

Xpert[®] C. difficile

REF GXCDIFFICILE-CE-10

Инструкция по применению

IVD CE

Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries. All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2011–2023 Cepheid.

See Section 27, Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], логотип Cepheid, GeneXpert[®] и Xpert[®] являются товарными знаками компании Cepheid, зарегистрированными в США и других странах.

Все другие товарные знаки являются собственностью их соответствующих владельцев.

В РЕЗУЛЬТАТЕ ПРИОБРЕТЕНИЯ ДАННОГО ПРОДУКТА ПОКУПАТЕЛЬ ПОЛУЧАЕТ НЕ ПОДЛЕЖАЩЕЕ ПЕРЕДАЧЕ ПРАВО НА ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОДУКТА В СООТВЕТСТВИИ С НАСТОЯЩЕЙ ИНСТРУКЦИЕЙ ПО ПРИМЕНЕНИЮ. НИКАКИЕ ИНЫЕ ПРАВА НЕ ПРЕДОСТАВЛЯЮТСЯ НИ В ЯВНОЙ, НИ В ПОДРАЗУМЕВАЕМОЙ ФОРМЕ ИЛИ В СЛУЧАЕ ЛИШЕНИЯ ПРАВА ВОЗРАЖЕНИЯ. КРОМЕ ТОГО, ДАННЫЙ ПРОДУКТ ПРИОБРЕТАЕТСЯ БЕЗ ПРАВА НА ПЕРЕПРОДАЖУ.

© 2011–2023 Cepheid.

Изменения описаны в разделе Раздел 27 История изменений.

Хpert® *C. difficile*

Для диагностического применения *in vitro*

1 Фирменное название

Хpert® *C. difficile*

2 Наименование медицинского изделия

Тест Хpert *C. difficile*

3 Назначение

Тест Хpert *C. difficile* выполняемый на системе GeneХpert® Instrument Systems компании Cepheid, представляет собой качественный диагностический тест *in-vitro* для быстрого определения и дифференциации токсина В и бинарного токсина в подходящих образцах стула, взятых у пациентов, предположительно зараженных инфекцией *Clostridium difficile* (CDI). Для определения токсин-продуцирующих бактерий *C. difficile*, ассоциированных с CDI, в данном тесте применяется автоматизированная полимеразно-цепная реакция (ПЦР) в режиме реального времени. Тест Хpert *C. difficile* предназначен для применения в качестве вспомогательного средства при диагностике CDI. Сопутствующее тестирование необходимо только в случае, если требуется дальнейшее типирование.

4 Краткие сведения и разъяснения

Clostridium difficile (*C. difficile*) – это грам-положительная спорообразующая анаэробная бактерия, которая впервые была ассоциирована с заболеванием в 1978 г.¹ Инфекции *Clostridium-difficile* (CDI) варьируются от диареи до тяжелого угрожающего жизни псевдомембранного колита.² Зрелая бактериальная флора у взрослого человека обычно является резистивной к колонизации *C. difficile*.³ Однако в случае изменений в нормальной флоре толстой кишки резистивность к колонизации теряется. Наиболее распространенным фактором риска развития CDI является воздействие антибиотиков.⁴ Основными вирулентными факторами *C. difficile* являются энтеротоксин А и цитотоксин В.⁵ Гены, кодирующие токсин А (*tcdA*) и токсин В (*tcdB*) принадлежат к патогенному локусу (PaLoc).^{6,7} Большинство патогенных штаммов являются токсин А-положительными, токсин В-положительными (А+В+) штаммами, хотя в качестве патогенных также признаны токсин А-отрицательные, токсин В-положительные (А-В+) варианты изолятов.⁸ Некоторые штаммы *C. difficile* также продуцируют актин-специфическую АДФ-рибозилтрансферазу, называемую СДТ или бинарным токсином. Локус бинарного токсина содержит два гена (*tcdA* и *tcdB*) и расположен за пределами области PaLoc.⁹⁻¹¹ В последние несколько лет отмечены вспышки CDI, вызванные «гипервирулентными» и фторхинолон-резистивными штаммами, принадлежащими к ПЦР-риботипу 027, PFGE типа NAP1 и REA типа В1.^{8,12} Эти штаммы характеризуются повышенной продукцией токсина, которая объясняется делециями в регуляторном гене *tcdC*.^{13,14}

Европейский центр профилактики и контроля заболеваний (European Centre for Disease Prevention and Control, ECDC) определил срочную необходимость разработки быстрых диагностических тестов с более высокой эффективностью, нежели используемые в настоящее время тесты для диагностики *C. difficile*.¹² Диагностика *C. difficile* обычно основывается на определении токсина А или В. Трудоемкий тест клеточной цитотоксичности в настоящее время все еще считается «золотым стандартом» вследствие его высокой специфичности.^{15,16} Для обнаружения токсина А и В были разработаны несколько быстрых энзимных иммунотестов. Однако эти тесты имеют пониженную чувствительность и специфичность по сравнению с тестом клеточной цитотоксичности. Для обнаружения токсина А и/или токсина В в последнее время разработаны методы ПЦР, отличающиеся высокой

чувствительностью и специфичностью по сравнению с тестом клеточной цитотоксичности и иммунотестами. Однако стандартизированные коммерческие тесты ПЦР для обнаружения токсина А и В в настоящее время отсутствуют.¹⁷

5 Принципы проведения процедуры

В GeneXpert Instrument Systems происходит автоматизированная и интегрированная подготовка образцов, экстракция и амплификация нуклеиновых кислот и выявление целевых последовательностей в простых и сложных образцах с использованием ПЦР в реальном времени и ОТ-ПЦР. Система состоит из прибора, компьютера и предустановленного программного обеспечения для проведения тестов собранных образцов и просмотра результатов. Для работы с системой требуются одноразовые картриджи GeneXpert, которые содержат реагенты для ПЦР, и в которых выполняются процессы выделения ДНК и ПЦР. Поскольку картриджи представляют собой замкнутые системы, вероятность перекрестной контаминации между образцами сводится к минимуму. Полное описание систем см. в соответствующем документе *GeneXpert Dx System Operator Manual* и (или) *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Тест Xpert *C. difficile* содержит реагенты для детекции токсин-продуцирующих штаммов *C. difficile* и токсин-продуцирующего штамма *C. difficile* предположительно 027/NAP1/BI соответственно, а также контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC). SPC служит для контроля процесса амплификации и отслеживания присутствия ингибиторов в реакции ПЦР. Контроль зондов (Probe Check Control, PCC) предназначен для проверки правильности регидратации реагентов, наполнения пробирки для проведения ПЦР в картридже, а также проверки наличия в картридже и функциональности всех компонентов реакции, включая зонды и красители.

Праймеры и зонды в тесте Xpert *C. difficile* выявляют последовательности в генах токсина В (*tcdB*), бинарного токсина (*cdt*), и делеции *tcdC* nt 117 (*tcdCΔ117*).

6 Комплект поставки

Набор Xpert *C. difficile* содержит реагенты в количестве, достаточном для анализа 10 образцов или образцов контроля качества.

В набор входят:

Xpert <i>C. difficile</i> Картриджи теста со встроенными реакционными пробирками	10
<ul style="list-style-type: none"> ● Гранулы 1, 2 и 3 (лиофилизированные) ● Реагент 1 ● Реагент 2 (гидроксид натрия) 	<ul style="list-style-type: none"> ● по 1 каждого типа в одном картридже ● 3,0 мл в каждом картридже ● 3,0 мл в каждом картридже
Пакеты с реагентом Xpert <i>C. difficile</i>	10
<ul style="list-style-type: none"> ● Реагент для образцов (гуанидина тиоцианат) 	<ul style="list-style-type: none"> ● 10 x 2,0 мл на пакет
Компакт-диск	1 в каждом наборе
<ul style="list-style-type: none"> ● Файлы описания теста (assay definition files, ADF) ● Инструкция по импорту файла ADF в программное обеспечение GeneXpert ● Инструкция по применению (вкладыш-инструкция) 	

Прим. Паспорта безопасности (Safety Data Sheets, SDS) можно найти на www.cepheid.com или www.cepheidinternational.com **на вкладке SUPPORT (ПОДДЕРЖКА)**.

Прим. Для изготовления бычьего сывороточного альбумина (БСА), входящего в состав гранул данного изделия, использовалась только плазма крови животных, выращенных в США. В пищу животных не добавлялись белки, полученные из тканей жвачных животных, а также другие белки животного происхождения; всех животных обследовали до и после забоя. Во время производства не происходило смешивания сырья с другими материалами животного происхождения.

7 Хранение и обращение

- Храните содержимое набора Xpert *C. difficile* при температуре 2–28 °С до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- Не используйте реагент для образцов или картриджи с истекшим сроком годности.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.
- Не используйте мокрые или протекающие картриджи.
- Реагент для образцов является прозрачной бесцветной жидкостью. Не используйте помутневший или изменивший свой цвет реагент для образцов.

8 Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

- GeneXpert Dx System или GeneXpert Infinity System (номер по каталогу варьируется в зависимости от конфигурации): Прибор GeneXpert, компьютер с фирменным программным обеспечением GeneXpert, ручной сканер штрих-кодов и руководство оператора.
- Для GeneXpert Dx System: Программное обеспечение версии 4.3 или выше.

Принтер: Если необходим принтер, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid, чтобы организовать приобретение рекомендованного принтера.


- Вихревая мешалка
- Одноразовые стерильные пипетки для переноса жидкостей
- Сухой зонд-тампон для переноса образцов стула, устройство для сбора образцов Cepheid, каталожный номер 900-0370 (Copan Venturi Transystem® Culture, 139CFA) или одноразовый зонд-тампон Cepheid, каталожный номер SDPS-120 (Copan 138CS01.PH).

9 Предупреждения и меры предосторожности

- При работе со всеми биологическими образцами, в том числе с использованными картриджами и реагентами, следует считать их способными к переносу возбудителей инфекционных заболеваний. Поскольку часто невозможно предугадать, что может переносить инфекцию, обращение со всеми биологическими образцами требует соблюдения стандартных мер предосторожности. Рекомендации по обращению с образцами предоставляются Центрами по контролю и профилактике заболеваний США (Centers for Disease Control and Prevention) и Институтом клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute 18,19).
- Следуйте принятым в учреждении правилам техники безопасности по работе с химическими веществами и обращению с биологическими образцами.
- Несоблюдение рекомендованных диапазонов температуры и времени при выполнении теста Xpert *C. difficile* может привести к получению ошибочных или недействительных результатов.
- Не встряхивайте картридж. Встряхивание или падение картриджа после вскрытия его крышки может привести к получению недействительных результатов
- Не размещайте этикетку с идентификационным номером образца на крышке картриджа или на штрихкодовой этикетке картриджа. Не используйте картридж с поврежденной штрих-кодовой этикеткой.
- Тест Xpert *C. difficile* не дает результатов, применимых для определения чувствительности к антибиотикам. Для проведения теста на чувствительность требуется дополнительное время для культивирования.
- Не заменяйте реагенты Xpert *C. difficile* другими реагентами.
- Крышку картриджа Xpert *C. difficile* можно открывать только для внесения образца и реагентов, а также при проведении повторного тестирования.
- Не используйте картридж, если он упал после извлечения из упаковки.
- Не используйте картридж с поврежденной реакционной пробиркой.

- Каждый одноразовый картридж Xpert *C. difficile* используется для выполнения только одного теста. Не использовать повторно уже применявшиеся для анализа картриджи.
- Пользуйтесь чистым лабораторным халатом и перчатками. Меняйте перчатки, приступая к работе с последующим образцом.
- В случае контаминации рабочей зоны или оборудования образцами или контролями тщательно протрите зону контаминации хлорсодержащим хозяйственным отбеливателем, разбавленным в соотношении 1:10, а затем повторно протрите рабочую зону 70% денатурированным этиловым спиртом. Прежде чем продолжать, протрите рабочие поверхности и дайте им высохнуть.
- Биологические образцы, устройства для переноса и использованные картриджи следует считать возможными переносчиками возбудителей инфекционных заболеваний, при обращении с ними необходимо соблюдать стандартные меры предосторожности. Для правильного удаления в отходы использованных картриджей и неиспользованных реагентов следуйте принятым в вашем учреждении правилам защиты окружающей среды при обращении с отходами. Эти материалы могут иметь свойства химически опасных отходов и требовать выполнения особых национальных или региональных процедур удаления в отходы. Если принятые в стране или регионе правила не дают ясных указаний по правильному удалению в отходы, биологические образцы и использованные картриджи следует удалять в отходы с соблюдением правил ВОЗ (Всемирной организации здравоохранения) относительно обращения с медицинскими отходами и их удаления.
- Не открывайте крышку картриджа до тех пор, пока не будете готовы начать выполнение теста.

10 Опасные химические факторы^{20,21}

- Символ опасности СГС ООН: 
- Сигнальное слово: ПРЕДОСТЕРЕЖЕНИЕ
- **Заявления об опасности СГС ООН**
 - Вредно при проглатывании
 - Вызывает раздражение кожи
 - Вызывает серьезное раздражение глаз
- **Предостерегающие заявления СГС ООН**
 - **Профилактика**
 - После использования тщательно вымыть руки.
 - Не принимать пищу, не пить и не курить в процессе использования этого продукта.
 - Избегать попадания в окружающую среду.
 - Пользоваться защитными перчатками, защитной одеждой, средствами защиты глаз/лица
 - **Реагирование**
 - **ПРИ ПОПАДАНИИ НА КОЖУ:** Промыть большим количеством воды с мылом.
 - Снять загрязненную одежду и выстирать ее перед повторным использованием.
 - Требуется специальное лечение; см. дополнительную информацию о первой помощи.
 - В случае раздражения кожи: Обратиться за медицинской консультацией/помощью
 - **ПРИ ПОПАДАНИИ В ГЛАЗА:** осторожно промыть водой в течение нескольких минут. Снять контактные линзы, если вы ими пользуетесь, и если это легко сделать. Продолжить промывание.
 - Если раздражение глаз не проходит: Обратиться за медицинской консультацией/помощью
 - **ДЕЙСТВИЯ ПРИ ПРОГЛАТЫВАНИИ:** При плохом самочувствии немедленно обратиться в **ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР** или к врачу-специалисту/терапевту.
 - Прополоскать рот.
 - **Хранение/удаление в отходы**
 - Удаление в отходы содержимого и (или) тары должно осуществляться в соответствии с местными, региональными, государственными и/или международными нормами.

11 Взятие, транспортировка и хранение образцов

1. Соберите бесформенный кал в чистый контейнер. Следуйте правилам вашего учреждения по сбору образцов для тестирования на *C. difficile*.
2. Промаркируйте контейнер идентификатором пациента и передайте его в лабораторию для тестирования.

3. Храните образцы при 2–8 °С. Образец, хранящийся при температуре 2–8 °С, остается стабильным в течение 5 суток. В качестве альтернативы образец можно держать при комнатной температуре (20–30 °С) до 24 часов.

12 Процедура

12.1 Подготовка картриджа

Важное замечание

Тест следует начать не позднее чем через 30 минут после введения образца в картридж.

Порядок внесения пробы в картридж:

1. Извлеките картридж и реактив для образцов из упаковки.
2. На короткое время погрузите зонд-тампон в бесформенный стул. Зонд-тампон не требуется смачивать полностью.
3. Вставьте зонд-тампон в пробирку, содержащую реактив для образцов.

Прим.

Для минимизации риска контаминации используйте стерильную марлю.

4. Удерживая зонд-тампон за стержень возле ободка пробирки, приподнимите зонд-тампон на несколько миллиметров от дна пробирки и придавите стержень к краю пробирки, чтобы отломать его. Проследите за тем, чтобы тампон был достаточно коротким, чтобы можно было плотно закрыть флакон.
5. Закройте крышку и перемешайте содержимое на вихревой мешалке в течение 10 секунд на высокой скорости.
6. Откройте крышку картриджа. Пользуясь чистой стерильной пипеткой, перенесите все содержимое реактива для образцов в камеру для образца картриджа.
7. Закройте крышку картриджа.

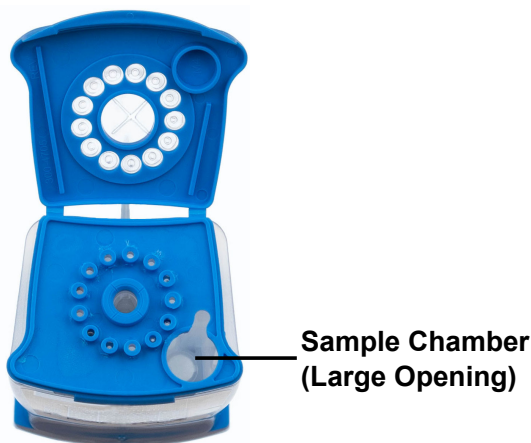


Рисунок 1. Картридж (вид сверху)

12.2 Запуск теста

Важное замечание

При использовании системы *GeneXpert Dx* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение *GeneXpert Dx* версии 4.7b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

Важное замечание

При использовании системы *GeneXpert Infinity* перед началом анализа убедитесь, что в системе работает программное обеспечение *Xpertise* версии 6.4b или выше, и что правильный файл описания теста импортирован в программное обеспечение.

В данном разделе перечислены основные действия при выполнении теста. Подробные инструкции приводятся в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, в зависимости от используемой модели.

Прим. Выполняемые вами действия могут быть другими, если администратор системы изменил установленную по умолчанию рабочую последовательность системы.

1. Включите прибор GeneXpert:

- При использовании прибора *GeneXpert Dx* следует сначала включить прибор, а затем компьютер. Программное обеспечение GeneXpert запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения GeneXpert Dx, который находится на рабочем столе Windows®.
- или
- При использовании прибора *GeneXpert Infinity* следует включить прибор. Программное обеспечение Xpertise запустится автоматически. Если это не происходит, дважды щелкните по ярлыку программного обеспечения Xpertise, который находится на рабочем столе Windows®.

2. Войдите в программное обеспечение системы приборов GeneXpert, используя свои имя пользователя и пароль.

3. В окне системы GeneXpert щелкните **Создать анализ (Create Test)** (для GeneXpert Dx) или **Заказы (Orders)**, а затем **Заказать анализ (Order Test)** (для Infinity). Откроется окно **Создать анализ (Create Test)**. Появится окно **Scan Patient ID barcode (Сканировать штрихкод ID пациента)**.

4. Отсканируйте или введите «ID пациента» (Patient ID). Если вводится «ID пациента» (Patient ID), то проследите за тем, чтобы он был введен корректно. «ID пациента» (Patient ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод ID образца (Scan Sample ID Barcode)**.

5. Отсканируйте или введите вручную «ID образца» (Sample ID). Если вводится «ID образца» (Sample ID), проследите за тем, чтобы он был введен корректно. ID образца (Sample ID) связывается с результатами теста; он указывается в окне **Просмотреть результаты (View Results)** и во всех отчетах. Появится диалоговое окно **Сканировать штрихкод картриджа (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Отсканируйте штрихкод на картридже. На основе информации, считанной со штрихкода, программным обеспечением автоматически заполняются следующие поля: «Выбрать тест» (Select Assay), «ID партии реагента» (Reagent Lot ID), «С/Н картриджа» (Cartridge SN) и «Срок годности» (Expiration Date).

Прим. Если штрихкод картриджа не сканируется, повторите анализ с новым картриджем. Если вы отсканировали штрихкод картриджа в программном обеспечении и файл описания теста недоступен, появится экран, показывающий, что файл описания теста не загружен в систему. Если появится этот экран, обратитесь в службу технической поддержки компании Cepheid.

7. Щелкните **Начать анализ (Start Test)** (для GeneXpert Dx) или **Отправить (Submit)** (для Infinity). В появляющемся диалоговом окне введите пароль, если это необходимо.

8. При использовании системы *GeneXpert Infinity* поместите картридж на конвейерную ленту. Загрузка картриджа произойдет автоматически, тест будет выполнен, а использованный картридж будет удален в контейнер для отходов.

или

Для прибора GeneXpert Dx:

- a) Откройте дверцу модуля прибора с мигающим зеленым индикатором и загрузите картридж.
- b) Закройте дверцу. После этого начинается тест, и зеленая индикаторная лампа перестает мигать. По завершении процесса теста индикаторная лампа выключается.
- c) Прежде чем открывать дверцу модуля, дождитесь разблокирования системой замка дверцы. Затем извлеките картридж.
- d) Удаляйте в отходы использованные картриджи в подходящие контейнеры для сбора отходов образцов согласно стандартным правилам, принятым в вашем учреждении.

13 Просмотр и печать результатов

В данном разделе перечислены основные действия по просмотру и печати результатов. Более подробные инструкции по просмотру и печати результатов представлены в *руководстве оператора системы GeneXpert Dx* или *руководстве оператора системы GeneXpert Infinity*, что зависит от используемой модели.

1. Для просмотра результатов выберите ярлык **Просмотреть результаты (View Results)**.
2. По завершении теста нажмите кнопку **Отчет (Report)** в окне **Просмотреть результаты (View Results)** для просмотра и (или) получения отчета в формате PDF.

14 Контроль качества

В каждом тесте используется контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC) и контроль зондов (Probe Check, PCC).

- **Контроль обработки образца (Sample Processing Control, SPC)** — обеспечивает правильную обработку образца. SPC содержит споры *Bacillus globigii* в форме сухой лепешки из спор; они имеются в каждом картридже для подтверждения правильности обработки бактерий в образце. SPC позволяет подтвердить выполнение лизиса бактерий и спор *C. difficile*, если эти микроорганизмы присутствуют в образце, и подтвердить правильность обработки образца. Кроме того, этот контроль позволяет выявить специфическое для данного образца ингибирование реакции при использовании метода ПЦР в режиме реального времени. Результат для SPC должен быть положительным для отрицательного образца и может быть как положительным, так и отрицательным для положительного образца. Контроль SPC считается пройденным, если его результат соответствует валидированным критериям приемлемости.
- **Контроль зондов (Probe Check Control, PCC)** — перед началом ПЦР системой GeneXpert измеряется флуоресцентный сигнал от зондов для проверки регидратации гранул, заполнения реакционной пробирки, целостности зондов и стабильности красителя. Контроль зондов считается пройденным, если его результат соответствует установленным критериям приемлемости.

15 Интерпретация результатов

Результаты интерпретируются приборной системой GeneXpert на основании измерений флуоресцентных сигналов и встроенных алгоритмов расчета; они отображаются в окне «Просмотреть результаты» (**View Results**). Возможны следующие результаты:

Таблица 1. Xpert *C. difficile* Результаты и их интерпретация

Результат	Интерпретация
<p>Токсигенный <i>C. diff</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ОТП. (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027 PRESUMPTIVE NEG) См. Рисунок 2</p>	<p>Обнаружены целевые последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i></p> <ul style="list-style-type: none"> • Токсин-продуцирующие <i>C. difficile</i> – Для целевых токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> (токсин В или токсин В плюс либо бинарный токсин, либо делеция nt 117 <i>tcdC</i>) показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения • SPC – Н/П (неприменимо) (SPC – NA (not applicable)); SPC игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>Токсигенный <i>C. diff</i> ПОЛОЖИТЕЛЬНЫЙ, 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛ. (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027 PRESUMPTIVE POS) См. Рисунок 3</p>	<p>Обнаружены целевые последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i>, предположительно 027/NAP1/BI</p> <ul style="list-style-type: none"> • Токсин-продуцирующие <i>C. difficile</i>, предположительно 027/NAP1/BI – Для всех целевых токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i>, предположительно 027/NAP1/BI, (токсин В, бинарный токсин и делеция nt 117 <i>tcdC</i>) показатель Ct находится в пределах допустимого диапазона, и конечная точка находится выше заданного минимального значения. • Контроль обработки образца – Н/П (NA); контроль обработки образца игнорируется, поскольку амплификация целевых последовательностей <i>C. difficile</i> может конкурировать с этим контролем. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>Токсигенный <i>C. diff</i> ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ, 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ОТП. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEGATIVE, 027 PRESUMPTIVE NEG) См. Рисунок 4</p>	<p>Целевые последовательности ДНК <i>C. difficile</i> (токсин В) не обнаружены.</p> <p>ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) – Последовательности ДНК токсин-продуцирующих <i>C. difficile</i> (токсин В) не обнаружены, другие целевые ДНК для токсигенных <i>C. diff</i> (бинарный токсин и делеция nt 117 <i>tcdC</i>) не обнаружены. Контроль обработки образца соответствует критериям приемлемости.</p> <ul style="list-style-type: none"> • ОТРИЦАТЕЛЬНЫЙ (NEGATIVE) – Целевая ДНК <i>C. difficile</i> не обнаружена. • SPC – ПРОЙДЕН (SPC – PASS); параметр Ct для SPC находится в допустимом диапазоне, и конечная точка находится выше заданного минимального значения. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.
<p>НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) См. Рисунок 5</p>	<p>Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного теста». Результат SPC не соответствует критериям приемлемости, процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.</p> <ul style="list-style-type: none"> • НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID) – Невозможно установить наличие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i>. • SPC – НЕ ПРОЙДЕН (SPC – FAIL); результат определения целевой последовательности SPC отрицательный, Ct SPC находится в недопустимом диапазоне, и конечная точка находится ниже заданного минимального значения. • Контроль зондов — ПРОЙДЕН (PASS); все проверки в рамках контроля зондов успешно пройдены.

Результат	Интерпретация
ОШИБКА (ERROR)	<p>Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного теста». Контроль зондов не пройден, вероятно, вследствие ненадлежащего заполнения реакционной пробирки, выявления проблемы нарушения целостности зондов или превышения пределов максимально допустимого давления.</p> <ul style="list-style-type: none"> Токсин В (tcdB) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Toxin B (<i>tcdB</i>) – NO RESULT) Бинарный токсин (cdt) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Binary Toxin (<i>cdt</i>) – NO RESULT) <i>tcdC</i>Δ117 — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) *Контроль обработки образца – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) <p>Контроль зондов — НЕ ПРОЙДЕН (FAIL)^a; все или одна из проверок в рамках контроля зондов не пройдены(-а).</p>
НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)	<p>Присутствие или отсутствие целевой ДНК <i>C. difficile</i> не может быть определено, повторите тест согласно инструкциям, приведенным ниже в разделе «Процедура повторного теста». Для предоставления результата собрано недостаточно данных (например, оператор прервал выполняющийся процесс теста).</p> <ul style="list-style-type: none"> Токсин В (tcdB) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Toxin B (<i>tcdB</i>) – NO RESULT) Бинарный токсин (cdt) – НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (Binary Toxin (<i>cdt</i>) – NO RESULT) <i>tcdC</i>Δ117 — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT) SPC — НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (SPC — NO RESULT) Контроль зондов – НЕПРИМЕНИМО (NA)

^a Если контроль зондов пройден, ошибка вызвана сбоем компонента системы.

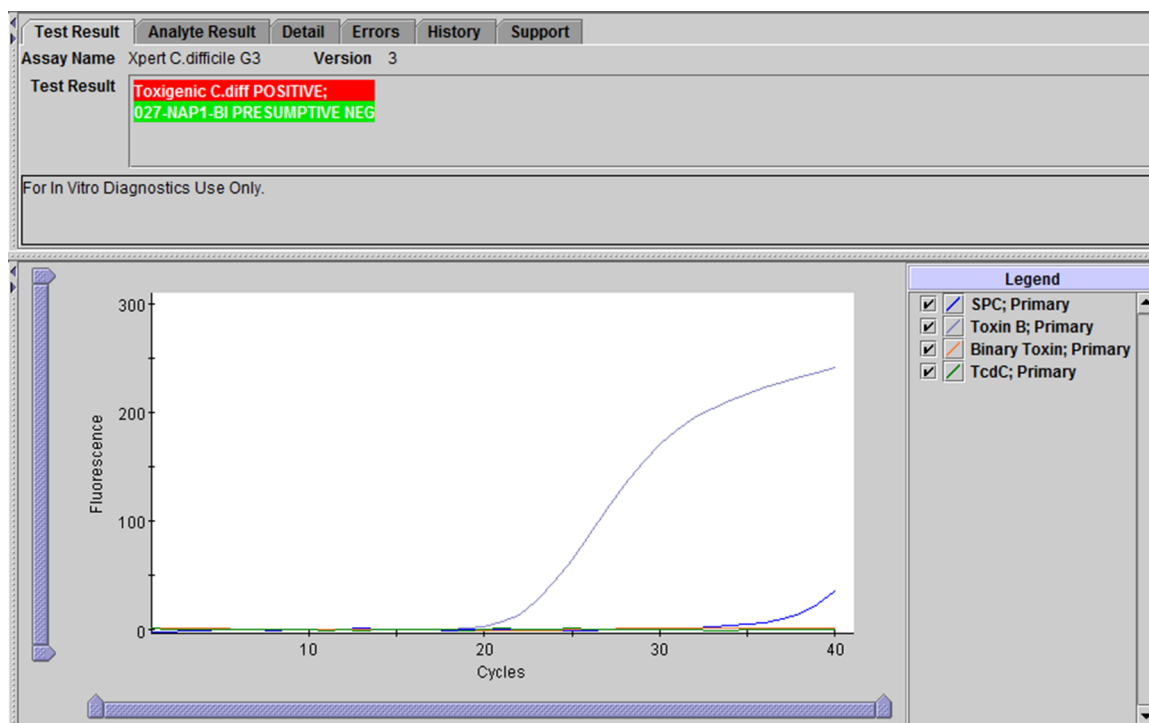


Рисунок 2. Пример положительного по *C. difficile* и предположительно отрицательного по 027 результатов теста Xpert

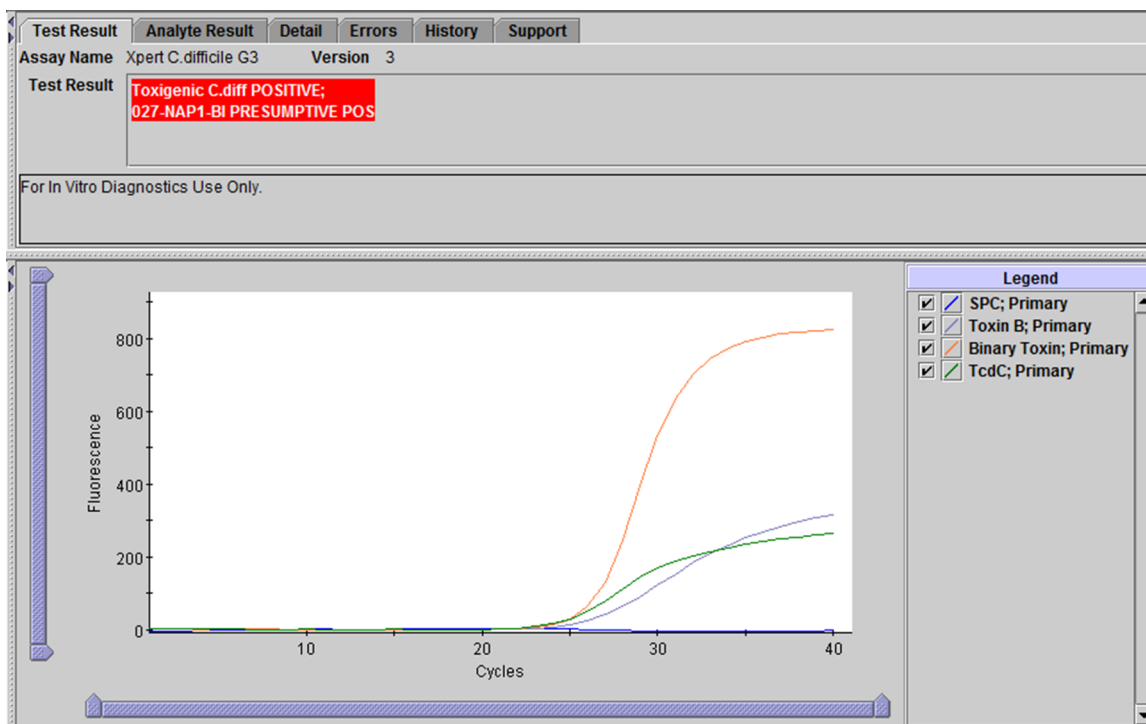


Рисунок 3. Пример положительного по C. difficile и предположительно положительного по 027 результатов

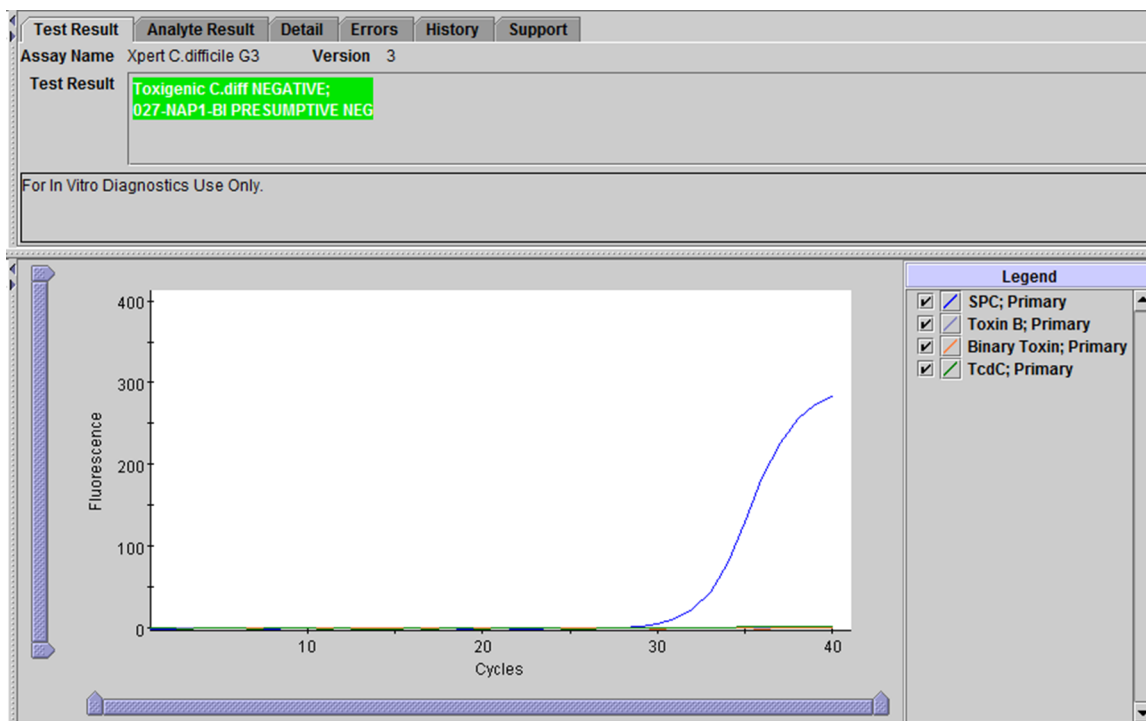


Рисунок 4. Пример отрицательного по C. difficile и предположительно отрицательного по 027 результатов

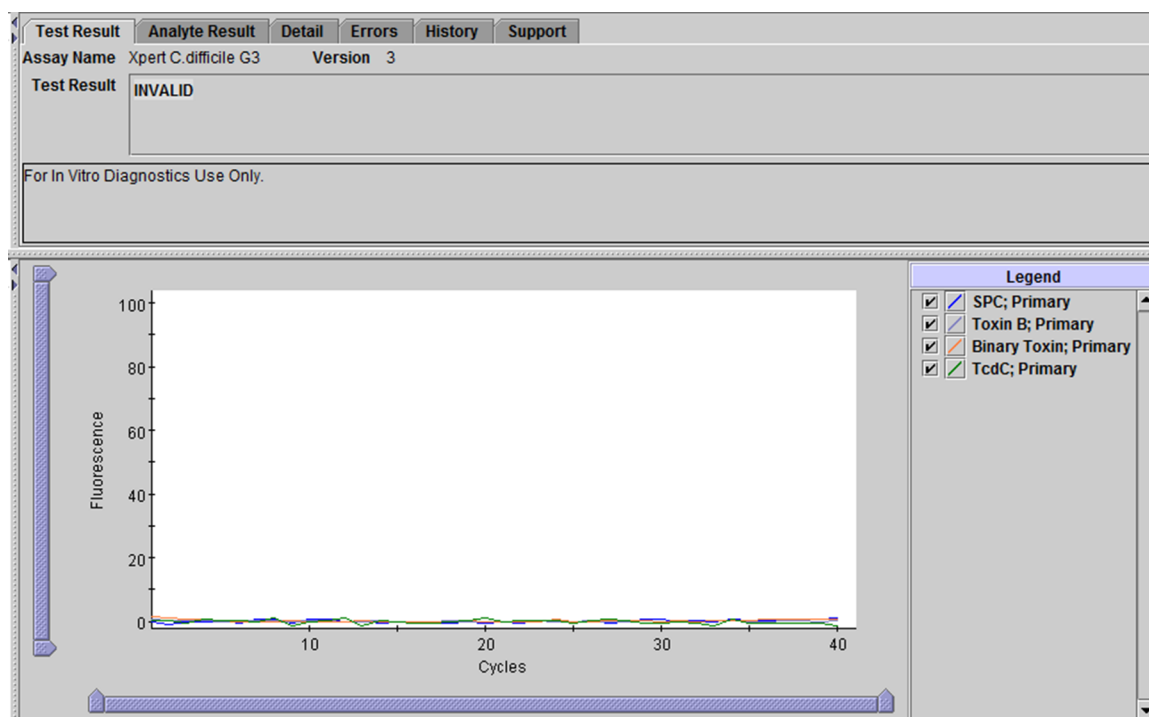


Рисунок 5. Пример недействительного результата

16 Причины повторного выполнения теста

16.1 Причины повторного выполнения теста

При получении любого из следующих результатов анализа однократно повторите тест в соответствии с указаниями, изложенными в Раздел 16.2.

- **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID)** результат указывает на то, что не пройдены проверки SPC. Процесс обработки образца прошел ненадлежащим образом или ПЦР была ингибирована.
- Результат **ОШИБКА (ERROR)** означает, что не пройдена проверка зондов, и тест был прерван вследствие того, что ненадлежащим образом была заполнена реакционная пробирка, выявлено нарушение целостности зондов, превышено максимально допустимое давление или обнаружена ошибка позиционирования клапана.
- Сообщение **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)** свидетельствует о том, что собрано недостаточно данных. Такое сообщение, например, может появляться, если лаборант прервал текущий процесс анализа.

16.2 Процедура повторного теста

Для повторного выполнения теста не позднее чем через 3 часа после получения сомнительного результата возьмите новый картридж (не используйте картридж повторно) и новые реагенты.

1. Извлеките новый картридж из набора.
2. Одноразовой пипеткой для переноса перенесите все остатки содержимого камеры для образца в новый флакон с реагентом для образца.
3. Перемешайте на вихревой мешалке и внесите все содержимое реагента для образцов в камеру для образцов нового картриджа Xpert C. difficile.
4. Закройте крышку и запустите новый тест.

Для повторного тестирования через 3 часа после получения неопределенного результата, повторите тест с новым образцом мазка из исходного образца пациента.

17 Ограничения

Изоляты, не содержащие 027/NAP1/BI, но содержащие токсинотип XIV будут определяться как **«Toxigenic C. diff ПОЛОЖ., бинарный токсин ПОЛОЖ.; 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛОЖ.» (Toxigenic C. diff POSITIVE; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** при использовании теста Xpert *C. difficile*.

Изоляты, не содержащие 027/NAP1/BI, но содержащие токсинотипы IV, V и X будут определяться как **«Toxigenic C. diff ПОЛОЖ.; 027 ПРЕДПОЛОЖИТЕЛЬНО ПОЛОЖ.» (Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** при использовании теста Xpert *C. difficile*.

Функциональные характеристики теста Xpert *C. difficile* прошли валидацию только с использованием процедур, описанных в данной инструкции по применению. Внесение изменений в эти процедуры может нарушить функциональные характеристики теста. Результаты, полученные с использованием теста Xpert *C. difficile*, следует интерпретировать с учетом других лабораторных и клинических данных, имеющихся у врача.

Ошибочные результаты анализа могут быть связаны с неправильным сбором образца, несоблюдением рекомендованной процедуры сбора проб или инструкций по обращению и хранению, технической ошибкой, перемешиванием проб или недостаточным для обнаружения при помощи данного теста количеством микроорганизмов в образце. Чтобы избежать получения ошибочных результатов, необходимо тщательно соблюдать указания, представленные в данной инструкции по применению.

Так как возможность обнаружения *C. difficile* зависит от количества присутствующих в образце микроорганизмов, достоверность результатов зависит от правильности сбора образца, обращения с ним и его хранения.

Поскольку при повторном тестировании происходит разведение образца, возможны ложноотрицательные результаты повторного теста с *C. difficile*-положительными образцами, имеющими концентрацию, равную или близкую к порогу обнаружения теста Xpert *C. difficile*.

Необходимость повторного выполнения теста Xpert Xpert *C. difficile*, когда получены результаты **НЕДЕЙСТВИТЕЛЬНЫЙ (INVALID), ОШИБКА (ERROR)** или **НЕТ РЕЗУЛЬТАТА (NO RESULT)**, следует оценивать на основе принятой практики и правил медицинского учреждения. Необходимо предусмотреть альтернативные процедуры. Для культивирования оставшиеся образцы на зондах-тампонах должны помещаться в подходящие системы транспортировки, продолжительность культивирования должна находиться в пределах 4 суток.

Положительный результат теста не обязательно свидетельствует о присутствии жизнеспособных микроорганизмов. Однако присутствие *C. difficile* является предположительным.

Вспышки CDI могут быть вызваны штаммами, отличными от 027/NAP1/BI.

Обнаружение нуклеиновых кислот *C. difficile* в стуле подтверждает присутствие этих микроорганизмов у пациентов с диареей, но не может указывать на то, что *C. difficile* является этиологическим фактором диареи.

Функциональные характеристики этого теста установлены только для типов образцов, перечисленных в разделе «Назначение». Функциональные характеристики этого теста для других образцов или типов образцов не установлены.

При наличии у инфицирующих микроорганизмов геномных мутаций, вставок, делеций или перераспределений или при выполнении теста на очень ранней стадии заболевания возможно получение ложно-отрицательных результатов.

18 Субстанции, препятствующие проведению анализа

В качестве потенциально ингибирующих веществ тестировалась кровь, избыточные фекалии и слизь. Тестирование веществ проводилось с тремя повторами с использованием штамма бактерий *C. difficile* 027/NAP1/BI с количественным содержанием посева в области аналитического предела обнаружения (~3x LoD) и выше (~50x LoD). Материал избыточных фекалий оценивался с использованием реальных клинических образцов в многоцентровом испытательном исследовании. Иногда в присутствии на зонде-тампоне избыточных фекалий наблюдался ингибирующий эффект. В присутствии крови или слизи существенных ингибирующих эффектов не обнаружено.

19 Функциональные характеристики

Функциональные характеристики теста Хpert *C. difficile* определялись в проспективном испытательном исследовании в двух центрах в Европе путем сравнения теста Хpert *C. difficile* на системе GeneХpert (тест Хpert *C. difficile*) с выращиванием токсигенной культуры с последующим риботипированием ПЦР для положительных образцов по методу культивирования. Для участия в исследовании брались образцы у лиц, для которых было показано и/или назначено исследование с культивированием согласно практике учреждения.

19.1 Общие результаты

Всего на *C. difficile* с использованием теста Хpert *C. difficile* были протестированы 285 образцов, и результаты были сопоставлены с методом прямого культивирования (см. таблицу ниже)

Таблица 2. Функциональные характеристики теста Хpert *C. difficile* в сравнении с прямым культивированием

		Токсигенная культура				
		<i>C. difficile</i>	027/NAP1/ VI пол	Отрицательный		
Хpert <i>C. difficile</i>	Токсин В+	34	0	16	Чувствительность	100 %
	027/NAP1/VI	0	0	1	Специфичность	93 %
	Отрицательный	0	0	234		

20 Функциональные характеристики 027/NAP1/VI

Для определения функциональных характеристик штамма 027/NAP1/VI проводилась внутренняя оценка клинических образцов, подвергшихся культивированию и ПЦР-риботипированию, при помощи теста Хpert *C. difficile*. Данные этого исследования содержатся в таблице ниже. Отрицательный в этом случае обозначает токсигенный штамм *C. difficile*, не принадлежащий к 027/NAP1/VI.

Таблица 3. Функциональные характеристики теста Хpert *C. difficile* по сравнению с ПЦР-риботипированием

		Выращивание токсигенной культуры и ПЦР-риботипирование			
		027/NAP1/ VI пол	027/NAP1/ VI отр		
Хpert <i>C. difficile</i>	027/NAP1/ VI пол	14	1	Чувствительность	100 %
	027/NAP1/ VI отр	0	10	Специфичность	91%

21 Аналитическая специфичность

В исследовании на кросс-реактивность проводилось тестирование культур из Американской коллекции типовых культур (American Type Culture Collection, ATCC) и Коллекции культур университета Гётеборга (Culture Collection, University of Göteborg, CCUG), в которых были представлены микроорганизмы, близкие к *C. difficile*, а также нормальная и патогенная ректальная флора. Проводилось тестирование двух не продуцирующих токсины штаммов *C. difficile* с использованием теста Хpert *C. difficile*. Протестированные микроорганизмы были представлены 24 аэробными, 14 анаэробными и двумя микроаэрофильными видами. Проводились тесты с тремя повторами каждого изолята с концентрацией не менее 10^9 КОЕ на реакцию. В условиях проведения исследования все изоляты были определены как отрицательные по токсигенному *C. difficile*; с помощью теста Хpert *C. difficile* не был обнаружен ни один из изолятов. В исследовании использовались положительный и отрицательный контроли. Аналитическая специфичность составила 100%.

22 Аналитическая чувствительность

Для определения 95% доверительного интервала для аналитического порога обнаружения этого теста были проведены дополнительные исследования. Порог обнаружения определялся как наименьшее количество колониобразующих единиц (КОЕ) в образце, который может воспроизводимо различаться при помощи теста от образцов, в которых МБТ не обнаруживалась, с 95% доверительным интервалом. Для шести оцениваемых концентраций (100, 300, 600, 1200, 2400 и 4800 КОЕ/образец) оценивалось по 20 повторам.

В условиях проведения исследования и использования максимально допустимой установки параметра Ct в 37 для *tcdB* и *cdt* и 40 для *tcdC* полученные результаты указывают на то, что оцениваемый порог LoD для токсигенных штаммов *C. difficile* составляет 1657 КОЕ/зонд-тампон с доверительным интервалом 95% в диапазоне от 1157 КОЕ/зонд-тампон до 3561 КОЕ/зонд-тампон, а для токсигенного штамма *C. difficile* 027/NAP1/BI – 2058 КОЕ/зонд-тампон с доверительным интервалом 95% в диапазоне от 1581 КОЕ/зонд-тампон до 3441 КОЕ/зонд-тампон.

23 Литература

1. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063-1066.
2. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990;22-61-7
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40-1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
6. Braun VT, Hundsberger P, Leukel M, Sauerborn and C. von Eichel-Striber. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. 1996; Gene 181:29-38.
7. Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. Microb Pathog. 1995;19:203-213.
8. Sambol SPMM, Merrigan D, Lysterly DN Gerding, Johnson S. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. Infect. Immun 2000;68:5480-5487.
9. Goncalves C, Decre D, Barbut F, Burghoffer B, Petit JC. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP-ribosyl-transferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-9
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, Brazier J, Duerden B, Popoff M. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 2000;186:307-12.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. Infect Immun 1998;56:2299-306.
12. Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. Clin Microbiol Infect. 2006; Oct;12 Suppl 6:2-18. Review.
13. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, O'Leary MM, Pasculle AW, Harrison LH. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*, J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(1):215-21. Электронная публикация 2006 Oct 11. Печатка в: J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):2103.
14. MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, Laverdiere M, Labbe AC, Laing F, Henwick S. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada, J Clin Microbiol. 2006 Jun;44(6):2147-52.
15. Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41(2):531-4. Review.
16. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. Clin Microbiol Infect. 2001 Aug;7(8):411-6. Review.
17. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ. 2004 Jul 6;171(1):51-8. Review.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Документ M29 (см. последнюю редакцию).
20. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2006).
21. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Расположение штаб-квартиры корпорации Serheid

Головной офис

Serheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Телефон: + 1 408 541 4191
Факс: + 1 408 541 4192
www.serheid.com

Европейский офис

Serheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Телефон: + 33 563 825 300
Факс: + 33 563 825 301
www.serheidinternational.com

25 Техническая поддержка

Прежде чем обращаться к нам

Прежде чем обращаться в службу технической поддержки компании Serheid, подготовьте следующую информацию:

- Название изделия
- Номер партии
- Серийный номер прибора
- Сообщения об ошибках (если имеются)
- Версия программного обеспечения и, при наличии, сервисный номер компьютера

США










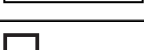






Телефон: + 1 888 838 3222
Электронный адрес: techsupport@serheid.com

Франция

Телефон: + 33 563 825 319
Электронный адрес: support@serheideurope.com

Контактная информация всех офисов службы технической поддержки компании Serheid доступна на нашем веб-сайте: www.serheid.com/en/support/contact-us

26 Условные обозначения

Символ	Значение
	Номер по каталогу
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Не использовать повторно
	Код партии
	См. инструкцию по применению
	Предупреждение
	Производитель
	Страна производства
	Содержит достаточное количество для <i>n</i> тестов
	Контроль
	Срок годности
	Маркировка CE – Европейское соответствие
	Температурные ограничения
	Биологические риски
	Уполномоченный представитель в Швейцарии
	Импортер



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

Тел.: +46 8 6843 7000

Факс: +46 8 6843 7010



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Switzerland



27 История пересмотра документа

Описание изменений: 300-9291, от ред. G к ред. H

Цель: Обеспечить соответствие требованиям Регламента (ЕС) 2017/746

Раздел	Описание изменения
Заявления о товарных знаках, патентах и авторском праве	Обновленная правовая информация по правовым стандартам Cepheid.
12	Обновлен текст разделов, рассматривающих процедуру тестирования, для обеспечения единообразия между инструкциями по применению продуктов Cepheid
15	Упорядочены цифры для обеспечения соответствия порядку результатов в таблице 1.
16.2	Обновлен текст раздела «Процедура повторного теста» для обеспечения единообразия между инструкциями по применению продуктов Cepheid.
26	В таблицу условных обозначений добавлены символы «CH REP» (Представитель в Швейцарии) и «Импортер», а также их определения. Добавлен символ «CH REP» (Представитель в Швейцарии) с адресом в Швейцарии.
27	Обновлена таблица истории изменений.
Во всем документе	Употребление термина «assay» (тест) в качестве названия торговой марки заменено на «test» (тест).