

STANDARD **M10** **C. difficile BT**

STANDARD™ M10 *C. difficile* BT

REF M10-CBT-01

NÁVOD K POUŽITÍ
K použití se systémem STANDARD™ M10



Obsah

1. Zamýšlený účel
2. Shrnutí a vysvětlení
3. Princip postupu
4. Aktivní látky
5. Poskytnuté materiály
6. Skladování a manipulace
7. Vyžadované neposkytnuté materiály
8. Varování a bezpečnostní opatření
9. Chemická rizika
10. Odběr, přeprava a skladování vzorků
11. Postup
12. Interpretace výsledků
13. Kontrola kvality
14. Výkonnost
15. Omezení
16. Reference
17. Symboly

1. Zamýšlený účel

STANDARD M10 *C. difficile* BT je multiplexní PCR test v reálném čase určený k použití se systémem STANDARD M10 ke kvalitativní detekci bakteriální DNA toxigenní bakterie *Clostridioides difficile*, včetně *tcdB*, *cdtA* a delece *tcdC* v nukleotidu (nt) 117, v nevytvořených (kapalných nebo měkkých) vzorcích stolice odebraných pacientům s podezřením na infekci způsobenou *Clostridioides difficile* (CDI). STANDARD M10 *C. difficile* BT je určen jako pomůcka k diagnostice CDI a detekci kmenů potenciálně spojených se závažnějším onemocněním. Pozitivní výsledky naznačují přítomnost toxigenní *C. difficile*, zatímco pozitivní výsledky pro *tcdB*, binární toxin a deleci *tcdC* v nt 117 naznačují předpokládaný PCR ribotyp 027 *C. difficile*. Klinická korelace s anamnézou pacienta a dalšími diagnostickými informacemi je nezbytná pro určení, zda je pacient infikován. Negativní výsledky testů by neměly být používány jako jediný základ pro rozhodování o léčbě pacienta. Negativní výsledky je třeba posoudit společně s klinickým pozorováním, anamnézou pacienta a epidemiologickými informacemi. Test je určen k použití vyškolenými uživateli v laboratorním prostředí a není určen k testování v blízkosti pacienta.

2. Shrnutí a vysvětlení

Clostridioides difficile (*C. difficile*) je grampozitivní anaerobní bakterie, která tvoří spory. Je hlavním původcem přibližně 20–30% případů průjmu způsobeného antibiotiky a řadí se mezi nejčastější příčiny infekcí, které souvisí se zdravotní péčí. Jinými slovy je zodpovědná za různé formy průjmu spojeného s antibiotiky, které jsou vyvolány antibiotickou léčbou nebo změnami v normální gastrointestinální flóře. I když s touto infekcí mohou být spojována téměř všechna antibiotika, je zvláště častá u pacientů, kteří mají předepsaná antibiotika, jako například fluorochinolony, klindamycin, karbapenemy, cefalosporiny a peniciliny. Příznaky infekce *Clostridioides difficile* (CDI) mohou zahrnovat vše od mírného průjmu až po těžkou pseudomembranózní kolitidu.

C. difficile produkuje dva typy exotoxinů: toxin A a toxin B, které způsobují průjem a enteritidu. Tyto toxiny, kódované geny *tcdA* a *tcdB*, mají cytotoxické a prozánětlivé vlastnosti. Vedou ke zhoršení těsných spojení a narušení aktinového cytoskeletu v lidských střevních epitelových buňkách, což vede k hromadění tekutiny a rozsáhlému poškození střev. Bylo prokázáno, že způsobují další sekreci tekutin a střevní zánět a uvolňování zánětlivých cytokinů z žírných buněk, makrofágů a epitelových buněk. Toxin A pozitivní a toxin B pozitivní (A+B+) kmeny se nejčastěji nacházejí u patogenních kmenů, byly však také zjištěny patogenní varianty, které jsou toxin A negativní a toxin B pozitivní (A-B+).

Binární toxin (CdT) je navíc často pozorován u kmenů *Clostridioides difficile* spojených se zvýšenou závažností infekce *C. difficile*. Binární toxin patří do rodiny binárních ADP ribosylačních toxinů, které se skládají ze dvou samostatných toxinových složek: CDTa, enzymatická ADP ribosyltransferáza, která modifikuje aktin, a CDTb, která se váže na hostitelské buňky a translokuje CDTa do cytosolu.

Hypervirulentní kmen *C. difficile*, PCR ribotyp 027, severoamerické pulzní pole typu 1 (NAP1) (REA typ BI, toxinotyp III), který je podmnožinou binárně produkujících izolátů, si pozornost získal tím, že způsobuje závažná ohniska se zvýšenou mírou úmrtnosti, prodlouženými pobyty v nemocnici a častými recidivami. To, jak se tento kmen stal geograficky tak rozšířeným a způsobuje závažné infekce *C. difficile* (CDI), je předmětem aktivního výzkumu. Jedním z možných přispěvatelů ke zvýšeným hladinám toxinů je delece *tcdC* v nt 117, která potlačuje produkci toxinů A a B. K šíření tohoto kmene může přispívat i skutečnost, že kmen BI/NAP1/027 je rezistentní vůči fluorochinolonům. Infekce vyvolané tímto organismem jsou obzvláště časté u starších hospitalizovaných pacientů, přičemž připisovatelná 30denní úmrtnost přesahuje 5%.

Předpokládaný pozitivní nález ribotypu 027 u kmenů *Clostridioides difficile*, zejména doprovázený přítomností genu *tcdB*, binárního toxinu *cdtA* a deleci *tcdC* v nt 117, může být cenný při identifikaci zdroje ohniska 027.

[Popis cartridge]

STANDARD M10 *C. difficile* BT je molekulární diagnostický test *in vitro*, který pomáhá při detekci delece *tcdB*, *cdtA*, *tcdC* v nt 117 na základě technologie amplifikace nukleových kyselin, PCR v reálném čase. Cartridge STANDARD M10 *C. difficile* BT obsahuje pufr pro extrakci bakteriální DNA a reagentie PCR v reálném čase pro kvalitativní detekci delece *tcdB*, *cdtA*, *tcdC* *in vitro* v nt 117 v nevytvořených vzorcích stolice.



Obrázek 1. Rozložení cartridge STANDARD M10 *C. difficile* BT

3. Princip postupu

Test STANDARD M10 *C. difficile* BT je automatizovaný diagnostický *in vitro* test ke kvalitativní detekci kyseliny nukleové bakterie *Clostridioides difficile*. Test STANDARD™ M10 *C. difficile* BT se provádí v systému STANDARD M10. Systém STANDARD M10 automatizuje a integruje preparaci vzorků, extrakci nukleové kyseliny a amplifikaci a detekci cílových sekvencí v různých vzorcích pomocí molekulárních diagnostických testů. Systém obsahuje součásti STANDARD M10 Module a STANDARD M10 Console s nainstalovaným softwarem pro provádění testů a zobrazování výsledků. Systém vyžaduje použití jednorázových cartridge, které obsahují reagentie PCR v reálném čase a ve kterých probíhá proces PCR v reálném čase. Jelikož cartridge jsou uzavřené, riziko křížové kontaminace mezi vzorky je minimální. Úplný popis systému se nachází v uživatelské příručce k systému STANDARD M10. Test STANDARD M10 *C. difficile* BT obsahuje reagentie k detekci DNA z *Clostridioides difficile* v nevytvořených vzorcích stolice. Cartridge má pod kontrolou adekvátní zpracování vzorku a PCR reakci v reálném čase. Tabulka níže indikuje, který cíl je určen pro detekci kterým kanálem.

Tabulka 1. Fluorescenční kanál každého cílového genu

Cíl	Kanál
<i>tcdB</i>	FAM
<i>cdtA</i>	FAM
delece <i>tcdC</i> v nt 117	HEX
Interní kontrola (IC)	Cy5

4. Aktivní látka

- Guanidin thiokyanát 0,47 g
- Taq DNA polymeráza 110 U/kulička
- Cílové primery a sondy 5–20 pmol

5. Poskytnuté materiály

STANDARD M10 C. *difficile* BT obsahuje dostatečné reagenty pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků pro kontrolu kvality.

Tabulka 2. Obsah sady STANDARD M10 C. *difficile* BT

Č.	Obsah	Počet	Použití v každé reakci
1	Cartridge	10	1
2	Roztok pro předběžnou úpravu stolice	10	1
3	Tampon k jednorázovému odběru vzorků	10	1
4	Uzávěr zkumavky	10	1
5	STANDARD™ Disposable dropper (1.4 mL)	10	1
6	Nástroj pro předběžnou úpravu stolice	10	1
7	Stručné referenční pokyny	1	-

6. Skladování a manipulace

Sadu STANDARD™ M10 C. *difficile* BT uchovávejte při teplotě 2-28 °C (36-82 °F). Pokud byla cartridge skladována v chladničce, proveďte test po 30minutové stabilizaci při teplotě 20-28 °C (68-82 °F). Neodstraňujte bezpečnostní klip cartridge a nestlačujte cartridge až do použití. Nepoužívejte cartridge, ze které uniká tekutina nebo která je mokrá. Za těchto okolností mohou být cartridge skladovány do data expirace vytištěného na obalu.

7. Vyžadované neposkytnuté materiály

- Systém STANDARD M10 s uživatelskou příručkou
Alespoň jedna STANDARD M10 Console (kat. č. No.11M1011) a jeden STANDARD M10 Module (kat. No.11M1012)
- Vortexová míchačka
- Komerčně dostupné sterilizované nádoby k odběru neformovaných vzorků
- OOPP (osobní ochranné pracovní prostředky)
- Nádoba na biologicky nebezpečný odpad

8. Varování a bezpečnostní opatření

- 1) Tato sada slouží pouze k diagnostice *in vitro*.
- 2) Než provedete test, pozorně si přečtete návod k použití.
- 3) Nesprávný odběr, přenos, skladování a zpracování vzorků může způsobit chybné výsledky testu.
- 4) Před použitím neodstraňujte bezpečnostní klip cartridge.
- 5) Do skutečného použití cartridge nestlačujte.
- 6) Nepoužívejte cartridge, ze které uniká tekutina nebo která je mokrá.
- 7) Nepoužívejte sadu po uplynutí data expirace.
- 8) Cartridge neprotřepávejte, nenaklánějte ji ani ji neobracejte naruby, zejména po jejím stisknutí a propíchnutí uzávěru. Může to způsobit neplatné nebo chybné výsledky testu.
- 9) Nepoužívejte cartridge s poškozenou etiketou s čárovým kódem.
- 10) Nepoužívejte již použité cartridge.
- 11) Se všemi vzorky pacientů se musí zacházet tak, jako by byly infekční.
- 12) Všechny materiály musí být považovány za potenciálně infekční a je třeba s nimi zacházet opatrně.
- 13) Protože tento test zahrnuje extrakci bakteriální DNA a amplifikaci PCR, je třeba dbát opatrnosti a předcházet kontaminaci. Doporučuje se pravidelně monitorovat případnou kontaminaci laboratoře.
- 14) Klinické laboratoře musí být vybaveny příslušným zařízením a musí být přítomna obsluha v přísném souladu se „Souborem praktik pro klinické laboratoře, ve kterých se amplifikují geny“.
- 15) Používání této sady se musí přesně řídit pokyny a musí se provádět v souladu s technickými požadavky dané klinické laboratoře, ve které se amplifikují geny.
- 16) Pro řádnou likvidaci použitých cartridge se řiďte postupy vaší instituce pro ekologické nakládání s odpady.
- 17) Jakákoli závažná událost, ke které dojde v souvislosti s touto sadou, musí být nahlášena výrobci nebo jeho autorizovanému zástupci a příslušnému orgánu členského státu, ve kterém se uživatel a/nebo pacient nachází, v souladu s požadavky nařízení EU č. 2017/746.

9. Chemická rizika

Tato sada obsahuje součásti klasifikované níže v souladu s nařízením (ES) č. 1272/2008:

* **Symbol nebezpečnosti:** 

* **Klíčové slovo:** Nebezpečí

* **Prohlášení o nebezpečnosti**

- H314: Způsobuje závažné poleptání kůže a poškození očí
- H318: Způsobuje vážné poškození očí

* **P-věty:**

1) Prevence

- P260: Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly.
- P264: Po manipulaci si důkladně umyjte ruce.
- P280: Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít / chrániče sluchu.

2) Reakce

- P301+P330+P331 PŘI POŽITÍ: Vypláchněte ústa. NEVYVOLÁVEJTE zvracení.
- P303+P361+P353 PŘI STYKU S KŮŽÍ (nebo s vlasy): Veškeré kontaminované části oděvu okamžitě svlékněte. Opláchněte kůži vodou / osprchujte.
- P304+P340 PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání.
- P305+P351+P338 PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze vyjmout snadno. Pokračujte ve vyplachování.
- P310: Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO / lékaře.
- P321: Specifické ošetření.
- P363: Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte.

3) Skladování

- P405: Skladujte uzamčené.

4) Likvidace

- P501: Obsah a obal zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, vnitrostátními a mezinárodními předpisy.

10. Odběr, přeprava a skladování vzorků

Chcete-li získat adekvátní vzorek, postupujte podle pokynů vaší instituce k odběru vzorků pro testování přítomnosti *C. difficile* BT.

- 1) Neformovanou stolicí odebírejte do komerčně dostupné sterilizované nádoby, kde ji i uchováte.
- 2) Pokud je stolice v nádobce uchovávána v chladničce při teplotě 2-8°C (36-46°F), lze vzorek použít k testování do 7 dnů od odběru.
- 3) V případě skladování při teplotě 15-30°C (59-86°F) můžete vzorek uchovávat po dobu až 48 hodin.
- 4) Je-li potřeba vzorky skladovat dlouhodobě, musí se tak činit při teplotě -70°C (-94°F).

11. Postup

11.1 Příprava vzorku

- 1) Před testováním stabilizujte všechna činidla a vzorky 30 minut při teplotě 20-28 °C (68-82 °F).
- 2) Opatrně otevřete víčko nádoby na odběr vzorku a dávejte pozor na pevné částice, které by mohly test ovlivnit.
- 3) Pomocí tamponu pro jednorázový odběr vzorků zachyťte 0,1 g stolice a vložte ji do roztoku pro předúpravu stolice.
- 4) Po uzavření uzávěru zkumavky zkumavku po dobu 10 sekund promíchejte, abyste zajistili, že se roztok pro předúpravu stolice a stolice důkladně promíchají.
- 5) Připravený vzorek se používá v postupu 11.3.

11.2 Spuštění systému STANDARD™ M10

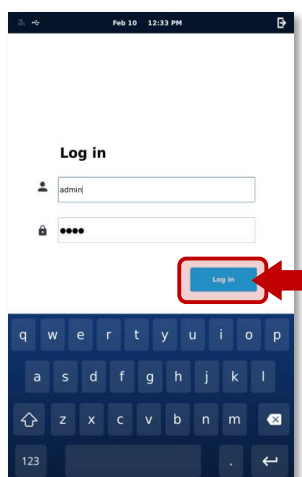
Poznámka	Podrobný návod najdete v uživatelské příručce k systému STANDARD M10. Pokud jste naskenovali čárový kód cartridge v systému STANDARD M10 a verze softwaru není kompatibilní, objeví se chybové hlášení „Not Supported Device“ (Nepodporovaný prostředek). Před provedením testu aktualizujte software.
----------	---

- 1) Spustíte systém STANDARD M10.
- 2) Zkontrolujte, že STANDARD M10 Console a STANDARD M10 Module jsou zapojené a funkční.



Obrázek 2. Připojení k síti

- 3) Na obrazovce přihlášení na STANDARD M10 Console zadejte ID uživatele a heslo a klikněte na „Log In“ (Přihlásit se).
- 4) Dotkněte se STANDARD M10 Module pro aktivaci domovské obrazovky.
(Dvířka vybraného STANDARD™ M10 Module se automaticky otevrou, aby mohla být vložena cartridge).



Obrázek 3. Obrazovka přihlášení



Obrázek 4. Domovská obrazovka, stav modulu M10

- 5) Zadejte ID pacienta pomocí naskenování čárového kódu nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce M10 Console. (ID pacienta je volitelné. Možnost ID pacienta můžete vypnout v „Nastavení“.)
- 6) Zadejte ID vzorku pomocí naskenování čárového kódu vzorku nebo pomocí virtuální klávesnice na obrazovce M10 Console.
Ujistěte se, že je víčko tubičky na vzorek při skenování čárového kódu ID vytištěného na tubičce na vzorek pevně nasazeno.
(Pro testování kontroly kvality zaškrtněte políčko QC)



Obrázek 5. Zadávání ID vzorku




Obrázek 6. Skenování cartridge

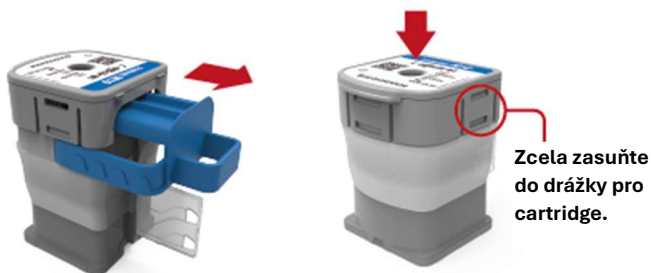
- 7) Naskenujte cartridge STANDARD M10 *C. difficile* BT, která má být použita. STANDARD M10 Console automaticky rozpozná test, který má být proveden, na základě čárového kódu cartridge.

Poznámka	Pokud jste naskenovali čárový kód cartridge v systému STANDARD M10 a datum expirace uplynulo, objeví se chybové hlášení „Prošlý prostředek“. Zkontrolujte dobu platnosti a použijte test s cartridge, které nejsou prošlé.
----------	--

11.3 Vložení vzorku do cartridge STANDARD M10 *C. difficile* BT

 upozornění	Po vložení vzorku do cartridge zahajte testování co nejdříve (do 30 minut).
Poznámka	Výsledek může být falešně negativní, pokud není do cartridge vloženo dostatečné množství vzorku.

- 1) Odstraňte bezpečnostní klip, který se nachází pod víčkem cartridge.
- 2) Propíchněte utěsněnou cartridge stlačeními uzávěru, dokud zcela nezapadne do drážky pro cartridge.



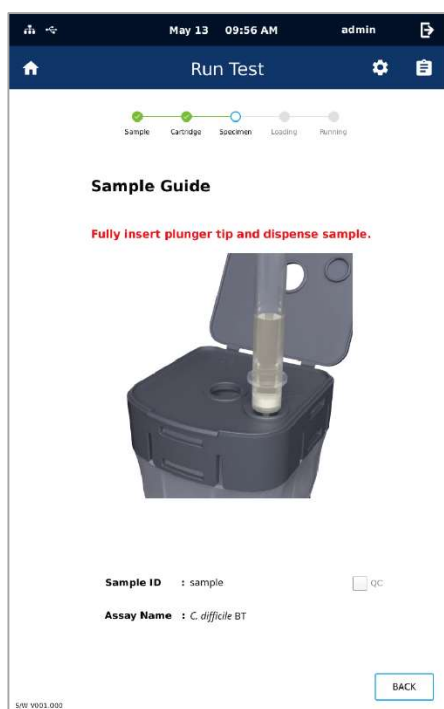
Obrázek 7. Propíchnutí utěsněné cartridge

- 3) Otevřete víčko a zkontrolujte, zda je uzávěr zcela propíchnut, než vložíte vzorek.
- 4) Opatrně otevřete víčko zkumavky.
- 5) Válec nástroje pro předběžnou úpravu stolice vložte do otvoru cartridge pro vložení vzorku.
- 6) Po odebrání 1,4 mL vzorku připraveného metodou popsanou v bodě 11.1 kapátkem STANDARD™ Disposable dropper přeneste vzorek do válce nástroje pro předúpravu stolice.
- 7) Pístem nástroje pro předúpravu stolice vložte celé množství do cartridge.

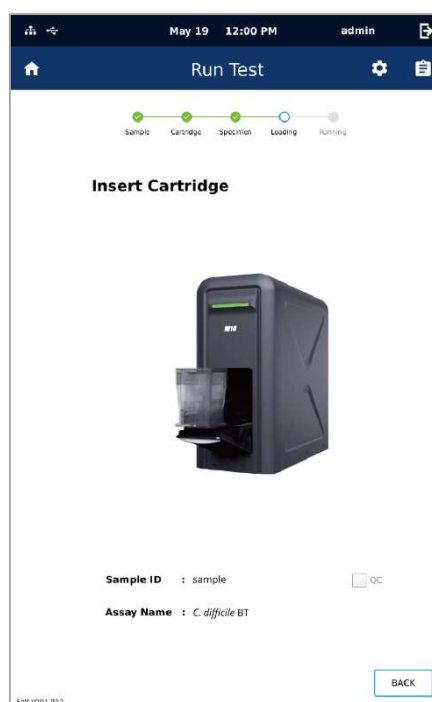


Obrázek 8. Vložení vzorku

- 8) Po několika sekundách se obrazovka průvodce pro vzorek automaticky změní na obrazovku vložení cartridge. Dotkněte se obrazovky průvodce pro vzorek, pokud chcete průvodce přeskočit.
- 9) Uzavřete víčko.



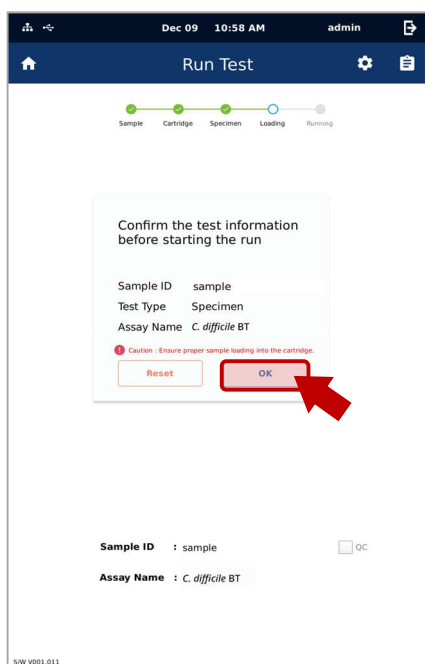
Obrázek 9. Obrazovka průvodce pro vzorek



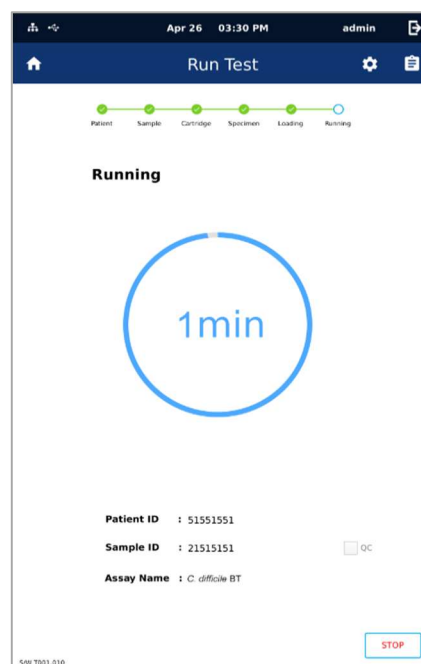
Obrázek 10. Obrazovka vložení cartridge

11.4 Spuštění testu


- 1) Vložte cartridge na vybraný STANDARD M10 Module tak, aby amplifikační komora směřovala dovnitř modulu. (Indikátor stavu na vybraném modulu bude blikat zeleně.)
- 2) Zcela zavřete dvířka.
- 3) Po potvrzení informací o vzorku a cartridge se dotkněte tlačítka „OK“ na obrazovce. (Dotkněte se tlačítka „Reset (Resetovat)“ pro opětovné zadání informací.)
- 4) Test se automaticky spustí a zbývající čas se objeví na obrazovce.



Obrázek 11. Obrazovka potvrzení testu



Obrázek 12. Obrazovka probíhajícího testu

- 5) Když je test dokončen, obrazovka se změní na vyhodnocení a zobrazí se výsledek.
- 6) Použité cartridge vyhodte do příslušné nádoby na biologicky nebezpečný odpad podle standardní praxe ve vaší instituci.
- 7) Po kontrole, zda je výsledek „Valid (Platný)“, se dotkněte ikony domovské obrazovky () a opakujte postup. (Pokud je k dispozici jiný STANDARD M10 Module připojený ke STANDARD M10 Console, můžete zahájit nový test, zatímco běží jiný test.)



12. Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány automaticky pomocí STANDARD M10 Console a jsou jasně zobrazeny na obrazovce vyhodnocení. Test STANDARD M10 *C. difficile* BT poskytuje výsledky testů založené na detekci *tcdB*, *cdtA*, delece *tcdC* u genových cílů nt 117 podle algoritmů uvedených v tabulce 5.

Tabulka 3. Popis výsledků

Outcome (Výsledek) (Domovská obrazovka)	Result (Výsledek) (Obrazovka vyhodnocení)	Popis
Pozitivní		Alespoň jeden patogen je pozitivní.
Negativní		Nebyl detekován žádný patogen.
Neplatný		Nejsou detekovány všechny patogeny a signál IC nemá hodnotu Ct v platném rozsahu.
Chyba		Test se nezdařil, protože se vyskytla chyba nebo byl zrušen uživatelem.

Tabulka 4. Popis výsledků IC

Outcome (Výsledek) (Obrazovka shrnutí)	Result (Výsledek) (Obrazovka shrnutí)	Popis
Platný		IC má CT v platném rozsahu. : Test byl dokončen. Jsou hlášeny pozitivní/negativní výsledky cíle podle interpretace uvedené v tabulce 5. (Pokud je cíl pozitivní, je zobrazen jako „Valid“ (Platný) bez ohledu na hodnotu CT IC.)
Neplatný		Nejsou detekovány všechny patogeny a signál IC nemá hodnotu Ct v platném rozsahu.

Chyba	X	Test se nezdařil, protože se vyskytla chyba nebo byl zrušen uživatelem. Opakujte test.
-------	----------	--

Tabulka 5. Interpretace výsledků

Interpretace	<i>tcdB</i>	<i>cdtA</i>	<i>tcdC</i> delece v nt 117	IC
Pozitivní na toxigenní <i>C. difficile</i> Negativní na ribotyp 027	+	-	-	+/-
	+	+	-	+/-
Pozitivní na toxigenní <i>C. difficile</i> Pravděpodobně pozitivní na ribotyp 027	+	+	+	+/-
Negativní na toxigenní <i>C. difficile</i> Negativní na ribotyp 027	-	+/-	+/-	+/-
Neplatný	-	-	-	-
Chyba	Žádný výsledek			

Result (Výsledek)	Interpretace
Pozitivní na toxigenní <i>C. difficile</i> Negativní na ribotyp 027	Je detekována cílová DNA toxigenní <i>C. difficile</i> . • Signál genu <i>tcdB</i> má CT v platném rozsahu. • Není detekován gen <i>cdtA</i> . • Není detekována delece <i>tcdC</i> v nt 117. • IC: N/A (nevztahuje se); IC je ignorována, protože došlo k amplifikaci <i>C. difficile</i> .
	Je detekována cílová DNA toxigenní <i>C. difficile</i> . • Signál genu <i>tcdB</i> má CT v platném rozsahu. • Signál genu <i>cdtA</i> má CT v platném rozsahu. • Není detekována delece <i>tcdC</i> v nt 117. • IC: N/A (nevztahuje se); IC je ignorována, protože došlo k amplifikaci <i>C. difficile</i> .
Pozitivní na toxigenní <i>C. difficile</i> Pravděpodobně pozitivní na ribotyp 027	Je detekována cílová DNA toxigenní <i>C. difficile</i> a ribotypu 027. • Signál genu <i>tcdB</i> má CT v platném rozsahu. • Signál genu <i>cdtA</i> má CT v platném rozsahu. • Signál delece <i>tcdC</i> v nt 117 má CT v platném rozsahu. • IC: N/A (nevztahuje se); IC je ignorována, protože došlo k amplifikaci <i>C. difficile</i> .
Negativní na toxigenní <i>C. difficile</i> Negativní na ribotyp 027	Není detekována cílová DNA toxigenní <i>C. difficile</i> a ribotypu 027. • Není detekován gen <i>tcdB</i> . • Gen <i>cdtA</i> : N/A (nevztahuje se); gen <i>cdtA</i> je/není detekován. Klinický význam izolátů pozitivních pouze na tento cíl nebyl dosud stanoven. • Delece genu <i>tcdC</i> v nt 117: N/A (nevztahuje se); delece genu <i>tcdC</i> v nt 117 je/není detekována. Klinický význam izolátů pozitivních pouze na tento cíl nebyl dosud stanoven. • IC: Platná; IC má CT v platném rozsahu.
Neplatný	IC nespĺňuje kritéria přijetí. Není detekován cíl toxigenní <i>C. difficile</i> . Opakujte test. • IC: Neplatná; signály IC a DNA nemají hodnoty Ct v platném rozsahu.
Chyba	Test se nezdařil, protože se vyskytla chyba nebo byl zrušen uživatelem. Přítomnost nebo nepřítomnost cílových nukleových kyselin nelze určit. Opakujte test.
Poznámka	- Pokud je IC negativní a výsledky pro některý z cílů jsou pozitivní, považují se výsledky pro všechny cíle za platné. Vysoký počet kopií cílové specifického genu může vést ke snížení nebo absenci IC. - Pokud je alespoň jedna z IC negativní a výsledek pro cíl je negativní, vzorek nebyl řádně zpracován. Test zopakujte.

13. Kontrola kvality

Postupy kontroly kvality jsou určeny ke sledování výkonu cartridge a testu. Pokud kontroly nejsou platné, výsledek pacienta nelze interpretovat.

Interní kontrola (IC): Zajišťuje, že se použije správný vzorek, reagensie v kazetě jsou funkční, ve vzorku nejsou žádné další rušivé faktory a postup je proveden správně. V klinických vzorcích vykazujících pozitivní signál na toxigenní *C. difficile* se IC nebere v úvahu. Pokud IC selže a není detekována toxigenní *C. difficile*, je celkový výsledek neplatný.

Externí kontroly by měly být prováděny v souladu s místními, státními nebo federálními předpisy nebo akreditačními požadavky a standardními postupy kontroly kvality ve vaší laboratoři.

K externím kontrolám se doporučuje používat kontroly na níže uvedeném seznamu. Dodržujte pokyny uvedené v uživatelské příručce.

NATtrol™ Clostridium difficile Positive Control from ZeptoMetrix catalog NATCDI-6MC-IVD

NATtrol™ Clostridium difficile Negative Control from ZeptoMetrix catalog NATCSO-6MC-IVD

Jiné než výše uvedené látky lze používat až po jejich posouzení a ověření jejich účinnosti v dané zemi nebo nemocnici.

14. Výkonnost

14.1 Test meze detekce

Ke stanovení meze detekce (LoD) byly použity kmeny *Clostridioides difficile* zředěné ve stolici.

Klinické hodnocení bylo prováděno tři dny s použitím dvou šarží reagensií. Pro každý kmen bylo testováno pět úrovní koncentrací s 24 replikáty na koncentraci. LoD byla stanovena pomocí probitové analýzy. *Clostridioides difficile* ATCC 9689 byla potvrzena detekcí genu *tcdB* a *Clostridioides difficile* ATCC BAA-1870 byl potvrzena detekcí genů *tcdB*, *cdtA*, *tcdC* delece v 117bp. Výsledky studie LoD jsou uvedeny níže.

Patogen	Testovací materiál	Cíl	LoD (95% IS)
<i>Clostridioides difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i> ATCC 9689	<i>tcdB</i>	11,38 (95% IS 9,59–14,75) CFU/mL
<i>Clostridioides difficile</i>	<i>Clostridioides difficile</i> ATCC BAA-1870	<i>tcdB</i> , <i>cdtA</i> , delece <i>tcdC</i> 117bp	373,23 (95% IS 313,49–484,00) CFU/mL

14.2 Zkřížená reaktivita

K vyhodnocení křížové reaktivity STANDARD M10 *C. difficile* BT bylo testováno 43 patogenů (virů a bakterií), které mohou způsobovat příznaky podobné příznakům cílového patogenu. Každý vzorek byl testován třikrát. Díky tomu bylo potvrzeno, že mezi cílovými geny (geny delece *tcdB*, *cdtA*, *tcdC* 117bp) a všemi 43 zkříženě reaktivními látkami neexistuje žádná zkřížená reaktivita.

Č.	Kategorie	Organismus
1	Organismy rodu Clostridium	<i>Clostridium bif fermentans</i>
2		<i>Clostridium butyricum</i>
3		<i>Clostridium haemolyticum</i>
4		<i>Clostridium novyi</i>
5		<i>Clostridium perfringens</i>
6		<i>Clostridium scindens</i>
7		<i>Clostridium sordellii</i>
8		<i>Clostridium sporogenes</i>
9	Jiné organismy s vysokou prioritou	<i>Abiotrofie defektní</i>
10		<i>Acinetobacter baumannii</i>
11		<i>Aeromonas hydrophila</i>
12		<i>Alcaligenes faecalis subsp. faecalis</i>
13		<i>Bacillus cereus</i>
14		<i>Bacteroides fragilis</i>
15		<i>Campylobacter coli</i>
16		<i>Candida albicans</i>
17		<i>Citrobacter freundii</i>

18	<i>Edwardsiella tarda</i>
19	<i>Enterobacter aerogenes</i> (<i>Klebsiella aerogenes</i>)
20	<i>Enterobacter cloacae</i>
21	<i>Enterococcus faecalis</i> vanB
22	<i>Escherichia coli</i>
23	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
24	<i>Listeria monocytogenes</i>
25	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>
26	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
27	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>
28	<i>Prevotella melaninogenica</i>
29	<i>Proteus mirabilis</i>
30	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
31	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i>
32	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i>
33	<i>Serratia liquefaciens</i>
34	<i>Serratia marcescens</i>
35	<i>Shigella boydii</i>
36	<i>Shigella sonnei</i>
37	<i>Staphylococcus aureus</i>
38	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
39	<i>Streptococcus agalactiae</i>
40	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
41	Norovirus
42	Adenovirus
43	Cytomegalovirus

14.3 Interference

Testování interference bylo provedeno s použitím celkem 21 endogenních a exogenních potenciálně interferujících látek. Pozitivní vzorky při koncentraci 3×LoD a negativní vzorky byly pro každou látku testovány třikrát. U žádné z 21 látek uvedených níže nebyla pozorována žádná interference.

Druh	Č.	Interferující látky	Testovaná koncentrace
Endogenní	1	Plná krev	10% (hm./obj.)
	2	Mucin	3,5% (hm./obj.)
Exogenní	3	Vlhčené ubrousky	10% (obj./obj.)
	4	Peptobismol	10% (obj./obj.)
	5	Gel KY	1% (hm./obj.)
	6	Kortizon 10	1% (hm./obj.)
	7	Glycerinové čípky Fleet	10% (hm./obj.)
	8	Preparation H	10% (hm./obj.)
	9	Vaginální krém Canesten	10% (hm./obj.)
	10	Monistat 7	1% (hm./obj.)
	11	Imodium	10% (hm./obj.)
	12	Kyselina palmitová	10% (hm./obj.)
	13	Kyselina stearová	10% (hm./obj.)
	14	Minerální olej	10% (hm./obj.)
	15	Metronidazol	10% (hm./obj.)
	16	Vazelína	1% (hm./obj.)
	17	Vankomycin	1% (hm./obj.)
	18	Etanol	10% (hm./obj.)
	19	Tums	10% (hm./obj.)
	20	Přípravek na změkčení stolice	10% (hm./obj.)
	21	Neosporin	1% (hm./obj.)

14.4 Preciznost (opakovatelnost a reprodukovatelnost)

14.4.1 Preciznost (opakovatelnost)

K vyhodnocení opakovatelnosti byla posouzena preciznost mezi šaržemi pomocí pozitivních vymyšlených vzorků při koncentracích 1×LoD a 3×LoD, jakož i negativních vzorků. K vyhodnocení byly použity vzorky *Clostridioides difficile* ATCC BAA-1870 zředěné ve vzorku stolice. Testování bylo provedeno jedním operátorem s použitím 1 šarže, a to po dobu celkem 20 dnů, s 2 běhy denně a 2 replikáty na jeden běh. Výsledky prokázaly, že všechna mezilaboratorní, meziprovozní a měření šarží splňovala kritéria přijatelnosti se směrodatnou odchylkou (SD) < 2,0 a variačním koeficientem (CV) < 5%, čímž se potvrdila opakovatelnost sady.

14.4.2 Preciznost (reprodukovatelnost)

K vyhodnocení reprodukovatelnosti byly testovány pozitivní vymyšlené vzorky při koncentracích 1×LoD, 3×LoD a dále negativní vzorky. K vyhodnocení byly použity vzorky *Clostridioides difficile* ATCC BAA-1870 zředěné ve vzorku stolice. Testování bylo prováděno celkem 5 dní 3 operátory na různých testovacích místech s použitím 3 šarží, s 5 replikáty na jeden pokus a 1 pokus denně. Výsledky prokázaly, že všechna mezilaboratorní, meziprovozní a měření šarží splňují kritéria přijatelnosti se směrodatnou odchylkou (SD) < 2,0 a variačním koeficientem (CV) < 5%, čímž se potvrzuje reprodukovatelnost sady.

14.5 Studie klinické výkonnosti

Klinická výkonnost byla hodnocena s ohledem na kvalitativní detekci infekce *Clostridioides difficile* (CDI) a ribotypu 027v neformovaných vzorcích stolice. Výkonnost byla hodnocena vyhodnocením shody mezi výsledky získanými z ekvivalentních NAAT testů. Do závěrečné analýzy výkonnosti bylo zahrnuto celkem 310 neformovaných vzorků stolice pro CDI a 18 neformovaných vzorků stolice pro ribotyp 027.

1) Infekce *Clostridioides difficile* (CDI)

Celková procentuální dohoda (OPA) = 96,5% (299/310) (95% IS: 93,8% – 98,0%)

Tabulka 6. Souhrn výsledků testu shody CDI

		Referenční test		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 <i>C. difficile</i> BT	Pozitivní	102	10	112
	Negativní	1	197	198
	Celkem	103	207	310

2) Infekce *C. difficile* ribotyp 027 (RT027)

Pozitivní procentuální shoda (PPA) = 94,4% (17/18) (95% IS: 74,2% – 99,0%)

Tabulka 7. Souhrn výsledků testu shody RT027

		Referenční test		Celkem
		Pozitivní	Negativní	
STANDARD M10 <i>C. difficile</i> BT	027 Pravděpodobně pozitivní	17	1	18



























15. Omezení

- 1) STANDARD M10 *C. difficile* BT detekuje *tcdB*, *cdtA*, delecí *tcdC* v genu nt 117. Toxigenní kmeny *C. difficile* bez genu *tcdB* jsou velmi vzácné. Nesprávné výsledky testů se mohou objevit u vzorků, které neobsahují gen *tcdB*, ale jsou toxigenní.
- 2) Výkonnostní charakteristiky tohoto testu byly zjišťovány s typy vzorků uvedenými pouze v části Zamýšlený účel. Výkonnost tohoto testu s dalšími typy vzorků nebo vzorky nebyla hodnocena.
- 3) Výsledek může být falešně negativní, pokud:
 - Koncentrace vzorku se blíží mezi detekce testu nebo je nižší.
 - Vzorek nebyl správně odebrán či přepravován nebo s ním bylo nesprávně manipulováno.
 - Vzorek obsahoval nedostatečné množství organismů
 - Cartridge jsou vystaveny nevhodným faktorům z okolního prostředí (teplota/vlhkost).
- 4) K falešně pozitivním výsledkům může docházet z důvodu křížové kontaminace mezi vzorky pacientů, pomíchání vzorků a/nebo kontaminace DNA během manipulace s produktem.
- 5) Kvalitativní detekce pozitivních výsledků v této sadě neindikuje přítomnost živých bakterií. Zároveň se doporučuje použít k potvrzení další metody.
- 6) Tato sada klasifikuje a identifikuje pouze *Clostridioides difficile*. Výsledky testu jsou určeny pouze ke klinickému použití. Ke klinické diagnostice a léčbě pacientů je třeba zvážit i příznaky/symptomy, anamnézu, další laboratorní testy a reakce na léčbu.
- 7) Detekce nukleové kyseliny *C. difficile* ve stolici potvrzuje přítomnost tohoto organismu v průjmu pacienta, ale nemusí naznačovat, že *C. difficile* je etiologickým původcem průjmu.
- 8) Identifikace kmene *C. difficile* PCR ribotyp 027 se dosahuje detekcí přítomnosti genu *cdtA* a delecí jednoho páru bází na nukleotidu 117 v genu *tcdC*. Identifikace kmene *C. difficile* BT PCR ribotypu 027 pomocí M10 by měla být považována za pravděpodobnou.
- 9) Kmeny toxinotypu V mohou být příležitostně hlášeny jako pravděpodobně pozitivní na ribotyp 027.

16. Reference

- 1) Curry, S. (2010). *Clostridium difficile*. Clinics in Laboratory Medicine, 30(1), 329–342. <https://doi.org/10.1016/j.cll.2010.04.001>
- 2) Czepiel, J., Drózd, M., Pituch, H., Kuijper, E. J., Perucki, W., Mielimonka, A., Goldman, S., Wultańska, D., Garlicki, A., & Biesiada, G. (2019). *Clostridium difficile* infection: Review. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases, 38(7), 1211–1221. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03539-6>
- 3) Voth, D. E., & Ballard, J. D. (2005). *Clostridium difficile* toxins: Mechanism of action and role in disease. Clinical Microbiology Reviews, 18(2), 247–263. <https://doi.org/10.1128/cmr.18.2.247-263.2005>.
- 4) Balsells, E., Filipescu, T., Kyaw, M. H., Wiuff, C., Campbell, H., & Nair, H. (2016). Infection prevention and control of *Clostridium difficile*: A global review of guidelines, strategies, and recommendations. Journal of Global Health, 6(2). <https://doi.org/10.7189/jogh.06.020410>
- 5) Cohen, S. H., Tang, Y. J., & Silva, Jr., J. (2000). Analysis of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile* strains. The Journal of Infectious Diseases, 181(2), 659–663. <https://doi.org/10.1086/315248>
- 6) McFarland, L. V., Beneda, H. W., Clarridge, J. E., & Raugi, G. J. (2007). Implications of the changing face of *Clostridium difficile* disease for Health Care Practitioners. American Journal of Infection Control, 35(4), 237–253. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2006.06.004>
- 7) Spigaglia, P., Mastrantonio, P., & Barbanti, F. (2018). Antibiotic resistances of *Clostridium difficile*. Advances in Experimental Medicine and Biology, 137–159. https://doi.org/10.1007/978-3-319-72799-8_9
- 8) Negrut, N., Nistor-Cseppento, D. C., Khan, S. A., Pantis, C., Maghiar, T. A., Maghiar, O., Aleya, S., Rus, M., Tit, D. M., Aleya, L., Rahdar, A., & Bungau, S. (2020). *Clostridium difficile* infection epidemiology over a period of 8 years—a single centre study. Sustainability, 12(11), 4439. <https://doi.org/10.3390/su12114439>
- 9) Vaishnavi, C., Singh, M., Kochhar, R., & Mahmood, S. (2017). Toxigenic *Clostridium difficile* isolates from clinically significant diarrhoea in patients from a tertiary care centre. Indian Journal of Medical Research, 145(6), 840. https://doi.org/10.4103/ijmr.ijmr_192_16
- 10) Gerding N., Johnson, S., Rupnik, M., & Aktories, K.D. (2014). “*Clostridium difficile* binary toxin CDT: mechanism, epidemiology, and potential clinical importance.” Gut microbes, 5(1), 15-27.
- 11) López-CárdenasTorres-Martos, E., Mora-Delgado, J., Sánchez-Calvo, J. M., Santos-Peña, M., Zapata Lopez, A., ... & Carlos Alados, J.S.,. (2021). “The prognostic value of toxin B and binary toxin in *Clostridioides difficile* infection.” Gut Microbes, 13(1), 1884516.
- 12) BacciMølbak, K., Kjeldsen, M. K., & Olsen, K. E.S.,. (2011). “Binary toxin and death after *Clostridium difficile* infection.” Emerging infectious diseases, 17(6), 976.
- 13) O'ConnorR., Johnson, S., & Gerding, D. N.J. (2009). “*Clostridium difficile* infection caused by the epidemic BI/NAP1/027 strain.” Gastroenterology, 136(6), 1913-1924.

17. Symbols

	Referenční číslo		Zdravotnický prostředek pro in vitro diagnostiku
	Seznamte se s návodem k použití		Kód šarže
	Vystačí na <n> testů		Výrobce
	Upozornění		Datum výroby
	Spotřebujte do		Udržujte v suchu
	Nepoužívejte opakovaně.		Skladujte mimo dosah slunečního záření
	Teplotní omezení		Nepoužívejte, pokud je obal poškozen
	Autorizovaný zástupce v Evropském společenství		Označení CE – shoda s evropskou legislativou
	Není určeno k testování v blízkosti pacienta		Katalogové číslo
	Obsah sady		Výrobní podnik
	Cartridge		Roztok pro předběžnou úpravu stolice
	Nástroj pro předběžnou úpravu stolice		Tampon k jednorázovému odběru vzorků
	Stručné referenční pokyny		Uzávěr zkumavky

Další informace o
STANDARD M10
***C. difficile* BT**
získáte od
zástupce společnosti SD BIOSENSOR

L28MCBTCZRO / 2026.07



SD Biosensor, Inc.

C-4th&5th, 16, Deogyong-daero 1556beon-gil, Yeongtong-gu,
Suwon-si, Gyeonggi-do, 16690, REPUBLIC OF KOREA

Manufacturing site

14, Jeungpyeongsandan-ro, Jeungpyeong-eup, Jeungpyeong-gun,
Chungcheongbuk-do, 27915, REPUBLIC OF KOREA

ts@sdbiosensor.com | www.sdbiosensor.com



MT Promed Consulting GmbH

Ernst-Heckel-Straße 7 66386 St. Ingbert Germany



Pouze k *in vitro* diagnostice

Jakékoli dotazy týkající se uvedených pokynů je třeba směřovat na adresu: ts@sdbiosensor.com nebo můžete navštívit naše webové stránky www.sdbiosensor.com