

cobas[®] Cdiff

Nukleinsavteszt cobas[®] Liat[®] rendszeren való használatra



In vitro diagnosztikai célra

**cobas[®] Cdiff Nucleic acid test for use on the
cobas[®] Liat[®] System**

20 Tests

P/N: 07454945190

**cobas[®] Cdiff Positive and Negative Control Kit
for use on the cobas[®] Liat[®] System**

5 Sets

P/N: 07454970190

TARTALOMJEGYZÉK

Alkalmazási terület	4
A teszt összegzése és ismertetése	4
Háttér: A <i>C. difficile</i> kimutatása	4
A vizsgálat háttere	5
Az eljárás alapelvei	5
Minta-előkészítés	5
PCR-amplifikálás és kimutatás TaqMan® próbával	5
Szelektív amplifikálás	5
Reagensek és anyagok	6
cobas® Cdiff reagensek és kontrollok	6
A reagensek tárolása és kezelése	9
További szükséges anyagok	10
Opcionális anyagok	10
Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek	10
Óvintézkedések és kezelési követelmények	10
Figyelmeztetések és óvintézkedések	10
Helyes laboratóriumi gyakorlat	11
Szennyeződés	11
Felhasználhatóság	11
Hulladékkezelés	12
Kiömlés és tisztítás	12
Minták levétele, szállítása és tárolása	12
Mintavétel	12
Minták szállítása, tárolása és stabilitása	12
A teszteljárás	13
„Lot hozzáadása” munkafolyamat	13
Mintaátvitel munkafolyamata	13
cobas® Cdiff munkafolyamat	13
Használati utasítás	14
„Lot hozzáadása” eljárás	14
Minták átvitele cobas® PCR Media közegbe	16
cobas® Cdiff teszt végzése klinikai mintákon	16
További kontrollfuttatások	18

Eredmények.....	19
Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége.....	19
Pozitív kontroll.....	19
Negatív kontroll.....	19
Belső kontroll.....	19
Eredmények értelmezése.....	20
Ajánlott újratestelési eljárás.....	21
Az eljárással kapcsolatos korlátozások.....	21
Teljesítmény értékelése.....	22
Analitikai érzékenység.....	22
A <i>C. difficile</i> genotípusainak kimutatása.....	22
Pontosság.....	23
Analitikai specifitás.....	24
Interferencia.....	26
Klinikai teljesítmény klinikai minták használatával.....	28
A cobas® Cdiff teszt korrelációja a tenyésztéssel.....	28
A cobas® Cdiff teszt korrelációja az összehasonlító NAT-tal.....	29
Érvénytelenek aránya.....	29
Hibakódok.....	30
További információk.....	31
A teszt legfontosabb tulajdonságai.....	31
Szimbólumok.....	32
Technikai segítségnyújtás.....	33
Gyártó és importőr.....	33
Védjegyek és szabadalmak.....	33
Szerzői jogok.....	33
Hivatkozások.....	34
Dokumentumverzió.....	36

A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavtesztet rendeltetésszerűen olyan egészségügyi szakemberek vagy képzett kezelők használhatják, akik szakértő módon használják a cobas® Liat® rendszert a beteg közelében vagy az ellátási helyen végzett tesztelésre, illetve klinikai laboratóriumban.

Alkalmazási terület

A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsav-vizsgálat automatizált, kvalitatív *in vitro* diagnosztikai vizsgálat. Valós idejű polimeráz-láncreakció (PCR) segítségével mutatja ki a toxikus *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) B toxin (*tcdB*) génjét *C. difficile* baktériummal fertőzött (CDI-s) betegek nem formált (folyékony vagy lágy) széklet-mintájában. A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavteszt rendeltetésszerűen a CDI diagnózisának elősegítésére használható humán betegeknél a klinikai és epidemiológiai kockázati tényezőkkel együtt.

A teszt összegzése és ismertetése

Háttér: A *C. difficile* kimutatása

A *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) Gram-pozitív, anaerob, spóráképző bacillus, amelyet az antibiotikumokkal összefüggő hasmenés és az álhártyás vastagbélgyulladás kórokozájaként azonosítottak az 1970-es évek végén.^{1,2} A *C. difficile* a leggyakrabban talált nozokomiális kórokozó³, és valószínűsíthető, hogy ez felelős az antibiotikumokkal összefüggő hasmenéses esetek 15–20%-áért, valamint szinte az összes, antibiotikumokkal összefüggő álhártyás vastagbélgyulladásért.⁴ A *C. difficile* bacillusfertőzés (CDI) előfordulása az elmúlt kevesebb mint két évtized során megnégyszereződött⁵, és súlyos megbetegedésekkel, sőt halálesetekkel jár³. Az előfordulási gyakoriság ilyen emelkedését részben olyan hipervirulens törzsek megjelenésének tulajdonítják, amilyen a BI/027/North American 1-es pulzotípus (NAP1) ribotípus. A CDI a legnagyobb kockázatot az idős és kórházban ellátott betegekre jelenti, akik nemrég antibiotikum-kezelésben részesültek, de a CDI előfordulási gyakorisága a kórházi környezeten kívül is növekszik.^{3,6}

A fertőzés terjesztője a spóra, majd amikor a toxikus *C. difficile* megtelepedett a szervezetben, az érintett személy tünetmentessé válhat, vagy vastagbélbetegség léphet fel nála. A CDI klinikai megjelenése lehet enyhe hasmenés, de akár hasi fájdalommal járó, életveszélyes álhártyás vastagbélgyulladás, erős hasmenés vagy olyan szisztémás tünet, mint a láz, anorexia, hányinger és rossz közérzet is. Bár a CDI előfordulása egyre gyakoribb és súlyosabb, az akut fellángolásokat elsősorban még mindig metronidazollal vagy vankomicinnel kezelik.⁷

A CDI diagnózisát általában a székletmintából kimutatott toxin alapján állítják fel. A *C. difficile* legtoxikusabb törzsei általában kétféle fehérje-exotoxint termelnek: az A és a B toxint.⁸ A toxikus törzsek kis része csak B toxint termel.⁹ A kimutatás jól bevált módja a B toxin citopátiás hatásának kimutatása volt egyrétegű sejthártyára.^{10,11} A székletfelülúszó folyadékot közvetlenül az egyrétegű sejthártyán lehet inkubálni, vagy ezt megelőzően a *C. difficile* székletizolátumait húslevestápközegen lehet tenyészteni (toxikus tenyésztés). A végső teszteredményhez mindkét technika esetén 48–72 óra szükséges.

A széklettenyésztést nem végzik széles körben az eljárás összetettsége és az eredmény fent említett, viszonylag késői megszületése miatt, és a diagnózishoz gyakran vagy immunoenzimtesztet (*Enzyme Immunoassay*, EIA) vagy DNS-alapú tesztet használnak.^{3,12} A toxint kimutató immunesztek széles körben használatosak, mert 4 órán belül pozitív eredményt adhatnak, de az érzékenységük alacsonyabb a tenyésztési módszerekénél.^{12,13} Ezzel szemben a *C. difficile* toxin génjének kimutatása polimeráz-láncreakcióval (PCR) a tapasztalatok szerint érzékenyebb és gyorsabb eredményt ad mind a tenyésztésnél, mint az immunesztnél.^{3,14–17}

A fertőzés terjedésének korlátozása érdekében körültekintően kell használni az antimikrobiális szereket, meg kell akadályozni a keresztfertőzést, és az eseteket aktívan kell monitorozni.¹⁸ A fentiek alapján nagy szükség van a *C. difficile* nagy érzékenységgű, gyors és automatizált kimutatására. A molekuláris módszereknek köszönhetően a kimutatás ideje jelentősen csökkenthető, ami lehetőséget nyit az antimikrobiális kezelés és a járványügyi intézkedések mielőbbi megkezdésére és megtételére.^{14–16} A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavteszt célja a gyors, molekuláris tesztként való használat a *C. difficile* toxin B génjének kimutatására olyan betegek nem formált székletmintájában, akiknél felmerül a CDI gyanúja.

A vizsgálat háttere

A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavteszt (a továbbiakban: „cobas® Cdiff”) a minta-előkészítést, a PCR-amplifikálást és a target DNS-szekvencia cobas® Liat® analizátoron végzett kimutatását teljesen automatizáló gyors teszt. A cobas® Cdiff teszt két része egy egyszer használatos, nukleinsav-tisztító és PCR-reagenseket tartalmazó cobas® Cdiff tesztcső, valamint egy belső kontroll (*Bacillus thuringiensis israelensis*, avagy Bti). A cobas® Cdiff tesztcsőben történnek a minta-előkészítés és a PCR-eljárások. A cobas® Cdiff tesztcső független eszköz, ami csökkenti a minták keresztzennyeződésének kockázatát.

Az eljárás alapelvei

Minta-előkészítés

Az eljárás kaotróp reagenssel és proteináz K-val lizálja a székletmintában lévő organizmusokat. A felszabaduló nukleinsavakat, köztük a Bti belső kontroll DNS-ét mágneses üvegpartikulumok kötik meg. Utána következik a partikulumok mosása, majd a megkötött nukleinsavak eluálása egy kevés pufferanyagba, amelyhez a rendszer Master Mix reagenst és aktiváló kofaktort kever a PCR-reakcióhoz.

PCR-amplifikálás és kimutatás TaqMan® próbával

A Master Mix reagens a *C. difficile* B toxinjára és a belső kontrollra specifikus primerpárokat és -próbákat tartalmaz. Ha a targetnukleinsav-szekvenciák jelen vannak, a megfelelő primerekkel történő amplifikálás hőstabil DNS-polimerázzal fog történni, és PCR-termékek (amplikonok) keletkeznek. Ezeket a termékeket a fluoreszcens jelzőfestéket és blokkolófestéket tartalmazó TaqMan® próbák mutatják ki. A blokkolófesték normál esetben elnyomja a jelzőfesték fluoreszcenciáját. De ha PCR-termék van jelen, a próba a termékhez hibridizál, majd a polimeráz 5'-3'-nukleázaktivitása hasítja, és így a jelzőfesték és a blokkolófesték elkülönül. Ez a reakció lehetővé teszi, hogy a jelzőfesték fluoreszcens jelet bocsásson ki, amelyet a rendszer a cobas® Liat® analizátor minden PCR-ciklusa során valós időben rögzít. A cobas® Liat® rendszerszoftver ezt a jelet értelmezi, majd ezekből hozza létre a végső eredményeket.

Szelektív amplifikálás

A mintában lévő targetnukleinsav szelektív amplifikálását a cobas® Cdiff teszt az AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim és dezoxiuridin-trifoszfát (dUTP) segítségével hajtja végre. Az AmpErase enzim felismeri és katalizálja az olyan DNS-szálak megsemmisítését, amelyek dezoxiuridint tartalmaznak¹⁹, a dezoxitimidint tartalmazó DNS-ekét viszont nem.

A dezoxiuridin a természetes DNS-ben nincs jelen, ugyanakkor az amplikonban mindig megtalálható, mivel a master mix reagens a dNTP-ok egyikeként dezoxiuridin-trifoszfátot használ a dezoxitimidin-trifoszfát helyett; így csak az amplikon tartalmaz dezoxiuridint. A dezoxiuridinnak köszönhetően a szennyező amplikont az AmpErase enzim még a target DNS amplifikálását megelőzően lebontja. A master mix reagensben lévő AmpErase enzim katalizálja a dezoxiuridint tartalmazó DNS hasítását a dezoxiuridin-csoportoknál úgy, hogy a dezoxiribóz lánc felnyílását okozza a C1 helyen. Az első hevítési lépésben a master mix reagens bázikus pH-ján az amplikon DNS-lánc eltörik a dezoxiuridin helyén, tehát a DNS nem lesz

amplifikálható. Az AmpErase enzim 55 °C felett, azaz a hevítési lépések során inaktív, azaz nem bontja le a célzott amplikont. A **cobas® Cdiff** teszt legalább 1000 kópia dezoxiuridint tartalmazó *C. difficile* amplikont inaktívál PCR-ciklusonként.

Reagensek és anyagok

cobas® Cdiff reagensek és kontrollok

1. táblázat: **cobas® Cdiff**

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System		
Tárolás: 2–8 °C 20 teszt (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® Transfer Pipette Pack (átvivőpipetta-csomag, P/N 09329676001)		
A cobas® Cdiff tesztcsőben lévő reagensek	Reagens-összetevők	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® Liat® Cdiff Internal Control (belső kontroll)	PBS Tween 80 0,01% ProClin® 300 tartósítószer Glicerín EDTA < 1% (inaktívált) Bti-törzsanyag EUH210: Kérésre biztonsági adatlap kapható. EUH208: A következők keverékét tartalmazza: 5-klór-2-metil-4-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1). Allergiás reakciót válthat ki.	N/A
cobas® Liat® proteináz K	Trisz puffer EDTA Kalcium-klorid Kalcium-acetát < 2,0% proteináz K ^b Glicerín	 VESZÉLY H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. H334: Belélegezve allergiás és asztmás tüneteket, és nehéz légzést okozhat. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P284: Légzésvédelem kötelező. P304 + P340: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P342 + P311: Légzési problémák esetén: Forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. 39450-01-6 Proteináz, <i>Tritirachium album</i> szerin

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System

Tárolás: 2–8 °C

20 teszt (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat® Transfer Pipette Pack (átvivőpipetta-csomag, P/N 09329676001)

A cobas® Cdiff tesztcsőben lévő reagensek	Reagens-összetevők	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés^a
cobas® Liat® rendszer mágneses üvegpartikulumok	Mágneses üvegpartikulumok Víz	N/A
cobas® Liat® rendszer lízispuffer	Nátrium-citrát 3% polidokanol ^b 42,6% guanidin-tiocianát ^b Ditiotritol	 VESZÉLY H302: Lenyelve ártalmas. H314: Súlyos égési sérülést és szemkárosodást okoz. H412: Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. EUH032: Savval érintkezve nagyon mérgező gázok képződnek. EUH071: Maró hatású a légutakra. P273: Kerülni kell az anyagnak a környezetbe való kijutását. P280: Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő/hallásvédelem használata kötelező. P301 + P330 + P331: LENYELÉS ESETÉN: A szájat ki kell öblíteni. Hánytatni TILOS. P303 + P361 + P353: HA BŐRRE (vagy hajra) KERÜL: Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel. P304 + P340 + P310: BELÉLEGZÉS ESETÉN: Az érintett személyt friss levegőre kell vinni, és olyan nyugalmi testhelyzetbe kell helyezni, hogy könnyen tudjon lélegezni. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/ orvoshoz. P305 + P351 + P338 + P310: SZEMBE KERÜLÉS ESETÉN: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Azonnal forduljon TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ/orvoshoz. 593-84-0 Guanidin-tiocianát 9002-92-0 Polidokanol

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System

Tárolás: 2–8 °C

20 teszt (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat® Transfer Pipette Pack (átvivőpipetta-csomag, P/N 09329676001)

A cobas® Cdiff tesztcsőben lévő reagensek	Reagens-összetevők	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés^a
cobas® Liat® rendszer mosópuffer	Nátrium-citrát-dihidrát 0,05% N-metilizotiazolon-HCl	 FIGYELEM H317: Allergiás bőrreakciót válthat ki. P261: Kerülje a gőzök vagy permet belélegzését. P272: Szennyezett munkaruhát tilos kivinni a munkahely területéről. P280: Védőkesztyű használata kötelező. P333 + P313: Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. P362 + P364: A szennyezett ruhadarabot le kell vetni és újbóli használat előtt ki kell mosni. P501: A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelési üzemben. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiazol-3-on hidroklorid
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (eluálópuffer)	Rekombináns humán szérumalbumin Trisz-HCl puffer 0,09% nátrium-azid	N/A
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Tricin puffer EDTA DMSO Kálium-acetát Kálium-hidroxid 0,01% Upstream és downstream <i>C. difficile</i> - valamint belsőkontroll-primerek < 0,01% fluoreszcensen jelölt <i>C. difficile</i> - valamint belsőkontroll-próbák 0,09% nátrium-azid	N/A
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < 0,19% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% oligonukleotid aptamer < 0,01% Z05 DNS-polimeráz (mikrobiális) < 0,02% AmpErase (uracil-N-glikoziláz) enzim (mikrobiális) 0,09% nátrium-azid	N/A

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System

Tárolás: 2–8 °C

20 teszt (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat® Transfer Pipette Pack (átvivőpipetta-csomag, P/N 09329676001)

A cobas® Cdiff tesztcsőben lévő reagens	Reagens-összetevők	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés ^a
cobas® Liat® Cdiff Cofactor (kofaktor)	mangán-acetát magnézium-acetát Szarvasmarha-szérumalbumin az Egyesült Államokból származó szarvasmarhaplazmából 0,09% nátrium-azid	N/A

2. táblázat: A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff pozitív és negatív kontrollok készlet**cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System**

Tárolás: 15–30 °C

5 készlet I(P/N 07454970190)

A készlet összetevői	Reagens-összetevők	Készletenkénti mennyiség	Biztonsági jelzés és figyelmeztetés
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll)	Trisz puffer EDTA < 0,01% poli-rA RNS (szintetikus) 0,05% nátrium-azid < 0,01% <i>C. difficile</i> -szekvenciát tartalmazó, nem fertőző plazmid DNS (mikrobiális)	5 fiola	N/A
BUF (–) C (cobas® Liat® negatív kontroll)	Trisz puffer EDTA 0,05% nátrium-azid < 0,01% poli-rA RNS (szintetikus)	5 fiola	N/A

A reagensok tárolása és kezelése

3. táblázat: A reagensok tárolása és kezelése

Reagens	Tárolási hőmérséklet	Tárolási idő
A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavteszt	2–8 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil
A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff pozitív és negatív kontrollok készlet	15–30 °C	A jelölt lejárati dátumig stabil

Megjegyzés: Ne fagyassza le a reagenseket.

Ne nyissa fel az egy tesztcsövet tartalmazó csomagot, amíg a kezelő készen nem áll a tesztelésre.

A cobas® Liat® átvivőpipetták csomagját szobahőmérsékleten lehet tárolni az első eltávolításuk után a cobas® Cdiff tesztcsőkészletből. Tiszta kesztyűt viseljen, amikor az átvivőpipettákat kiveszi a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagból. A szükséges pipetta vagy pipetták kivétele után zárja vissza a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagot.

A reagensek lejárati napja az egyezményes koordinált világidő (*Coordinated Universal Time*, UTC) szerint van feltüntetve. A reagensek lejárati ideje a helyi idő szerint ennél legfeljebb 12 órával előbbi vagy későbbi lehet aszerint, hogy az adott időzóna mennyivel tér el az UTC-től.

További szükséges anyagok

4. táblázat: További szükséges anyagok

Anyagok	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Egyszer használatos kesztyűk, púdermentes	Bármely púdermentes egyszer használatos kesztyű elfogadható.

A külön beszerezhető anyagokkal kapcsolatos további információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Opcionális anyagok

5. táblázat: Opcionális anyagok

Anyag	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit (cserekupakkészlet)	07958056190

Az opcionális anyagokkal kapcsolatos további információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek

6. táblázat: Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek

Szükséges, de nem biztosított eszközök és szoftverek
cobas® Liat® analizátor (P/N 07341920190) cobas® Liat® rendszerszoftverrel, (Core) 3.3.0-as vagy újabb verzió
cobas® Cdiff Script legalább 1.1 verziója

A szükséges eszközökkel és szoftverekkel kapcsolatos további információkért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Óvintézkedések és kezelési követelmények

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Mint minden teszteljárásnál, a helyes laboratóriumi gyakorlat alapvető a teszt megfelelő kivitelezéséhez. A vizsgálat nagy analitikai érzékenysége miatt ügyeljen arra, hogy a reagensek, minták és amplifikálási keverékek szennyeződéstől mentesek maradjanak.

- Csak *in vitro* diagnosztikai célra.
- A **cobas® Liat®** rendszeren használható **cobas® Cdiff** nukleinsavtesztet rendeltetésszerűen olyan egészségügyi szakemberek vagy képzett kezelők használhatják, akik szakértő módon használják a **cobas® Liat®** rendszert az ellátási helyen vagy klinikai laboratóriumban.
- Kerülje a reagensek és minták mikrobiális és DNS-szennyezését.
- Mielőtt átvivőpipettát távolít el a **cobas® Liat®** átvivőpipetta-csomagból, valamint minden minta vagy kontroll kezelése után cseréljen kesztyűt, hogy megelőzze a reagensek és a pipetták átszennyeződését.
- A biztonsági adatlapok (SDS) igény esetén hozzáférhetőek a Roche helyi képviselőjétől.
- A **cobas® Liat®** lízispuffer („LYS” reagens) guanidin-tiocianátot tartalmaz. Ne engedje, hogy a guanidin-tiocianát nátrium-hipoklorit- (fehérítőszer-) oldattal vagy más erősen reaktív reagensekkel, például savakkal vagy bázisokkal érintkezzen. Az ilyen keverékekből veszélyes gáz fejlődhet.

- A **cobas® Liat® Elution Buffer-1 (EB)**, **cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1 (Cdiff MMX-1)**, **cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2 (Cdiff MMX-2)**, **cobas® Liat® Cdiff Cofactor (Cofactor)**, **BUF (-) C** és a **Cdiff (+) C** termékek nátrium-azidot tartalmaznak.
- A **cobas® Liat®** analizátor okozta fertőzési kockázat csökkentésére vonatkozó további figyelmeztetéseket, óvintézkedéseket és eljárásokat a **cobas® Liat®** rendszer legfrissebb felhasználói útmutatójában találja.
- Az EU-ban: Ha a vizsgálat használatakor súlyos nem várt esemény történik, tájékoztassa róla a helyi illetékes hatóságot és a gyártót.

Helyes laboratóriumi gyakorlat

- Ne pipetázzon szájjal.
- Ne egyen, igyon vagy dohányozzon a munkaterületen.
- A minták és tesztreagensok kezelését követően gondosan mosson kezét.
- Az intézményi protokollnak megfelelően viseljen védőszemüveget, laborköpenyt és egyszer használatos védőkesztyűt minden reagens kezelésekor. Ezen anyagok bőrrel, szemmel és nyálkahártyával való érintkezése kerülendő. Ha mégis érintkezésbe kerülnek, azonnal öblítse le bő vízzel. Ellenkező esetben égés történhet. Ha reagens ömlik ki, mielőtt feltörölné, hígítsa vízzel.
- Az AmpErase enzim hozzáadása a **cobas® Liat® Cdiff Master Mix**hez lehetővé teszi a célzott DNS szelektív amplifikálását, ugyanakkor a reagensok és amplifikálási keverékek szennyeződésének elkerüléséhez a helyes laboratóriumi gyakorlat és az ezen használati utasításban meghatározott eljárások gondos betartása szükséges.
- Gondosan tisztítsa meg, és desztillált vagy ioncserélt vízből frissen készített 0,5%-os nátrium-hipoklorit oldattal (1:10 arányban hígított háztartási fehérítőszer) fertőtlenítsen minden laboratóriumi munkafelületet. Utána törölje át a felületet 70%-os etanollal.

Szennyeződés

- Az átszennyeződés elkerülése érdekében mindig viseljen, valamint cseréljen kesztyűt, mielőtt eltávolítja a **cobas® Liat®** átvivőpipettát a **cobas® Liat®** átvivőpipetta-csomagból, valamint a minták, a **cobas® Cdiff** tesztcső és a kontrollfiolák kezelése között. A minták és kontrollok kezelése során ügyeljen a kesztyűk szennyezésének elkerülésére. A minták és a készlet reagensinek kezelése közben viseljen kesztyűt, köpenyt és szemvédőt.
- Kerülje a reagensok mikrobiális és ribonukleáz-szennyezését.
- Álpozitív eredmények fordulhatnak elő, ha a mintakezelés során nem ügyel a minták átvitelének elkerülésére.
- A mintákat fertőzőként kell kezelni a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁰ és az CLSI Document M29-A4²¹ előírásoknak megfelelő biztonságos laboratóriumi eljárásokat alkalmazva.

Felhasználhatóság

- Ne használja a készleteket a lejáratí idő után.
- Ne öntse össze a reagenseket.
- Ne használjon sérült **cobas® Cdiff** tesztcsövet, valamint olyan **cobas® Cdiff** tesztcsövet, amely leesett, miután kikerült a fóliatásakjából.
- Ne használja újra a **cobas® Cdiff** tesztcsövet. Ha a **cobas® Cdiff** tesztcső nincs védőburkolatban vagy ha a cső mintarekesze már folyadékot tartalmaz, NE használja a csövet.
- Valamennyi felszerelést a gyártó utasításai szerint megfelelően karban kell tartani.
- Minden reagensekészletet megfelelően tároljon. Lásd 3. táblázat.

Hulladékkezelés

- A **cobas**® Cdiff tesztcső hulladékkezelését a megfelelő, biológiailag veszélyes hulladék számára kialakított tárolóval végezze az intézmény környezetre, egészségre és biztonságra vonatkozó protokolljának megfelelően.
- A **cobas**® Cdiff teszt reagensei és kontrolljai nátrium-azidot tartalmaznak (lásd „Figyelmeztetések és óvintézkedések”). A nátrium-azid az ólom- és rézcsövekkel reakcióba lépve erősen robbanékony fém-azidokat képezhet. Amikor nátrium-azid tartalmú oldatot önt ki a laboratóriumi mosogatóba, az azidlerakódás megakadályozása céljából nagy mennyiségű hideg vízzel öblítse le a lefolyót.
- A fel nem használt tesztcső és a kapcsolódó hulladékba helyezésének összhangban kell lennie a megfelelő országos, szövetségi, állami és helyi előírásokkal.

Kiömlés és tisztítás

- Ha a **cobas**® Liat® analizátorra folyadék ömlik, letisztításakor kövesse a **cobas**® Liat® rendszer felhasználói útmutatójának megfelelő utasításait.

Minták levétele, szállítása és tárolása

Valamennyi mintát fertőző anyag átvitelére alkalmasként kell kezelni.

Mintavétel

A **cobas**® Cdiff tesztrel csak **részben vagy nem formált székletmintát** lehet vizsgálni. Ilyennek tekintendő az a székletminta, amely felveszi a tárolója formáját. A székletminta vételének tiszta, száraz és használatlan tárolóba kell történnie az intézményi protokollok betartásával.

Minták szállítása, tárolása és stabilitása

A nem formált székletminták szobahőmérsékleten (2–30 °C) 2 napig, 2–8 °C-on 9 napig stabilak a tápközegbe **cobas**® PCR Media helyezés és a **cobas**® Liat® rendszeren való vizsgálat előtt (ezt minták tesztelésével állapították meg 2 napig tartó 30 ± 1 °C-os hőmérsékleten, majd 7 napig tartó 2–8 °C-on való tárolás után).

A **cobas**® PCR Media közegben újraszuszpendált székletminta 2–30 °C-on 7 napig stabil a **cobas**® Liat® rendszeren végzett tesztelés előtt.

A *C. difficile* minták szállításának meg kell felelnie az etiológiai anyagok szállítására vonatkozó országos és helyi szabályozásnak.

A teszteljárás

„Lot hozzáadása” munkafolyamat

1. ábra: „Lot hozzáadása” munkafolyamat

1	Indítsa el a rendszert, és jelentkezzen be.
2	Távolítsa el a kontrollokat, a tesztcsöveket és az átvívópipettákat a tárolóhelyükről.
3	A „Vizsgálati menüben” válassza az „Új lot” lehetőséget.
4	Olvassa be az azonosító terméktájékoztató-vonalkódkártyáról a vonalkódot.
5	Olvassa be, majd futtassa a negatív kontrollt.
6	Olvassa be, majd futtassa a pozitív kontrollt.

Mintaátvitel munkafolyamata

2. ábra: Mintaátvitel munkafolyamata

1	Merítse a vattapálca fejét a székletmintába.
2	Tegye a mintával átítatott vattapálcát a cobas ® PCR Media közeges csőbe.
3	Törje el a vattapálca szárát a szürke jelzésnél.
4	Zárja le a csövet kupakkal, és legalább öt körkörös mozdulattal keverje fel a tartalmát.

cobas® Cdiff munkafolyamat

3. ábra: A **cobas**® Cdiff munkafolyamat

1	Indítsa el a rendszert, és jelentkezzen be.
2	Távolítsa el a mintákat, a tesztcsöveket és az átvívópipettákat a tárolóhelyükről.
3	A főmenüben válassza a „Vizsgálat futtatása” elemet.
4	Szkennelje be a cobas ® Cdiff tesztcső vonalkódját.
5	Olvassa be vagy adja meg a minta azonosítóját.
6	Az átvívópipettával adjon mintaanyagot a cobas ® Cdiff tesztcsőhöz, majd helyezze vissza a cső kupakját.
7	Ismét olvassa be a cobas ® Cdiff tesztcső vonalkódját.
8	A cobas ® Cdiff tesztcső behelyezésével indíthatja a futtatást.
9	Tekintse át az eredményeket.*
10	Vegye ki a használt cobas ® Cdiff tesztcsövet, és helyezze hulladékba.

* Az eredmények DMS vagy LIS rendszerbe feltöltésének részleteit lásd a **cobas**® Liat® rendszer legfrissebb felhasználói útmutatójában.

Használati utasítás

„Lot hozzáadása” eljárás

A cobas® Cdiff tesztcsovek új gyártási tételének használata előtt a „Lot hozzáadása” műveletet el kell végezni a cobas® Liat® analízátor készüléken, a cobas® Cdiff tesztcsovek adott gyártási tételének az illető munkahelyen való validálásához. Az eljáráshoz negatívkontroll-mintát és Cdiff-pozitív kontrollmintát kell futtatni.

„Lot hozzáadása” eljáráshoz szükséges anyagok

- A cobas® Liat® rendszeren használható cobas® Cdiff nukleinsavteszt új gyártási tétele (két tesztcső)
- 2 átvivőpipetta a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagból
- Az új cobas® Cdiff tesztcsovek új gyártási tételének a terméktájékoztatón lévő azonosító vonalkódkártyája
- cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll
- cobas® Liat® negatív kontroll
- A cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll és a cobas® Liat® negatív kontroll vonalkódkártyája

Megjegyzés: A részletes üzemeltetési utasításokat a cobas® Liat® rendszer felhasználói útmutatójában találja.

Eljárás

1. A főkapcsolóval indítsa a cobas® Liat® analízátort.
2. Válassza a **Bejelentk.** elemet a cobas® Liat® analízátor képernyőjén.
3. Amikor a rendszer kéri, adja meg a felhasználónevét, majd válassza az **Bevitel** gombot.
4. Amikor a rendszer kéri, adja meg a jelszavát, majd válassza az **Bevitel** gombot.

Megjegyzés: Lehet, hogy a rendszer megkéri annak nyugtázására, hogy elolvasta a felhasználói útmutatót (vagyis a cobas® Liat® rendszer felhasználói útmutatóját).

5. A cobas® Liat® analízátor főmenüjében válassza a **Vizsgálati menü** lehetőséget.
6. A lista alján válassza az **Új lot** lehetőséget.
7. Amikor megjelenik a **Dok.-azon. olvasása!** szöveg, válassza a **Beolvasás** elemet, és olvassa be a cobas® Cdiff terméktájékoztatón lévő azonosító vonalkódkártyát. A piros beolvasófény a teljes vonalkód fölött legyen.

Megjegyzés: Lehet, hogy nyugtáznia kell, hogy elolvasta a terméktájékoztatót vagy a használati utasítást.

8. Amikor megjelenik az **Neg. kontr.-azon. olv.** szöveg, válassza a **Beolvasás** lehetőséget, és olvassa be a negatív kontroll vonalkódját a kontrollkészletből. A piros beolvasófény a teljes vonalkód fölött legyen. A cobas® Liat® analízátor ezt követően felszólítja, hogy **Adja hozzá neg. kontr. & olv. be a csőazon.-t.**
9. Tartsa függőlegesen a cobas® Liat® negatív kontrollt tartalmazó csövet, és finoman ütögesse sík felülethez, hogy a folyadék összegyűljön a cső alján.
10. Nyissa fel a (megfelelő lotszámú) cobas® Cdiff tesztcső fóliatasakját, és vegye ki a tesztcsovet.

11. A **cobas® Liat®** átvivőpipetták csomagjából származó átvivőpipettával adagolja a **cobas® Liat®** negatív kontrollt a **cobas® Cdiff** tesztcsőbe. Nyomja meg az átvivőpipetta pumpáját határozottan, amíg a pumpa teljesen össze nem nyomódik, merítse a pipetta hegyét a folyadékba, majd lassan engedje fel a pumpát, hogy felszívja a mintaanyagot.

Megjegyzés: *Csak a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagból származó átvivőpipettával vigyen át kontroll- vagy mintaanyagot a cobas® Cdiff tesztcsőbe.*

12. Óvatosan távolítsa el a **cobas® Cdiff** tesztcső kupakját, és illessze a pipettát a nyílásba. Vigye a pipettahegyet közel a nyitott rész aljához.
13. A pumpa lassú összeszorításával ürítse a pipetta tartalmát a **cobas® Cdiff** tesztcsőbe. Ügyeljen rá, hogy ne keletkezzenek buborékok a mintában. Ne engedje fel a pipetta pumpáját, amíg a pipetta még a **cobas® Cdiff** tesztcsőben van.

Megjegyzés: *Ne szúrja át a cobas® Cdiff tesztcsővet vagy a mintakamra alján lévő záróelemet. Ha ezek bármelyike megsérült, helyezze hulladékba mind a cobas® Cdiff tesztcsővet, mind az átvivőpipettát, és kezdje újra a tesztelést új cobas® Cdiff tesztcsővel és pipettával.*

14. Csavarja vissza a **cobas® Cdiff** tesztcső kupakját. Helyezze hulladékba az átvivőpipettát.
15. Válassza a **Beolvasás** lehetőséget, és helyezze a **cobas® Cdiff** tesztcsővet vízszintesen a vonalkódolvasó alá az asztalra, hogy a piros beolvasófény teljesen fedje a vonalkódot. A **cobas® Liat®** analizátor tesztcsőbehelyező ajtaja a vonalkód beolvasása után automatikusan kinyílik.
16. Távolítsa el a **cobas® Cdiff** tesztcső védőtokját, és azonnal tolja a **cobas® Cdiff** tesztcsővet a **cobas® Liat®** analizátorba, amíg a helyére nem pattan.

Megjegyzés: *A cobas® Cdiff tesztcsővet csak egyféleképpen lehet betenni: a cobas® Cdiff tesztcső hornyolt oldala álljon balra, a kupak pedig fölfelé.*

17. Ha a tesztcsővet nem helyezi be az ajtó csukódásáig, ismét olvassa be a **cobas® Cdiff** tesztcső vonalkódját, majd helyezze be a **cobas® Cdiff** tesztcsővet. Amikor megfelelően sikerült behelyezni a **cobas® Cdiff** tesztcsővet, a **cobas® Liat®** analizátor automatikusan becsukja az ajtót, és megkezd a tesztet.
18. Tesztelés közben a **cobas® Liat®** analizátor megjeleníti a futtatás állapotát és a becsült hátralévő időt. Ha a teszt végeztével **A negatív kontrolleredmény elfogadva** jelenik meg, válassza a **Megerősít** gombot. Ha a rendszer elutasítja az eredményt, ismétlje meg a negatív kontroll futtatását (8–18. lépések). Ha az ismételt kontrollfuttatásból nem a várt eredmények keletkeznek, forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
19. A teszt befejeztével a **cobas® Liat®** analizátoron megjelenik a **Lassan és óvatosan távolítsa el a csövet** üzenet, és kinyílik a tesztcsőbehelyező ajtó. Lassan emelje ki a **cobas® Cdiff** tesztcsővet a **cobas® Liat®** analizátorból. Helyezze a használt **cobas® Cdiff** tesztcsővet a biológiailag veszélyes hulladék számára kialakított tárolóba.
20. Válassza a **Vissza** gombot, és folytassa a **cobas® Liat® Cdiff** pozitív kontroll tesztelésével az eddig használt készüléken.
21. Végezze el a 8–17. lépéseket, de a **cobas® Liat®** negatív kontroll helyett a **cobas® Liat® Cdiff** pozitív kontrollal.
22. Ha a „**Pozitívkontroll-eredmény elfogadva. ... lot hozzáadva.**” üzenet jelenik meg a futtatás végén, válassza a **Megerősít** gombot, majd a **Vissza** gombot, hogy visszatérjen a főmenübe. Ha a rendszer elutasítja az eredményt, ismétlje meg a **cobas® Liat® Cdiff** pozitív kontroll tesztelését. Ha az ismételt kontrollfuttatásból nem a várt eredmények keletkeznek, forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
23. Ismétlje meg a 19. lépést.

24. Válassza a **Vizsgálati menü** lehetőséget; ezzel megerősíti az új lot felvételét.

Amikor egy analizátoron befejeződött a „Lot hozzáadása” eljárás, a **cobas®** Liat analizátor Eszközök menüje és USB-memória segítségével viheti át a lot adatait az intézményben működő egyéb analizátorokra. Így a többi analizátor is tudja majd használni ugyanezt a **cobas®** Cdiff tesztcsőöt anélkül, hogy mindegyiken egyesével el kellene végezni a „Lot hozzáadása” eljárást. Kövesse a **cobas®** Liat® rendszer felhasználói útmutatójának utasításait, és végezzen „Vizsgálati lotok exportálása” műveletet azon az analizátoron, ahol a „Lot hozzáadása” művelet történt. Utána végezze el a „Vizsgálati lotok importálása” eljárást az intézmény minden egyéb analizátorán.

Minták átvitele cobas® PCR Media közegbe

1. A székletmintát át kell helyezni a tápközeget **cobas®** PCR Media tartalmazó csőbe, és el kell végezni a vizsgálatot a „Minták levétele, szállítása és tárolása” részben megadott időn belül. A jelen dokumentumban az eredeti székletminta másik megnevezése „elsődleges minta”, a **cobas®** PCR Media közegben készült székletsuszpenzióé pedig „másodlagos minta”.
2. Székletminta átvitelére csak a **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kitből származó vattapálcát használja. A székletmintát tartalmazó edény falának érintése nélkül teljesen merítse a vattapálca hegyét a székletmintába, egészen a vékonyodó részig.
3. Utána rögtön távolítsa el, majd helyezze át a mintával átitatott vattapálcát a **cobas®** PCR Media közeges csőbe. Ha nincs elég széklet ahhoz, hogy teljesen bele lehessen meríteni a vattapálca hegyét, ne tesztelje a mintát.
4. Törje el a vattapálca nyelét a szürke bemetszésnél úgy, hogy a vattapálcát a **cobas®** PCR Media közeges cső falához nyomja.
5. Zárja le a csövet kupakkal, és legalább 5 körkörös mozdulattal keverje fel a cső tartalmát.

Megjegyzés: A **cobas®** Cdiff tesztet a **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kittel (PCR-tápközeges egy vattapálcás mintakészlettel) végzett használatra validálták. Egyéb eszközöket és egyéb típusú közegeket nem validáltak a **cobas®** Cdiff tesztel végzett használatra.

Megjegyzés: A **cobas®** PCR Media-tápközeges székletminta-szuszpenziók keresztszennyeződésének megakadályozására feldolgozás után a tápközeges **cobas®** PCR Media csövekben lévő mintaszuszpenziókat eltérő színű (áttetsző; lásd: „Opcionális anyagok”) kupakkal zárja le.

Megjegyzés: A **cobas®** PCR Media közeges csövek a **cobas®** PCR Media anyagból eleget tartalmaznak ahhoz, hogy a székletsuszpenziókat többször is vizsgálni lehessen a **cobas®** Liat® rendszeren. A minimális székletsuszpenzió-térfogat egy **cobas®** Cdiff-futtatáshoz 0,2 ml.

cobas® Cdiff teszt végzése klinikai mintákon

A cobas® Cdiff teszt futtatásához szükséges anyagok

- **cobas®** Cdiff-fóliatasakból származó **cobas®** Cdiff tesztcső
- Átvivőpipetta a **cobas®** Liat® átvivőpipetta-csomagból
- **cobas®** PCR Media közegbe átvitt, majd ott szuszpendált székletminták (lásd „Minták átvitele **cobas®** PCR Media közegbe”)

Eljárás

1. A **cobas® Liat®** analizátor legyen bekapcsolva.
2. Válassza a **Bejelentk.** elemet a **cobas® Liat®** analizátor képernyőjén.
3. Amikor a rendszer kéri, adja meg a felhasználónevét, majd válassza az **Bevitel** gombot.
4. Amikor a rendszer kéri, adja meg a jelszavát, majd válassza az **Bevitel** gombot.

Megjegyzés: *Lehet, hogy a rendszer megkéri annak nyugtázására, hogy elolvasta a felhasználói útmutatót (vagyis a cobas® Liat® rendszer felhasználói útmutatóját).*

5. A főmenüben válassza a **Vizsgálat futtatása** elemet.
6. Nyissa fel a **cobas® Cdiff** tesztcsövet tartalmazó tasakot, és vegye ki a tesztcsövet. Amikor megjelenik a **Csőazon. olvasása!** felszólítás, válassza a **Beolvasás** lehetőséget, és helyezze a **cobas® Cdiff** tesztcsövet vízszintesen a vonalkódolvasó alá az asztalra, hogy a piros beolvasófény teljesen fedje a vonalkódot.
7. Amikor a **Mintaazon. olvasása!** szöveg jelenik meg, a **Beolvasás** elemet választva olvassa be a minta vonalkódját. Ha a minta nem olvasható be, válassza a **Bevitel** lehetőséget, és manuálisan adja meg a mintaazonosítót.

Megjegyzés: *Az analizátor konfigurációjától függően szükség esetén erősítse meg a kapott betegadatokat a „Megerősít” gombbal.*

8. Amikor erre utasítás jelenik meg a kijelzőn, tegye a mintát a **cobas® Cdiff** tesztcsőbe.
9. A **cobas® Liat®** átvivőpipetta-csomagból származó átvivőpipettával helyezze át a másodlagos mintát. Nyomja meg az átvivőpipetta pumpáját határozottan, amíg a pumpa teljesen össze nem nyomódik, merítse a pipetta hegyét a folyadékba, majd lassan engedje fel a pumpát, hogy felszívja a mintaanyagot.

Megjegyzés: *Mielőtt az átvivőpipettát kiveszi a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagból, cseréljen kesztyűt, nehogy szennyezze a pipettacsomagot.*

10. Óvatosan távolítsa el a **cobas® Cdiff** tesztcső kupakját, és illessze a pipettát a nyílásba. Vigye a pipettahegyet közel a nyitott rész aljához.
11. A pumpa lassú összeszorításával ürítse a pipetta tartalmát a **cobas® Cdiff** tesztcsőbe. Ne engedje fel a pipetta pumpáját, amíg a pipetta még a **cobas® Cdiff** tesztcsőben van.
12. Helyezze vissza a **cobas® Cdiff** tesztcső kupakját, majd helyezze hulladékba az átvivőpipettát.

Megjegyzés: *Ügyeljen rá, hogy történjen keresztzennyeződés a pipettában maradt anyag, a kesztyű, a berendezések és a munkafelületek között.*

13. Válassza a **Beolvasás** lehetőséget, és ismét olvassa be a **cobas® Cdiff** tesztcső vonalkódját. A **cobas® Liat®** analizátor tesztcsőbehelyező ajtaja automatikusan kinyílik.
14. Távolítsa el a **cobas® Cdiff** tesztcső védőtokját, és azonnal tolja a **cobas® Cdiff** tesztcsövet a **cobas® Liat®** analizátorba, amíg a helyére nem pattan.

Megjegyzés: *A cobas® Cdiff tesztcsövet csak egyféleképpen lehet betenni: a cobas® Cdiff tesztcső hornyolt oldala álljon balra, a kupak pedig fölfelé.*

15. Ha a tesztcsövet nem helyezi be az ajtó csukódásáig, ismét olvassa be a **cobas®** Cdiff tesztcső vonalkódját, majd helyezze be a **cobas®** Cdiff tesztcsövet. Amikor megfelelően sikerült behelyezni a **cobas®** Cdiff tesztcsövet, a **cobas®** Liat® analízátor automatikusan becsukja az ajtót, és megkezd a tesztet.
16. Tesztelés közben a **cobas®** Liat® analízátor megjeleníti a futtatás állapotát és a becsült hátralévő időt. A teszt befejeztével a **cobas®** Liat® analízátoron megjelenik a **Lassan és óvatosan távolítsa el a csövet** üzenet, és kinyílik a tesztcsőbehelyező ajtó. Lassan emelje ki a **cobas®** Cdiff tesztcsövet a **cobas®** Liat® analízátorból. Helyezze a használt **cobas®** Cdiff tesztcsövet a biológiailag veszélyes hulladék számára kialakított tárolóba.
17. Az eredményjelentés megjelenítéséhez válassza a **Jelentés** lehetőséget. Ha a jelentést nyomtatni akarja, válassza a **Nyomtatás** gombot.
18. Válassza **Vissza**, majd a **Fő** gombot, hogy visszatérjen a főmenübe a következő teszt végzéséhez.

További kontrollfuttatások

Az országos és helyi előírások és/vagy az engedélyező hatóság előírásai szerint további kontrollfuttatásokat lehet végezni a **cobas®** Cdiff tesztcsövek olyan gyártási tételével, amelyet már felvettek a „Lot hozzáadása” eljárással. Ezeket a futtatásokat a **cobas®** Liat® rendszeren használható **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit használatával végezze.

A további kontrollfuttatásokhoz szükséges anyagok

- **cobas®** Cdiff tesztcsövek és átvivőpipetták
- A **cobas®** Liat® Cdiff pozitív kontroll és/vagy a **cobas®** Liat® negatív kontroll
- A **cobas®** Liat Cdiff pozitív kontroll és a **cobas®** Liat® negatív kontroll megfelelő vonalkódkártyája.

Eljárás

A „**cobas®** Cdiff teszt végzése klinikai mintákon” alatt ismertetett eljárással végezze a további kontrollfuttatásokat.

A 7. lépésben mindig a **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit kontrollvonalkódjait olvassa be mintaazonosító vonalkódként. A további Cdiff pozitív kontrollok vagy negatív kontrollok futtatásakor keletkező **cobas®** Cdiff-eredmények értelmezését lásd az „Az eredmények értelmezése” részben itt: 9. táblázat és 10. táblázat. Ha nem a kontrollok vonalkódját használja, helytelen kontrolleredményeket kaphat.

Eredmények

Minőség-ellenőrzés és az eredmények érvényessége

A korábban ismertetett „Lot hozzáadása” eljárás során egy cobas® Liat® Cdiff pozitív kontrollt és egy cobas® Liat® negatív kontrollt kell futtatni. A cobas® Cdiff tesztcsövek új gyártási tételének validálásához az eszközön érvényes eredményt kell kapni mind a pozitív, mind a negatív kontrollra. A „Lot hozzáadása” eljárás után további kontrollfuttatásokat lehet végezni. A részletekért lásd a használati utasítás „További kontrollfuttatások” részét.

cobas® Liat® Cdiff belső kontroll van minden cobas® Cdiff tesztcső belsejében, és a rendszer a teljes munkafolyamatban együtt futtatja az adott mintával.

Pozitív kontroll

A cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll nem fertőző DNS-plazmidokat tartalmaz *C. difficile*-targetszekvenciával.

A cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll a cobas® Cdiff tesztcsőben lévő reagensek épségét, valamint a cobas® Liat analizátor megfelelő működését ellenőrzi. Ha a cobas® Liat® Cdiff pozitív kontroll eredménye gyakran lesz érvénytelen, technikai segítségért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Negatív kontroll

A cobas® Liat® negatív kontroll nem tartalmaz targetanyagot, és azt ellenőrzi, hogy nem történik-e fertőzés a targettel a munkafolyamat során vagy a környezetben. Ha a cobas® Liat® negatív kontroll eredménye gyakran lesz érvénytelen, technikai segítségért forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.

Belső kontroll

A tesztcsőben van egy teljes organizmusos belső kontroll (Bti), amelyet a rendszer automatikusan hozzátesz az összes mintához a minta-előkészítés elején. A cobas® Liat® Cdiff belső kontroll egy vegyi úton inaktivált baktérium, amely benne van minden cobas® Cdiff tesztcsőben, és a rendszer a mintákkal együtt dolgozza fel. A belső kontroll ellenőrzi, hogy a teszt minden lépésében megfelelően történik-e a célzott baktériumok feldolgozása, és figyeli az inhibitorok jelenlétét a minta-előkészítés és a PCR-eljárás során. A cobas® Liat® Cdiff belső kontrollnak pozitív eredményt kell mutatnia negatív minta esetén, és negatív vagy pozitív Cdiff-pozitív mintánál.

Eredmények értelmezése

Megjegyzés: A minták és kontrollfuttatások minden validálását a cobas® Liat® rendszer határozza meg.

A „Lot hozzáadása” eljárás futtatásakor keletkező eredmények értelmezését lásd 7. táblázat.

7. táblázat: A cobas® Cdiff teszteredmények értelmezése a „Lot hozzáadása” eljárás futtatásakor

cobas® Liat® analizátor kijelzője	Nyomtatott eredmény a jelentésben és az értelmezése
Negatív kontroll érvényes	Negatív kontroll érvényes A kontroll negatív a <i>C. difficile</i> DNS-ének jelenlétére.
Negatív kontroll érvénytelen. Újra	Negatív kontroll érvénytelen Érvénytelen eredmény. A negatív kontrollt újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Ismételje a futtatást.
Pozitív kontroll érvényes	Pozitív kontroll érvényes A kontroll pozitív a <i>C. difficile</i> DNS-ének jelenlétére.
Pozitív kontroll érvénytelen. Újra	Pozitív kontroll érvénytelen Érvénytelen eredmény. A pozitív kontrollt újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Ismételje a futtatást.

A mintaeredmények értelmezését lásd 8. táblázat.

8. táblázat: A cobas® Cdiff teszt eredményeinek értelmezése klinikai minta futtatásakor

cobas® Liat® analizátor kijelzője	Nyomtatott eredmény a jelentésben és az értelmezése
Cdiff Észlelhető	Cdiff Észlelhető A minta pozitív <i>C. difficile</i> DNS jelenlétére.
Cdiff Nem észlelhető	Cdiff Nem észlelhető* A minta negatív a <i>C. difficile</i> DNS-ére, vagy ha van benne, nem kimutatható.
A vizsgálat érvénytelen	A vizsgálat érvénytelen** Érvénytelen eredmény. Az eredeti mintát újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Lásd: „Az ismételt vizsgálathoz ajánlott eljárás”.
A vizsgálatot a felhasználó megszakította	A vizsgálatot a felhasználó megszakította A futtatást a felhasználó megszakította. Az eredeti mintát újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Lásd: „Az ismételt vizsgálathoz ajánlott eljárás”.
A vizsgálatot a rendszer megszakította	A vizsgálatot a rendszer megszakította A futtatást a rendszer megszakította. Az eredeti mintát újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Lásd: „Az ismételt vizsgálathoz ajánlott eljárás”.

* A negatív eredmény nem zárja ki a *C. difficile* DNS-ének jelenlétét, mivel az eredmény a megfelelő mintavételtől, a gátlóanyagok jelenlététől és az elegendő mennyiségű kimutatható DNS jelenlététől függ.

** Érvénytelen eredményt okozhat, ha a mintában túlzott mennyiségű széklet vagy olyan zavaró anyagok vannak, amelyek gátolják a célzott nukleinsav extrahálását és/vagy amplifikálását és kimutatását. Az ismert zavaró hatású anyagokat lásd „Az eljárással kapcsolatos korlátozások”. Az elégtelen mintatérfogat is okozhat érvénytelen eredményt. A cobas® PCR Media közeges szuszpenzióban legalább 0,2 ml székletnek kell lennie a cobas® Cdiff teszthez.

A „Lot hozzáadása” eljárás után további kontrollok futtatásakor keletkező eredmények értelmezését lásd 9. táblázat és 10. táblázat.

9. táblázat: A cobas® Cdiff teszteredmények értelmezése pozitív kontroll futtatásakor

cobas® Liat® analizátor kijelzője	Nyomtatott eredmény a jelentésben és az értelmezése
Pozitív kontroll érvényes	Pozitív kontroll érvényes A kontroll pozitív a <i>C. difficile</i> DNS-ének jelenlétére.
Pozitív kontroll érvénytelen	Pozitív kontroll érvénytelen Érvénytelen eredmény. A pozitív kontrollt újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Ismételje a futtatást.

10. táblázat: A cobas® Cdiff teszteredmények értelmezése negatív kontroll futtatásakor

cobas® Liat® analizátor kijelzője	Nyomtatott eredmény a jelentésben és az értelmezése
Negatív kontroll érvényes	Negatív kontroll érvényes A kontroll negatív a <i>C. difficile</i> DNS-ének jelenlétére.
Negatív kontroll érvénytelen	Negatív kontroll érvénytelen Érvénytelen eredmény. A negatív kontrollt újra kell tesztelni, hogy érvényes eredményt adjon. Ismételje a futtatást.

Ajánlott újratestelési eljárás

Az érvénytelen, meghiusult és megszakított futtatások egyszer ismételhetők ugyanazzal a másodlagos mintával. Ha az ismételt futtatás is érvénytelen, új másodlagos minta készíthető az elsődleges székletmintából. A másik lehetőség az új elsődleges minta vétele, ha kivitelezhető a cobas® Cdiff teszt ismételt végzéséhez.

Az eljárással kapcsolatos korlátozások

1. A cobas® Cdiff teszt csak olyan nem vagy részben formált székletminta vizsgálatára használható, amelyet a jelen használati utasítás (másik megnevezése: „terméktájékoztató”) szerint a cobas® PCR Media közeget tartalmazó csőbe helyeztek.
2. A megbízható eredmény a megfelelő mintalevételen, szállításon, tároláson és feldolgozáson múlik. Kövesse a cobas® Cdiff teszt használati utasítása, valamint a cobas® Liat® rendszer felhasználói útmutatója eljárásait.
3. A *C. difficile* DNS kimutatása a mintában lévő organizmusok számától függ, és befolyásolhatják a mintavételi/-feldolgozási módszerek, a beteg előzetes kórházi tartózkodása, az antibiotikumos kezelés és a jelenlévő *C. difficile*-törzs.
4. Álnegatív vagy érvénytelen eredmények különféle zavaró anyagok miatt is előfordulhatnak. A cobas® Cdiff belső kontrollt tartalmaz, hogy segítse a nukleinsav-izoláló eljárásokat és PCR-amplifikálást esetlegesen zavaró anyagokat tartalmazó minták azonosítását. Ismert zavaró anyagok esetleg egyebek mellett:
 - Az 50%-nál (m/V) több nyákanyagot tartalmazó minták álnegatív eredményt adhatnak.
5. Ha az eredmény pozitív, ez a *C. difficile* DNS-ének jelenlétére utal, de nem feltétlenül vannak jelen életképes organizmusok. Ezért ez a teszt nem ajánlott a kezelés monitorozására és eredményességének ellenőrzésére.
6. A primer- vagy próbamegkötő régiókban előforduló mutációk vagy polimorfizmusok hatással lehetnek az új vagy ismeretlen variánsok kimutatására, és ilyenkor a cobas® Cdiff teszt álnegatív eredményt ad.

7. A vizsgálat prediktív értéke a betegség előfordulási arányától függ az adott populációban.
8. A terméket csak a **cobas® Liat®** rendszer használatára kiképzett dolgozók használhatják.

Teljesítmény értékelése

Analitikai érzékenység

A **cobas® Cdiff** teszt analitikai érzékenységét (kimutatási határát, *Limit of Detection*, LoD) ismert mennyiségű targetet tartalmazó *C. difficile*-tenyészetekkel határozták meg, amelyeket többféle koncentrációsintre hígítottak negatív szuszpenzióban a **cobas®** PCR Media közegben. Minden szintet három ismételtsben tesztelték a **cobas® Cdiff** tesztcsövek két eltérő gyártási tételével. A legalacsonyabb, 100% találati arányt mutató szintet további ismétlésekkel tesztelték a LoD-szint igazolására. Amikor egy szint találati aránya nem érte el a 95%-ot, az előtti panelszintet tesztelték további ismétlésekkel. A LoD végső szintjét legalább még 21 ismételtsel igazolták. A jelen teszt LoD-ja meghatározás szerint az a targetkoncentráció, amely mellett a tesztelt ismétlések legalább 95%-a pozitívként mutatható ki a kevésbé jól teljesítő reagenstétel eredményei alapján.

Az analitikai érzékenységet vizsgáló vizsgálat eredményeit lásd itt: 11. táblázat.

11. táblázat: A **cobas® Cdiff** vizsgálat LoD-értéke (kimutatási határa)

Törzsazon.	Toxintípus	REA*-típus	PFG†-típus	Ribotípus	Fenotípus	LoD (CFU/kenet)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N/A	N/A	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Restriction endonuclease analysis, restrikciós endonukleáz-elemzés; †Pulse Field Gel, pulzálatott mezejű gélelektroforézis

A *C. difficile* genotípusainak kimutatása

A további toxintípusokat tartalmazó 37 toxikus törzsön a **cobas® Cdiff** kimutatási határát úgy vizsgálták, hogy (ATCC 43255) törzsenként 3 ismételts futtattak a LoD-szint háromszorosával (270 CFU/vattapálca). A hígításokat és tesztelendő mintákat a fent ismertetett LoD-vizsgálathoz hasonlóan készítették.

A vizsgálatban 100%-ban pozitívan kimutatták mind a 37 toxikus törzset (12. táblázat), ami igazolja, hogy a **cobas® Cdiff** teszt ki tudja mutatni a *C. difficile* ezen toxintípusait.

12. táblázat: A toxikus *C. difficile* igazolási eredményeinek összefoglalása

	Cdiff-törzs	Toxintípus	Ribotípus	Találati arány
1	ATCC# BAA-1382, 630	0	12	100,00%
2	EX 623	I	102	100,00%
3	AC 008	II	103	100,00%
4	2004118, CDC-204118 (NAP-1)	III	27	100,00%
5	SE 844	IIIa	80	100,00%
6	CH6230	IIIc	N/A	100,00%
7	P43	IV	N/A	100,00%
8	55767	IV	23	100,00%
9	2748-06	V	78	100,00%
10	SE 881	V	45	100,00%
11	SE 1203	VI	33	100,00%

	Cdiff-törzs	Toxintípus	Ribotípus	Találati arány
12	57267	VII	63	100,00%
13	ATCC# 43598, 1470	VIII	17	100,00%
14	51680	IX	19	100,00%
15	CCUG 8864/STCC20309	X	36	100,00%
16	F15	XII	N/A	100,00%
17	IS 25	XII	56	100,00%
18	R 9367	XIII	70	100,00%
19	R 10870	XIV (új XIVa)	111	100,00%
20	R 9385	XV (új XIVb)	122	100,00%
21	SUC36	XVI	78	100,00%
22	No 1313	XVII	232	100,00%
23	K095	XVIII	14	100,00%
24	TR13	XIX	N/A	100,00%
25	TR14	XX	N/A	100,00%
26	CH6223	XXI	N/A	100,00%
27	CD07-468	XXII	N/A	100,00%
28	8785	XXIII (új IXc)	N/A	100,00%
29	597B	XXIV	131	100,00%
30	7325	XXV	27	100,00%
31	7459	XXVI	N/A	100,00%
32	KK2443/2006	XXVII	N/A	100,00%
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00%
34	CD07-140	XXIX	56	100,00%
35	ES 130	XXX	N/A	100,00%
36	WA 151	XXXI	N/A	100,00%
37	173070	XXXII	N/A	100,00%

Pontosság

Belső pontossági vizsgálatot végeztek a *C. difficile* ATCC 43255 tenyészetének negatív székletszuspenziójába (cobas® PCR Media közegben) oltásával készített paneltagokon. A koncentrációsintek közül egy nem érte el a cobas® Cdiff teszt LoD-ját, a másik a LoD közelében volt, a harmadik pedig a LoD fölött. Teszteltek még egy negatív szintet is negatív székletszuspenzióval cobas® PCR Media közegben. A vizsgálatban a cobas® Cdiff tesztreagensek három eltérő gyártási tételét használták, valamint hat készüléket, ami összesen 192 futtatást jelentett 12 nap alatt. A pontossági panelek leírását és a vizsgálat összefoglalását lásd 13. táblázat.

A szóródási tényezők elemzése (14. táblázat) szerint a target Ct-értékek legtöbb szóródását véletlenszerű, valamint a készülékkel összefüggő tényezők okozták (67%, illetve 32%) a LoD-dal egyező vagy ahhoz közeli koncentrációsinteken. A LoD fölötti koncentrációsintnél a Ct-értékek legtöbb szóródását véletlenszerű, valamint az eltérő gyártási tételek okozták (58%, illetve 20%). Az eredmények (15. táblázat) szerint a target Ct-értékek relatív szórása (CV%) 2,4% volt a LoD-dal egyező koncentrációsinten, és 2,3% efölött.

13. táblázat: Házon belüli pontosság vizsgálata: a pozitív arányának elemzése

Paneltag	Vizsgálatok száma	Pozitívák száma	Pozitívák aránya	95%-os CI	
				Alsó	Felső
Negatív	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
< 1 × LoD	48	33	68,8%	54,7%	80,1%
~1 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
~3 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%

LoD = kimutatási határ

14. táblázat: Ct-értékek szóródási tényezőinek elemzése a pontossági panel tagjainál

Szint	Átlag Ct	Szóródási tényezők / a teljes hány százaléka				Összesen
		Lot	Készülék	Nap	Random	
~1 × LoD	31,8	0,008	0,189	0	0,398	0,595
		1%	32%	0%	67%	100,00%
~3 × LoD	30,3	0,097	0,049	0,055	0,274	0,476
		20%	10%	12%	58%	100,00%

LoD = kimutatási határ

15. táblázat: Ct-értékek szórásának és relatív szórásának (CV%) elemzése a pontossági panel tagjainál

Szint	Átlag Ct	Szórási tényezők / CV%				Összesen
		Lot	Készülék	Nap	Random	
~1 × LoD	31,8	0,089	0,434	0	0,631	0,771
		0,30%	1,40%	0%	2,00%	2,40%
~3 × LoD	30,3	0,312	0,222	0,234	0,524	0,69
		1,00%	0,70%	0,80%	1,70%	2,30%

LoD = kimutatási határ

Analitikai specifitás

A **cobas® Cdiff** teszt analitikai specifitásának meghatározásához a következő organizmusokból álló paneleket tesztelték:

- 1) 118 olyan baktérium, gomba és vírus, amelyek előfordulhatnak székletmintában, valamint egy humán sejt típus (16. táblázat)
- 2) 32 organizmus a *Clostridium* nemzetségből, köztük a nem toxikus *C. difficile* (17. táblázat)

A *Clostridium botulinum* analitikai specifitását a BLAST program és a GenBank nukleotidszekvencia-adatbázis összevetésével becsülték meg; ezzel szimulálták a PCR-amplikont létrehozó lépést.

Minden baktérium- és emberi sejtes mintát 1×10^6 egység*/ml-nek megfelelő, a vírusmintákat pedig 1×10^5 egység*/ml-nek megfelelő koncentrációra oltották székletmátrixban. A teszteléskor az organizmusok vagy egyedül szerepeltek, vagy két toxikus *C. difficile*-izolátummal együtt, amelyek a **cobas® Cdiff** teszt kimutatási határához (LoD) képest háromszoros koncentrációban voltak jelen. Az eredmények azt mutatták, hogy a tesztelt organizmusok egyike sem zavarta a megfelelő Cdiff-target kimutatását. Nem keletkeztek álpozitív eredmények, amikor nem volt jelen *C. difficile*-target.

* A baktériumok mennyiségét telepképző egységben határozták meg (CFU/ml), az emberi sejteket sejt/ml egységben, a vírusokét pedig TCID₅₀/ml egységben a *Chlamydia trachomatis* kivételével (IFU/ml).

16. táblázat: Tesztelt mikroorganizmusok és humán sejtek

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 35655	<i>Alcaligenes faecalis</i> alfaj <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> alfaj <i>faecalis</i> ATCC 8750	<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 33559	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> alfaj <i>jejuni</i> ATCC 33292	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i> szerovariáns L2 LGVII454	<i>Citrobacter amalonoticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter sedlakii</i>
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus cecorum</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus faecium</i> van A	<i>Enterococcus faecalis</i> van B
<i>Enterococcus gallinarum</i> van C	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700927
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Hafnia alvei</i>
HCT-15 humán sejtek	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> alfaj <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC BAA-839	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 33584	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Salmonella enterica</i> szerovariáns <i>Choleraesuis</i> ATCC 7001	<i>Salmonella enterica</i> alfaj <i>arizonae</i> ATCC 13314 (korábbi nevén: <i>Salmonella choleraesuis</i> alfaj <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> alfaj <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> alfaj <i>enterica</i> szerovariáns <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> alfaj <i>enterica</i> szerovariáns <i>Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Serratia liquefaciens</i> CMCC 169
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 27592	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus</i> V8 törzs, ATCC 12973	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia rohdei</i>	Cytomegalovírus (HHV5)
Humán adenovírus, 41-es típus	Humán Coxsackievírus A4	Humán Coxsackievírus B4
Humán echovírus 11	Humán enterovírus 71	Humán rotavírus
Norovírus GII	-	-

17. táblázat: Organizmusok a *Clostridium* nemzetségből, köztük a nem toxikus *C. difficile*

<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bolteae</i>
<i>Clostridium botulinum</i> *	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Clostridioides difficile</i> B szerocsoport (nem toxikus)	<i>Clostridioides difficile</i> I szerocsoport (nem toxikus)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (nem toxikus, Xla típus)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (nem toxikus, Xla típus)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (nem toxikus, Xlb típus)**	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (új neve: <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 15579	<i>Clostridium sporogenes</i> CCRI 11128	<i>Clostridium symbiosum</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tetani</i>	-

* A BLAST program elemzése alapján.

** Az inkluzivitási vizsgálatban tesztelt három nem toxikus Cdiff-törzset (XI toxintípus) a **cobas®** Cdiff teszt nem mutatta ki, de a táblázatban szerepelnek.

Interferencia

38 általánosan használt gyógyszert, valamint széketzsírt, teljes vért és nyákanyagot vizsgáltak a **cobas®** Cdiff vizsgálat zavarása szempontjából. Minden anyagot azon koncentráció fölötti szinten tesztelték, amelyben várható, hogy szerepelnek székletmintakenetben. A potenciálisan zavaró anyag koncentrációja az elsődleges székletmintához képest értendő. Két *C. difficile*-izolátumot oltottak a **cobas®** Cdiff teszt kimutatási határához (LoD) képest háromszoros koncentrációra, és ezek voltak a tesztek targetjei. Az exogén anyagoknál nem figyeltek meg zavaró hatást. Székletzsír esetében 39% (m/V) százalékig nem figyeltek meg zavaró hatást; teljes vérnél és nyákanyagnál ez az arány 100% (m/V), illetve 50% (m/V) százalék volt. Az eredmények összefoglalása: 18. táblázat.

18. táblázat: Potenciálisan zavaró anyagok tesztelésének eredményei

Anyag	Koncentráció
Székkletzsír	0,22–39% (m/V)
Teljes vér	100% (m/V)
Nyák	50% (m/V)
Aleve	100% (m/V)
Mylanta	100% (m/V)
Anusol	100% (m/V)
Dulcolax	23%* (m/V)
Equate hashajtó	50%* (m/V)
Equate hidrokortizon	100% (m/V)
E-Z-HD bárium-szulfát	100% (m/V)
Fleet	100% (m/V)
Glicerines kúp	100% (m/V)
Gravol kúp	100% (m/V)
Gynol II fogamzásgátló	10%* (m/V)
Imodium	100% (m/V)
Kaopectate	100% (m/V)
K-Y Jelly	100% (m/V)
Metronidazol	100% (m/V)
Miconazole	100% (m/V)
Ásványi olaj	100% (m/V)
Monistat krém	100% (m/V)
Monistat Complete Care	100% (m/V)
Nystatin kenőcs	100% (m/V)
Palmitinsav	100% (m/V)
Pedia Lax	100% (m/V)
Pepto Bismol	25%* (m/V)
Csodamogyoró	50%* (m/V)
Preparation H aranyérkrém	100% (m/V)
Preparation H aranyérkenőcs	100% (m/V)
Dramamine	12,5%* (m/V)
Sztearinsav	100% (m/V)
Nátrium-dokuzát	100% (m/V)
Tums	50%* (m/V)
Mesalamine rektális szuszpenzió	100% (m/V)
Vagisil viszketést gátló krém	12,5%* (m/V)
Vancomycin	100% (m/V)
Vazelin	100% (m/V)
Fényvédő szer	100% (m/V)
Monistat hüvelyi készítmény	100% (m/V)
Hüvelyi fogamzásgátló fólia	100%
Spermicid óvszer	100%

Klinikai teljesítmény klinikai minták használatával

A **cobas® Cdiff** teszt teljesítményét egy kereskedelembe kapható, legújabb technológiájú összehasonlító nukleinsavteszthez (*Nucleic Acid Test*, NAT) hasonlították, amelynek során referenciamódszerként közvetlen és dúsított tenyészetekből származó *C. difficile*-izolátumokon vizsgálták a szövettenyészet-citotoxicitást. Két helyről származó, prospektíven gyűjtött 442 székletmintát és öt helyről származó fagyasztva tárolt 284 székletmintát vizsgáltak a **cobas® Cdiff** és az összehasonlító NAT-vizsgálattal. A minták egy másik aliquotját referencialaboratóriumba küldték, hogy ott szövettenyészet-citotoxicitási tesztelést végezzenek rajtuk.

A **cobas® Cdiff** és a legújabb technológiájú összehasonlító NAT-tesztet a gyártói utasítások szerint végezték. A szövettenyészet-citotoxicitási tesztet közvetlen és dúsított tenyésztési eljárásokkal végezték. A módszer rövid leírása: Mindegyik székletmintát először előre redukált cikloserin-cefoxitin-fruktóz agarra (CCFA-HT) és CCMB TAL húsleves tápközegre oltották. A CCMB TAL húsleves tápközegre 48–72 órán át inkubálták, majd *Brucella* agaron továbbtenyésztették 5 napig 35 °C-on. Ha nehéz volt izolálni a *C. difficile*-telepeket, az organizmusokat továbbtenyésztették CCFA-VA agaron. A lehetséges telepek *C. difficile* törzsként való azonosítása Gram-festéssel, az oxigéntűrési vizsgálatával és Pro-Disk tesztelést történt, majd a telepeket anaerob húsleves tápközegbe tették. Utána az anaerob húsleves tápközegből nyert felülülő folyadékot feldolgozták a *C. difficile* B toxinjának kimutatására szövettenyészet-citotoxicitási tesztel (C. DIFFICILE TOX-B teszt, Techlab).

A közvetlen és dúsított tenyésztés összesen 155 db *C. difficile*-pozitív mintát eredményezett (előfordulási arány: 21,3%). A **cobas® Cdiff** és az összehasonlító NAT teljesítménye a tenyésztéshez képest: 19. táblázat – 21. táblázat. Itt a közvetlen tenyésztés eredményeivel és a közvetlen és a dúsított tenyésztések kombinált eredményeivel való korreláció szerepel. „Kombinált eredmény”: ha a közvetlen és a dúsított tenyésztés eredményei közül legalább az egyik pozitív, a minta kombinált eredménye pozitívnak tekintendő. A minta kombinált tenyésztési eredménye csak akkor tekintendő negatívnak, ha mind a közvetlen, mind a dúsított tenyésztés eredménye negatív.

A cobas® Cdiff teszt korrelációja a tenyésztéssel

A **cobas® Cdiff** teljesítményét a közvetlen tenyésztéssel, illetve a kombinált (közvetlen és dúsított) tenyésztésekkel itt találja: 19. táblázat, illetve 20. táblázat.

19. táblázat: **cobas® Cdiff** kontra közvetlen tenyésztés

		Direkt tenyésztés		
		Pozitív	Negatív	Összesen
cobas® Cdiff	Pozitív	129	21	150
	Negatív	9	567	576
	Összesen	138	588	726
Érzékenység	93,5% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 88,1–96,5%)			
Specifitás	96,4% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 94,6–97,7%)			
Negatív prediktív érték	98,4% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 97,1–99,3%)			
Pozitív prediktív érték	86,0% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 79,5–90,7%)			

20. táblázat: cobas® Cdiff kontra közvetlen és dúsított tenyésztés

		Közvetlen és dúsított tenyésztés		
		Pozitív	Negatív	Összesen
cobas® Cdiff	Pozitív	139	11	150
	Negatív	14	562	576
	Összesen	153	573	726
Érzékenység	90,8% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 85,2–94,5%)			
Specifitás	98,1% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 96,6–98,9%)			
Negatív prediktív érték	97,6% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 96,0–98,5%)			
Pozitív prediktív érték	92,7% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 87,3–95,9%)			

A cobas® Cdiff teszt korrelációja az összehasonlító NAT-tal

A cobas® Cdiff teszt teljesítményének közvetlen összehasonlítása egy kereskedelembe kapható, legújabb technológiájú összehasonlító NAT-éval: 21. táblázat.

21. táblázat: cobas® Cdiff kontra összehasonlító nukleinsav-vizsgálat (NAT)

		Összehasonlító NAT		
		Pozitív	Negatív	Összesen
cobas® Cdiff	Pozitív	145	5	150
	Negatív	6	570	576
	Összesen	151	575	726
Pozitív megfelelési arány	96,0% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 91,6–98,2%)			
Negatív megfelelési arány	99,1% (pontos 95%-os kétoldali konfidenciaintervallum: 98,0–99,6%)			

Érvénytelenek aránya

A cobas® Cdiff érvénytelen teszteredményeinek arányát 978 olyan különálló klinikai minta teszteredményeiből számították, amelyek közül 726 minta szerepelt a korreláció vizsgálatában. A tesztelt 978 minta közül 2 cobas® Cdiff teszteredménye volt érvénytelen. Újrateszteléskor a két minta egyikénél érvényes eredmény keletkezett, és a másik eredménye érvénytelen maradt. Így a minták kezdeti érvénytelen cobas® Cdiff teszteredménye erre a mintacsoportra 0,2% volt, újratesztelés után pedig 0,1%.

Hibakódok

A 22. táblázatban ismertetett következő hibakódok jelenhetnek meg az eredményjelentésben a teszteredmények értelmezése és számítási eljárása alapján.

22. táblázat: Hibakódok és meghatározásuk

Hibakód	Minta	Negatív kontroll (Lot hozzáadása)	Pozitív kontroll (Lot hozzáadása)
r0	Negatív vagy érvénytelen IC. Újra	Negatív vagy érvénytelen IC. Újra	Negatív vagy érvénytelen IC. Újra
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff-pozitív, de negatív vagy érvénytelen IC. Újra	N/A	Cdiff és/vagy negatív vagy érvénytelen IC. Újra
FP	N/A	Cdiff-pozitív vagy érvénytelen. Újra	N/A
g0	N/A	N/A	Negatív vagy érvénytelen Cdiff. Újra
g1			
g3			
g4			
x5	Túl alacsony mintatérfogat	Túl alacsony mintatérfogat	Túl alacsony mintatérfogat

Megjegyzés*: Az r3 hibakód nem jelenik meg a pozitív és a negatív kontrollnál.

Megjegyzés**: Az x4 hibakód nem jelenik meg a pozitív kontrollnál (Lot hozzáadása). Pozitív kontrollnál x4 hibakód csak akkor keletkezik, amikor a hiba a pozitív kontrollok további futtatásai közbe fordul elő a „Lot hozzáadása” eljárás után (lásd „További kontrollfuttatások”).

A hibakódokkal kapcsolatos további információkat lásd a **cobas® Liat®** rendszer felhasználói útmutató legfrissebb kiadásában.

További információk

A teszt legfontosabb tulajdonságai

Mintatípus	Nem formált székletminták
Szükséges mintamennyiség	4,3 ml cobas ® PCR Media van minden cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kitben, és legalább 0,2 ml szükséges a cobas ® Cdiff teszthez.
A teszt időtartama	Az eredmények a minták rendszerbe helyezése után ~20 perccel készülnek el.
Analitikai érzékenység	Az izolátumtól függően 45–90 CFU/kenet
Specifitás	Nem keletkezett keresztreakció 149 olyan organizmusnál, amely vagy szoros rokonságban áll a targettel, vagy jellemzően megtalálható székletmintában
Inkluzivitás	Minden ismert <i>C. difficile</i> (0~XXXI toxintípusok, kivéve a XI nem toxikus toxintípust), beleértve a BI/NAP1/027 hipervirulens, járványokozó törzset

Szimbólumok

A Roche PCR diagnosztikai termékek jelölésére a következő szimbólumokat használják.

23. táblázat: A Roche PCR diagnosztikai termékek címkéjén használt szimbólumok

 Age/DOB	Kor vagy születési dátum		Nem a beteg közelében használható teszteszköz	 QS IU/PCR	QS-IU-k száma PCR-reakciónként; használja a QS-IU-k (nemzetközi egységek) reakciónkénti számát az eredmények számításához.
 SW	Segédsoftver		Nem öntesztelő eszköz	 SN	Sorozatszám
 Assigned Range [copies/mL]	Megadott tartomány (kópia/ml)		Forgalmazó (Megjegyzés: Az alkalmazandó ország/régió a szimbólum alatt jelölhető meg)	 Site	Hely
 Assigned Range [IU/mL]	Megadott tartomány (IU/ml)		Ne használja újra	 Procedure Standard	Szokásos eljárás
 EC REP	Meghatalmazott képviselő az Európai Közösségben		Nő	 STERILE EO	Etilén-oxiddal sterilizálva
 BARCODE	Vonalkód-adatlap		Csak IVD teljesítmény értékelésre		Sötétben tárolandó
 LOT	Mintacsoportkód	 GTIN	Globális kereskedelmi cikkszám		Hőmérsékletkorlát
	Biológiai veszély		Importőr	 TDF	Vizsgálatdefiníciós fájl
 REF	Katalógusszám	 IVD	<i>In vitro</i> diagnosztikai felhasználásra		Felfelé nézzen
	CE megfelelési jelzés: ez az eszköz megfelel az <i>in vitro</i> diagnosztikai felhasználású orvostechnikai eszközök CE jelölésére vonatkozó előírásoknak	 LLR	Megadott tartomány alsó határa	 Procedure UltraSensitive	Ultraérzékeny eljárás
 Collect Date	Adatgyűjtés		Férfi	 UDI	Egyedi eszközazonosítás
	Olvassa el a használati utasítást		Gyártó	 ULR	Megadott tartomány felső határa
	Tartalma <n> vizsgálathoz elegendő	 CONTROL -	Negatív kontroll	 Urine Fill Line	Eddig töltendő vizelettel
 CONTENT	A készlet tartalma		Nem steril	 Rx Only	Csak az USA-ban: Az USA szövetségi törvényei értelmében az eszköz csak orvos részére vagy rendelvényére adható ki.
 CONTROL	Kontroll		Beteg neve		Lejárat dátuma
	Gyártás napja		Beteg száma		
	Beteg közelében használható teszteszköz		Itt válassza le		
	Öntesztelő eszköz	 CONTROL +	Pozitív kontroll		
		 QS copies / PCR	QS-kópiák száma PCR-reakciónként; használja a QS-kópiák reakciónkénti számát az eredmények számításához.		

Technikai segítségnyújtás

Technikai segítségnyújtásért (segítségért) forduljon a helyi kirendeltséghez:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Gyártó és importőr

24. táblázat: Gyártó és importőr



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876, USA
www.roche.com

Készült az USA-ban



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Védjegyek és szabadalmak

Lásd: <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Szerzői jogok

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Hivatkozások

1. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing Clostridia. *Am J Vet Res.* 1978;39(9):1525-1530.
2. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet.* 1978;1(8073):1063-1066.
3. Leffler D.A., Lamont J.T. Clostridium difficile Infection. *N Engl J Med* 2015; 372:1539-1548.
4. Bartlett J. G. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346(5):334-9.
5. Vindigni S. M, Surawicz C. M. C. difficile Infection: Changing Epidemiology and Management Paradigms. *Clinical and Translational Gastroenterology.* 2015; 6, e99; doi:10.1038/ctg.2015.24.
6. Hensgens M. P., Keessen E. C., Squire M. M., Riley T. V., Koene M. G., de Boer E. Clostridium difficile infection in the community: a zoonotic disease? *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(7):635-45.
7. Kelly C. P., LaMont J. T. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40.
8. Wolfhagen M. J., Torensma R., Fluit A. C., J Verhoef. Toxins A and B of Clostridium difficile. *FEMS Microbiol Rev.* 1994;13(1):59-64.
9. Johnson S., Sambol S. P., Brazier J. S., Delmee M., Avesani V., Merrigan M. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile variants. *J Clin Microbiol.* 2003;41(4):1543-7.
10. Brecher S. M., Novak-Weekley S. M., E Nagy. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infections: there is light at the end of the colon. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2013;57(8):1175-81.
11. Surawicz C. M., Brandt L. J., Binion D. G., Ananthakrishnan A. N., Curry S. R., H Gilligan P. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *The American journal of gastroenterology.* 2013;108(4):478-98; quiz 99.
12. Curry SR. Clostridium difficile. *Clinics in Laboratory Medicine.* June 2017; 37(2):341-6.
13. Sloan L. M., Duresko B. J., Gustafson D. R., Rosenblatt J. E. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):1996-2001.
14. Deshpande A., Pasupuleti V., Rolston D. D., Jain A., Deshpande N., Pant C. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of Clostridium difficile in the stool samples of patients with suspected Clostridium difficile Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;53(7):e81-90.
15. Kufelnicka A. M., J Kirn T. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis.* 2011;52(12):1451-7.
16. Tenover F. C., Baron E. J., Peterson L. R., H Persing D. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diagn.* 2011;13(6):573-82.
17. Peterson L. R., Mehta M. S., Patel P. A., Hacek D. M., Harazin M., Nagwekar P. Laboratory testing for Clostridium difficile infection: light at the end of the tunnel. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(3):372-80.

18. Monaghan T., Boswell T., Mahida Y. Recent advances in Clostridium difficile-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-60.
19. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.
20. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentumverzió

Dokumentum verzióinformációi	
Doc Rev. 5.0 04/2024	Az IVDR követelményeinek megfelelő módosítások. Referenciák javítva és frissítve a cobas® Liat® analizátor szoftver 3.3 verziójának megfelelően. A veszélyekről szóló tájékoztatót frissítettük. Új, az alkalmazási területre vonatkozó információ. A 18. táblázat frissítése: koncentráció mértékegységei hozzáadva, többször szereplő információk eltávolítva. Az Inkluzivitás rövid leírása frissítve a <i>C. difficile</i> genotípusainak kimutatásával. Javított elírások, valamint általános tisztázó javítások. A harmonizált szimbólumok oldala frissítve. A védjegyekre és szabadalmakra vonatkozó rész és a hivatkozás frissítve. Új információk: a cobas® Liat® átvivőpipetta-csomagok leírása és használata (12 pipetta/csomag, katalógusszám 09329676001). Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.
Doc Rev. 6.0 07/2024	A cobas® Cdiff veszélyeiről szóló információk frissítve. A cobas® márka jelzése frissítve. A harmonizált szimbólumok oldala frissítve. Az illetékes hatóságra vonatkozó állítás frissítve. Az „Rx Only” szimbólum lekerült az első oldalról. Esetleges kérdésével forduljon a Roche helyi képviselőjéhez.