

Pro použití se systémem BD MAX™ System

ÚČEL POUŽITÍ

Stanovení BD MAX™ Cdiff prováděné na systému BD MAX™ System je automatizovaný diagnostický test in vitro pro přímou kvalitativní detekci genu pro toxin B bacilu *Clostridioides difficile* (*tcdB*) ve vzorcích tekuté nebo měkké stolice pacientů s podezřením na infekci *Clostridioides difficile* (CDI). Tento test prováděný přímo na vzorku využívá polymerázové řetězové reakce (PCR) v reálném čase k amplifikaci DNA genu pro toxin B bakterie *Clostridioides difficile* a pomocí cílové specifických fluorogenních hybridizačních sond zajišťuje detekci amplifikované DNA. Stanovení Cdiff BD MAX™ napomáhá při diagnostice CDI.

SHRNUTÍ A VYSVĚTLENÍ POSTUPU

Clostridioides difficile (dříve *Clostridium difficile*²²) je anaerobní grampozitivní bacil, který je hlavním původcem průjmového onemocnění spojeného s podáváním antibiotik a pseudomembranózní kolitidy ve zdravotnických zařízeních.^{1,2} Frekvence výskytu *Clostridioides difficile* infection (CDI) roste a velmi závažné případy se objevují častěji.^{3,4,5} Příznaky onemocnění CDI se pohybují od lehkého průjmu k velmi závažné kolitidě, a dokonce k perforaci střeva a úmrtí. Nejběžnější rizikový faktor je užívání antibiotik.⁶

Diagnóza infekce bakterií *Clostridioides difficile* se zakládá na klinických příznacích, jako je průjem, a na laboratorních nebo patologických testech. Laboratorní diagnostika toxigenních *Clostridioides difficile* zahrnuje anaerobní kultivaci následovanou detekcí toxinu nebo detekcí toxinových genů nebo enzymů nalezených ve stolici.⁷ Zdá se, že pro rozvoj CDI je nezbytný toxin B.⁸ Testování cytotoxicity na tkáňových kulturách prováděné přímo na stolici nebo na izolovaném kmenu *Clostridioides difficile* je pracné a časově náročné a výsledky nelze získat dříve než za 24 až 96 hodin. Enzymová imunoanalýza (EIA), používaná pro detekci toxinů A a B a glutamátdehydrogenázy (GDH), enzymu, který se nachází ve všech kmenech *Clostridioides difficile*, se v současnosti používá ve většině klinických laboratořích, protože nabízí výsledky tentýž den, je snadno proveditelná a relativně levná. Citlivost je však nízká, zvláště u enzymových imunoanalýz toxinů, což může způsobit přehlédnutí pozitivních výsledků.⁷

V poslední době byly vyvinuty metody pro detekci toxinu A a/nebo toxinu B založené na principu PCR, které jsou ve srovnání s testy cytotoxicity a imunoanalýzami velmi citlivé a vysoce specifické.⁹ Tyto testy navíc trvají méně než 3 hodiny. Tyto vlastnosti mohou přispět k rychlé cílené léčbě pacientů s CDI, a zlepšit tím výsledky léčby pro pacienta, zkrátit dobu rekonvalescence a zdokonalit postupy pro zvládání infekcí.

ZÁSADY POSTUPU

Vzorky tekuté nebo měkké stolice jsou odebrány a přepraveny do laboratoře. Při testování se jednorázová 10μl očkovací klička namočí do vzorku stolice a vzorek se rozptýlí do zkumavky BD MAX™ Cdiff (zkumavka se vzorkovým pufrům Cdiff BD MAX). Zkumavka se vzorkovým pufrům je uzavřena víčkem se septem a promíchána vortexem. Vytvoří se seznam úkolů a do systému BD MAX™ System se vloží zkumavka se vzorkovým pufrům, modulární jednotka s činidly BD MAX™ Cdiff Unitized Reagent Strip a kazeta BD PCR Cartridge. Systém BD MAX™ System provádí automaticky přípravu vzorku včetně lýzy cílového organismu, extrakce a koncentrace DNA, rehydrataci činidel a amplifikaci a detekci cílové nukleové kyseliny pomocí PCR v reálném čase. Systém BD MAX™ System automaticky interpretuje výsledky. Součástí stanovení je také kontrola zpracování vzorku, která je přítomna v extrakční zkumavce. Kontrola zpracování vzorku slouží k ověřování postupu extrakce DNA, postupu tepelného cyklování, kvality činidel a přítomnosti inhibitorů.

Po enzymatické lýze buněk se uvolněné nukleové kyseliny zachytí na magnetických kuličkách. Kuličky s navázanými nukleovými kyselinami jsou promyty promývacím pufrům a nukleové kyseliny jsou uvolněny působením tepla a elučního pufru. Eluovaná DNA je neutralizována neutralizačním pufrům a přenesena do směsi Master Mix, kde rehydratuje činidla PCR. Po rekonstituování roztoku systém BD MAX™ System nadávkuje daný objem roztoku s nukleovými kyselinami, připraveného pro PCR, do kazety BD PCR Cartridge. Systém před zahájením PCR uzavře mikroskopické uzávěry v kazetě BD PCR Cartridge obsahující amplifikační směs, a tak zabrání vypařování a kontaminaci.

Amplifikované cílové sekvence DNA jsou detekovány pomocí hydrolyzačních sond (TaqMan®), které jsou na jednom konci označeny fluorescenčním barvivem zářiče (fluoroforem) a na druhém konci zhášečem. Sonden označené rozdílnými fluorofory se použijí k detekci ampliconů *tcdB* a ampliconů kontroly zpracování vzorků ve dvou různých optických kanálech systému BD MAX™ System. Když jsou sondy v nativním stavu, fluorescence fluoroforu je zhášena jeho polohou blízko ke zhášeči. V přítomnosti cílové sekvence DNA však sondy hybridizují s komplementárními sekvencemi a jsou hydrolyzovány 5'-3' exonukleázovou aktivitou DNA polymerázy, která provádí syntézu nascentního řetězce podél templátu DNA. Tím je fluorofor separován od molekul zhášeče a dojde k emitování fluorescence. Množství fluorescence detekované ve dvou optických kanálech použitých při stanovení BD MAX™ Cdiff je přímo úměrné množství odpovídající hydrolyzované sondy. Systém BD MAX™ System monitoruje tyto signály při každém cyklu PCR a po interpretaci dat na konci programu poskytne konečný výsledek.

ČINIDLA A MATERIÁL

Dodávané materiály

Katalogové číslo	Obsah	Množství
442555	BD MAX™ Cdiff Master Mix (A3) Suchá směs Master Mix PCR obsahující molekulární sondu (0,002 % w/v) a primery (0,003 % w/v) specifické pro <i>tcdB</i> , kontrolu zpracování vzorku a enzym PCR (2,7 E – 15 % w/v).	24 testů (2 × 12 zkumavek)
	BD MAX™ Cdiff Strips Modulární jednotky s činidly obsahující promývací pufr (0,7 ml), eluční pufr (0,7 ml) a neutralizační pufr s činidly 0,02 % v/v Tween® 20 (0,7 ml) a jednorázové špičky na pipety pro zpracování vzorku a extrakci DNA. Činidla obsahující komponenty pufrů, MgCl ₂ při přibližně 6 mM, a detergenty.	24 testů
	BD MAX™ Cdiff Extraction Tube (A4) Lyofilizované pelety obsahující magnetické kuličky (2,7 % w/v), s afinitou k DNA, achromopeptidázu (0,4 % w/v) a kontrolu zpracování vzorku.	24 testů (2 × 12 zkumavek)
	BD MAX™ Cdiff Sample Buffer Tube (s činidlem X-100 1 % v/v Triton®)	24 testů (2 × 12 zkumavek)
	Víčka se septem	25

Potřebné vybavení a materiál, které nejsou součástí dodávky

- BD PCR Cartridges (katalogové číslo BD 437519)
- VWR Multi-Tube Vortexer (Vortex VWR pro více zkumavek) (VWR, katalogové číslo 58816-115)
- Vortex Genie 2 (VWR, katalogové číslo 58815-234) nebo ekvivalent
- Držák kryogenních lahvíček NALGENE™ (VWR, katalogové číslo 66008-783)
- Jednorázové očkovací kličky (10 µl)
- Jednorázové rukavice bez pudru
- Suché, čisté nádoby pro odběr vzorků tekuté nebo měkké stolice
- Pokud je pro externí kontroly prováděna kultivace: Miska s předredukovaným agarem pro anaeroby (např. miska s Brucella Agarem s 5 % ovčí krve, heminem a vitamínem K₁, BD BBL™ katalogové číslo 221547)

VAROVÁNÍ A BEZPEČNOSTNÍ OPATŘENÍ

Zkumavka se vzorkovým pufr



Varování

H319 Způsobuje vážné podráždění očí.

P264 Po manipulaci důkladně omyjte obličej, ruce a jakoukoli odkrytou pokožku. **P280** Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. **P305+P351+P338** PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování. **P337 + P313** Přetrvává-li podráždění očí: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.

Promývací pufr a neutralizační pufr

EUH208 Obsahuje směs (CMIT/MIT (3 : 1) – směs těchto látek: 5-chloro-2-metyl-4-izothiazolin-3-jedna [EC č. 247-500-7] a 2-metyl-4-izothiazolin-3-jedna [EC č. 220-239-6] (3 : 1)). Může vyvolat alergickou reakci. **EUH210** Na vyžádání je k dispozici bezpečnostní list.

Uvolňovací pufr



Nebezpečí

H314 Způsobuje těžké poleptání kůže a poškození očí.

P260 Nevdechujte prach/dým/plyn/mlhu/páry/aerosoly. **P264** Po manipulaci důkladně omyjte obličej, ruce a jakoukoli odkrytou pokožku. **P280** Používejte ochranné rukavice / ochranný oděv / ochranné brýle / obličejový štít. **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. **P363** Kontaminovaný oděv před opětovným použitím vyperte. **P321** Specifické ošetření (viz doplňkové pokyny pro první pomoc na tomto štítku). **P304+P340** PŘI VDECHNUTÍ: Přeneste osobu na čerstvý vzduch a ponechte ji v poloze usnadňující dýchání. **P310** Okamžitě volejte TOXIKOLOGICKÉ INFORMAČNÍ STŘEDISKO nebo lékaře. **P305+P351+P338** PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Několik minut opatrně oplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li nasazeny a pokud je lze snadno vyjmout. Pokračujte ve vyplachování. **P405** Skladujte uzamčené. **P501** Obsah/obal zlikvidujte ve schváleném zařízení v souladu s místními, regionálními, národními a mezinárodními předpisy.

Extrakční zkumavka

H412 Škodlivý pro vodní organismy, s dlouhodobými účinky.

P273 Zabraňte uvolnění do životního prostředí. **P501** Obsah/obal zlikvidujte ve schváleném zařízení v souladu s místními, regionálními, národními a mezinárodními předpisy.

- Stanovení BD MAX™ Cdiff slouží pro diagnostiku in vitro. Pro použití vyškoleným laboratorním personálem.
- Nepoužívejte expirovaná činidla a materiály.
- Nepoužívejte sadu, pokud je štítek, kterým je přelepena vnější krabice, při dodání porušený.
- Nepoužívejte činidla, pokud jsou ochranné sáčky při dodání otevřeny či protrženy.
- Nepoužívejte činidla, pokud v sáčcích s činidly není vysoušeč nebo je jeho balení uvnitř sáčku porušené.
- Nevýjímajte vysoušeč ze sáčků s činidly.
- Po každém použití uzavřete rychle ochranné sáčky s činidly zipem. Před uzavřením ze sáčků odstraňte přebytečný vzduch.
- Chraňte činidla před teplem a vlhkostí. Dlouhodobý kontakt s vlhkým prostředím může negativně ovlivnit funkčnost produktu.
- Nepoužívejte činidla, pokud je fólie protržena či poškozena.
- Nemíchejte činidla z různých sáčků, sad a/nebo šarží.
- Nezaměňujte uzávěry ani je znovu nepoužívejte, protože může dojít ke kontaminaci a zkeslení výsledků testu.
- Zkontrolujte správné naplnění kapalin v modulárních jednotkách s činidly (ujistěte se, že kapaliny jsou na dně zkumavek) (viz obrázek 1).
- Zkontrolujte, že v modulárních jednotkách s činidly se nacházejí všechny pipetové špičky (viz obrázek 1).
- S roztoky chemikálií pracujte opatrně, aby nedošlo ke změně čitelnosti čárového kódu na zkumavce se směsí Master Mix nebo extrakční zkumavce.
- Nezbytným předpokladem správné účinnosti tohoto stanovení je správná laboratorní technika. Vzhledem k vysoké analytické citlivosti testu je nutno velmi pečlivě zachovávat čistotu všech materiálů a činidel.
- V případě, že se v laboratoři provádějí jiné testy PCR, je nutno standardním laboratorním způsobem zajistit, aby nedošlo ke kontaminaci soupravy stanovení BD MAX™ Cdiff, případných dalších činidel používaných k testování ani systému BD MAX™. Vždy zamezte veškeré kontaminaci činidel mikroby a deoxyribonukleázou (DNázou). Před manipulací s činidly a kazetami musí být vyměněny rukavice.
- Kazetu PCR BD po použití nerozlamujte, aby nedošlo ke kontaminaci amplikony z prostředí. Uzávěry na kazetách BD PCR slouží k prevenci kontaminace.
- Laboratoř musí pravidelně monitorovat prostředí, aby se minimalizovalo riziko křížové kontaminace.
- Provedení stanovení BD MAX™ Cdiff bez dodržení doporučeného času a teplotního rozmezí pro přepravu a skladování vzorků může vést k neplatným výsledkům. Analýzy, které se neprovedou v uvedeném časovém rozmezí, je třeba opakovat.
- Na základě doporučení či požadavků místních, celostátních a/nebo federálních předpisů či požadavků akreditačních organizací může být potřeba testovat další kontroly.
- Se vzorky vždy zacházejte jako s infekčními a v souladu s bezpečnostními postupy laboratoře, jaké jsou například popsány v publikacích CLSI Document M29¹⁰ a Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories.¹¹
- Při manipulaci se všemi činidly používejte ochranný oděv a jednorázové rukavice.
- Po provedení testu si pečlivě umyjte ruce.
- Nepipetujte ústy.
- V oblasti manipulace se vzorky a činidly ze sady nekuřte, nepijte, nežvýkejte ani nejezte.
- Shromážděte a zlikvidujte všechna použitá i nepoužitá činidla a veškeré další potenciálně infekční materiály dle postupů pro biologicky nebezpečný či potenciálně biologicky nebezpečný odpad. Je povinností každé laboratoře manipulovat s pevným a kapalným odpadem dle jeho povahy a stupně nebezpečnosti a příslušným způsobem jej zpracovat a zlikvidovat (nebo jej nechat zpracovat a zlikvidovat) v souladu s platnými předpisy. Na místech, kde je to zakázáno, nevylévejte kapalný odpad do kanalizace.
- Další varování, bezpečnostní opatření a postupy naleznete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™ System.¹²

SKLADOVÁNÍ A STABILITA

Během přepravy je třeba odebrané vzorky uchovávat při teplotě 2–25 °C Chraňte před mrazem a vysokými teplotami.

Vzorky lze před testováním skladovat až 48 hodin při teplotě 2–25 °C nebo až 120 hodin (5 dní) při teplotě 2–8 °C.

Komponenty sady stanovení BD MAX™ Cdiff jsou při teplotě 2–25 °C stabilní do uplynutí uvedeného data expirace. Nepoužívejte expirované komponenty.

POZNÁMKA: K datu expirace uvedenému na štítku produktu budou činidla považována systémem BD MAX™ System za nepoužitelná.

Zkumavky se směsí BD MAX™ Cdiff Master Mix a extrakční zkumavky jsou dodávány v uzavřených sáčcích. Po otevření sáčky ihned uzavřete. Chraňte tím výrobky před vlhkostí. Zkumavky s činidly jsou po počátečním otevření a opětovném uzavření v sáčku stabilní po dobu až 31 dnů při teplotě 2–25 °C.

NÁVOD K POUŽITÍ

Odběr a přeprava vzorků

Abyste získali kvalitní vzorek, musíte pečlivě dodržovat postup odběru. Vzorky tekuté nebo měkké stolice jsou odebrány do suché čisté nádoby následujícím postupem:

1. Přemístěte tekutou nebo měkkou stolicí (ale ne moč) do nádoby. Zabraňte smísení toaletního papíru, vody nebo mýdla se vzorkem.
2. Označte nádobu.
3. Zašlete nádobu do laboratoře podle standardního postupu nemocnice (viz bod „Skladování a stabilita“).

Příprava vzorku

POZNÁMKA: Pro testování každého vzorku a externí kontroly je třeba jedna (1) vzorková zkumavka s pufrem, jedno (1) víčko se septem, jedna (1) zkumavka se směsí Master Mix (A3), jedna (1) extrakční zkumavka (A4) a jedna (1) modulární jednotka s činidly. Vyjměte potřebný počet produktů z ochranného sáčku nebo krabice. Z otevřených sáčků s extrakčními zkumavkami nebo zkumavkami se směsí Master Mix před uzavřením odstraňte přebytečný vzduch a poté je uzavřete zipem.

1. Označte zkumavku se vzorkovým pufrem (průhledný uzávěr) příslušnou identifikací vzorku a dbejte na to, abyste nezakryli, nepřepsali ani nepřelepili čárový kód na zkumavce se vzorkovým pufrem.
2. Promíchejte vzorek vortexem 15 sekund při vysoké rychlosti a namočte 10µl očkovací kličku do kapaliny nebo měkké stolice pro testování. U vzorků měkké stolice odstraňte přebytečnou stolicí na vnější straně kličky tak, aby bylo získáno přibližně 10 µl.
3. Sejměte víčko ze zkumavky se vzorkovým pufrem a ponořte kličku do kapaliny. Otáčením tyčinkou očkovací kličky mezi prsty uvolníte vzorek ve zkumavce.
4. Těsně uzavřete zkumavku se vzorkovým pufrem pomocí víčka se septem.
5. Vložte zkumavku se vzorkovým pufrem do držáku kryogenních lahvíček NALGENE®.
6. Opakujte kroky 1 až 5 při přípravě dalších vzorků a pak pokračujte ihned krokem 7.
7. Všechny vzorky současně promíchejte vortexem pro více zkumavek při maximální rychlosti po dobu jedné (1) minuty. Stanovení BD MAX™ Cdiff musí být provedeno ihned po kroku promíchání.

Provoz systému BD MAX™ System

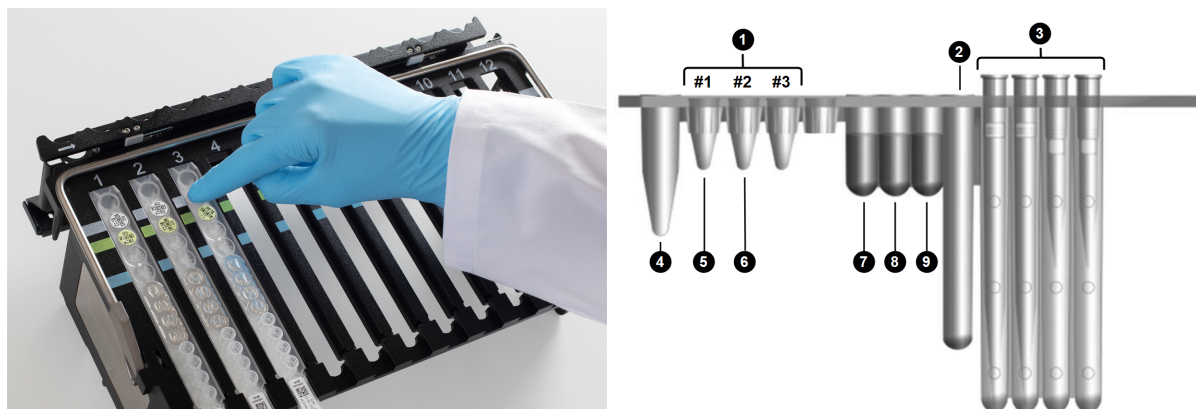
POZNÁMKA: Podrobné pokyny naleznete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™ System¹² (část Provoz).

POZNÁMKA: Testování stanovení BD MAX™ Cdiff musí být provedeno ihned po výše uvedeném kroku vortexování (viz část Příprava vzorku, krok 7). Pokud je nutné testování provést znovu, vzorek před tím znovu promíchejte.

1. Zapněte napájení systému BD MAX™ System (pokud to již nebylo provedeno) a přihlaste se vložением hodnot <user name> (Uživatelské jméno) a <password> (Heslo).
2. Před manipulací s činidly a kazetami musí být vyměněny rukavice.
3. Ze sady BD MAX™ Cdiff vyjměte potřebný počet modulárních jednotek s činidly. Každou modulární jednotkou s činidly lehce klepněte o tvrdý povrch tak, aby se všechny kapaliny držely na dně zkumavky.
4. Vyjměte potřebný počet extrakčních zkumavek a zkumavek se směsí Master Mix z ochranných sáčků. Odstraňte přebytečný vzduch a váčky uzavřete zipem.
5. Pro každý testovaný vzorek umístěte jednu (1) modulární jednotku s činidly do stojanu systému BD MAX™ System Rack. Začněte v poloze 1 stojanu A.
6. Zatlačte jednu (1) extrakční zkumavku (s bílou fólií) do každé modulární jednotky s činidly v poloze 1 podle obrázku 1.

- Zatlačte jednu (1) zkumavku se směsí Master Mix (se zelenou fólií) do každé modulární jednotky s činidly v poloze 2 podle obrázku 1.

Obrázek 1: Zatlačení extrakčních zkumavek BD MAX™ Cdiff Extraction Tubes a zkumavek se směsí Master Mix do modulárních jednotek s činidly



Modulární jednotka s činidly: (1) Zatlačovací zkumavky (2) Odpadní zásobník (3) Špičky na pipety (4) Lyzační zkumavka (5) Extrakční zkumavka (6) Cdiff Master Mix (7) Promývací pufr (8) Uvolňovací pufr (9) Neutralizační pufr

- Klikněte na ikonu Run (Spustit) a pak na Inventory (Inventář panelů). Zadejte číslo šarže soupravy pro stanovení BD MAX™ Cdiff (pro možnost sledování šarže) načtením čárového kódu skenerem nebo ručně.

POZNÁMKA: Při každém použití nové šarže zopakujte krok 8.

- Přejděte na obrazovku Worklist (Seznam úkolů). Z rozbalovací nabídky vyberte možnost <BD MAX Cdiff 56>.
- Do seznamu úkolů zadejte ID zkumavky se vzorkovým pufrům, ID pacienta a přístupové číslo (je-li to možné) načtením čárového kódu skenerem nebo ručně.
- Z rozbalovací nabídky vyberte správné číslo šarže sady (na vnější krabici).
- U všech zbývajících zkumavek se vzorkovým pufrům zopakujte kroky 9 až 11.
- Zkumavky se vzorkovým pufrům vložte do stojanu systému BD MAX™ System Rack tak, aby rozložení odpovídalo modulárním jednotkám s činidly zavedenými v krocích 5 až 7.

POZNÁMKA: Umístěte zkumavky se vzorkovým pufrům do stojanu tak, že štítky s ID čárovým kódem směřují ven (pro snazší skenování zkumavek se vzorkovým pufrům při přihlašování vzorku).

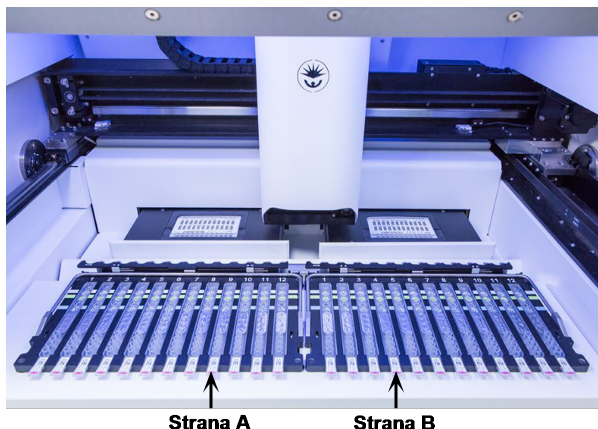
- Do systému BD MAX™ System umístěte požadovaný počet zásobních kazet BD PCR Cartridges (viz obrázek 2).
 - Každá zásobní vložka BD PCR Cartridge pojme až 24 vzorků.
 - Systém BD MAX™ System automaticky vybere polohu a řadu na kazetě BD PCR Cartridge pro každou operaci. Kazety BD PCR Cartridge lze použít opakovaně, dokud se nevyužijí všechny dráhy.
 - Pro zefektivnění využití kazet BD PCR Cartridges vyberte v režimu 2000 Sample Mode (Režim 2 000 vzorků) na kartě Worklist (Seznam úkolů) možnost Run Wizard (Průvodce zpracováním) a určete přidělení drah.
 - Další informace naleznete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™ System.¹²

Obrázek 2: Vložení kazet BD PCR Cartridges



15. Vložte stojan (stojany) do systému BD MAX™ System (viz obrázek 3).

Obrázek 3: Vložení stojanů do systému BD MAX™ System



16. Zavřete víko systému BD MAX™ System a kliknutím na tlačítko <Start> spustíte zpracování vzorků.
17. Po skončení zpracování ihned zkontrolujte výsledky nebo uchovejte zkumavky se vzorkovým pufrem při teplotě 2–8 °C po dobu až 120 hodin (5 dnů) NEBO při teplotě 25 ± 2 °C po dobu až 5 hodin, dokud nezkontrolujete výsledky.

POZNÁMKA: Pokud bylo při zpracování poškozeno víčko se septem, vyměňte je před uložením vzorku za nové.

POZNÁMKA: Připravené zkumavky se vzorkovým pufrem BD MAX™ Cdiff Sample Buffer Tubes lze skladovat při teplotě 2–8 °C po dobu maximálně 120 hodin (5 dní) NEBO při teplotě 25 ± 2 °C po dobu maximálně 5 hodin od přidání vzorku do zkumavky se vzorkovým pufrem. Při obdržení neurčitěho (IND), nejednoznačného (UNR) nebo neúplného (INC) výsledku anebo při selhání externí kontroly je nutné provést opakovaný test z připravené zkumavky se vzorkovým pufrem v tomto období (viz část „Opakované provedení testu“).

KONTROLA KVALITY

Postupy kontroly kvality slouží k ověřování účinnosti stanovení. Laboratoře musejí zavést počet, typ a četnost testování kontrolních materiálů podle doporučení či požadavků místních, regionálních a/nebo národních předpisů či požadavků akreditačních organizací a tímto způsobem sledovat účinnost celého analytického postupu. Základní informace o kontrole kvality najdete v publikacích CLSI MM3 a EP12.^{13,14}

1. Společnost BD nedodává materiál pro externí kontroly. Software systému BD MAX™ System nepoužívá k interpretaci výsledků testování vzorku externí pozitivní ani negativní kontroly. S externími kontrolami zachází, jako by se jednalo o pacientské vzorky. (Viz Tabulka 1 v části Interpretace výsledků, kde najdete informace, jak interpretovat výsledky stanovení externích kontrol.)
2. Do té doby, než je proces v systému BD MAX™ System dostatečně ověřen, je třeba provádět alespoň jednu (1) externí pozitivní kontrolu a jednu (1) externí negativní kontrolu denně pro každou laboratoř. Snížená frekvence testování kontrol musí být v souladu se všemi platnými předpisy.
3. Externí pozitivní kontrola kontroluje zásadní selhání činidla. Externí negativní kontrola slouží k detekci kontaminace činidla či prostředí (nebo přenosu) cílovými nukleovými kyselinami.
4. Doporučují se různé typy externích kontrol, takže si uživatel může vybrat ty, které nejlépe vyhovují programu kontroly kvality v dané laboratoři.
 - a. Externí negativní kontrola: Komerčně dostupný kontrolní materiál (např. netoxigenní kmen *Clostridioides difficile* [ATCC® 700057]) nebo dříve charakterizovaný vzorek, který je netoxigenní nebo neobsahuje toxigenní *Clostridioides difficile*. Společnost BD doporučuje připravovat externí negativní kontrolu před externí pozitivní kontrolou, aby se zamezilo riziku potenciální kontaminace při přípravě kontrol.
 - b. Externí pozitivní kontrola: Komerčně dostupný kontrolní materiál (např. kmen *Clostridioides difficile* nesoucí gen *tcdB* (ATCC® 43255)) nebo dříve charakterizovaný vzorek, u kterého je známá toxigenita či přítomnost toxigenního *Clostridioides difficile*.

Při přípravě suspenze externí kontroly se doporučuje resuspendovat izoláty ve fyziologickém roztoku až do 0,5 jednotky McFarlandova zákalového standardu (~ 1 x 10⁷ CFU/ml). Proveďte sérii ředění fyziologickým roztokem, až získáte finální suspenzi ~ 3,3 x 10⁵ CFU/ml a poté inokulujte přidělenou zkumavku se vzorkovým pufrem bakteriální suspenzí pomocí 10μl kličky. Zpracujte a otestujte jako vzorek (viz části Příprava vzorku a Provoz systému BD MAX™ System).

5. Všechny externí kontroly by měly poskytovat očekávané výsledky (pozitivní pro externí pozitivní kontrolu, negativní pro externí negativní kontrolu), bez přítomnosti chybových externích kontrol (nerozhodné či neurčité výsledky).
6. Externí negativní kontrola, která má pozitivní výsledek, naznačuje problém při manipulaci se vzorkem a/nebo kontaminaci. Prověřte techniku manipulace se vzorky, aby nedocházelo k záměnám a/nebo kontaminaci. Externí pozitivní kontrola, která má negativní výsledek, naznačuje problém při manipulaci se vzorkem nebo jeho přípravě. Prověřte techniku manipulace se vzorky a techniku jejich přípravy.
7. Externí kontrola, která má nerozhodný, neurčitý nebo neúplný výsledek testu, naznačuje selhání činidla nebo systému BD MAX™ System. Zkontrolujte, zda monitor systému BD MAX™ System nezobrazuje chybové zprávy. Vysvětlení varování a chybových

kódů naleznete v části Řešení potíží Uživatelské příručky k systému BD MAX™ System.¹² Pokud problém trvá, použijte činidla z dosud neotevřeného sáčku nebo použijte novou sadu stanovení.

8. Každá extrakční zkumavka obsahuje kontrolu zpracování vzorku, což je plazmid, který obsahuje syntetickou cílovou sekvenci DNA. Kontrola zpracování vzorku se extrahuje, eluuje a amplifikuje společně s DNA přítomnou ve zpracovávaném vzorku, čímž zajistí předvídatelnost stanovení. Kontrola zpracování vzorku ověřuje účinnost zachycení DNA, promytí a eluce během přípravy vzorku a také účinnost amplifikace a detekce DNA při analýze PCR. Pokud kontrola zpracování vzorku nesplní validační kritéria, výsledek vzorku je hlášen jako Unresolved (Nejednoznačné). Případné pozitivní (POS) výsledky stanovení však jsou hlášené a vzorky bez obsahu cílové molekuly budou označeny jako NEG. Nejednoznačný výsledek indikuje inhibici spojenou se vzorkem nebo selhání činidla. Každý vzorek s nejednoznačným výsledkem musí být znovu otestován podle níže uvedeného postupu v části Opakované provedení testu.

INTERPRETACE VÝSLEDKŮ

Výsledky jsou dostupné pod záložkou „Results“ (Výsledky) v okně „Results“ (Výsledky) na monitoru systému BD MAX™ System. Software systému BD MAX™ System automaticky interpretuje výsledky testu. Podle stavu amplifikace cílové sekvence a kontroly zpracování vzorku může být výsledek testu NEG (negativní), POS (pozitivní) nebo UNR (nejednoznačný). Výsledky IND (neurčitý) nebo INC (neúplný) jsou způsobeny selháním systému BD MAX™ System. Výsledky jsou určeny podle následujícího rozhodovacího algoritmu.

Tabulka 1: Interpretace výsledků stanovení BD MAX™ Cdiff

Hlášený výsledek stanovení	Interpretace výsledku ^a
Cdiff POS	Byla detekována DNA genu <i>tcdB</i>
Cdiff NEG	DNA genu <i>tcdB</i> nebyla detekována
Cdiff UNR	Nejednoznačné – bez amplifikace cílové molekuly a kontroly zpracování vzorku, inhibující vzorek nebo selhání činidel
IND	Neurčitý výsledek z důvodu selhání systému BD MAX™ System (s varováním nebo chybovými kódy ^b)
INC	Neúplná operace (s varováním nebo chybovými kódy ^b)

^a Výsledky stanovení BD MAX™ lze použít jako vodítko pro přijímání vhodných bezpečnostních opatření v souladu s programy a praxí instituce.

^b Vysvětlení varování a chybových kódů naleznete v části „Řešení potíží“ uživatelské příručky k systému BD MAX™ System.¹²

Opakované provedení testu

Je k dispozici dostatečný objem pro jedno opakování testu ve zkumavce se vzorkovým pufrům v systému BD MAX™ System. U zkumavek se vzorkovým pufrům uchovávaných při pokojové teplotě musí být test zopakován do 5 hodin po ukončení operace. U zkumavek se vzorkovým pufrům uchovávaných při teplotě 2–8 °C musí být test zopakován do 120 hodin (5 dnů). Pro opakování testu může být použit také zbylý vzorek stolice, a to do 5 dnů, pokud je uchováván při teplotě 2–8 °C, nebo do 48 hodin, pokud je uchováván při teplotě 2–25 °C.

Vzorky k opakovanému testování i nové vzorky lze testovat ve stejném zpracování.

Nerozhodný výsledek

Nejednoznačné výsledky lze obdržet v případě, kdy inhibice související se vzorkem nebo selhání činidla zabrání řádné amplifikaci cílové sekvence nebo kontroly zpracování vzorku. Opakované testování vzorků lze provést z odpovídajících zkumavek se vzorkovým pufrům ve výše uvedeném časovém rozpětí. Promíchávejte vzorek (vzorky) jednu (1) minutu vortexem a začněte částí Provoz systému BD MAX™ System. Pro opakované testování s novou zkumavkou se vzorkovým pufrům lze také ve výše uvedeném časovém rozpětí použít zbývající vzorky stolice. Začněte znovu částí Příprava vzorků.

Neurčitý výsledek

Neurčité výsledky můžete získat v případě, kdy došlo k selhání systému. Opakované testování vzorků lze provést z odpovídajících zkumavek se vzorkovým pufrům ve výše uvedeném časovém rozpětí. Promíchávejte vzorek (vzorky) jednu (1) minutu vortexem a začněte částí Provoz systému BD MAX™ System. Pro opakované testování s novou zkumavkou se vzorkovým pufrům lze také ve výše uvedeném časovém rozpětí použít zbývající vzorky stolice. Začněte znovu částí Příprava vzorků. Vysvětlení varování nebo kódů chyb najdete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™ System¹² (část Řešení potíží).

Neúplný výsledek

Neúplné výsledky můžete získat v případě, kdy příprava vzorku nebo proces PCR nedospěly do očekávaných časových bodů. Opakované testování vzorků lze provést z odpovídajících zkumavek se vzorkovým pufrům ve výše uvedeném povoleném časovém rozpětí. Promíchávejte vzorky jednu (1) minutu vortexem a začněte částí Provoz systému BD MAX™ System. Pro opakované testování s novou zkumavkou se vzorkovým pufrům lze také ve výše uvedeném časovém rozpětí použít zbývající vzorky stolice. Začněte znovu částí Příprava vzorků. Vysvětlení varování nebo kódů chyb najdete v Uživatelské příručce k systému BD MAX™ System¹² (část Řešení potíží).

Selhání externí kontroly

Externí kontroly musí v testech poskytovat očekávané výsledky. Pokud je třeba zopakovat testování vzorků kvůli chybnému výsledku externí kontroly, vzorky je nutné nabrat z příslušné zkumavky se vzorkovým pufrům a otestovat spolu s čerstvě připravenými externími kontrolami ve výše uvedeném časovém rozpětí. Promíchávejte vzorky jednu (1) minutu vortexem a začněte částí Provoz systému BD MAX™ System. Pro opakované testování s novou zkumavkou se vzorkovým pufrům lze také ve výše uvedeném časovém rozpětí použít zbývající vzorky stolice. Začněte znovu částí Příprava vzorků.

Kultivace klinických vzorků

Pro identifikaci druhů mikroorganismů přímo ze stolice lze klinické vzorky kultivovat postupy používanými v laboratoři.

OMEZENÍ POSTUPU

- Tento produkt používejte pouze na nekonzervované vzorky tekuté nebo měkké stolice. Specifické vlastnosti účinnosti u jiných klinických vzorků nebyly stanoveny.
- Tento produkt lze používat pouze na systému BD MAX™ System a smí jej používat pouze vyškolený laboratorní personál.
- Chybné výsledky testu mohou být následkem nesprávného odběru, nesprávné manipulace či nesprávného skladování vzorku, technické chyby či záměny vzorků nebo mohou být způsobeny tím, že počet mikroorganismů ve vzorku je pod analytickou citlivostí testu.
- Pozitivní výsledek stanovení BD MAX™ Cdiff nemusí znamenat výskyt životaschopných mikroorganismů. Naznačuje však přítomnost genu *tcdB* a je nepřímým důkazem přítomnosti toxigenního mikroorganismu *Clostridioides difficile*. Stanovení BD MAX™ Cdiff nelze použít pro identifikaci druhu mikroorganismu, protože neobsahuje primery ani sondy specifické pro *Clostridioides difficile*.
- Jako u všech diagnostických testů in vitro, založených na PCR, je i zde možná detekce extrémně nízkých hladin cílové sekvence pod limitem detekce stanovení, ale tyto výsledky nemusejí být reprodukovatelné.
- Klystýr rektální suspenze mesalaminu a Gynol II mohou způsobit mírnou inhibici stanovení BD MAX™ Cdiff (podrobnosti najdete v části Interferující látky).
- Přípravky Tums a tekutý Maalox mohou způsobit inhibici stanovení BD MAX™ Cdiff (podrobnosti najdete v části „Interferující látky“).
- Falešně negativní výsledky mohou vzniknout při ztrátě nukleové kyseliny způsobené nesprávným odběrem, přepravou nebo uchováváním vzorků anebo při nedostatečné lýze bakteriálních buněk. Přidání kontroly zpracování vzorku do testu pomáhá identifikovat vzorky, které obsahují inhibitory amplifikace PCR. Kontrola zpracování vzorku nenaznačí, zda ke ztrátě nukleové kyseliny došlo nesprávným odběrem, přepravou nebo uchováváním vzorků anebo byla nedostatečná lýza bakteriálních buněk.
- Výsledky stanovení BD MAX™ Cdiff někdy mohou být nejednoznačné z důvodu neplatného výsledku kontroly zpracování vzorku nebo neurčitě či neúplně kvůli selhání systému. V takovém případě vyžadují opakování testu, což může způsobit zdržení konečných výsledků.
- Mutace či polymorfismus v oblastech vázících primer či sondu mohou zkreslit detekci nových či neznámých variant genu *tcdB* *Clostridioides difficile* s následkem falešně negativních výsledků stanovení BD MAX™ Cdiff.
- Toxigenní varianty *Clostridioides difficile* bez genu *tcdB* nebo s nefunkčním proteinem toxinu B jsou velmi vzácné.¹⁵⁻¹⁸ Cílem stanovení BD MAX™ Cdiff je gen *tcdB* a není známo, zda by bylo schopné detektovat i variantní kmeny toxin A+ / toxin B-.
- Nadměrné množství stolice může inhibovat stanovení BD MAX™ Cdiff.
- Stejně jako u všech diagnostických testů in vitro jsou pozitivní a negativní prediktivní hodnoty vysoce závislé na prevalenci. Účinnost stanovení BD MAX™ Cdiff se může lišit v závislosti na prevalenci a testované populaci.

SPECIFICKÉ VLASTNOSTI ÚČINNOSTI

Klinické specifické vlastnosti účinnosti stanovení BD MAX™ Cdiff byly zjišťovány v multicentrické prospektivní výzkumné studii. Do studie bylo zapojeno šest (6) výzkumných center. K zařazení do studie musely vzorky pocházet od pacientů s podezřením na infekci *Clostridioides difficile*, u nichž byly diagnostické testy indikovány a objednány. Byl zařazen pouze jeden vzorek měkké nebo tekuté stolice na pacienta.

Srovnávací referenční metoda sestávala z toxigenní kultivace, která je definována jako anaerobní kultivace za účelem izolace kmene *Clostridioides difficile*, a pokud je kmen přítomen, následného vyhodnocení toxigenicity izolátu testem cytotoxicity na tkáňové kultuře. Anaerobní kultivace byla provedena na miskách s modifikovaným cykloserin-cefoxitin-fruktózovým agarem. Hodnocení cytotoxicity bylo provedeno u kolonií, které byly morfologicky podobné *Clostridioides difficile* a potvrzené Gramovým barvením, vykazovaly charakteristický zápach hnoje, byly pozitivní v testu Pro-disk (L-prolin) a netolerovaly aerobní kultivaci na čokoládovém agaru. Toxigenicita byla určena toxinovým/antitoxinovým testem provedeným v tekutém médiu filtrátu vařeného masa a glukózy (CMG) podle doporučení výrobce.

Testem toxigenní kultivace a stanovením BD MAX™ Cdiff prošlo celkem 1 881 vzorků měkké nebo tekuté stolice. Bylo nalezeno 1 628 odpovídajících vzorků a získáno 1 607 průkazných výsledků (Tabulka 2).

Ve srovnání s toxigenní kultivací bylo stanovením BD MAX™ Cdiff identifikováno 96,3 % vzorků pozitivních na toxigenní kmen *Clostridioides difficile* a 92,4 % vzorků negativních na toxigenní kmen *Clostridioides difficile* (Tabulka 3).

Tabulka 2: Výsledky získané pomocí stanovení BD MAX™ Cdiff ve srovnání s toxigenickou kultivací

Všechna centra		Toxigenická kultivace		Celkem
		+	-	
Stanovení BD MAX™ Cdiff	+	158	110	268
	-	6	1 333	1 339
	Celkem	164	1 443	1 607

Tabulka 3: Výsledky získané pomocí stanovení BD MAX™ Cdiff ve srovnání s toxigenickou kultivací

Klinická centra	Prevalence	Citlivost s 95% IS ^a	Specifická s 95% IS ^a
Centrum 1	4,3 % (9/210)	87,5 % (7/8) (52,9 %, 97,8 %)	94,4 % (152/161) (89,7 %, 97 %)
Centrum 2	10,0 % (26/261)	100 % (26/26) (87,1 %, 100 %)	90,6 % (213/235) (86,2 %, 93,7 %)
Centrum 3	8,0 % (28/352)	96 % (24/25) (80,5 %, 99,3 %)	93,9 % (276/294) (90,5 %, 96,1 %)
Centrum 4	3,5 % (17/487)	90,9 % (10/11) (62,3 %, 98,4 %)	90,9 % (279/307) (87,1 %, 93,6 %)
Centrum 5	14,4 % (21/146)	95,2 % (20/21) (77,3 %, 99,2 %)	94,3 % (115/122) (88,6 %, 97,2 %)
Centrum 6	18,3 % (73/399)	97,3 % (71/73) (90,5 %, 99,2 %)	92 % (298/324) (88,5 %, 94,5 %)
Celkově	9,4 % (174/1 855)	96,3 % (158/164) (92,2 %, 98,3 %)	92,4 % (1 333/1 443) (90,9 %, 93,6 %)

^a CI: intervaly spolehlivosti

Ze 1 635 vzorků měkké nebo tekuté stolice, testovaných stanovením BD MAX™ Cdiff, byl počáteční výsledek nejednoznačný u 47 (2,9 %). Třicet čtyři (34) z nich bylo opakováno a 26 mělo jednoznačný výsledek při opakovaném testu. Celkově zbylo po opakování 0,5 % nejednoznačných výsledků.

Analytická citlivost

Analytická citlivost (LoD, Limit of Detection) stanovení BD MAX™ Cdiff byla určena následovně: Simulované pozitivní vzorky byly připraveny namočením očkovací kličky do řady bakteriálních suspenzí *Clostridioides difficile* o různých koncentracích, připravených a kvantifikovaných ze 4 kmenů *Clostridioides difficile* zastupujících 3 toxintypy (0, III, VIII). Obsah každé kličky byl převeden do zkumavky se vzorkovým pufrem, která již obsahovala fekální hmotu negativní pro toxigenní kmen *Clostridioides difficile*. Každý kmen *Clostridioides difficile* byl testován ve 24 replikátech pro každou koncentraci 2 různými pracovníky s použitím 3 různých výrobních šarží stanovení BD MAX™ Cdiff. Analytická citlivost (LoD) definovaná jako nejnižší koncentrace, při které mělo 95 % všech replikátů pozitivní výsledek, byla v rozmezí 125–265 CFU na kličku (Tabulka 4).

Tabulka 4: Limit detekce stanovení BD MAX™ Cdiff

Kmen <i>Clostridioides difficile</i>	Toxintyp	LoD (CFU/klička [95% CI ^a])
ATCC® 43255	0	265 (140, 502)
ATCC® 9689	0	156 (82, 298)
ATCC® BAA-1805	III	205 (102, 412)
ATCC® 43598	VIII	125 (66, 235)

^a CI: interval spolehlivosti

Analytická inkluзивita

Do studie byly zahrnuty různé toxigenní kmeny *Clostridioides difficile* a bylo přihlédnuto ke geografickému původu, toxintypu, epidemiím NAP1/027/BI a časové diverzitě. Bylo testováno šedesát čtyři (64) kmenů zahrnujících 23 toxintypů,¹⁹⁻²¹ které pocházely z 21 zemí, včetně kmenů z veřejných odběrů a řádně charakterizovaných klinických izolátů. Stanovení správně identifikovalo všechny testované toxigenní kmeny *Clostridioides difficile*.

Analytická specifická

Stanovení BD MAX™ Cdiff bylo provedeno na vzorcích obsahujících fylogeneticky příbuzné druhy (jiné než toxigenické *Clostridioides difficile*) a jiné organismy (bakterie, viry), které se pravděpodobně vyskytují ve vzorcích stolice.

- Šest (6) ze 6 kmenů *Clostridioides difficile* neobsahujících gen *tcdB* testovaných při koncentraci $\geq 1 \times 10^8$ CFU/ml poskytlo při stanovení BD MAX™ Cdiff negativní výsledky.
- Třicet (30) ze 30 kmenů jiných než *Clostridioides difficile*, včetně 4 kmenů *Clostridium sordellii*, testovaných při koncentraci $\geq 1 \times 10^8$ CFU/ml, poskytlo negativní výsledky při stanovení BD MAX™ Cdiff.
- Devadesát osm (98) z 98 jiných bakteriálních kmenů, zahrnujících 93 druhů a poddruhů, testovaných při koncentraci $\geq 1 \times 10^8$ CFU/ml (nebo $\sim 1 \times 10^8$ cp/ml genomické DNA nebo 1×10^8 elementárních těles/ml) poskytlo při stanovení BD MAX™ Cdiff negativní výsledky.
- Sedm (7) ze 7 virů testovaných při koncentraci $\geq 1 \times 10^5$ PFU/ml poskytlo negativní výsledky při stanovení BD MAX™ Cdiff.

Interferující látky

Dvacet pět (25) biologických a chemických látek, které se příležitostně používají nebo nacházejí v perianálních a rektálních vzorcích nebo ve vzorcích stolice, bylo vyhodnoceno z hlediska interference se stanovením BD MAX™ Cdiff. Dva (2) organismy (*Escherichia coli* ATCC® 25922 a netoxigenní kmen *Clostridioides difficile* ATCC® 700057) byly rovněž testovány ve vysokých koncentracích kvůli vyhodnocení bakteriální interference. Vzorky negativní pro toxigenní *Clostridioides difficile* a vzorky pozitivní pro toxigenní *Clostridioides difficile* při koncentraci 2–3x LoD byly testovány s nejvyšší koncentrací každé látky pravděpodobně se nacházející ve vzorcích nebo v přítomnosti interferujících organismů (1 x 10⁸ CFU/ml každého kmene). Mezi případně interferující látky patří uhlíčan vápenatý (přípravek Tums) a také hydroxid hořečnatý a hlinitý (tekutý přípravek Maalox). Výsledky neprokázaly žádnou průkaznou interferenci u žádné další testované látky s výjimkou klystýru rektální suspenze mesalaminu a přípravku Gynol II, které oba působily mírnou inhibicí (opoždění osy píku druhé derivace) ve stanovení BD MAX™ Cdiff, avšak předpokládané výsledky stanovení byly přesto obdrženy (viz tabulka 5).

Tabulka 5: Endogenní a komerční exogenní látky testované pomocí stanovení BD MAX™ Cdiff

Obchodní název nebo popis	Výsledek	Obchodní název nebo popis	Výsledek
Nystatin	NI	Pepto Bismol	NI
Hyderm Hydrocortisone (mast)	NI	Ex-Lax	NI
Glycerinové čípky	NI	Metronidazol	NI
Ihle's Paste	NI	Vankomycin	NI
Anusol Plus	NI	Polysporin	NI
Mast Preparation H s přípravkem Bio-Dyne	NI	Naproxen	NI
Major Prep s fenylefrinem	NI	Osobní hygienické utěrky Tucks	NI
Tums	I	Směs triglyceridů (C2 – C10)	NI
Tekutina Maalox	I	Kyselina palmitová	NI
Klystýr rektální suspenze mesalaminu	a	Kyselina stearová	NI
Klystýr minerálního oleje Fleet	NI	Krev	NI
Vaginální antikoncepce Gynol II (obsahující nonoxynol-9)	a	Hlen	NI
Imodium AD	NI	<i>Escherichia coli</i> + netoxigenní <i>Clostridioides difficile</i>	NI

I: Interference se stanovením BD MAX™ Cdiff.

NI: Neexistuje průkazná interference se stanovením BD MAX™ Cdiff.

a Klystýr rektální suspenze mesalaminu a Gynol II (obsahující nonoxynol-9) způsobily mírnou inhibicí (opoždění osy píku druhé derivace) ve stanovení BD MAX™ Cdiff, avšak předpokládané výsledky stanovení byly přesto obdrženy.

Reprodukovatelnost

Panel pro určení reprodukovatelnosti tvořilo 5 následujících kategorií vzorků:

- Středně pozitivní (MP): 2–5 × LoD
- Slabě pozitivní (LP): 1–2 × LoD
- Velmi negativní 1 : 10 (VN1 : 10): 10násobné ředění koncentrace 1 x LoD
- Velmi negativní 1 : 100 (VN1 : 100): 100násobné ředění koncentrace 1 x LoD
- Skutečně negativní (neg.)

Vzorky v každé kategorii byly testovány v triplicátech během 5 různých dnů, kdy každý den 2 technologové testovali 2 panely ve 3 klinických centrech s použitím 1 šarže činidel (mezi centry). Celková procentuální shoda byla 100 % v kategoriích středně pozitivní, slabě pozitivní a skutečně negativní a negativní procentuální shoda 92,2 % v kategorii VN1 : 100 a 50,0 % v kategorii VN1 : 10 (Tabulka 6).

Osa píku druhé derivace (SDPA), interní kritérium použité k určení konečného výsledku stanovení, byla vybrána jako dodatečný prostředek pro hodnocení reprodukovatelnosti výsledků stanovení. Celkové průměrné hodnoty SDPA s komponenty variability (směrodatná odchylka a variační koeficient v %) jsou uvedeny v tabulce 6.

Tabulka 6: Výsledky studie reprodukovatelnosti mezi centry při použití jedné šarže stanovení BD MAX™ Cdiff

Kategorie	CENTRUM						Celková procentuální shoda		Hodnoty SDPA ^a		
	Místo 1 Procentní shoda		Místo 2 Procentní shoda		Místo 3 Procentní shoda				Celkový průměr	SO	% VK
Neg^a	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	100 %	(95 % IS: 95,9 %, 100 %)	28,7	0,30	1,1
HN1 : 100^{a,b}	28/30	93,3 %	25/30	83,3 %	30/30	100 %	92,2 %	(95 % IS: 84,8 %, 96,2 %)	28,8	0,39	1,4
HN1 : 10^{a,b}	17/30	56,7 %	8/30	26,7 %	20/30	66,7 %	50,0 %	(95 % IS: 39,9 %, 60,1 %)	28,8	0,36	1,2
LP	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	100 %	(95 % IS: 95,9 %, 100 %)	32,5	0,77	2,4
MP	30/30	100 %	30/30	100 %	30/30	100 %	100 %	(95 % IS: 95,9 %, 100 %)	31,6	0,82	2,6

^a V kategoriích skutečně negativní a velmi negativní jsou uvedeny hodnoty SDPA pro kontrolu zpracování vzorku. V ostatních kategoriích jsou uvedeny hodnoty SDPA pro toxigenní cílový kmen *Clostridioides difficile*.

^b V kategoriích vysoce negativní byl předpokládaný výsledek stanovení negativní. Proto byla procentuální shoda vypočítána pro negativní výsledky.

Přenos / zkřížená kontaminace

Byla provedena studie zkoumající přenos v rámci téže operace a mezi dvěma operacemi při zpracování vzorků s vysokými počty bakterií toxigenního kmene *Clostridioides difficile* během stanovení BD MAX™. Panel obsahující jednu vysoce pozitivní položku a jednu negativní položku byl použit k přípravě mnoha vzorků. Kmen *Clostridioides difficile* (Tox 0, ATCC® 9689) byl použit pro vysoce pozitivní položku *Clostridioides difficile* panelu (~ 3 x 10⁸ CFU/ml). Negativní člen panelu neobsahoval žádný cílový analyt. Dvanáct (12) replikátů vysoce pozitivního členu panelu a 12 replikátů negativního členu panelu bylo testováno v každém zpracování tak, že se negativní a pozitivní vzorky střídaly. Tři (3) pracovníci provedli 3 po sobě následující operace, celkem tedy 9 operací s 24 vzorky. Nebyly zaznamenány žádné falešně pozitivní výsledky z důvodu kontaminace přenosem.

DOSTUPNOST

Katalogové číslo	Popis
437519	BD PCR Cartridges
442555	BD MAX™ Cdiff

ODKAZY

1. Dubberke ER, Wertheimer AI. Review of current literature on the economic burden of *Clostridium difficile* infection. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2009; *30*:57–66.
2. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *Can Med Assoc J* 2004; *171*:51–8.
3. Redelings MD, Sorvillo F, Mascola L. Increase in *Clostridium difficile*-related mortality rates, United States, 1999–2004. *Emerg Infect Dis* 2007; *13*:1417–9.
4. McDonald LC, Owing M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* Infection in Patients Discharged from US Short-Stay hospitals, 1996–2003. *Emerging Infectious Diseases*, 2006, *12* (3):409–415.
5. Pepin J, Valiquette L, Alary ME. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2004; *171*:466–72.
6. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 1998; *40*:1–15.
7. Peterson LR, Robicsek A. Does my patient have *Clostridium difficile* infection? *Ann Intern Med* 2009; *151*:176–9.
8. Lyras D, O'Connor JR, Howarth PM, et al. Toxin B is essential for virulence of *Clostridium difficile*. *Nature* 2009; *458*:1176–9.
9. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect*. 2001 Aug; *7*(8):411–6.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to the latest edition).
11. Centers for Disease Control and Prevention, and National Institutes of Health. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Chosewood L.C. and Wilson D.E. (eds) (2009). HHS Publication number (CDC) 93–8395.
12. BD MAX™ System User's Manual (refer to the latest version) BD Life Sciences, Sparks, Maryland 21152 USA.
13. Clinical and Laboratory Standards Institute. Molecular Diagnostic Methods for Infectious Diseases; Approved Guideline, document MM03 (refer to the latest edition).
14. Clinical and Laboratory Standards Institute. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; Approved Guideline, Document EP12 (refer to the latest edition).
15. Cohen SH et al. (1998) Isolation of a Toxin B-deficient mutant strain of *Clostridium difficile* in a case of recurrent *C. difficile* –Associated Diarrhea, *Clin. Infect. Dis.* *26*: 410–412.
16. Cohen SH et al. (2000) Analysis of the pathogenicity locus in *Clostridium difficile* strains, *J. Infect. Dis.* *181*: 659–63.
17. MacCannell D. et al. (2006) Characterization of a novel, *tcdB*-deficient, NPA1 variant strain of *Clostridium difficile*, 46th Annual ICAAC, San Francisco, Sept. 2006.
18. McFarland, L.V., et al., Implications of the changing face of *Clostridium difficile* disease for health care practitioners. *Am J Infect Control*, 2007. *35*(4): p. 237–53.
19. Rupnik M. et al. A novel toxinotyping scheme and correlation of toxinotypes with serogroups of *Clostridium difficile* isolates, *J Clin Microbiol*, 1998, *36*(8): 2240–2247.
20. Rupnik M. et al. Comparison of toxinotyping and PCR ribotyping of *Clostridium difficile* strains and description of novel toxinotypes, *Microbiology* 2001, *147*, 439–447.
21. Rupnik M. et al. New types of Toxin A-Negative, Toxin B-Positive strains among *Clostridium difficile* isolates from Asia, *J Clin Microbiol*, 2003, *41*(3): 1118–1125.
22. Lawson P.A. 2016. Reclassification of *Clostridium difficile* as *Clostridioides difficile* (Hall and O'Toole 1935) *Prevot* 1938. *Anaerobe* Aug: *40*:95-9.

Technická podpora: Obráťte se na místního zástupce společnosti BD nebo navštivte bd.com.

Pouze EU: Uživatel musí hlásit veškeré závažné incidenty související s přístrojem výrobci a příslušnému národnímu úřadu.

Mimo EU: V případě jakéhokoli incidentu nebo dotazu v souvislosti s tímto zařízením se obraťte se na místního zástupce společnosti BD.

Historie změn

Revize	Datum	Shrnutí změny
04	2020-05	Tištěný návod k použití byl převeden do elektronického formátu a byly přidány informace o získání dokumentu ze stránky bd.com/e-labeling. Změna názvosloví z <i>Clostridium</i> na <i>Clostridioides</i> . Přidán detail do části Činidla a materiály. Aktualizovány obrázky 1, 2 a 3. Opraven odkaz na část Souhrn systémových chyb na část Řešení potíží. Objasněna část Omezení postupu. Aktualizovány adresy Australského zadavatele a Novozélandského zadavatele. Provedeny typografické úpravy.
05	2021-04	Fotografie na obrázku 1 byla aktualizována tak, aby lépe znázorňovala konfiguraci jednotek tohoto stanovení. Byla změněna zákonná adresa výroby. Byly provedeny aktualizace v rámci formátování.
06	2022-10	Změněn název katalogového čísla 437519 na kazety BD PCR Cartridges. Aktualizovány informace GHS a prohlášení o likvidaci odpadu v části Varování a bezpečnostní opatření. Přidáno vysvětlení očekávaného chování systému v souvislosti s prošlou dobou expirace činidel. Aktualizovány informace o stabilitě otevřeného sáčku reagentie ze 7 dnů na 31 dnů. Aktualizován obrázek 1 a přidán klíč. Aktualizován obrázek 2. Přidána sekce Dostupnost. Aktualizovány informace o technické podpoře. Aktualizován slovníček symbolů. Byly provedeny aktualizace formátování a typografie.

SLOVNÍČEK SYMBOLŮ [L006715(06) 2021-08]


Některé symboly uvedené níže se nemusí vztahovat k tomuto produktu.

Pouze pro zákazníky v USA: Slovníček symbolů naleznete na stránkách bd.com/symbols-glossary

Symbol	Význam
	Výrobce
	Zplnomocněný zástupce v Evropském společenství
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Datum výroby
	Datum spotřeby
	Kód šarže
	Katalogové číslo
	Výrobní číslo
	Sterilní
	Sterilní po použití aseptických technologií
	Způsob sterilizace: etylenoxid
	Způsob sterilizace: záření
	Sterilizováno párou nebo suchým teplem
	Neprovádějte opětovnou sterilizaci
	Nesterilní
	Nepoužívejte, je-li obal poškozen, a prostudujte si <i>návod k použití</i>
	Sterilní cesta kapaliny
	Sterilní cesta kapaliny (etylenoxid)
	Sterilní cesta kapaliny (radiace)
	Křehké, zacházejte opatrně
	Chraňte před slunečním světlem
	Uchovávejte v suchu
	Dolní mez teploty
	Horní mez teploty
	Teplotní omezení
	Omezení vlhkosti
	Biologická rizika
	Nepoužívejte opakovaně
	Prostudujte si <i>návod k použití</i> nebo elektronický <i>návod k použití</i>
	Pozor!
	Obsah nebo přítomnost přírodního latexu
	Lékařské zařízení určené pro diagnostiku in vitro
	Negativní kontrola
	Pozitivní kontrola
	Dostatečné množství pro <n> testů
	Pouze pro vyhodnocení funkční způsobilosti IVD
	Nepyrogeční

Symbol	Význam
	Číslo pacienta
	Touto stranou nahoru
	Nevrštěte
	Systém jedné sterilní bariéry
	Obsah nebo přítomnost ftalátů: kombinace bis (2-etylhexyl) ftalátu (DEHP) a benzyl butyl ftalátu (BBP)
	Sbírejte odděleně Označuje povinný oddělený sběr elektrického a elektronického odpadu.
	Označení CE; značí shodu s evropskými technickými normami
	Prostředek pro vyšetření v blízkosti pacienta nebo přímo u pacienta
	Prostředek pro sebetestování
	Platí pouze v USA: „Upozornění: Federální zákon omezuje prodej tohoto přístroje na prodej licencovaným lékařům nebo na jejich příkaz.“
	Země výroby „CC“ se nahrazuje dvoupísmenným nebo třípísmenným kódem země.
	Čas odběru
	Odstříhnete
	Otevírejte zde
	Datum odběru
	Chraňte před světlem
	Vznik plynného vodíku
	Perforace
	Pořadové číslo startovního panelu
	Pořadové číslo koncového panelu
	Interní pořadové číslo
	Zdravotnický prostředek
	Obsahuje nebezpečné látky
	Ukrajinská značka shody
	Splňuje požadavky normy FCC podle 21 CFR, část 15
	Certifikace produktu UL pro USA a Kanadu
	Jedinečný identifikátor zařízení



 Becton, Dickinson and Company
7 Loveton Circle
Sparks, Maryland 21152 USA



Benex Limited
Pottery Road, Dun Laoghaire
Co. Dublin, Ireland

Australian Sponsor:
Becton Dickinson Pty Ltd.
66 Waterloo Road
Macquarie Park NSW 2113
Australia

New Zealand Sponsor:
Becton Dickinson Limited
14B George Bourke Drive
Mt. Wellington Auckland 1060
New Zealand

BD, the BD Logo, BD BBL, and BD MAX are trademarks of Becton, Dickinson and Company or its affiliates. All other trademarks are the property of their respective owners. © 2022 BD. All rights reserved.

For U.S. patents that may apply, see bd.com/patents.

ATCC® is a trademark of American Type Culture Collection.