve koji ne proizvode toksine.
- Negativan rezultat ne isključuje infekciju norovirusom, rotavirusom, bakterijom *C. difficile* ni koinfekciju. Preporučuje se tumačenje negativnih testiranih uzoraka u kontekstu dodatnih laboratorijskih podataka.
- Prekomjerna količina stolice može imati inhibitorne učinke na učinkovitost testa.
- Za sojeve *tcdA+/tcdB-* bakterije *C. difficile* uočena je smanjena učinkovitost.
- Prekomjerna količina virusnih čestica rotavirusa A može dovesti do smanjene učinkovitosti PCR testa *C. difficile*.
- Nije bilo moguće postići ekskluzivnost za rotavirus tipa C (svinjski rotavirus). Stoga nije moguće isključiti pogrešnu identifikaciju rotavirusa tipa C kao tipa A.

Procjena analitičkih performansi

Analitička osjetljivost (granica otkrivanja)

Granica otkrivanja testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 norovirusa, rotavirusa i bakterije *Clostridioides difficile* naspram sekvence PCR početnica i probe za hidrolizu upotrijebljenih u testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff za amplifikaciju i otkrivanje odgovarajućih patogena. Uključivost se može pokazati za sojeve navedene u tablici 2.

Ekskluzivnost / analitička specifičnost

Kako bi se isključila unakrsna reaktivnost (ekskluzivnost), provedena je *in silico* analiza (usklađivanje BLAST) ciljnih regija norovirusa, rotavirusa i bakterije *Clostridioides difficile* naspram sekvence genoma raznih drugih patogena koji predstavljaju uobičajene gastrointestinalne patogene ili blisko povezane vrste. Za sustav otkrivanja rotavirusa mogla su se otkriti podudaranja sekvenci u području probe i početnice za svinjski rotavirus (grupa C), što upućuje na moguću amplifikaciju. Nije bilo dokaza interferencije za sustav otkrivanja norovirusa i bakterije *Clostridioides difficile* (tablica 3).

Ponovljivost

Ponovljivost testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff utvrđena je upotrebom panela s 3 različite koncentracije norovirusa, rotavirusa i bakterije *Clostridioides difficile*. 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 povezane su s očekivanom stopom pozitivnosti (tablica 4.a).

Obnovljivost

Obnovljivost testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff utvrđena je upotrebom panela s jednom koncentracijom ($3 \times c95$) norovirusa, rotavirusa i bakterije *Clostridioides difficile*. 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 povezane su s očekivanom stopom pozitivnosti (tablica 4.b).

Interferencije

Interferencije su procijenjene za endogene i egzogene tvari koje su potencijalno prisutne u uzorku pacijenta. Pogledajte tablicu 5 za tvari koje potencijalno mogu ometati test.

Procjena kliničkih performansi

Rezultati osjetljivosti i specifičnosti dobiveni iz nativih uzoraka tekuće i mekane ljudske stolice. Uzorci su prikupljeni u kliničkom okruženju i uspoređeni s rezultatima dobivenima s pomoću referentnih metoda.

Uzorci za testiranje patronama Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff bili su svježe upotrijebljeni ili zamrznuti za skladištenje i pripremljeni kako je prethodno opisano za eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

U slučaju referentnog ispitivanja uzorci su pripremljeni prema preporukama upotrijebljenih referentnih metoda. Ukupno je analizirano 159 uzoraka. Osjetljivost ili pozitivno postotno slaganje (PPA) izračunato je kao $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifičnost ili negativno postotno slaganje izračunato je kao $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultati procjene kliničke učinkovitosti prikazani su u tablici 6, tablici 7 i tablici 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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

Oznaka CE



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

Uvod

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitivni anaerobni bacil, ki tvori spore, sestavljajo pa ga toksični in netoksični sevi. *C. difficile* je eden izmed najbolj pogostih povzročiteljev bolnišnične diareje, zlasti pri bolnikih, pri katerih se pojavi z antibiotiki povezana diareja. V zadnjih letih sta se število in resnost primerov v Evropi in po svetu povečala.¹ Simptomi okužbe s *C. difficile* (CDI) obsegajo vse od blage diareje do zelo hudega in življenjsko nevarnega psevdomembranoznega kolitisa, čeprav kolonizacija *C. difficile* ne vodi nujno do simptomatske okužbe. Porušenje ravnovesja črevesnih mikroorganizmov, npr. zaradi zdravljenja z antibiotiki, lahko povzroči, da toksični sev *C. difficile* vzpostavi prevladujočo kolonizacijo, kar je lahko začetek CDI.² Dejavnika, ki sodelujeta pri patogenezi *C. difficile*, sta gena *tcdA* in *tcdB*, ki kodirata toksin A (enterotoksin) in toksin B (citotoksin), ki se nahajata v kromosomski regiji 19,6 kb, imenovani lokus patogenosti (PaLoc). Večina patogenih sevov je pozitivnih na toksina A in B (A+B+), toda nekateri izolati patogene različice so lahko negativni na toksin A in pozitivni na toksin B (A-B+). So vzrok bolezni, povezanih s *C. difficile*.³ Nekateri sevi toksične oblike *C. difficile* prav tako proizvajajo toksin, imenovan *C. difficile* transferaza (CDT), ali binarni toksin.⁴

Norovirus spada v razred virusov Caliciviridae in ga poznamo kot sezonsko bolezen. Gre za zelo nalezljiv patogen, ki povzroči večino primerov akutnega gastroenteritisa po vsem svetu. Okužbe z norovirusi pri ljudeh povzročata predvsem genomski skupini II in I, pri čemer je genomska skupina II prevladujoči vzrok izbruhov norovirusov. Za okužbe prebavil z norovirusi so značilni nenadni simptomi, kot so slabost, bruhanje, diareja in bolečine v trebuhu. Virus je še posebej razširjen v skupnih prostorih, kot so bolnišnice, šole in domovi za starejše, kjer se zlahka prenaša z osebe na osebo. Bolezen običajno traja le nekaj dni, vendar lahko povzroči hujše zaplete pri imunsko oslabljenih osebah ali starejših.^{5,6,7}

Rotavirus spada v skupino virusov Reoviridae. Je pomemben vzrok akutnega gastroenteritisa, zlasti pri dojenčkih in majhnih otrocih. Za virusno okužbo prebavil so značilni simptomi, kot so huda diareja, bruhanje, vročina in dehidracija. Z rotavirusi povezan gastroenteritis lahko povzroči hude zaplete, ki vodijo v hospitalizacijo in celo smrt, zato ga je treba upoštevati v javnem zdravju. Za zmanjšanje bremena te bolezni so ključna prizadevanja za preprečevanje in obvladovanje rotavirusnih okužb, na primer s programi cepljenja. Akutni gastroenteritis, ki ga povzročata norovirus in rotavirus, je samoomejujoča bolezen, čeprav lahko nezdravljena bolezen povzroči kritičen potek, zlasti pri najmlajših ali starejših.^{7,8,9,10}

Vsebina embalaže

15 testnih kartuš Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff za odkrivanje virusa *Clostridioides difficile* (toksična gena *tcdA/tcdB*), humanega norovirusa genomske skupine I/II in rotavirusa tipa A.

Seznam patogenov		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genomske skupine I/II	Rotavirus tipa A

Predvidena uporaba

Test Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff je avtomatiziran kvalitativni *in vitro* diagnostični test na podlagi verižne reakcije s polimerazo v realnem času (PCR) za zaznavanje nukleinskih kislin iz toksičnega *Clostridioides difficile* (toksična gena *tcdA/tcdB*), humanega norovirusa genomske skupine I/II in rotavirusa tipa A v vzorcih tekočega ali mehkega človeškega blata za pomoč pri diagnosticiranju akutnih gastrointestinalnih okužb pri simptomatskih posameznikih. Rezultati naj ne bodo uporabljani kot edina podlaga za diagnozo, zdravljenje ali druge odločitve pri obravnavi bolnika. Pozitivni rezultati ne izključujejo sočasne okužbe z drugimi patogeni. Odkriti povzročitelj/-i morda ni/niso dokončni vzrok bolezni. Negativni rezultati ne izključujejo okužbe s *C. difficile*, norovirusom, rotavirusom ali druge gastrointestinalne okužbe. Rezultati morajo klinično korelirati z anamnezo bolnika, kliničnimi opažanji in epidemiološkimi informacijami. Druge diagnostične informacije so potrebne, da se določi status okužbe bolnika. Predvidena uporaba z analizatorjem Vivalytic *one* samo s strani zdravstvenih delavcev v laboratorijskem okolju.

Varnostne informacije

Ta navodila za uporabo vsebujejo samo informacije, specifične za test. Nadaljnje informacije in navodila najdete v navodilih za uporabo, ki so priložena vašemu analizatorju Vivalytic *one* (poglavje z informacijami o varnosti pripomočka). Uporabljajte samo kartuše in dodatke Vivalytic, ki so odobreni za analizator Vivalytic *one*. Pazite, da preprečite kontaminacijo pri rokovanju z vzorci bolnikov in kartušami. Če se vzorec razlije na kartušo, slednje ne uporabite, ampak jo zavržite.

Izdelek lahko za *in vitro* diagnostiko uporabljajo le zdravstveni strokovnjaki.

**OPOZORILO**

- Vselej sledite dobri laboratorijski praksi, da boste zagotovili pravilno izvedbo tega testa.
- Zagotovite, da nosite ustrezno osebno varovalno opremo (OVO).
- Ne uporabljajte kartuše, če sta zapečateni vrečka ali sama kartuša vidno poškodovani.
- Ne dotikajte se in ne spraskajte odkrivalnega predela kartuše.
- Kartuše ne uporabite ponovno.
- Kartuš, ki jim je potekel rok uporabe, ne uporabite. Rok uporabe najdete na embalaži in na etiketi kartuše.
- Po odprtju vrečke kartuše test opravite v 15 minutah. Na ta način se vzdržuje higieno in preprečuje izgubo učinkovitosti zaradi vlage. Dalj časa trajajoča izpostavljenost izdelka vlagi vpliva negativno na učinkovitost testa.
- Ne stresajte kartuše, ki vsebuje vzorec.
- Kartuše ne obračajte na glavo.
- Kartušo položite le na čisto in ravno podlago.
- Ne uporabljajte tipov vzorcev, medijev in volumnov, ki niso odobreni za test.
- Vselej sledite dobri laboratorijski praksi, da boste zagotovili pravilno izvedbo tega testa.
- Biološke vzorce, pripomočke za transfer in uporabljene kartuše je treba obravnavati kot morebitne prenašalce povzročiteljev okužb, zaradi česar je treba izvajati standardne previdnostne ukrepe. Potencialno kužne vzorce bolnikov in kartuše obravnavajte skladno z nacionalnimi laboratorijskimi standardi ter vzorce in kartuše odstranjujte skladno z regionalnimi in laboratorijskimi standardi.
- Upoštevajte nacionalne varnostne predpise in prakse.

Opomba: Nadaljnje informacije so na voljo v varnostnem listu izdelka. Obrnite se na podporo za stranke pri svojem lokalnem distributerju.

Dodatna oprema in potrošni material (potrebna, vendar ni dana na voljo)

- Analizator Bosch Vivalytic *one* (referenčna številka F09G300115)
- Pipetor (100–1000 µl)
- Sterilne konice za pipeto s filtrom, 100–1000 µl
- Komplet za odvzem brisa
 - Običajna palčka z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Prenosni medij
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ustrezna zaščitna oblačila

Princip testa

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je kvalitativen test, ki temelji na PCR v realnem času.

Pogoji shranjevanja in uporabe

Pri shranjevanju pri temperaturi od + 15 °C do + 25 °C je izdelek stabilen do roka uporabnosti. Pogoji shranjevanja in uporabe so na voljo na oznaki na kartuši, vrečki ali škatli. Kartušo je treba pri temperaturi od + 15 °C do + 25 °C in pri relativni zračni vlagi < 65 % uporabiti v 15 minutah po odprtju vrečke. Na ta način se vzdržuje higieno in preprečuje izgubo učinkovitosti zaradi vlage. Dalj časa trajajoča izpostavljenost izdelka vlagi vpliva negativno na učinkovitost testa.

Reagenti

Vsi reagenti, potrebni za obdelavo vzorcev, so integrirani v kartuši. Obdelava obsega celično lizo, ekstrakcijo nukleinske kisline, pomnoževanje DNA in detekcijo.

Reagenti so kroglica PCR, vezni pufer, pralni pufer in elucijski pufer. Kroglica PCR vsebuje polimerazo DNK, primerje in sonde. Vezni pufer olajšuje veza-vo 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.

Vrsta vzorca/medij

Test je namenjen za uporabo z vzorci brisa blata v mediju eNAT® (prenosni medij na običajni palčki z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® 552C, eNAT®, ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Vzorce zbirajte in shranjujte v skladu s proizvajalčevimi navodili za uporabo. Če vzorec ni obdelan takoj po odvzemu, bodo nukleinske kisline shranjene v prenosnem mediju eNAT®, in sicer do štiri tedne pri sobni temperaturi in pri 4 °C in do šest mesecev pri temperaturi od – 20 °C do – 80 °C (glejte navodila za uporabo prenosnega medija eNAT®⁵¹¹).

Priprava vzorcev

Običajno palčko z najlonskimi vlakni FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) uporabite za odvzem majhnega vzorca blata, tako da konico palčke z vlakni vstavite v vzorec blata in jo zavrtite. Izbrati in odvzeti je treba krvavo, sluzasto ali vodeno blato. Po odvzemu palčko preglejte in se prepričajte, da je na konici viden fekalni material. Če ni, palčko z vlakni ponovno vstavite v vzorec blata in jo zavrtite, pri tem pa pazite, da je celotno območje konice palčke v stiku z vzorcem. Prepričajte se, da je palčka zgolj prekrita z blatom, odvečno blato pa odstranite z nežnim vrtenjem palčke ob rob vzorca. Po odvzemu palčko prenesite v 2-ml epruveto Copan eNAT® s prenosnim medijem eNAT®. Palčko držite med palcem in kazalcem ter tlačite in premešajte vzorec blata ob strani epruvete, da se vzorec enakomerno razprši in raztopi v sredstvu za shranjevanje. Palčko držite v bližini odprtine epruvete in jo ukrivite pod kotom 180 stopinj, da jo odlomite na označenem mestu. Zgornji, odlomljeni del palčke zavrzite in privijte pokrovček. Vzorcno epruveto s palčko z vzorcem in medijem eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) temeljito stresajte najmanj 10 sekund, da zagotovite homogenizacijo. Uporabite pipetor in 300 µl homogeniziranega bolnikovega vzorca napolnite v vhodno mesto za vzorce na kartuši. Pazite, da pipetirate samo iz supernatanta (vrha vzorca), da preprečite prenos delcev blata. V primeru prevelike količine delcev v vzorcu je priporočljivo, da epruveto z vzorcem postavite na ravno površino in jo tam pustite 5 minut, da se delci usedejo na dno.

Ne uporabljajte viskoznih vzorcev, ki jih je težko pipetirati.

Rezultati testa

Po samodejni obdelavi vzorca z analizatorjem Vivalytic *one* se rezultat testa prikaže na zaslonu analizatorja Vivalytic *one*. Čas do pridobitve rezultata je približno 58 minut. Rezultati vzorcev z visokim titrom so na voljo v manj kot 41 minutah in testni postopek je mogoče zaključiti prej (glejte razdelek Dokončanje testa).

Vzorec je razvrščen kot pozitiven za *C. difficile*, pozitiven za rotavirus in *C. difficile*, pozitiven za norovirus in *C. difficile*, pozitiven za norovirus in rotavirus in *C. difficile*, pozitiven za rotavirus, pozitiven za norovirus in rotavirus, pozitiven za norovirus, negativen ali neveljaven. V primeru pozitivnega odkritja patogena velja, da je test veljaven, tudi če je Human Control negativna.

Odkrivanje človeške celice na podlagi kontrole celotnega procesa (Human Control) v negativnih vzorcih kaže uspešen postopek ekstrakcije in izključuje zaviranje reakcije PCR. Interpretacija rezultatov je navedena v spodnji preglednici.

Norovirus genomske skupine I/II	Rotavirus tipa A	C. difficile (tcdA/tcdB)	Human Control	Veljavnost	Rezultat
-	-	+	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za C. difficile.
-	+	+	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za rotavirus in C. difficile.
+	-	+	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za norovirus in C. difficile.
+	+	+	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za norovirus, rotavirus in C. difficile.
-	+	-	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za rotavirus.
+	+	-	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za norovirus in rotavirus.
+	-	-	+/-	veljavno	Vzorec velja kot pozitiven za norovirus.
-	-	-	+	veljavno	Vzorec velja kot negativen.
-	-	-	-	neveljavno	Ni mogoče oceniti. ¹

¹Priporočeno je ponovno testiranje.

PCR – krivulja in vrednost C_q

Prikazane so krivulje PCR (modificirane s programsko opremo) v realnem času, programska oprema pa jih razvrsti kot pozitivne ali negativne. V primeru pozitivnih krivulj je prikazana posamezna vrednost C_q. Programska oprema označi nepreprečljive rezultate (Δ). Priporočeno je, da se test ponovi.

Neveljavni ali spodleteli testi

Test je razvrščen kot neveljaven, če nista odkriti niti ciljna DNA niti Human Control. Mogoči razlogi za neveljaven potek so lahko slaba kakovost vzorca zaradi delnega ali popolnega pomanjkanja človeškega celičnega materiala v vzorcu. Rezultati neveljavnih testov so prikazani, vendar se jih ne sme uporabljati za diagnostično vrednotenje. Pazite na uporabo pravilnega tipa vzorca, odvzem vzorca ter shranjevanje vzorca in kartuše pred testom. Po potrebi analizo ponovite z novim vzorcem.

Pri neuspešnem testu je treba najprej preveriti prisotnost pravih pogojev delovanja analizatorja Vivalytic *one* (glejte navodila za uporabo analizatorja Vivalytic *one*). Analizator Vivalytic *one* ponovno zaženite. Če težava ni odpravljena, se obrnite na podporo za stranke pri svojem lokalnem distributerju.

Dokončanje testa

Kakor hitro je na zaslonu prikazan veljaven pozitiven rezultat za enega od treh patogenov, ima uporabnik možnost, da test konča.

Poročilo o testu

V natisnjem poročilu o testu so patogen, rezultati, kontrola in podatki o uporabniku, bolniku in analizatorju Vivalytic *one* navedeni s poljem za podpis.

Napotek za uporabnike v EU

O vsakem resnem zapletu v zvezi s tem pripomočkom je treba poročati proizvajalcu in pristojnemu organu države članice, v kateri ima uporabnik sedež in/ali bolnik prebivališče.

Omejitve

Rezultate testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff smejo interpretirati le usposobljeni zdravstveni delavci. Rezultatov testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff se ne sme uporabljati kot edinega parametra za diagnozo.

- Negativen rezultat ne izključuje, da so v vzorcu patogeni, katerih koncentracija je pod občutljivostjo testa, ali pa, da gre za patogene, ki jih ta test ne zajema.
- Obstaja tveganje za lažno negativne ali lažno pozitivne rezultate zaradi nepravilno odvzetih, prenesenih ali obravnavanih vzorcev.
- V mejnih primerih se lahko pojavijo atipične značilnosti PCR (npr. ploska krivulja z nizko ali visoko vrednostjo C_q). Pri atipičnih značilnosti se rezultatov ne sme uporabiti za diagnostično vrednotenje. Programska oprema označi neprepičljive rezultate. Priporočeno je, da se test ponovi.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff je kvalitativen test PCR v realnem času in ne zagotavlja kvantitativnega rezultata.
- Pozitiven rezultat ne pomeni nujno, da so navzoči živi povzročitelji bolezni.
- Test zazna patogen *C. difficile*, ki prenaša gena *tcdA/tcdB*, toda ne loči med sevi, ki proizvajajo toksine, in sevi, ki ne proizvajajo toksinov.
- Negativen rezultat ne izključuje okužbe z norovirusom, rotavirusom, *C. difficile* ali sočasne okužbe. Priporočamo, da negativne rezultate interpretirate v kontekstu z dodatnimi laboratorijskimi podatki.
- Prevelika količina blata ima lahko zaviralne učinke na učinkovitost testa.
- Manjša učinkovitost je bila opažena pri sevih *tcdA+/tcdB- C. difficile*.
- Prevelika količina delcev virusa rotavirusa A lahko povzroči manjšo učinkovitost testa PCR za *C. difficile*.
- Ekskluzivnosti za rotavirus tipa C (prašičji rotavirus) ni mogoče doseči. Zaradi tega ni mogoče izključiti napačne identifikacije rotavirusa tipa C kot tipa A.

Ovrednotenje analitske učinkovitosti

Analitska občutljivost (meja zaznavanja)

Meja zaznavanja testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je bila določena kot najnižja koncentracija analita, ki ga je mogoče dosledno zaznati (≥ 95 % vzorcev, testiranih v rutinskih laboratorijskih pogojih z uporabo določene vrste vzorca) ([tabela 1](#)).

Vključenost

Za oceno vključenosti je bila opravljena analiza *in silico* (poravnava BLAST) genomskega zaporedja različnih relevantnih sevov norovirusov, rotavirusov in *Clostridioides difficile* v primerjavi z zaporedjem primerjev PCR in hidrolizne sonde, uporabljene v testu Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff za pomnoževanje in odkrivanje zadevnih patogenov. Vključenost je bilo mogoče pokazati za seve, navedene v tabeli 2.

Izključenost/analitska specifičnost

Za izključitev navzkrižne reaktivnosti (ekskluzivnosti) je bila izvedena analiza *in silico* (poravnava BLAST) ciljnega območja norovirusa, rotavirusa in *Clostridioides difficile* z genomskim zaporedjem različnih drugih patogenov, ki predstavljajo običajne gastrointestinalne patogene ali tesno povezane vrste. Pri sistemu za odkrivanje rotavirusov je bilo mogoče zaznati ujemanje zaporedja v območju sonde in primerja za prašičji rotavirus (skupina C), kar pomeni, da je bila amplifikacija možna. Pri sistemu zaznavanja norovirusa in *Clostridioides difficile* ni bilo znakov interference ([tabela 3](#)).

Reproduktivnost

Reproduktivnost testa Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff je bila vzpostavljena s pomočjo panela s tremi različnimi koncentracijami norovirusa, rotavirusa in *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff je bila vzpostavljena s pomočjo panela z eno koncentracijo ($3 \times c95$) za norovirus, rotavirus in *Clostridioides difficile*. Na enem testnem mestu je vsako mešanico na istem kompletu instrumentov Vivalytic testiral isti izvajalec s tremi 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 tabelo 5 za snovi, ki lahko povzročijo interferenco testa.

Ovrednotenje klinične učinkovitosti

Rezultati občutljivosti in specifičnosti, pridobljeni iz nativnih tekočih in mehkih vzorcev človeškega blata. Vzorci so bili zbrani v kliničnem okolju in primerjani s tistimi iz referenčnih metod.

Vzorci za testiranje s kartušami Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff so bili uporabljeni sveži ali zamrznjeni za shranjevanje in pripravljeni, kot je opisano zgoraj v eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Pri referenčnem testiranju so bili vzorci pripravljene v skladu s priporočili uporabljenih referenčnih metod. Skupno je bilo analiziranih 159 vzorcev. Občutljivost ali pozitivna odstotna skladnost (PPA) je bila izračunana kot $100\% \times TP / (TP + FN)$. Specifičnost ali negativna odstotna skladnost je bila izračunana kot $100\% \times TN / (TN + FP)$. Rezultati ovrednotenja klinične učinkovitosti so prikazani v tabeli 6, tabeli 7 in tabeli 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect.* 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. *Clostridium difficile* infection: review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. *Clostridioides difficile* toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. *Nat Rev Microbiol.* 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. *Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. *Gut Microbes.* 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. *Journal of Clinical Virology* 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. *J Med Virol* 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitl M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. *Deutsches Ärzteblatt* 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis* 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. *Arch Virol* 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. *Lancet Infect Dis* 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Navodila za uporabo

Simboli



Proizvajalec



Serijska številka



Datum proizvodnje



Temperaturna omejitev



Rok uporabnosti



Izdelka ne uporabljajte, če je embalaža poškodovana.



Številka serije



Samo za enkratno uporabo



Referenčna številka



Glejte navodila za uporabo.



Vsebuje <n> testov.



in vitro diagnostični medicinski pripomoček



Oznaka CE



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

Въведение

Clostridioides difficile (*C. difficile*) е грам-положителен анаеробен бацил, образуващ спори, състоящ се от токсигенни и нетоксигенни щамове. *C. difficile* е един от най-честите патогени на нозокомиална диария, особено при пациенти с диария, свързана с антибиотици. През последните години броят и тежестта на случаите се увеличиха в Европа и по света.¹ Симптомите на инфекция с *C. difficile* (CDI) варира от лека диария до тежък животозастрашаващ псевдомембранозен колит, въпреки че колонизацията на *C. difficile* не води непременно до симптоматична инфекция. Нарушаването на баланса на чревните микроорганизми, напр. поради антибиотично лечение, може да доведе до установяване на токсигенен *C. difficile*, който да доминира колонизацията и това може да бъде началото на CDI.²

Фактори, участващи в патогенезата на *C. difficile*, са гените *tcdA* и *tcdB*, които кодират токсин А (ентеротоксин) и токсин В (цитотоксин), намиращи се в хромозомен регион 19,6 kb, наречен локус на патогенност (PaLoc). Повечето патогенни щамове са положителни за токсин А и В (A+B+), но някои изолати на патогенни варианти могат да бъдат отрицателни за токсин А и положителни за токсин В (A-B+). Те са причината за заболявания, свързани с *C. difficile*.³ Някои щамове на токсигенен *C. difficile* също така произвеждат токсин, наречен *C. difficile* трансфераза (CDT), още наричан бинарен токсин.⁴

Норовирусът принадлежи към класа вируси Caliciviridae и за него е известно, че причинява сезонно заболяване. Той е силно заразен патоген, който е отговорен за повечето случаи на остър гастроентерит в световен мащаб. Норовирусните инфекции при хората се причиняват главно от геногрупа II и I, докато геногрупа II е преобладаващата причина за възникване на огнища на норовирус. Инфекциите на стомашно-чревния тракт, дължащи се на норовирус, се характеризират с внезапно проявяващи се симптоми гадене, повръщане, диария и коремна болка. Вирусът е особено разпространен в среда, обитавана от много хора, като болници, училища и домове за възрастни хора, където може лесно да се разпространи от човек на човек. Болестта обикновено продължава само няколко дни, но може да причини по-тежки усложнения при имунокомпрометирани лица или възрастни хора.^{5,6,7}

Ротавирусът принадлежи на класа вируси Reoviridae. Той е съществена причина за остър гастроентерит, особено при кърмачета и малки деца. Вирусната инфекция на стомашно-чревния тракт, причинена от него, се характеризира със симптоми тежка диария, повръщане, треска и дехидратация. Свързаният с ротавирус гастроентерит може да доведе до тежки усложнения, включително хоспитализация, и дори смърт, което го прави основен проблем за общественото здраве. Усилията за предотвратяване и контрол на ротавирусните инфекции, като например чрез програми за ваксиниране, са от решаващо значение за намаляване на заболеваемостта. Острият гастроентерит, причинен от норовирус и ротавирус, са самоограничаващи се заболявания, въпреки че ако не се лекуват, могат да протекат с критичен ход, особено при най-младите или възрастните хора.^{7,8,9,10}

Съдържание на опаковката

15 касети с теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff за откриване на *Clostridioides difficile* (гени на токсините *tcdA/tcdB*), геногрупа I/ II на човешки норовирус и ротавирус тип А.

Списък на патогените		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Геногрупа I/ II на норовирус	Ротавирус тип А

Предназначение

Тестът Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff е автоматизиран качествен *in vitro* диагностичен тест, базиран на полимеразна верижна реакция (PCR) в реално време за откриване на нуклеинови киселини от токсигенни *Clostridioides difficile* (гени за токсини *tcdA/tcdB*), геногрупа I/ II на човешки норовирус и човешки ротавирус тип А от тампони с течни или меки човешки изпражнения в помощ при диагностицирането на остри стомашно-чревни инфекции на симптоматични лица.

Резултатите не трябва да се използват като единствена основа за диагностика, лечение или други решения по отношение на лечението на пациента. Положителните резултати не изключват коинфекция с други патогени. Откритият(те) агент(и) може да не е(са) категоричната причина за заболяването. Отрицателните резултати не изключват инфекция с *C. difficile*, норовирус, ротавирус или друга стомашно-чревна инфекция. Резултатите трябва да бъдат клинично съотнесени към историята на пациента, клиничните наблюдения и епидемиологичната информация. За определяне на инфекциозния статус на пациента е необходима друга диагностична информация. Предназначен за употреба с анализатор Valytic *one* от здравни специалисти само в лабораторни условия.

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 Valytic *one* (глава „Информация за безопасност на изделието“). Използвайте само касети и аксесоари Valytic, одобрени за анализатора Valytic *one*. Боравете внимателно с проби от пациенти и касети, за да се избегне замърсяване. При разливане на проба върху касетата не използвайте касетата, а я изхвърлете.

За *in vitro* диагностична употреба от обучени здравни специалисти.



ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

- Винаги следвайте добрата лабораторна практика, за да осигурите правилното изпълнение на този тест.
- Носете подходящи лични предпазни средства (ЛПС).
- Не използвайте дадена касета, ако запечатаното пликче или самата касета са видимо повредени.
- Не докосвайте и не надрасквайте зоната за откриване на касетата.
- Не използвайте касета повторно.
- Не използвайте касети с изтекъл срок на годност. Срокът на годност е отбелязан на опаковката и на етикета на касетата.
- Не чакайте повече от 15 минути след отваряне на пликчето на касетата, за да започнете теста. Това поддържа хигиена и избягва загуба на производителност поради влажност. Продължителното излагане на влага има отрицателно въздействие върху функционалността на теста.
- Не разклащайте касета, която съдържа проба.
- Не обръщайте касетата с горната част надолу.
- Поставете касетата само на чиста и равна повърхност.
- Не използвайте видове проби, среди и обеми, които не са одобрени за теста.
- Винаги следвайте добрата лабораторна практика, за да осигурите правилното изпълнение на този тест.
- За биологичните проби, изделията за прехвърляне и използваните касети трябва да се счита, че могат да предават инфекциозни агенти, изискващи стандартни предпазни мерки. Манипулирайте потенциално инфекциозни пациентски проби и касети в съответствие с националните лабораторни стандарти и изхвърляйте проби и касети в съответствие с регионалните и лабораторните стандарти.
- Спазвайте националните правила и практики за безопасност.

Забележка: Допълнителна информация можете да намерите в информационния лист за безопасност (SDS) на продукта. Моля, свържете се с екипа за поддръжка на клиенти на Вашия местен дистрибутор.

Необходимо допълнително оборудване и консумативи, които не са предоставени

- Анализатор Bosch Vivalytic one (референтен номер F09G300115)
- Пипетор (100–1000 µl)
- Стерилни върхове за пипети с филтър 100–1000 µl
- Комплекти проби с тампони
 - Обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Транспортна среда
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Подходящо защитно облекло

Принцип на теста

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff е качествен тест в реално време на основата на PCR.

Условия за съхранение и употреба

Продуктът е стабилен до срока на годност, ако се съхранява при температура от + 15 °C до + 25 °C. Условията за съхранение и употреба могат да бъдат взети от етикета на касетата, пликчето или кутията. Касетата трябва да се използва при температура от + 15 °C до + 25 °C, при относителна влажност < 65%, в рамките на 15 минути от отваряне на пликчето. Това поддържа хигиена и избягва загуба на производителност поради влажност. Продължителното излагане на влага има отрицателно въздействие върху функционалността на теста.

Реактиви

Всички реактиви, необходими за обработката на пробата, са вградени в касетата. Обработката включва клетъчен лизис, екстракция на нуклеинова киселина, амплификация и откриване на ДНК.

Реактивите са PCR перли, свързващ буфер, промивен буфер и 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.

Тип проба/среда

Тестът е предназначен за употреба с проби от фекални натривки в среда eNAT® (обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® 552C, транспортна среда eNAT® реф. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Вземайте и съхранявайте пробите, както е посочено в инструкциите на производителя.

В случай че пробата не бъде обработена веднага след вземането ѝ, нуклеиновите киселини ще бъдат запазени в транспортна среда eNAT® до 4 седмици при стайна температура и при 4°C и до 6 месеца при температура от -20°C до -80°C (вижте инструкции за употреба на транспортна среда eNAT®¹¹).

Подготовка на пробата

Използвайте обикновен флокиран тампон FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.), за да съберете малко количество изпражнения, като поставите върха на флокирания тампон в пробата с изпражнения и го завъртите. Кървави, слузести или воднисти участъци от изпражненията трябва да бъдат избрани и събрани. След вземането прегледайте тампона, за да се уверите, че на върха му се вижда фекален материал. Ако това не е така, поставете отново флокирания тампон в пробата от изпражнения и го завъртете, като внимавате цялата площ на върха на тампона да е в контакт с пробата. Уверете се че тампонът е покрит с изпражнения и отстранете излишните чрез внимателно завъртане на тампона по пръстена на пробата. След събирането прехвърлете тампона в епруветка от 2 ml Copan eNAT® с транспортна среда eNAT®. Като задържате клечката на тампона между палеца и показалеца, размачкайте и разбъркайте пробата от изпражнения към стената на епруветката, за да диспергирате равномерно и да суспендирате пробата в консервиращата среда. Дръжте клечката на тампона близо до ръба на епруветката и я огънете под ъгъл от 180 граду-

са, за да я счупите на мястото на маркираната точка за счупване. Изхвърлете счупената горна част на клечката на тампона и затегнете капачката. Разклатете добре епруветката за проба, съдържаща пробата от тампона и средата eNAT® (COPAN Italia s.p.a.), обстойно поне 10 секунди за хомогенизиране. Използвайте пипетор, за да прехвърлите 300 µl хомогенизирана проба от пациента във входа за пробата на касетата. Уверете се, че пипетирате само от супернатанта (горната част на пробата), за да предотвратите пренос на частици от изпражненията. В случай на излишно количество частици в пробата се препоръчва да поставите епруветката с пробата върху равна повърхност и да изчакате частиците да се утаят за 5 минути.

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 58 минути. За проби с висок титър резултатите са налични след по-малко от 41 минути и тестовият цикъл може да бъде прекратен по-рано (вижте глава „Прекратяване на теста“).

Пробата се класифицира като положителна за *C. difficile*, положителна за ротавирус и *C. difficile*, положителна за норовирус и *C. difficile*, положителна за норовирус и ротавирус и *C. difficile*, положителна за ротавирус, положителна за норовирус и ротавирус, положителна за норовирус, отрицателна или невалидна. В случай на положително откриване на патоген тестът се счита за валиден дори ако Human Control е отрицателна.

Откриването на контрола на целия процес на базата на човешки клетки (Human Control) в отрицателни проби показва успешна процедура на екстракция и изключва инхибиране на PCR реакцията. Интерпретирането на резултатите е показано в таблицата по-долу.

Геногрупа I/ II на норовирус	Ротавирус тип А	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Валидност	Резултат
-	-	+	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за ротавирус и <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за норовирус и <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за норовирус, ротавирус и <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за ротавирус.
+	+	-	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за норовирус и ротавирус.
+	-	-	+/-	валиден	Пробата се счита за положителна за норовирус.
-	-	-	+	валиден	Пробата се счита за отрицателна.
-	-	-	-	невалиден	Не може да се оцени. ¹

¹ Препоръчва се повторно тестване

PCR – крива и стойност на C_q

PCR кривите в реално време (софтуерно модифицирани) се показват и класифицират като положителни или отрицателни от софтуера. В случай на положителни криви се показва съответната стойност на C_q. Неубедителните резултати се маркират от софтуера (Δ). Препоръчва се повторно тестване.

Невалидни или неуспешни тестове

Тестът се оценява като невалиден, ако не бъде открита нито целева ДНК, нито Human Control. Възможните причини за невалиден цикъл могат да бъдат лошо качество на пробата поради частично или пълно отсъствие на човешки клетъчен материал в пробата. Резултатите се показват за невалиден тест, но не се използват за диагностична интерпретация. Трябва да използвате правилен тип проба, взимане на проба и съхранение на пробата и касетите преди тестовия цикъл. Ако е необходимо, повторете анализа с нова проба.

В случай на неуспешен тест първо проверете правилните условия на работа на анализатора Vivalytic one (направете справка с инструкциите за употреба на анализатора Vivalytic one). Рестартирайте анализатора Vivalytic one. Ако проблемът продължава, свържете се с екипа за поддръжка на клиенти на Вашия местен дистрибутор.

Прекратяване на тест

Веднага след като се определи валидността на теста и на екрана се покаже положителен резултат за един от трите патогена, потребителят има възможност да завърши теста.

Доклад от теста

В отпечатания протокол от теста са изброени патогените, резултатите, контрола и информацията за потребител, пациент и анализатор Vivalytic one заедно с поле за подпис.

Известие за потребителите в ЕС

Всеки сериозен инцидент, настъпил във връзка с изделието, трябва да бъде докладван на производителя и компетентния орган на държавата членка, в която се намират потребителят и/или пациентът.

Ограничения

Резултатите от теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff трябва да се интерпретират само от обучен медицински специалист. Резултатите от теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff не трябва да се използват като единствен параметър за поставяне на диагноза.

- Отрицателният резултат не изключва наличието на патогени в пробата на ниво под чувствителността на анализа или на други патогени, които не са в обхвата на този анализ.
- Съществува риск от фалшиво отрицателни или фалшиво положителни резултати поради неправилно взети, транспортирани или обработени проби.
- В гранични случаи могат да се появят атипични PCR характеристики (напр. плоска крива с ниска или висока стойност на C_q). В случай на атипични характеристики резултатите не могат да се използват за диагностична интерпретация. Неубедителните резултати се маркират от софтуера. Препоръчва се повторно тестване.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C.diff е качествен PCR тест в реално време и не предоставя количествен резултат.
- Положителният резултат не означава непременно наличието на жизнеспособни патогени.
- Тестът открива *C. difficile*, носещ гени *tcdA/tcdB*, но не прави разлика между щамове, произвеждащи токсини, и щамове, които не произвеждат токсини.
- Отрицателен резултат не изключва инфекция с норовирус, ротавирус, *C. difficile* или коинфекция. Препоръчва се отрицателните тествани проби да се интерпретират в контекста на допълнителни лабораторни данни
- Излишното количество изпражнения може да има инхибиращ ефект върху ефективността на анализа.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – инструкции за употреба

- За щамове *tcdA+/tcdB-* *C. difficile* е наблюдавана понижена ефективност.
- Прекомерно количество на вирусни частици на ротавирус А може да доведе до намалена ефективност на *C. difficile* PCR.
- Не може да се постигне ексклузивност за ротавирус тип С (свински ротавирус). Поради това не може да се изключи погрешно идентифициране на ротавирус тип С като тип А.

Оценка на аналитичното представяне

Чувствителност на анализа (граница на откриване)

Границата на откриване на теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 на норовируси, ротавируси и *Clostridioides difficile* спрямо последователността от PCR праймерите и сондата за хидролиза, използвани в теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff за амплификация и откриване на съответните патогени. Инклузивността може да бъде показана за щамове, изброени в Таблица 2.

Ексклузивност/специфичност на анализа

За да се изключи кръстосана реактивност (ексклузивност), беше проведен *in silico* анализ (BLAST подравняване) на целевия регион на норовирус, ротавирус и *Clostridioides difficile* спрямо геномната последователност на различни други патогени, представляващи често срещани стомашно-чревни патогени или тясно свързани видове. При системата за откриване на ротавирус съпаденията на секвенциите в областта на сондата и праймера могат да бъдат открити за свински ротавирус (група С), което води до заключение за възможна амплификация. Няма данни за интерференция за системата за откриване на норовирус и *Clostridioides difficile*. (Таблица 3).

Възпроизводимост

Възпроизводимостта на теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff е установена с помощта на панел с 3 различни концентрации на норовирус, ротавирус и *Clostridioides difficile*. 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 4a).

Повторяемост

Повторяемостта на теста Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff е установена с помощта на панел с 1 концентрация ($3 \times c95$) на норовирус, ротавирус и *Clostridioides difficile*. В 1 тестов център сместа беше тествана на един и същи набор от апарати Vivalytic от един и същи оператор с 3 LOT в 20 повторения съответно, като се получиха общо 60 наблюдения за целеви патоген. Получените нива на положителност за различните комбинации са корелирани с очаквания процент на положителност (Таблица 4b).

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.

Оценка на клиничното представяне

Резултати за чувствителност и специфичност, получени от проби от нативни течни и меки човешки изпражнения. Пробите бяха събрани в клинична среда и сравнени с резултатите от референтните методи.

Пробите за тестване с касети Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff бяха прясно използвани или замразени за съхранение и подготвени, както е описано по-горе в eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

В случай на референтно тестване пробите са подготвени съгласно препоръките на използваните референтни методи. Анализирани са общо 159 проби. Чувствителността или процентът на съвпадение на положителни резултати (PPA) е изчислен като $100\% \times TP / (TP + FN)$. Специфичността или процентът на съвпадение на отрицателни резултати е изчислен като $100\% \times TN / (TN + FP)$. Резултатите от оценката на клиничното представяне са показани в [Таблица 6](#), [Таблица 7](#) и [Таблица 8](#).

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P, ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – инструкции за употреба

Символи



Производител



Сериен номер



Дата на производство



Температурна граница



Срок на годност



Да не се използва, ако опаковката е повредена



Партиден номер



Само за еднократна употреба



Референтен номер



Консултирайте се с инструкциите за употреба



Съдържа <n> броя тестове



Медицинско изделие за *in vitro* диагностика



CE маркировка



Отпипетирайте посочения обем от пробата във входа за проба на касетата, както е отбелязано с черния триъгълник.

Εισαγωγή

Το *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) είναι ένας gram-θετικός, αναερόβιος βάκιλλος που σχηματίζει σπόρια και αποτελείται από τοξικογόνα και μη τοξικογόνα στελέχη. Το *C. difficile* είναι ένα από τα πιο συχνά παθογόνα της νοσοκομειακής διάρροιας, ιδιαίτερα σε ασθενείς με διάρροια που σχετίζεται με αντιβιοτικά. Τα τελευταία χρόνια, ο αριθμός και η βαρύτητα των περιστατικών έχουν αυξηθεί στην Ευρώπη και παγκοσμίως.¹ Τα συμπτώματα της λοίμωξης από *C. difficile* (CDI) κυμαίνονται από ήπια διάρροια έως βαριά, απειλητική για τη ζωή ψευδομεμβρανώδη κολίτιδα, παρότι ο αποικισμός του *C. difficile* δεν προκαλεί απαραίτητα συμπτωματική λοίμωξη. Η διαταραχή της ισορροπίας των μικροοργανισμών του εντέρου, π.χ. λόγω θεραπείας με αντιβιοτικά, ενδέχεται να οδηγήσει σε κυριαρχία του τοξικογόνου *C. difficile* στον αποικισμό και να αποτελέσει την έναρξη λοίμωξης CDI.²

Οι παράγοντες που εμπλέκονται στην παθογένεση του *C. difficile* είναι τα γονίδια *tcdA* και *tcdB* που κωδικοποιούνται για την τοξίνη A (εντεροτοξίνη) και την τοξίνη B (κυτταροτοξίνη) που βρίσκονται σε μια περιοχή χρωμοσωμάτων 19,6 kb η οποία ονομάζεται τόπος παθογονικότητας (PaLoc). Τα περισσότερα παθογόνα στελέχη είναι θετικά για τοξίνη A και B (A+B+), αλλά κάποια απομονωθέντα στελέχη παθογόνου παραλλαγής ενδέχεται να είναι αρνητικά για τοξίνη A και θετικά για τοξίνη B (A-B+). Αυτά αποτελούν την αιτία των νόσων που συσχετίζονται με το *C. difficile*.³ Κάποια στελέχη τοξικογόνου *C. difficile* παράγουν επίσης μια τοξίνη που ονομάζεται τρानσφεράση *C. difficile* (CDT) ή δυαδική τοξίνη.⁴

Ο νοροϊός ανήκει στην κατηγορία ιών Caliciviridae και είναι γνωστό ότι αποτελεί εποχική νόσο. Είναι ένα εξαιρετικά μεταδοτικό παθογόνο που ευθύνεται για την πλειοψηφία των περιστατικών οξείας γαστρεντερίτιδας παγκοσμίως. Οι λοιμώξεις από νοροϊό σε ανθρώπους οφείλονται κυρίως στη γενομάδα II και I, ενώ η γενομάδα II αποτελεί την κύρια αιτία εξάρσεων του νοροϊού. Οι λοιμώξεις της γαστρεντερικής οδού από νοροϊό χαρακτηρίζονται από αιφνίδια έναρξη των συμπτωμάτων, όπως ναυτία, εμετός, διάρροια και κοιλιακές πόνο. Ο ιός επικρατεί ιδιαίτερα σε κοινωτικά περιβάλλοντα, όπως νοσοκομεία, σχολεία και οίκους ευγηρίας, όπου μπορεί να μεταδοθεί εύκολα από το ένα άτομο στο άλλο. Η ασθένεια συνήθως διαρκεί μόνο μερικές ημέρες, αλλά μπορεί να προκαλέσει σοβαρές επιπλοκές σε ανοσοκατεσταλμένα άτομα ή στους ηλικιωμένους.^{5,6,7}

Ο ροταϊός ανήκει στην κατηγορία ιών Reoviridae. Αποτελεί σημαντική αιτία οξείας γαστρεντερίτιδας, ιδιαίτερα σε βρέφη και μικρά παιδιά. Η ιική λοίμωξη της γαστρεντερικής οδού που προκαλεί χαρακτηρίζεται από συμπτώματα όπως βαριά διάρροια, εμετός, πυρετός και αφυδάτωση. Η σχετιζόμενη με ροταϊό γαστρεντερίτιδα μπορεί να οδηγήσει σε σοβαρές επιπλοκές, συμπεριλαμβανομένης της νοσηλείας, ακόμη και του θανάτου, καθιστώντας τη μείζονα ανησυχία για τη δημόσια υγεία. Οι προσπάθειες πρόληψης και ελέγχου των λοιμώξεων από ροταϊό, όπως μέσω προγραμμάτων εμβολιασμού, είναι πολύ σημαντικές για τη μείωση του φορτίου αυτής της νόσου. Η οξεία γαστρεντερίτιδα που προκαλείται τόσο από νοροϊό όσο και από ροταϊό είναι αυτοπεριοριζόμενες νόσοι, παρόλο που, αν δεν αντιμετωπιστούν, μπορεί να προκαλέσουν σημαντική πορεία της νόσου, ιδιαίτερα στις νεαρές ηλικίες ή τους ηλικιωμένους.^{7,8,9,10}

Περιεχόμενα συσκευασίας

15 κασέτες εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff για την ανίχνευση του *Clostridioides difficile* (γονίδια τοξίνης *tcdA/tcdB*), του ανθρώπινου νοροϊού γενομάδας I/II και του ροταϊού τύπου A.

Λίστα παθογόνων		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Νοροϊός γενομάδας I/II	Ροταϊός τύπου A

Προοριζόμενη χρήση

Η εξέταση Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff είναι μια αυτοματοποιημένη ποιοτική εξέταση για διάγνωση *in vitro* βάσει αλυσιδωτής αντίδρασης πολυμεράσης (PCR) σε πραγματικό χρόνο για την ανίχνευση νουκλεϊκών οξέων από τοξικογόνο *Clostridioides difficile* (γονίδια τοξίνης *tcdA/tcdB*), ανθρώπινο νοροϊό γενομάδας I/II και ανθρώπινο ροταϊό τύπου A από δείγματα επιχρισμάτων υδαρών ή μαλακών ανθρώπινων κοπράνων, για τη διευκόλυνση της διάγνωσης οξείων γαστρεντερικών λοιμώξεων σε συμπτωματικά άτομα.

Τα αποτελέσματα δεν θα πρέπει να χρησιμοποιούνται ως το μοναδικό κριτήριο για τη διάγνωση, τη θεραπεία ή τη λήψη άλλων αποφάσεων διαχείρισης των ασθενών. Τα θετικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν συλλοίμωξη με άλλα παθογόνα. Ο(οι) ανιχνευόμενος(οι) παράγοντας(ες) ενδέχεται να μην αποτελεί την απόλυτη αιτία της νόσου. Τα αρνητικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν λοίμωξη από *C. difficile*, νοροϊό, ροταϊό ή άλλη γαστρεντερική λοίμωξη. Τα αποτελέσματα πρέπει να συσχετίζονται κλινικά με το ιστορικό του ασθενούς τις κλινικές παρατηρήσεις και τα επιδημιολογικά στοιχεία. Άλλες διαγνωστικές πληροφορίες είναι απαραίτητες για τον καθορισμό της κατάστασης λοίμωξης του ασθενούς. Προορίζεται για χρήση με αναλυτή Vivalytic *one* από επαγγελματίες υγείας μόνο σε εργαστηριακά περιβάλλοντα.

Πληροφορίες ασφάλειας

Οι παρούσες Οδηγίες χρήσης περιλαμβάνουν πληροφορίες μόνο για τις συγκεκριμένες εξετάσεις. Για επιπλέον προειδοποιήσεις και οδηγίες, ανατρέξτε στις Οδηγίες χρήσης που παρέχονται με τον αναλυτή σας Vivalytic *one* (κεφάλαιο με πληροφορίες για την ασφάλεια της συσκευής). Χρησιμοποιείτε μόνο κασέτες και βοηθητικά εξαρτήματα Vivalytic που έχουν εγκριθεί για τον αναλυτή Vivalytic *one*. Προσπαθήστε να αποφύγετε επιμολύνσεις κατά τον χειρισμό δειγμάτων ασθενών και κασετών. Σε 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.
- Να ακολουθείτε πάντα την ορθή εργαστηριακή πρακτική για να διασφαλίσετε τη σωστή απόδοση της παρούσας εξέτασης.
- Τα βιολογικά δείγματα, οι συσκευές μεταφοράς και οι χρησιμοποιημένες κασέτες θα πρέπει να θεωρούνται δυνητικά ικανές να μεταδώσουν λοιμογόνους παράγοντες και απαιτούν λήψη των καθιερωμένων προφυλάξεων. Τα δυνητικώς μολυσματικά δείγματα ασθενών και οι κασέτες πρέπει να χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τα εθνικά εργαστηριακά πρότυπα και να απορρίπτονται σύμφωνα με τα περιφερειακά και εργαστηριακά πρότυπα.
- Ενεργείτε σύμφωνα με τους εθνικούς κανονισμούς και τις πρακτικές ασφάλειας.

Σημείωση: Περισσότερες πληροφορίες διατίθενται στο φύλλο δεδομένων ασφάλειας (SDS) του προϊόντος. Επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του τοπικού σας διανομέα.

Πρόσθετος απαιτούμενος εξοπλισμός και αναλώσιμα που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

- Αναλυτής Bosch Vivalytic *one* (αριθμός αναφοράς F09G300115)
- Συσκευή πιπέτας (100–1000 μl)
- Αποστειρωμένα ακροφύσια πιπέτας φίλτρου 100–1.000 μl
- Κιτ συλλογής επιχρίσματος με στειλεό
 - Κανονικός στειλεός με τριχίδια Swab FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Μέσο μεταφοράς
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Κατάλληλη προστατευτική ενδυμασία

Αρχή της εξέτασης

Η εξέταση Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 δέσμευσης, ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης και ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης. Το σφαιρίδιο PCR περιέχει DNA πολυμεράση, εκκινήτες και ανιχνευτές. Το ρυθμιστικό διάλυμα δέσμευσης διευκολύνει τη δέσμευση των νουκλεϊκών οξέων κατά τη διαδικασία καθαρισμού. Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης είναι ένα σκεύασμα διαφόρων αλάτων και διαλυτών για την απομάκρυνση των ακαθαρσιών, π.χ. πρωτεϊνών, κατά τη διαδικασία εκχύλισης. Το ρυθμιστικό διάλυμα έκλουσης είναι ένα ρυθμιστικό διάλυμα χαμηλής συγκέντρωσης αλάτων και περιέχει τα κεκαθαρωμένα νουκλεϊκά οξέα στο τέλος της διαδικασίας εκχύλισης.

Τύπος δείγματος/Μέσο

Η εξέταση προορίζεται για χρήση με δείγματα επιχρίσματος κοπράνων σε μέσο eNAT® (Κανονικός στειλεός με τριχίδια FLOQSwabs® 552C, μέσο μεταφοράς eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Συλλέγετε και φυλάσσετε τα δείγματα όπως υποδεικνύεται στις οδηγίες του κατασκευαστή.

Σε περίπτωση που το δείγμα δεν υποβληθεί σε επεξεργασία αμέσως μετά τη συλλογή του, τα νουκλεϊκά οξέα θα συντηρούνται μέσα σε μέσο μεταφοράς eNAT® για έως 4 εβδομάδες σε θερμοκρασία δωματίου και στους 4 °C, καθώς και για έως 6 μήνες στους –20 °C έως –80 °C (δείτε τις Οδηγίες χρήσης του μέσου μεταφοράς eNAT®¹¹).

Προετοιμασία δείγματος

Χρησιμοποιήστε Κανονικό στειλεό με τριχίδια FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) για να συλλέξετε μικρή ποσότητα κοπράνων εισάγοντας το άκρο του στειλεού με τριχίδια μέσα στο δείγμα κοπράνων και περιστρέφοντάς το. Οι περιοχές αιματηρών, γλοιωδών ή υδαρών κοπράνων θα πρέπει να επιλέγονται και να συλλέγονται. Μετά τη συλλογή, εξετάστε τον στειλεό για να βεβαιωθείτε ότι υπάρχει ορατό υλικό κοπράνων πάνω στο άκρο. Σε διαφορετική περίπτωση, εισαγάγετε ξανά τον στειλεό με τριχίδια στο δείγμα κοπράνων και περιστρέψτε τον προσέχοντας ώστε να έρθει σε επαφή με το δείγμα όλη η περιοχή του άκρου του στειλεού. Βεβαιωθείτε ότι ο στειλεός έχει καλυφθεί με κόπρανα και αφαιρέστε την περίσσεια κοπράνων περιστρέφοντας με ήπιες κινήσεις έναντι του χείλους του δείγματος. Μετά τη συλλογή, μεταφέρετε τον στειλεό μέσα στο σωληνάριο Copan eNAT® 2 ml με μέσο μεταφοράς eNAT®. Κρατήστε το στέλεχος του στειλεού ανάμεσα στον αντίχειρα και το δάκτυλό σας, πολτοποιήστε και αναμίξτε το δείγμα κοπράνων στις πλευρές του σωληναρίου ώστε να διασπαρεί ομοιόμορφα και να εναιωρηθεί το δείγμα στο μέσο συντήρησης.

Valytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Οδηγίες χρήσης

Κρατήστε το στέλεχος του στειλεού κοντά στο χείλος του σωληναρίου και λυγίστε το σε γωνία 180 μοιρών ώστε να το σπάσετε στο επισημασμένο σημείο θραύσης. Απορρίψτε το σπασμένο επάνω μέρος του στελέχους του στειλεού και σφίξτε το πώμα. Ανακινήστε σχολαστικά το σωληνάριο δείγματος που περιέχει το δείγμα επιχρίσματος και το μέσο eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) για τουλάχιστον 10 δευτερόλεπτα ώστε να ομογενοποιηθεί. Χρησιμοποιήστε συσκευή πιπέτας ώστε να πληρώσετε με 300 μl ομογενοποιημένου δείγματος ασθενούς την υποδοχή δείγματος της κασέτας. Βεβαιωθείτε ότι μεταφέρετε με πιπέτα μόνο από το υπερκείμενο καλλιέργειας (επάνω μέρος του δείγματος) για την πρόληψη επιμόλυνσης κατά τη μεταφορά σωματιδίων κοπράνων. Σε περίπτωση περίσσειας ποσότητας σωματιδίων στο δείγμα, συνιστάται να τοποθετήσετε το σωληνάριο δείγματος σε επίπεδη επιφάνεια και να αφήσετε τα σωματίδια να καθιζήσουν για 5 λεπτά.

Μη χρησιμοποιείτε παχύρρευστα δείγματα τα οποία είναι δύσκολα στην αναρρόφηση με πιπέτα.

Αποτέλεσμα εξέτασης

Μετά την αυτόματη επεξεργασία του δείγματος με τον αναλυτή Valytic one, το αποτέλεσμα της εξέτασης εμφανίζεται στην οθόνη του αναλυτή Valytic one. Ο χρόνος έως την εμφάνιση του αποτελέσματος είναι περίπου 58 λεπτά. Τα αποτελέσματα δειγμάτων υψηλής τιτλοποίησης είναι διαθέσιμα μετά από λιγότερο από 41 λεπτά και η εξέταση μπορεί να τερματιστεί νωρίτερα (δείτε το κεφάλαιο Τερματισμός εξέτασης).

Το δείγμα ταξινομείται είτε ως θετικό για *C. difficile*, θετικό για ροταϊό και *C. difficile*, θετικό για νοροϊό και *C. difficile*, θετικό για νοροϊό και ροταϊό και *C. difficile*, θετικό για ροταϊό, θετικό για νοροϊό και ροταϊό, θετικό για νοροϊό, αρνητικό ή μη έγκυρο. Σε περίπτωση θετικής ανίχνευσης ενός παθογόνου, 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 εκχύλισης και αποκλείει την αναστολή της αντίδρασης PCR. Η ερμηνεία των αποτελεσμάτων παρουσιάζεται στον παρακάτω πίνακα.

Νοροϊός γενομάδας I/II	Ροταϊός τύπου A	<i>C. difficile</i> (tcdA / tcdB)	Human Control	Έγκυρότητα	Αποτέλεσμα
-	-	+	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για ροταϊό και <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για νοροϊό και <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για νοροϊό, ροταϊό και <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για ροταϊό.
+	+	-	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για νοροϊό και ροταϊό.
+	-	-	+/-	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται θετικό για νοροϊό.
-	-	-	+	έγκυρο	Το δείγμα θεωρείται αρνητικό.
-	-	-	-	μη έγκυρο	Αδυναμία αξιολόγησης. ¹

¹ Συνιστάται επανάληψη της εξέτασης

PCR – Καμπύλη και τιμή C_q

Οι καμπύλες της PCR πραγματικού χρόνου (τροποποιημένες από το λογισμικό) εμφανίζονται και κατηγοριοποιούνται ως θετικές ή αρνητικές από το λογισμικό. Σε περίπτωση θετικών καμπυλών, προβάλλεται η αντίστοιχη τιμή C_q. Τα ασαφή αποτελέσματα επισημαίνονται από το λογισμικό (Δ). Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.

Μη έγκυρες ή ανεπιτυχείς εξετάσεις

Μια εξέταση αξιολογείται ως μη έγκυρη αν δεν ανιχνευτεί ούτε στοχευόμενο DNA ούτε Human Control. Οι πιθανοί λόγοι μη έγκυρης ανάλυσης μπορεί να είναι η κακή ποιότητα του δείγματος λόγω μερικής ή πλήρους απουσίας ανθρώπινου κυτταρικού υλικού στο δείγμα. Τα αποτελέσματα για ένα μη έγκυρο αποτέλεσμα προβάλλονται, αλλά δεν επιτρέπεται να χρησιμοποιηθούν για διαγνωστική ερμηνεία. Πριν πραγματοποιήσετε την εξέταση, φροντίστε να χρησιμοποιήσετε τον σωστό τύπο δείγματος, τον σωστό τρόπο συλλογής και αποθήκευσης του δείγματος, καθώς και τις σωστές κασέτες. Επαναλάβετε την ανάλυση με νέο δείγμα, εάν χρειαστεί.

Σε περίπτωση αποτυχίας της εξέτασης, πρώτα ελέγξτε εάν οι συνθήκες λειτουργίας του αναλυτή Vivalytic one είναι σωστές (ανατρέξτε στις Οδηγίες χρήσης του αναλυτή Vivalytic one). Επανεκκινήστε τον αναλυτή Vivalytic one. Εάν το πρόβλημα επιμένει, επικοινωνήστε με το τμήμα εξυπηρέτησης πελατών του τοπικού σας διανομέα.

Τερματισμός εξέτασης

Μόλις εμφανιστεί στην οθόνη ένα έγκυρο, θετικό αποτέλεσμα για ένα από τα τρία παθογόνα, ο χρήστης έχει την επιλογή να ολοκληρώσει την εξέταση.

Αναφορά εξέτασης

Στην εκτυπωμένη αναφορά εξέτασης, τα παθογόνα, τα αποτελέσματα, ο μάρτυρας και πληροφορίες για τον χρήστη, τον ασθενή, και τον αναλυτή Vivalytic one παρατίθενται με ένα πεδίο υπογραφής.

Ειδοποίηση για τους χρήστες στην ΕΕ

Οποιοδήποτε σοβαρό συμβάν το οποίο έχει λάβει χώρα σε σχέση με τη συσκευή θα πρέπει να αναφέρεται στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο διαμένει ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα της εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff πρέπει να ερμηνεύονται μόνο από εκπαιδευμένο επαγγελματία υγείας. Τα αποτελέσματα της εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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. Τα ασαφή αποτελέσματα επισημαίνονται από το λογισμικό. Συνιστάται να γίνεται επανεξέταση.
- Το Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff είναι μια ποιοτική εξέταση βάσει PCR πραγματικού χρόνου και δεν παρέχει ποσοτικό αποτέλεσμα.
- Ένα θετικό αποτέλεσμα δεν σημαίνει απαραίτητα ότι υπάρχουν βιώσιμα παθογόνα.
- Η εξέταση ανιχνεύει το *C. difficile* που φέρει γονίδια *tcdA/tcdB*, αλλά δεν εκτελεί διαφοροποίηση μεταξύ στελεχών που παράγουν τοξίνη και στελεχών που δεν παράγουν τοξίνη.
- Το αρνητικό αποτέλεσμα δεν αποκλείει τη λοίμωξη από νοροϊό, ροταϊό, *C. difficile* ή τη συλλοίμωξη. Συνιστάται τα αρνητικά εξετασμένα δείγματα να ερμηνεύονται μαζί με επιπλέον εργαστηριακά δεδομένα.
- Η υπερβολική ποσότητα κοπράνων ενδέχεται να έχει ανασταλτικές επιδράσεις στην απόδοση του προσδιορισμού.

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Οδηγίες χρήσης

- Παρατηρήθηκε μειωμένη απόδοση για τα στελέχη tcdA+/tcdB- *C. difficile*
- Περίσσεια ποσότητα σωματιδίων του ροταϊού τύπου A μπορεί να οδηγήσουν σε μειωμένη απόδοση της PCR για το *C. difficile*
- Δεν ήταν δυνατή η επίτευξη αποκλεισμού για τον ροταϊό τύπου C (ροταϊός χοίρων). Συνεπώς, δεν μπορεί να αποκλειστεί εσφαλμένη αναγνώριση του ροταϊού τύπου C ως τύπου A.

Αξιολόγηση της αναλυτικής απόδοσης

Αναλυτική ευαισθησία (Όριο ανίχνευσης)

Ως όριο ανίχνευσης της εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 των νοροϊών, ροταϊών και *Clostridioides difficile* έναντι της αλληλουχίας των εκκινητών PCR και του ανιχνευτή υδρόλυσης που χρησιμοποιούνται στην εξέταση Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff για την ενίσχυση και την ανίχνευση των αντίστοιχων παθογόνων. Συμπερίληψη θα μπορούσε να καταδειχθεί για τα στελέχη που παρατίθενται στον Πίνακα 2.

Αποκλεισμός/Αναλυτική ειδικότητα

Προκειμένου να αποκλειστεί η διασταυρούμενη αντιδραστικότητα (αποκλεισμός), πραγματοποιήθηκε ανάλυση *in silico* (ευθυγράμμιση BLAST) της περιοχής στόχου του νοροϊού, του ροταϊού και του *Clostridioides difficile* έναντι των αλληλουχιών γονιδιώματος διαφόρων άλλων κοινών παθογόνων του γαστρεντερικού ή στενών συγγενικών ειδών. Για το σύστημα ανίχνευσης του ροταϊού, οι αντιστοιχίες αλληλουχιών στην περιοχή ανιχνευτή και εκκινητών θα μπορούσαν να ανιχνευθούν για τον ροταϊό χοίρων (ομάδα C), καταλήγοντας σε πιθανή ενίσχυση. Δεν υπήρξαν στοιχεία παρεμβολής για το σύστημα ανίχνευσης του νοροϊού και του *Clostridioides difficile* (Πίνακας 3).

Αναπαραγωγιμότητα

Η αναπαραγωγιμότητα της εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 3 διαφορετικές συγκεντρώσεις του νοροϊού, του ροταϊού και του *Clostridioides difficile*. Σε 3 περιοχές εξέτασης, κάθε μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Vivalytic από τον ίδιο χειριστή σε 3 παρτίδες σε 4 επαναληπτικά δείγματα σε 3 ημέρες, αντίστοιχα. Τα ποσοστά θετικότητας που προέκυψαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς συσχέτιστηκαν με το αναμενόμενο ποσοστό θετικότητας (Πίνακας 4α).

Επαναληψιμότητα

Η επαναληψιμότητα της εξέτασης Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff διαπιστώθηκε με τη χρήση μιας ομάδας με 1 συγκέντρωση ($3 \times c95$) του νοροϊού, του ροταϊού και του *Clostridioides difficile*. Σε 1 περιοχή εξέτασης, το μίγμα εξετάστηκε με το ίδιο σετ οργάνων Vivalytic από τον ίδιο χειριστή με 3 παρτίδες σε 20 επαναληπτικά δείγματα, αντίστοιχα, αποφέροντας συνολικά 60 παρατηρήσεις ανά στοχευόμενο παθογόνο. Τα ποσοστά θετικότητας που προέκυψαν για τους διαφορετικούς συνδυασμούς συσχέτιστηκαν 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.

Αξιολόγηση της κλινικής απόδοσης

Αποτελέσματα ευαισθησίας και ειδικότητας που προκύπτουν από εγγενή δείγματα υδαρών και μαλακών ανθρώπινων κοπράνων. Τα δείγματα συλλέχθηκαν σε κλινικό περιβάλλον και υποβλήθηκαν σε σύγκριση με αποτελέσματα μεθόδων αναφοράς.

Τα δείγματα για την εξέταση με κασέτες Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff χρησιμοποιήθηκαν φρέσκα ή καταψύχθηκαν για αποθήκευση και προετοιμάστηκαν όπως περιγράφεται παραπάνω μέσα σε eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Σε περίπτωση εξετάσεων αναφοράς, τα δείγματα προετοιμάστηκαν σύμφωνα με τις συστάσεις των μεθόδων αναφοράς που χρησιμοποιήθηκαν. Συνολικά, αναλύθηκαν 159 δείγματα. Η ευαισθησία ή ποσοστιαία συμφωνία θετικού (PPA) υπολογίστηκε ως $100\% \times A\Theta / (A\Theta + \Psi A)$. Η ειδικότητα ή η ποσοστιαία συμφωνία αρνητικού υπολογίστηκε ως $100\% \times A\Lambda / (A\Lambda + \Psi\Theta)$. Τα αποτελέσματα της αξιολόγησης της κλινικής απόδοσης παρουσιάζονται στον Πίνακα 6, Πίνακα 7 και Πίνακα 8.

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN 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

CE₀₁₂₃ Σήμανση CE



Διανείμετε με πιπέτα τον υποδεικνυόμενο όγκο δείγματος στην υποδοχή δείγματος της κασέτας, όπως επισημαίνεται με το μαύρο τρίγωνο.

Introducción

Clostridioides difficile (*C. difficile*) es un bacilo grampositivo anaerobio formador de esporas compuesto por cepas toxigénicas y no toxigénicas.

C. difficile es uno de los patógenos más comunes de la diarrea nosocomial, especialmente en pacientes con diarrea asociada a antibióticos. En los últimos años, el número y la gravedad de casos ha aumentado tanto en Europa como en el resto del mundo.¹ Los síntomas de la infección por *C. difficile* (ICD) varían desde una diarrea moderada a una colitis pseudomembranosa grave potencialmente mortal, aunque la colonización de *C. difficile* no siempre conlleva una infección sintomática. La alteración del equilibrio de los microorganismos del intestino, por ejemplo por un tratamiento antibiótico, puede propiciar el establecimiento de *C. difficile* toxigénica, imponer la colonización y convertirse en el inicio de una ICD.²

Los factores implicados en la patogénesis de *C. difficile* son los genes *tcdA* y *tcdB* que codifican la toxina A (enterotoxina) y la toxina B (citotoxina) ubicadas en una región cromosómica 19,6 kb denominada locus de patogenicidad (PaLoc). La mayoría de las cepas patogénicas son toxinas A y B positivas (A+B+), pero algunos aislados de variantes patogénicas pueden ser toxinas A negativas y B positivas (A-B+). Estas son la causa de las enfermedades asociadas a *C. difficile*.³ Algunas cepas de *C. difficile* toxigénica también producen una toxina denominada *C. difficile* transferasa (CDT) o toxina binaria.⁴

Los norovirus pertenecen a la familia Caliciviridae y se sabe que provocan enfermedades estacionales. Se trata de un patógeno muy contagioso responsable de la mayoría de casos de gastroenteritis aguda en el mundo. Las infecciones por norovirus en humanos están provocadas principalmente por el genogrupo II y I, mientras que el genogrupo II es la causa predominante de las epidemias por norovirus. Las infecciones del tracto gastrointestinal provocadas por los norovirus se caracterizan por el inicio repentino de síntomas como náuseas, vómitos, diarrea y dolor abdominal. El virus tiene una prevalencia especial en entornos comunitarios como hospitales, escuelas y residencias de ancianos, donde se propaga fácilmente de una persona a otra. La enfermedad suele durar unos pocos días pero puede provocar complicaciones más graves en sujetos inmunocomprometidos o las personas más mayores.^{5,6,7}

Los rotavirus pertenecen a la familia Reoviridae. Es una causa importante de gastroenteritis aguda, especialmente en bebés y niños pequeños. Provoca una infección vírica del tracto gastrointestinal caracterizada por síntomas como diarrea grave, vómitos, fiebre y deshidratación. La gastroenteritis asociada a los rotavirus puede provocar complicaciones graves entre las que figuran la hospitalización e incluso la muerte, lo que los convierte en un gran problema de salud pública. Los esfuerzos para prevenir y controlar las infecciones por rotavirus, a través de programas de vacunación, han resultado fundamentales en la reducción de la carga de esta enfermedad. La gastroenteritis aguda provocada tanto por los norovirus como por los rotavirus es una enfermedad autolimitante, aunque si no se trata pueden adoptar un curso crítico, especialmente en bebés o personas mayores.^{7,8,9,10}

Contenido del paquete

15 cartuchos de la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff para la detección de *Clostridioides difficile* (genes de las toxinas *tcdA/tcdB*), norovirus humano de los genogrupos I/II y rotavirus de tipo A.

Lista de patógenos		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovirus genogrupo I/II	Rotavirus tipo A

Uso previsto

La prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff es una prueba cualitativa automatizada de diagnóstico *in vitro* basada en la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real para la detección de ácidos nucleicos de cepas toxigénicas de *Clostridioides difficile* (genes de las toxinas *tcdA/tcdB*), norovirus humanos del genogrupo I/II y rotavirus humanos del tipo A a partir de hisopos de heces humanas líquidas o blandas para ayudar en el diagnóstico de infecciones gastrointestinales agudas de sujetos sintomáticos.

Los resultados no deben utilizarse como la única base para el diagnóstico el tratamiento u otras decisiones de tratamiento del paciente. Los resultados positivos no excluyen una infección conjunta con otros patógenos. Los agentes detectados pueden no ser la causa definitiva de la enfermedad. Los resultados negativos no excluyen una infección por *C. difficile*, norovirus, rotavirus ni otras infecciones gastrointestinales. Los resultados deben correlacionarse clínicamente con el historial del paciente, las observaciones clínicas y la información epidemiológica. Se requiere otra información de diagnóstico para determinar el estado de infección del paciente. Diseñado para su uso con un analizador Valytic *one* por parte de profesionales sanitarios únicamente en entornos de laboratorio.

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 Valytic *one* (capítulo de información de seguridad del dispositivo). Utilice únicamente cartuchos y accesorios Valytic aprobados para el analizador Valytic *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.
- Siga siempre las buenas prácticas de laboratorio para garantizar el rendimiento adecuado de la prueba.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben considerarse como potenciales transmisores de agentes infecciosos que requieren precauciones estándar. Manipule las muestras y cartuchos de pacientes potencialmente infecciosos de acuerdo con las normas nacionales de laboratorio y deseche las muestras y cartuchos conforme a las normas de laboratorio y regionales.
- Cumpla las regulaciones y prácticas de seguridad nacionales.

Nota: puede encontrar más información en la ficha de datos de seguridad (SDS) del producto. Póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de su distribuidor local.

Equipo adicional y material consumible requerido pero no suministrado

- Analizador Bosch Vivalytic *one* (n.º de referencia F09G300115)
- Pipeteador (100-1000 µl)
- Puntas de pipeta con filtro estériles 100-1000 µl
- Kits de recogida con hisopo
 - Hisopo flocado normal FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Medio de transporte
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Ropa protectora adecuada

Principio de la prueba

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff es una prueba cualitativa basada en la PCR a tiempo real.

Condiciones de uso y almacenamiento

El producto es estable hasta la fecha de caducidad si se conserva a una temperatura de entre +15 °C y +25 °C. Las condiciones de uso y almacenamiento pueden consultarse en la etiqueta del cartucho, de la bolsa o de la caja. El cartucho debe utilizarse a una temperatura que oscile entre +15 °C y +25 °C, con una humedad relativa <65 % y en un plazo de 15 minutos a partir de la apertura de la bolsa. De este modo se mantiene la higiene y se evita la pérdida de rendimiento a causa de la humedad. La exposición prolongada a la humedad impacta negativamente en el rendimiento de la prueba.

Reactivos

Todos los reactivos necesarios para el procesamiento de la muestra están integrados en el cartucho. El procesamiento incluye lisis celular, extracción de ácido nucleico, amplificación del ADN y detección.

Los reactivos son microesferas de PCR, tampón de unión, tampón de lavado y tampón de elución. Las microesferas de PCR contienen ADN polimerasa, cebadores y sondas. El tampón de unión facilita la fijación de los ácidos nucleicos durante el proceso de purificación. El tampón de lavado es una formulación de distintas sales y disolventes para eliminar las impurezas (p. ej., las proteínas) durante el proceso de extracción. El tampón de elución es un tampón de baja salinidad que contiene ácidos nucleicos purificados al final del proceso de extracción.

Tipo de muestra/Medio

La prueba se ha diseñado para su uso con muestras de hisopos fecales en medio eNAT® (hisopo flocado normal FLOQSwabs® 552C, medio de transporte eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Recoja y conserve las muestras tal y como se indica en las instrucciones del fabricante.

En caso de que la muestra no se procese inmediatamente después de su obtención, los ácidos nucleicos se conservarán en el medio de transporte eNAT® hasta 4 semanas a temperatura ambiente y a 4 °C, y hasta 6 meses a una temperatura comprendida entre –20 °C y –80 °C (consulte las instrucciones de uso del medio de transporte eNAT®¹¹).

Preparación de la muestra

Utilice un hisopo flocado normal FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) para la obtención de una pequeña cantidad de heces introduciendo la punta del hisopo flocado en la muestra de heces y haciéndolo girar. Deberían seleccionarse áreas sanguinolentas, viscosas o acuosas para realizar la obtención. Tras la obtención, examine el hisopo para comprobar que en la punta haya material fecal visible. Si no lo hay, vuelva a introducir el hisopo flocado en la muestra de heces y hágalo girar procurando que la zona de la punta del hisopo esté en contacto con la muestra. Asegúrese de que el hisopo quede cubierto de heces y elimine el exceso de heces haciéndolo girar contra el borde de la muestra. Tras la obtención, transfiera el hisopo al tubo Copan eNAT® de 2 ml con medio de transporte eNAT®. Sujete el eje del hisopo entre el pulgar y el índice, y aplaste y mezcle la muestra de heces contra el lateral del tubo para que la muestra se disperse y suspenda de manera uniforme en el medio de conservación. Sujete el eje del hisopo cerca del borde del tubo, dóblelo en un ángulo de 180 grados y rómpalo por el punto de corte marcado. Deseche la parte superior rota del eje del hisopo y apriete la tapa. Agite el tubo de muestra que contiene el hisopo de muestra y el medio eNAT®

(COPAN Italia s.p.a.) para su completa homogeneización durante al menos 10 segundos. Utilice un pipeteador para introducir 300 µl de muestra homogenizada del paciente en la entrada de muestra del cartucho. Asegúrese de pipetear solamente el sobrenadante (parte superior de la muestra) para evitar la contaminación cruzada de las partículas de heces. En caso de un exceso de partículas en la muestra, se recomienda colocar el tubo de muestra en una superficie plana y esperar a la sedimentación de las partículas durante 5 minutos.

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 58 minutos. Los resultados de las muestras con título elevado están disponibles en menos de 41 minutos, momento en que puede finalizarse la prueba (consulte el capítulo Finalización de la prueba).

La muestra se clasifica como positiva para *C. difficile*, positiva para rotavirus y *C. difficile*, positiva para norovirus y *C. difficile*, positiva para norovirus, rotavirus y *C. difficile*, positiva para rotavirus, positiva para norovirus y rotavirus, positiva para norovirus, negativa o no válida. En el caso de la detección de un patógeno, la prueba se considera válida incluso si el control Human Control es negativo.

La detección del control basado en células humanas (Human Control) para la totalidad del proceso en muestras negativas indica un procedimiento de extracción correcto y descarta una inhibición de la reacción PCR. La interpretación de los resultados se indica en la tabla que figura a continuación.

Norovirus genogrupo I/II	Rotavirus tipo A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validez	Resultado
-	-	+	+/-	válida	La muestra se considera positiva para <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	válida	La muestra se considera positiva para rotavirus y <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	válida	La muestra se considera positiva para norovirus y <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	válida	La muestra se considera positiva para norovirus, rotavirus y <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	válida	La muestra se considera positiva para rotavirus.
+	+	-	+/-	válida	La muestra se considera positiva para norovirus y rotavirus.
+	-	-	+/-	válida	La muestra se considera positiva para norovirus.
-	-	-	+	válida	La muestra se considera negativa
-	-	-	-	no válida	No evaluable. ¹

¹ Se recomienda la repetición de la prueba

PCR – Curva y valor C_q

El software muestra y clasifica las curvas de PCR a tiempo real (modificadas por el software) como positivas o negativas. En el caso de una curva positiva, se muestra el valor C_q correspondiente. El software marca los resultados no concluyentes (Δ). En estos casos, se recomienda repetir la prueba.

Pruebas no válidas o erróneas

Una prueba se considera no válida cuando no se detecta ADN diana ni Human Control. Una de las posibles causas de una realización no válida de la prueba puede ser la escasez de calidad de la muestra debido a la ausencia total o parcial de material celular humano en la muestra. Los resultados se muestran en caso de una prueba no válida, pero no se permite su uso para la interpretación del diagnóstico. Preste atención para utilizar el tipo de muestra correcto y recoja y almacene adecuadamente las muestras y los cartuchos antes de realizar la prueba. En caso necesario, repita el análisis con una muestra nueva.

Si la prueba es errónea, compruebe primero que las condiciones de uso del analizador Vivalytic *one* son correctas (consulte las instrucciones de uso del analizador Vivalytic *one*). Reinicie el analizador Vivalytic *one*. Si el problema persiste, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de su distribuidor local.

Finalización de la prueba

Cuando en pantalla se muestre un resultado válido positivo para uno de los tres patógenos, el usuario tiene la opción de finalizar la prueba.

Informe de la prueba

Junto con un campo para firma, en el informe impreso de la prueba se muestran el patógeno, los resultados, el control e información sobre el usuario, el paciente y el analizador Vivalytic *one*.

Aviso para los usuarios de la UE

Cualquier incidente grave que se produzca relacionado con el dispositivo debe ser notificado al fabricante y a la autoridad competente del Estado miembro en que esté establecido el usuario y/o el paciente.

Limitaciones

Los resultados de la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff únicamente deben ser interpretados por un profesional de la salud capacitado. Los resultados de la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff no deben emplearse como parámetro exclusivo para el diagnóstico.

- Un resultado negativo no descarta que haya patógenos presentes en la muestra a un nivel inferior a la sensibilidad analítica o que estén presentes otros patógenos que no estén cubiertos por este ensayo.
- Si las muestras se recogen, transportan o manipulan de forma incorrecta, existe riesgo de obtener resultados falsos negativos o falsos positivos.
- En casos límite, pueden aparecer características de PCR atípicas (p. ej., curva plana con un valor C_q bajo o alto). Si se presentan características atípicas, los resultados no pueden utilizarse para la interpretación del diagnóstico. El software marca los resultados no concluyentes. En estos casos, se recomienda repetir la prueba.
- Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff es una prueba cualitativa basada en la PCR a tiempo real y no proporciona un resultado cuantitativo.
- Un resultado positivo no indica necesariamente que existan patógenos viables.
- La prueba detecta la bacteria *C. difficile* portadora de los genes *tcdA/tcdB*, pero no diferencia entre las cepas generadoras de toxinas y las que no generan
- Un resultado negativo no excluye la infección por norovirus, rotavirus, *C. difficile* o una infección conjunta. Se recomienda interpretar las muestras con resultado negativo en contexto con datos de laboratorio adicionales.
- Una cantidad excesiva de heces puede tener efectos inhibidores en el rendimiento del ensayo.
- Se observó un rendimiento reducido con las cepas *tcdA+/tcdB-* de *C. difficile*

- Una cantidad excesiva de partículas del virus rotavirus A puede provocar un rendimiento inferior de la PCR de *C. difficile*.
- No se ha podido lograr exclusividad para el rotavirus tipo C (rotavirus porcino). Por lo tanto, no se puede excluir una identificación incorrecta del rotavirus tipo C como tipo A.

Evaluación del rendimiento analítico

Sensibilidad analítica (límite de detección)

El límite de detección de la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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 norovirus, rotavirus y *Clostridioides difficile* con relación a la secuencia de los cebadores de PCR y la sonda de hidrólisis utilizados en la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff para la amplificación y detección de los patógenos respectivos. Se determinó la inclusividad para las cepas incluidas en la [tabla 2](#).

Exclusividad/Especificidad analítica

Para descartar la reactividad cruzada (exclusividad), se llevó a cabo un análisis *in silico* (alineación BLAST) de la región diana de norovirus, rotavirus y *Clostridioides difficile* en la secuencia genómica de otros patógenos distintos representativos de patógenos gastrointestinales comunes o de especies estrechamente relacionadas. Para el sistema de detección de rotavirus se pudieron detectar secuencias coincidentes en el área de la sonda y los cebadores para el rotavirus porcino (grupo C), lo que sugiere una posible amplificación. No hubo evidencia alguna de interferencias para el sistema de detección de norovirus y *Clostridioides difficile* ([tabla 3](#)).

Reproducibilidad

La reproducibilidad de la prueba Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff se estableció con un panel de 3 concentraciones distintas de norovirus, rotavirus y *Clostridioides difficile*. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff se estableció con un panel de 1 concentración ($3 \times c95$) de norovirus, rotavirus y *Clostridioides difficile*. Un mismo operador, en 1 centro de prueba, se encargó de analizar la mezcla en el mismo conjunto de instrumentos Vivalytic utilizando 3 LOTES en 20 réplicas, respectivamente, obteniendo así un total de 60 observaciones por patógeno diana. Las tasas de positividad obtenidas para las distintas combinaciones mostraron correlación con la tasa de positividad esperada ([tabla 4b](#)).

Interferencias

Se evaluaron las interferencias causadas por sustancias endógenas y exógenas que podrían estar presentes en la muestra del paciente. Consulte la [tabla 5](#) para conocer las sustancias que pueden interferir con la prueba.

Evaluación del rendimiento clínico

Los resultados de sensibilidad y especificidad se derivaron de muestras de heces humanas líquidas y blandas. Las muestras se recogieron en un entorno clínico y se compararon con los resultados obtenidos de los métodos de referencia.

Las muestras para el análisis con los cartuchos Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff eran muestras frescas para usar o congeladas para conservar y preparadas según se ha descrito anteriormente en medio eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

Para el análisis de referencia, las muestras se prepararon según las recomendaciones de los métodos de referencia utilizados. En total se analizaron 159 muestras. La sensibilidad o concordancia de porcentaje de positivos

(CPP) se calculó como el $100\% \times TP / (TP + FN)$. La especificidad o concordancia de porcentaje de negativos se calculó como el $100\% \times TN / (TN + FP)$. Los resultados de la evaluación del rendimiento clínico se muestran en las [tablas 6, 7 y 8](#).













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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózdź M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instrucciones de uso de Copan eNAT® Collection and Preservation System; versión EIFU002R01, fecha 06/2021.

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 <i>in vitro</i> |

 Marcado CE

 Pipetee el volumen de muestra indicado en la entrada para muestra del cartucho, como lo marca el triángulo negro.

Introdução

Clostridioides difficile (*C. difficile*) é um bacilo anaeróbio gram positivo, formador de esporos, que consiste em estirpes toxigénicas e não toxigénicas. *C. difficile* é um dos agentes patogénicos de diarreia nosocomial mais comuns, especialmente em pacientes com diarreia associada a antibióticos. Nos últimos anos, o número e a gravidade dos casos têm estado a aumentar na Europa e no mundo inteiro.¹ Os sintomas da infeção pelo *C. difficile* (CDI) vão desde uma ligeira diarreia até a uma colite pseudomembranosa grave com risco de vida, embora a colonização de *C. difficile* não conduza necessariamente a uma infeção sintomática. A perturbação do equilíbrio da microbiota intestinal, p. ex. devido a tratamentos com antibióticos, pode fazer com que o *C. difficile* toxigénico se estabeleça, domine a colonização e pode ser o início da CDI.²

Fatores envolvidos na patogénese de *C. difficile* são os genes *tcdA* e *tcdB* que codificam a toxina A (enterotoxina) e a toxina B (citotoxina), que se encontram numa região cromossómica de 19,6 kb denominada locus de patogénicidade (PaLoc). A maioria das estirpes patogénicas é positiva para toxinas A e B (A+B+), mas algumas variantes patogénicas isoladas podem ser negativas para toxina A e positivas B (A-B+). Elas são a causa de doenças associadas ao *C. difficile*.³ Algumas estirpes toxigénicas do *C. difficile* também produzem uma toxina chamada *C. difficile* transferase (CDT), ou toxina binária.⁴

O Norovírus pertence à classe de vírus Caliciviridae e é conhecido por ser uma doença sazonal. É um agente patogénico altamente contagioso, que é responsável pela maioria dos casos de gastroenterite aguda no mundo inteiro. As infeções pelo Norovírus nos seres humanos são causadas principalmente pelos genogrupos II e I, sendo o genogrupo II a causa predominante de surtos de Norovírus. As infeções do trato gastrointestinal pelo Norovírus caracterizam-se por sintomas que aparecem repentinamente, como náuseas, vômitos, diarreia e dores abdominais. O vírus é particularmente prevalente em ambientes comunitários como hospitais, escolas e casas de repouso, onde se pode propagar facilmente de pessoa para pessoa. Normalmente, a doença dura apenas alguns dias, mas pode causar complicações mais graves em indivíduos imunocomprometidos ou nos idosos.^{5,6,7}

O Rotavírus pertence à classe de vírus Reoviridae. É uma causa significativa da gastroenterite aguda, particularmente em bebés e crianças de tenra idade. A respetiva infeção viral do trato gastrointestinal é caracterizada por sintomas como diarreia grave, vômitos, febre e desidratação. A gastroenterite associada ao Rotavírus pode dar origem a complicações graves, incluindo hospitalização e até mesmo à morte, o que a torna uma grande preocupação em termos de saúde pública. Para reduzir o ónus desta doença, têm sido cruciais os esforços envidados para prevenir e controlar as infeções pelo Rotavírus, nomeadamente através de programas de vacinação. As gastroenterites agudas causadas pelo Norovírus e pelo Rotavírus são doenças autolimitadas, embora, se não forem tratadas, podem causar uma evolução crítica da doença, especialmente nos mais jovens ou nos idosos.^{7,8,9,10}

Conteúdo da embalagem

15 cartuchos do teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff, para a deteção do *Clostridioides difficile* (genes de toxina *tcdA/tcdB*), do Norovírus humano genogrupo I/ II e do Rotavírus tipo A.

Lista de agentes patogénicos		
<i>Clostridioides difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)	Norovírus genogrupo I/II	Rotavírus tipo A

Utilização prevista

O teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff é um teste de diagnóstico in vitro qualitativo automatizado, baseado na reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real, para a deteção de ácidos nucleicos do *Clostridioides difficile* toxigénico (genes de toxina *tcdA/tcdB*), do Norovírus humano genogrupo I/ II e do Rotavírus humano do tipo A, de amostras de exsudados de fezes humanas líquidas ou moles, para ajudar no diagnóstico da gastroenterite infecciosa aguda de indivíduos sintomáticos.

Os resultados não devem ser utilizados como a única base para o diagnóstico, o tratamento ou outras decisões de gestão do paciente. Os resultados positivos não excluem a coinfeção com outros patógenos. O agente ou agentes detetado(s) pode(m) não ser a causa definitiva da doença. Resultados negativos não excluem uma infeção por *C. difficile*, Norovírus, Rotavírus ou outra infeção gastrointestinal. 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 infeção do paciente. Destina-se a ser utilizado com um analisador Vivalytic *one* por profissionais de saúde apenas em ambientes laboratoriais.

Informações de segurança

Estas instruções de utilização contêm apenas informações específicas do teste. Para instruções e avisos adicionais, consulte as instruções de utilização fornecidas com o seu analisador Vivalytic *one* (capítulo de informações de segurança do dispositivo). Utilize apenas acessórios e cartuchos Vivalytic aprovados para o analisador Vivalytic *one*. Tenha cuidado para evitar qualquer contaminação quando manusear cartuchos e amostras de pacientes. Quando for derramada amostra no cartucho, não utilize o cartucho e elimine-o.

Para utilização em diagnóstico *in vitro* por profissionais de saúde com a devida formação.



ADVERTÊNCIA

- Siga sempre as boas práticas laboratoriais para assegurar o bom desempenho deste teste.
- Assegure-se de que usa equipamento de proteção pessoal adequado (EPP).
- Não utilize um cartucho se a embalagem selada ou o próprio cartucho estiver visivelmente danificada(o).
- Não toque nem risque a área de deteção do cartucho.
- Não reutilize um cartucho.
- Não utilize cartuchos com prazos de validade expirados. O prazo de validade encontra-se na embalagem e na etiqueta do cartucho.
- Não aguarde mais do que 15 minutos após a abertura da embalagem do cartucho para iniciar o teste. A embalagem mantém a higiene e evita a perda de desempenho provocada pela humidade. A exposição prolongada à humidade tem um impacto negativo no desempenho do teste.
- Não agite um cartucho que contenha uma amostra.
- Não vire o cartucho ao contrário.
- Apenas coloque o cartucho numa superfície limpa e plana.
- Não utilize tipos de amostras, meios e volumes que não sejam aprovados para a aplicação do teste.
- Siga sempre as boas práticas laboratoriais para assegurar o bom desempenho deste teste.
- Espécimes biológicos, dispositivos de transferência e cartuchos utilizados devem ser considerados como capazes de transmitir agentes infecciosos, exigindo as precauções normalizadas. Manuseie as amostras e os cartuchos de pacientes potencialmente infetados conforme as normas de laboratório nacionais e elimine-os de acordo com as normas regionais e laboratoriais.
- Cumpra os procedimentos e as regulamentações de segurança nacionais.

Nota: informações adicionais encontram-se folha de dados de segurança (SDS-safety data sheet) do produto. Contacte o serviço de apoio ao cliente do seu distribuidor local.

Equipamentos adicionais e consumíveis necessários mas não fornecidos

- Analisador Vivalytic *one* da Bosch (número de referência F09G300115)
- Pipetador (100 a 1000 µl)
- Pontas de pipeta de filtro esterilizadas 100 a 1000 µl

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instruções de utilização

- Kits de colheita de exsudados
 - Zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® 552C (COPAN Italia s.p.a.)
- Meio de transporte
 - eNAT® 606C (COPAN Italia s.p.a.)
- Roupa de proteção adequada

Princípio de teste

O Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff 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.

Tipo/meio de amostra

O teste foi concebido para ser usado com amostras de exsudado de fezes em meio eNAT® (zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® 552C, meio de transporte eNAT® Ref. 606C, COPAN Italia s.p.a.).

Efetue a colheita de amostras e armazene-as conforme indicado nas instruções do fabricante.

No caso de a amostra não ser processada imediatamente após a colheita da amostra, os ácidos nucleicos são preservados em meio de transporte eNAT® durante até 4 semanas à temperatura ambiente e a 4 °C e até 6 meses a temperaturas desde os -20 °C a -80 °C (consulte as Instruções de utilização do meio de transporte eNAT®5¹¹).

Preparação da amostra

Use uma zaragatoa tufada regular FLOQSwabs® (COPAN Italia s.p.a.) para colher uma pequena quantidade de fezes, inserindo a ponta da zaragatoa tufada na amostra de fezes e rodando-a. Deve ser escolhida e colhida a área ensanguentada, viscosa ou aguada das fezes. Depois da colheita, examine o exsudado para garantir que existe material fecal visível na ponta. Caso não exista, volte a inserir a zaragatoa tufada na amostra de fezes e rode, tendo o cuidado de toda a área da ponta da zaragatoa estar em contacto com a amostra. Certifique-se de que a zaragatoa está apenas coberta com fezes e remova o excesso de fezes rodando suavemente a zaragatoa contra o rebordo da amostra. Depois da colheita, transfira a zaragatoa para o tubo de 2 ml Copan eNAT® com meio de transporte eNAT®. Segure na haste da zaragatoa entre o polegar e o indicador, esmague e misture a amostra de fezes contra o lado do tubo para dispersar e suspender a amostra de forma uniforme no meio de conservação. Segure na haste da zaragatoa perto da borda do tubo, dobre-a num ângulo de 180 graus para parti-la no ponto de quebra marcado. Deite fora a parte superior partida da haste da zaragatoa e aperte a tampa. Agite muito bem o tubo de amostra que contém a amostra de exsudado e o meio eNAT® (COPAN Italia s.p.a.) durante pelo menos 10 segundos para homogeneização. Utilize um pipetador para encher 300 µl de amostra do

Vivalytic Noro-, Rotavírus, C. diff – Instruções de utilização

paciente homogeneizada na entrada de amostra do cartucho. Certifique-se de que pipeta apenas a partir do sobrenadante (parte superior da amostra) para evitar o transporte de partículas de fezes. No caso de uma quantidade excessiva de partículas na amostra, recomenda-se que o tubo de amostra seja colocado numa superfície plana e esperar que as partículas sedimentem durante 5 minutos.

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 58 min. Para amostras de título alto, os resultados ficam disponíveis passados menos de 41 minutos e a execução do teste pode ser concluída mais cedo (consulte o capítulo Terminar o teste).

A amostra é classificada como sendo positiva para *C. difficile*, positiva para Rotavírus e *C. difficile*, positiva para Norovírus e *C. difficile*, positiva para Norovírus, Rotavírus e *C. difficile*, positiva para Rotavírus, positiva para Norovírus e Rotavírus, positiva para Norovírus, negativa ou inválida. No caso de uma deteção positiva de um agente patogénico, o teste é considerado válido mesmo que o Human Control seja negativo.

Em amostras negativas, a deteção do controlo do processo inteiro baseado em células humanas (Human Control), indica um procedimento de extração bem-sucedido e exclui uma inibição da reação PCR. A interpretação dos resultados é indicada na tabela a seguir.

Norovírus genótipo I/II	Rotavírus tipo A	<i>C. difficile</i> (tcdA/tcdB)	Human Control	Validade	Resultado
-	-	+	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para <i>C. difficile</i> .
-	+	+	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Rotavírus e <i>C. difficile</i> .
+	-	+	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Norovírus e <i>C. difficile</i> .
+	+	+	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Norovírus, Rotavírus e <i>C. difficile</i> .
-	+	-	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Rotavírus.
+	+	-	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Norovírus e Rotavírus.
+	-	-	+/-	válido	A amostra é considerada positiva para Norovírus.
-	-	-	+	válido	A amostra é considerada negativa.
-	-	-	-	inválido	Não pode ser avaliado. ¹

¹ Recomenda-se a repetição do teste.

PCR – Curva e valor C_q

As curvas de PCR (modificadas por software) em tempo real são apresentadas e classificadas pelo software como positivas ou negativas. No caso de curvas positivas, é apresentado o respetivo valor C_q. Resultados inconclusivos são assinalados pelo software (Δ). É recomendado repetir o teste.

Testes inválidos ou falhados

Um teste é classificado como inválido, se não for detetado ADN alvo nem nenhum Human Control. As causas possíveis para uma execução inválida podem ser fraca qualidade da amostra devido a uma ausência parcial ou total de material celular humano na amostra. No caso de um teste inválido, os resultados são apresentados, mas não podem ser utilizados para a interpretação do diagnóstico. Antes da execução do teste, assegure-se de que utiliza o tipo de amostra, colheita e armazenamento de amostra e cartuchos corretos. Repita a análise com um uma nova amostra, se necessário.

Em caso de um teste falhado, primeiro verifique se as condições de operação do analisador Vivalytic *one* estão corretas (consulte as Instruções de utilização do analisador Vivalytic *one*). Reinicie o analisador Vivalytic *one*. Se o problema persistir, contacte o serviço de apoio ao cliente do seu distribuidor local.

Terminar o teste

Assim que aparecer no ecrã um resultado positivo válido para um dos 3 agentes patogénicos, o utilizador tem a opção de terminar o teste.

Relatório de testes

No relatório de teste impresso estão indicados o agente patogénico, os resultados, controlos e informações sobre o utilizador, o paciente e o analisador Vivalytic *one*, com um campo de assinatura.

Aviso para os utilizadores na UE

Qualquer incidente grave que tenha ocorrido em relação ao dispositivo deve ser comunicado ao fabricante e à autoridade competente do Estado-Membro em que o utilizador e/ou o paciente está domiciliado.

Limitações

Os resultados do teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff apenas devem ser interpretados por um profissional de saúde com a devida formação. Os resultados do teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff não devem ser utilizados como o único parâmetro de diagnóstico.

- Um resultado negativo não exclui a presença de agentes patogénicos na amostra num nível inferior à sensibilidade do teste ou a presença de outros agentes patogénicos não cobertos por este teste.
- Existe um risco de resultados falsos negativos ou falsos positivos resultantes de amostras que foram colhidas, transportadas ou manuseadas incorretamente.
- Em casos de borderline, podem ocorrer características PCR atípicas (por ex., curva plana com valor C_q baixo ou alto). Em caso de características atípicas, os resultados não podem ser utilizados para interpretação de diagnóstico. Resultados inconclusivos são assinalados pelo software. É recomendado repetir o teste.
- O Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff é um teste qualitativo PCR em tempo real e não fornece um resultado quantitativo.
- Um resultado positivo não significa necessariamente que estejam presentes agentes patogénicos viáveis.
- O teste deteta genes *tcdA/tcdB* com *C. difficile*, mas não distingue entre estirpes produtoras e não produtoras de toxinas
- Um resultado negativo não exclui uma infeção ou co-infeção por Norovírus, Rotavírus, *C. difficile*. Recomenda-se que as amostras testadas negativas são interpretadas no contexto com dados laboratoriais adicionais.
- Uma quantidade excessiva de fezes pode ter efeitos inibidores no desempenho do teste.
- Foi observado um desempenho reduzido para as estripes *tcdA+/tcdB-* do *C. difficile*.
- Uma quantidade excessiva de partículas do vírus Rotavírus A pode dar origem a um desempenho reduzido da PCR para o *C. difficile*.
- Não foi possível obter exclusividade para o Rotavírus tipo C (Rotavírus porcino). Por conseguinte, não se pode excluir uma identificação incorreta do Rotavírus de tipo C como sendo de tipo A.

Avaliação de desempenho analítico

Sensibilidade analítica (limite de detecção)

O limite de detecção do teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff foi determinado como a concentração mais baixa de analito que pode ser detectada de forma consistente ($\geq 95\%$ de amostras testadas em condições laboratoriais utilizando um tipo de amostra definido) ([tabela 1](#)).

Inclusividade

Para avaliar a inclusividade, foi efetuada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) da sequência genômica de várias estirpes relevantes de Norovírus, Rotavírus e *Clostridioides difficile* em relação à sequência dos primers e sonda de hidrólise da PCR utilizados no teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff para amplificação e detecção dos respectivos agentes patogênicos. Foi possível demonstrar inclusividade nas estirpes listadas na [tabela 2](#).

Exclusividade/Especificidade analítica

Para excluir reatividade cruzada (exclusividade), foi efetuada uma análise *in silico* (alinhamento BLAST) da região alvo dos Norovírus, Rotavírus e *Clostridioides difficile*, em relação à sequência genômica de vários outros agentes patogênicos que representam agentes patogênicos gastrointestinais comuns ou espécies estreitamente relacionadas. Para o sistema de detecção do Rotavírus, foi possível detectar correspondências de sequência na área da sonda e do primer para o Rotavírus porcino (grupo C), concluindo uma possível amplificação. Não houve qualquer evidência de interferência no sistema de detecção de Norovírus e *Clostridioides difficile* ([tabela 3](#)).

Reprodutibilidade

A reprodutibilidade do teste Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff foi estabelecida utilizando um painel com 3 concentrações diferentes de Norovírus, Rotavírus e de *Clostridioides difficile*. 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, respectivamente. 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 Noro-, Rotavirus, C. diff foi estabelecida utilizando um painel com 1 concentração ($3 \times c95$) de Norovírus, Rotavírus e *Clostridioides difficile*. Em 1 local de teste, a mistura foi testada no mesmo conjunto de equipamentos Vivalytic pelo mesmo operador com 3 lotes em 20 réplicas, respectivamente, produzindo um total de 60 observações por agente patogênico alvo. As taxas de positividade obtidas para as diferentes combinações foram correlacionadas com a taxa de positividade prevista ([Tabela 4b](#)).

Interferências

As interferências foram avaliadas para as substâncias endógenas e exógenas, que estão potencialmente presentes na amostra do paciente. Consulte a [tabela 5](#) para as substâncias que têm potencial para interferir com o teste.

Avaliação de desempenho clínico

Os resultados da Sensibilidade e Especificidade derivaram de amostras de fezes humanas líquidas e moles. As amostras foram colhidas num ambiente clínico e comparadas com resultados de métodos de referência.

As amostras para os testes com cartuchos Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff foram usadas frescas ou congeladas para serem armazenadas e preparadas conforme descrito anteriormente em eNAT® (COPAN Italia S.p.A.).

No caso de testes de referência, as amostras foram preparadas de acordo com as recomendações de métodos de referência usados. No total, foram analisadas 159 amostras. A sensibilidade ou concordância na percentagem de positivos (CPP) foi calculada como sendo $100\% \times TP / (TP + FN)$. A especificidade ou concordância na percentagem de negativos (CPN) foi calculada como sendo $100\% \times TN / (TN + FP)$. Os resultados da avaliação do desempenho clínico são indicados na [tabela 6](#), [tabela 7](#) e [tabela 8](#).

Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff – Instruções de utilização

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

- ¹Kuijper EJ, Coignard B, Tüll P; ESCMID Study Group for Clostridium difficile; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of Clostridium difficile-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006 Oct;12 Suppl 6:2-18.
- ²Czepiel J, Drózd M, Pituch H, Kuijper EJ, Perucki W, Mielimonka A, Goldman S, Wultańska D, Garlicki A, Biesiada G. Clostridium difficile infection: review. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2019 Jul;38(7):1211-1221. doi: 10.1007/s10096-019-03539-6. Epub 2019 Apr 3. PMID: 30945014; PMCID: PMC6570665.
- ³Kordus SL, Thomas AK, Lacy DB. Clostridioides difficile toxins: mechanisms of action and antitoxin therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022 May;20(5):285-298.
- ⁴Gerding DN, Johnson S, Rupnik M, Aktories K. Clostridium difficile binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance. Gut Microbes. 2014 Jan-Feb;5(1):15-27.
- ⁵Lopman B, Brown D, Koopmans M: Human caliciviruses in Europe. Journal of Clinical Virology 2002; 24:137-160
- ⁶Oh D, Gaedicke G, Schreier E: Viral agents of acute gastroenteritis in German children: Prevalence and molecular diversity. J Med Virol 2003; 71:82-93
- ⁷Schneider T, Mankertz J, Jansen A., Schreier E, Zeitz M: Norovirusinfektionen – häufigste Ursache akuter Gastroenteritiden in den Wintermonaten. Deutsches Ärzteblatt 2005; 38:2551-2556
- ⁸Parashar UD, Hummelmann EG, Bresee JS et al.: Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. Emerg Infect Dis 2003; 9:565–572
- ⁹Mas Marques A, Diedrich S, Schreier E: Group A Rotavirus Genotypes in Germany 2005/2006. Arch Virol 2007; 152:1743–1749
- ¹⁰Anderson EJ, Weber SG: Rotavirus infection in adults. Lancet Infect Dis 2004; 4:91–99
- ¹¹COPAN Instructions for Use of Copan eNAT® Collection and Preservation System; Version EIFU002R01 Date 2021.06.

Símbolos



Fabricante



Número de série



Data de fabrico



Limite de temperatura



Prazo de validade



Não utilizar se a embalagem estiver danificada



Número de lote



Apenas para uma única utilização



Número de referência



Consultar as instruções de utilização



Contém <n> testes



Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

 Marca CE



Pipete o volume de amostra indicado na entrada de amostra do cartucho conforme marcado pelo triângulo preto.

WARNING**Hazard component in cartridge**

(binding buffer RB-BB-34a)

Guanidinium chloride; guanidine hydrochloride

Hazard statements

H302	Harmful if swallowed.
H315	Causes skin irritation.
H319	Causes serious eye irritation.

Precautionary statements

P264	Wash hands thoroughly after handling.
P280	Wear protective gloves and eye/face protection.
P302+P352	IF ON SKIN: Wash with plenty of water and soap.
P305+P351+P338	IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
P337+P313	If eye irritation persists: Get medical advice/attention.
P501	Dispose of contents/container in accordance with local/regional/ national/ international regulation

Table 1 – Limit of Detection (LoD)

<i>C. difficile</i> (<i>tcdA/tcdB</i>)*	10,000 copies /mL
Rotavirus group A**	10,000 copies/mL
Norovirus GII**	168,700 copies/mL

*Determined by using Vircell material (surrogate strain R20291 Ribotype 027 (toxin A + B positive) for a spiking approach in eNAT® (COPAN) supplemented with approximately 1000 Human Bronchial/Tracheal Epithelial Cells (hPBTEC) and 6% (v/v) Stool Matrix Negative Control (artificial simulated matrix).

**Determined by using quantified clinical isolates (Rotavirus group A, Norovirus GII) for a spiking approach in eNAT® (COPAN) supplemented with approximately 1000 Human Bronchial/Tracheal Epithelial Cells (hPBTEC) and 6% (v/v) Stool Matrix Negative Control (artificial simulated matrix). Norovirus GI was confirmed at the 3x LoD (as determined for Norovirus GII) using artificial nucleic acid constructs.

Table 2 – Inclusivity

<i>Clostridioides difficile</i> toxin A gene (<i>tcdA</i>)
<i>Clostridioides difficile</i> toxin B gene (<i>tcdB</i>)
Rotavirus group A
Norovirus GI/GII

Strains validated for inclusivity via BLAST alignment

Table 3 – Exclusivity

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Enterococcus faecium</i>
<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Enterococcus gallinarum</i>
<i>Acinetobacter lwoffii</i>	<i>Enterococcus hirae</i>
Adenovirus	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Aeromonas caviae</i>	Enterovirus
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Escherichia blattae</i>
<i>Alcaligenes faecalis</i>	<i>Escherichia coli</i> (Shiga toxin producing) (STEC)
<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterocaggregative) (EAEC)
<i>Arcobacter butzleri</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteroinvasive) (EIEC)
<i>Arcobacter cryaerophilus</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enteropathogenic) (EPEC)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterotoxigenic) (ETEC)
Astrovirus	<i>Escherichia coli</i> (non-pathogenic) (K-12 MG1655)
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Escherichia coli</i> (Enterohemorrhagic) (EHEC)
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>
<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Escherichia hermannii</i>
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Escherichia vulneris</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Eubacterium rectale</i>
<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Flavonifractor plautii</i>
<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Bifidobacterium adolescentis</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>
<i>Bifidobacterium bifidum</i>	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Giardia lamblia</i>
<i>Blastocystis hominis</i>	<i>Giardia muris</i>
<i>Campylobacter coli</i>	<i>Grimontia hollisae</i>
<i>Campylobacter concisus</i>	<i>Hafnia alvei</i>
<i>Campylobacter curvus</i>	<i>Helicobacter fennelliae</i>
<i>Campylobacter fetus</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Campylobacter gracilis</i>	<i>Helicobacter cinaedi</i>
<i>Campylobacter helveticus</i>	<i>Helicobacter hepaticus</i>
<i>Campylobacter hominis</i>	Hepatitis A virus
<i>Campylobacter hyointestinalis</i>	Herpes Simplex Virus 2
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Hymenolepis nana</i>
<i>Campylobacter lari</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>
<i>Campylobacter mucosalis</i>	<i>Klebsiella ozaenae</i>
<i>Campylobacter rectus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>Campylobacter showae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Campylobacter sputorum</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>
<i>Campylobacter upsaliensis</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Candida catenulate</i>	<i>Listeria grayi</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Listeria innocua</i>

Table 3 – Exclusivity

<i>Chilomastix mesnili</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i>	<i>Megamonas hypermegale</i>
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Morganella morganii</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	Norovirus GIV
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Pentatrichomonas hominis</i>
<i>Citrobacter sedlakii</i>	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>
<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Clostridium boltea</i>	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
<i>Clostridium botulinum</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>
<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Clostridium chauvoei</i>	<i>Proteus penneri</i>
<i>Clostridium difficile (non-toxigenic)</i>	<i>Proteus vulgaris</i>
<i>Clostridium fallax</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Providencia stuartii</i>
<i>Clostridium innocuum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
<i>Clostridium nexile</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Clostridium novyi</i>	Rotavirus B
<i>Clostridium orbiscindens</i>	Rotavirus C
<i>Clostridium paraputrificum</i>	Rotavirus D
<i>Clostridium perfringens</i>	Rotavirus F
<i>Clostridium ramosum</i>	Rotavirus G
<i>Clostridium scindens</i>	Rotavirus H
<i>Clostridium septicum</i>	Rotavirus I
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Saccharomyces boulardii</i>
<i>Clostridium spiroforme</i>	<i>Salmonella enterica</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Salmonella enterica</i> spp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium
<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Salmonella subterranea</i>
<i>Clostridium tetani</i>	Sapovirus
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Serratia marcescens</i>
Coxsackie virus	<i>Shigella boydii</i>
<i>Cryptosporidium canis</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>
<i>Cryptosporidium cuniculus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Cryptosporidium felis</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Cryptosporidium fetus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Cryptosporidium hominis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i>
<i>Cryptosporidium meleagridis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Cryptosporidium muris</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Cytomegalovirus	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>

Table 3 – Exclusivity	
<i>Desulfovibrio piger</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i> subsp. <i>dysgalactiae</i>
<i>Dientamoeba fragilis</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Dysgonomonas capnocytophagoides</i>	<i>Streptococcus salivarius</i>
Echovirus	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Taenia saginata</i>
<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Encephalitozoon intestinalis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Endolimax nana</i>	<i>Vibrio cholerae</i>
<i>Entamoeba coli</i>	<i>Vibrio mimicus</i>
<i>Entamoeba hartmanni</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Entamoeba histolytica</i>	<i>Vibrio vulnificus</i>
<i>Entamoeba moshkovskii</i>	<i>Yersinia bercovieri</i>
<i>Entamoeba polecki</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Yersinia enterocolitica</i> subsp. <i>enterocolitica</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Yersinia frederiksenii</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Yersinia intermedia</i>
<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Yersinia mollaretii</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Yersinia pseudotuberculosis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Yersinia rohdei</i>

Table 4 a Reproducibility

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	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
	3x c95	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
Norovirus GII	<c100	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
	3x c95	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
Rotavirus A	c100	108	108	0	100	96.6 % – 100 %	96.6 % – 100 %
	3x c95	108	106	2	98.1	93.5 % – 100 %	93.5 % – 99.8 %
Clostridioides difficile	<c100	108	107	1	99.1	94.9 % – 100 %	95.0 % – 100 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement

c100 = 100 % predicted positive agreement

< c100 = < 100 % predicted positive agreement (Norovirus GII: verified with 3,33x106 copies/mL, c100 = 3.8x107 copies/mL; Clostridioides difficile: verified with 1,83x105 copies/ml; c100 = 5,48x105 copies/ml)

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 (%)
Norovirus GII	1	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	2	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	3	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
Rotavirus A	Total	60	60	100	94 % – 100 %	94 % – 100 %
	1	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	2	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	3	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
Clostridioides difficile	Total	60	60	100	94 % – 100 %	94 % – 100 %
	1	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	2	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %
	3	20	20	100	83.9 % – 100 %	83.2 % – 100 %

3x c95 = 95 % predicted positive agreement

Table 5 – Tested Substances for Interference

No interference detected

Cholesterol; 0.5 % (v/v)

Mucus; 3 mg/mL

Palmitic acid; 2 mg/mL

Stearic Acid; 2 mg/mL

Triglyceride; 0.8 % (w/v)

Whole blood; 3.0 (v/v)

Barium Sulfate; 1.3 % (w/v)

GLYCILAX for adults; 1.0 % (w/v)

GRÜNVALDER Sennalax film-coated tablet; 0.1 mg/mL

Hemorrhoid ointment with witch hazel; 1 % (v/v)

LOPERAMID-ratiopharm acute 2 mg film-coated tablet; 0.2 % (v/v)

MAALOXAN 25 mVal Liquid; 0.1 mg/mL

METRONIDAZOL Aristo 400 mg tablet; 0.5 % (w/v)

Naproxen axicur® tablet; 0.5 % (w/v)

Nonoxynol-9; 1 % (w/v)

Nystatin STADA®; 1 % (w/v)

Postericrot ointment; 0.5 % (v/v)

Claversal 4 g/60 ml clysms; 0.5 % (v/v)

Vancomycin; 1.4 mg/mL

Vaseline; 1 % (w/v)

Interference was experimentally verified at 3xLoD for Norovirus GII, Rotavirus A and *C. difficile* using a spiking approach in eNAT® (COPAN) plus 1000 hPBTEC and 6 % (v/v) Stool Matrix Negative Control (artificial simulated matrix).

Table 6 – Norovirus: Clinical Sensitivity (PPA) [1] and Specificity (NPA) [2] for samples in eNAT® (95 % confidence interval, clinical study)

[1] 94.23 % (84.05 – 98.79 %)*

[2] 100.00 % (96.48 – 100 %)

*3 samples were detected as false negative for Norovirus.

Table 7 – Rotavirus: Clinical Sensitivity (PPA) [3] and Specificity (NPA) [4] for samples in eNAT® (95 % confidence interval, clinical study)

[3] 92.59 % (81.11 – 97.94 %)*

[4] 97.03 % (91.56 – 99.38 %)**

*4 samples were detected as false negative for Rotavirus.

**3 samples were detected as false positive for Rotavirus.

Table 8 – *C. difficile*: Clinical Sensitivity (PPA) [5] and Specificity (NPA) [6] for samples in eNAT® (95 % confidence interval, clinical study)

[5] 97.96 % (89.15 – 99.95 %)*

[6] 98.18 % (93.59 – 99.78 %)**

*1 sample was detected as false negative for *C. difficile*.

**2 samples were detected as false positive for *C. difficile*

In total, 159 clinical samples were tested within the scope of the clinical study. In this data set, 52 samples were found positive for Norovirus, 54 samples were found positive for Rotavirus and 49 samples were found positive for *C. difficile*. 14 samples were found negative for all pathogens. All samples were tested with the two reference tests from Seegene (Allplex™ GI-Bacteria(I) and Allplex™ GI-Virus Assay) and Vivalytic Noro-, Rotavirus, C. diff to determine the clinical performance for Vivalytic. Discrepant results were verified using RIDAGENE RIDA®GENE HSP (R-Biopharm) (12 samples).

Table 9 – Document History

Revision 01	Initial document
Revision 02/03	Pre-release changes

For more information see
www.bosch-vivalytic.com

