



## LIAISON® *C.difficile* GDH (REF 318910)

### Реагент для определения глутаматдегидрогеназы *Clostridium difficile*

#### 1. НАЗНАЧЕНИЕ

LIAISON® *C.difficile* GDH – это хемилюминесцентный иммуноанализ (CLIA) для скрининга антигена *Clostridium difficile*, глутаматдегидрогеназы, в кале пациентов, у которых есть подозрение на наличие заражения *C.difficile*. Данное исследование не позволяет различать токсигенные и нетоксигенные штаммы *C.difficile*. Для корректной постановки диагноза результаты анализа должны быть интерпретированы с учетом других клинических и лабораторных данных. Тестирование должно проводиться на анализаторах линейки LIAISON®.

#### 2. ВВЕДЕНИЕ И ОПИСАНИЕ ТЕСТА

*Clostridium difficile* - грамположительная спорообразующая анаэробная палочка, которая является основной причиной антибиотикосвязанной диареи и колита. Кроме того, в большинстве случаев этот агент является причиной псевдомембранозного колита. Заболевания, ассоциированные с *Clostridium difficile*, могут варьироваться от неосложненной диареи до сепсиса и даже приводить к летальному исходу.<sup>1</sup> *C. difficile* считаются главной причиной внутрибольничных колитов у пациентов во время их антибиотико-, химиотерапии или лечения другими лекарственными препаратами, которые подавляют нормофлору. В этом случае возникает пролиферация токсигенной *Clostridium difficile*.<sup>2</sup> Нозокомиальные инфекции, ассоциированные с *C. difficile*, достаточно широко распространены и основной их причиной является, прежде всего, несоблюдение санитарно-гигиенических норм медицинским персоналом.<sup>2</sup> Основной путь передачи - фекально-оральный непосредственно самой бактерии или бактериальных спор путем контаминации поверхностей.

Тест на глутаматдегидрогеназу (ГДГ) обладает высокой чувствительностью, что связано с устойчивостью и высоким содержанием ГДГ в кале при инфицировании данным микроорганизмом. Однако определение ГДГ обладает низкой специфичностью для токсигенных штаммов *C. difficile*, поскольку ГДГ обнаруживается в кале даже в присутствии нетоксигенных штаммов. По этой причине ГДГ считается ориентировочным антигеном. ГДГ – гексамерный фермент, отвечающий за аминирование α-кетоглутарата в глутамат и обратное оксидативное деаминирование глутамата.<sup>3</sup> Эти ферменты играют ключевую роль в ферментации глутамата анаэробами.

#### 3. ПРИНЦИП МЕТОДА

Метод представляет собой 1-ступенчатый, 2-сторонний «сэндвич» анализ для обнаружения ГДГ. Для исследования используются моноклональные антитела для захвата и поликлональные антитела для детекции молекулы ГДГ. Для исследования необходимо 100 мкл пробы, состоящей из разбавителя и экстрагированного из кала ГДГ, которые инкубируются с изолюминол конъюгированными антителами к ГДГ. Далее происходит инкубация с парамагнитными частицами с иммобилизованными на них ГДГ. После инкубации несвязанный материал удаляется путём промывки. Затем добавляются запускаящие реагенты и индуцируется хемилюминесцентная реакция. Интенсивность люминесценции, измеряемая с помощью фотоумножителя в относительных единицах интенсивности, отражает концентрацию ГДГ, которая обратно пропорционально концентрации антигенов ГДГ в калибраторах, контролях и пробах.

#### 4. СОСТАВ НАБОРА

##### Картридж Реактивов

|                            |                                                                                                                                                            |
|----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Магнитные частицы (2,4 мл) | Магнитные частицы, покрытые моноклональными антителами к ГДГ; фосфатный буфер; БСА; сурфактант, 0,1% Proclin® 300 и 0,05% сульфат гентамицина.             |
| Конъюгат (13,0 мл)         | Поликлональные антитела к ГДГ, конъюгированные в производном изолюминола; фосфатный буфер; БСА; сурфактант, 0,1% Proclin® 300 и 0,05% сульфат гентамицина. |
| Количество определений     | 100                                                                                                                                                        |

ProClin® 300 является зарегистрированным товарным знаком Dow и компаний аффилиатов Dow.

Все реагенты готовы к использованию. Порядок реагентов отражает расположение контейнеров в Интеграле реагентов.

##### Помимо интегрального картриджа в состав набора входят:

|                                            |                                                                                                                                                                      |
|--------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Калибратор 1 (3 x 1 мл), лиофилизированный | ГДГ, фосфатный буфер, сурфактант, 0,1% Proclin® 300, 0,05% сульфат гентамицина. Разбавлять в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды                         |
| Калибратор 2 (3 x 1 мл), лиофилизированный | ГДГ, фосфатный буфер, сурфактант, 0,1% Proclin® 300, 0,05% сульфат гентамицина. Разбавлять в 1 мл дистиллированной или деионизированной воды                         |
| Разбавитель А (1 x 80 л)                   | Сыворотка козла, трис-буфер, сурфактант, 0,1% Proclin® 300, 0,05% сульфат гентамицина. После вскрытия разбавитель стабилен в течение 10 недель при температуре 2-8°C |
| Дозаторы (2 x 50)                          | Дозаторы для жидкого кала (X0031)                                                                                                                                    |
| Устройство для экстракции кала* (2 x 50)   | Полипропиленовая пробирка для перемешивания, коническая пробирка и голубая крышка, элемент с голубым фильтром из плотного полиэтилена.                               |

\* Устройство не содержит БФА, латекс или ДЭГФ.

| LIAISON® XL анализатор                                              | LIAISON® анализатор                                                                                                |
|---------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100)          | Системная / промывочная жидкость (каталожный номер 319100)                                                         |
| Мешки для отработанных реакционных модулей (каталожный номер X0025) | Мешки для отработанных реакционных модулей (каталожный номер 450003)                                               |
| Кюветы (каталожный номер X0016)                                     | Реакционные Модули (каталожный номер 319130)                                                                       |
| Набор запускающих реагентов XL (каталожный номер 319200)            | Набор запускающих реагентов (каталожный номер 319102) или Набор запускающих реагентов XL (каталожный номер 319200) |
| Одноразовые наконечники (REF X0015)                                 | Набор растворов для обслуживания (каталожный номер 310990)                                                         |
|                                                                     | Реактив для ежедневной проверки анализатора 12 (каталожный номер 319150)                                           |

**Дополнительные материалы, необходимые для работы:**

LIAISON® Контроль для ГДГ *Clostridium difficile* (каталожный номер 318911)

**Дополнительные материалы, рекомендованные для работы:**

Разбавитель А (каталожный номер 318990)

**Опционные устройства, которые можно приобрести в компании DiaSorin:**

Дозатор для жидкого кала (X0031)

**5. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ**

**ТОЛЬКО ДЛЯ *IN VITRO* ДИАГНОСТИКИ** - Не для внутреннего или внешнего использования в организме людей и животных.

**Общие правила безопасности:**

- Все образцы, реагенты и биологические материалы, используемые при постановке настоящего исследования, следует рассматривать как потенциально опасные, способные передавать инфекционные агенты. Избегайте попадания на кожу, глаза или слизистую оболочку. Следуйте санитарно-эпидемиологическим правилам и нормам при выполнении исследования.
- Запрещается принимать пищу и напитки, курить или пользоваться косметикой в помещении лаборатории.
- Запрещается пипетировать ртом.
- Избегайте прямого контакта с потенциально инфицированным биологическим материалом. Не забывайте одевать халат, защитные очки и перчатки.
- Тщательно мойте руки после работы.
- Избегайте разбрызгивания или образования аэрозолей при работе с реагентами. В случае разбрызгивания реагентов, дезактивируйте их 10% раствором отбеливателя (содержащего 0,5% раствор гипохлорита натрия) и утилизируйте как потенциально опасные.
- Необходимо утилизировать отходы в соответствии с местными требованиями санитарно-эпидемиологического и экологического контролей.
- Не используйте наборы или реагенты с истекшим сроком годности.

**Информация об опасности и безопасности химических веществ:** Реагенты в данном наборе классифицированы в соответствии со стандартом безопасности США OSHA; отдельным законам США о праве на информацию; Регламенту Канадского центра по гигиене труда и технике безопасности; и применимые директивы Европейского Союза (см. Паспорт безопасности материала для дополнительной информации).

**GHS/CLP:**

|                         |                                                                                                                     |
|-------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                         | ProClin®                                                                                                            |
| Кат No.:                | 55965-84-9                                                                                                          |
| Реагенты:               | [SORB]<br>[CONJ]<br>[CAL   1]<br>[CAL   2]<br>[DIL SPE]                                                             |
| Классификация:          | Кожная сенсибилизация, категория 1                                                                                  |
| Сигнальное слово:       | Внимание                                                                                                            |
| Пиктограмма:            | <br>GHS07 – Восклицательный знак |
| Заявление об опасности: | H317 – Может вызывать аллергическую реакцию                                                                         |

|                              |                                                                                                                                                                                                            |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Предупредительные заявления: | P261 – Избегать вдыхания тумана или брызг.<br>P272 – Загрязненная рабочая одежда не должна использоваться за пределами рабочего места.<br>P280 – Носите защитные перчатки и одежду, а также защитные очки. |
|------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|

## 6. ПОДГОТОВКА ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Пожалуйста, обратите внимание на следующие важные меры предосторожности при работе с реагентами:

### 6.1 Ресуспендирование магнитных частиц

Магнитные частицы должны быть полностью ресуспендированы до того, как интеграл будет помещен в прибор. Чтобы обеспечить полное ресуспендирование частиц, выполните следующие действия:

- Перед удалением алюминиевых мембран с флаконов, проверните колесо флакона с магнитными частицами, пока цвет суспензии не станет равномерно коричневым. Аккуратно перемешайте их содержимое, держа интеграл горизонтально, чтобы избежать пенообразования. Осмотрите нижнюю часть флакона, чтобы убедиться, что все магнитные частицы были ресуспендированы.
- При необходимости повторите процедуру до полного ресуспендирования магнитных частиц.
- После удаления алюминиевой мембраны тщательно протрите поверхность каждого флакона для удаления остатков жидкости, если необходимо.

### 6.2 Вспенивание реагентов

Чтобы обеспечить оптимальные рабочие характеристики интеграла, следует избегать пенообразования реагентов.

Придерживайтесь приведенных ниже рекомендаций по предотвращению вспенивания:

- Перед использованием интеграла осмотрите реагенты, чтобы убедиться в отсутствии пены. Если после ресуспендирования магнитных частиц пена появилась, поместите интеграл в анализатор и подождите, пока пена исчезнет. Интеграл готов к использованию только тогда, когда пена исчезла, а интеграл с ресуспендированными частицами находится на борту.

### 6.3 Установка интеграла в область загрузки реактивов

#### Анализатор LIAISON®

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 30 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

#### Анализатор LIAISON® XL

Анализатор LIAISON® XL оснащен встроенным твердотельным магнитным устройством, которое помогает ресуспендировать микрочастицы до размещения интеграла с реагентами в области загрузки реактивов анализатора. Для уточнения деталей обратитесь к руководству по эксплуатации анализатора.

а. Вставьте интеграл с реагентами в специальный разъем.

б. Оставьте интеграл с реагентами в твердотельном магнитном устройстве, по крайней мере, на 30 секунд (допускается до нескольких минут). Повторите по мере необходимости.

- Установите интеграл в область загрузки реактивов анализатора так, чтобы штрих-код был расположен слева, и оставьте для перемешивания магнитных частиц в течение 15 минут. Анализатор автоматически перемешивает и полностью ресуспендирует магнитные частицы за это время.
- Следуйте инструкции по эксплуатации анализатора для загрузки проб и начала исследования

## 7. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ ИНТЕГРАЛЬНОГО КАРТРИДЖА РЕАКТИВОВ

Всегда храните интегралы в вертикальном положении, в противном случае последующее перемешивание магнитных частиц будет затруднено. Избегайте попадания прямых солнечных лучей.

Невскрытые реактивы стабильны до окончания срока годности при условии их хранения в вертикальном положении при температуре 2-8°C. Запрещается замораживать реактивы, входящие в состав картриджа. Запрещается использовать интеграл после окончания срока годности, указанного на этикетке интеграла. После вскрытия интеграла (удаления алюминиевых мембран) его содержимое стабильно в течение не менее 8 недель при условии хранения при температуре 2-8°C в холодильнике или на борту анализатора. После окончания этого периода использование интеграла возможно при условии, если результаты исследования контрольных сывороток лежат в допустимых пределах.

## 8. ПОДГОТОВКА И ХРАНЕНИЕ ИССЛЕДУЕМОГО МАТЕРИАЛА

Кал необходимо собирать в чистый герметичный контейнер без консервантов. Пробы должны храниться при температуре 2-8°C и исследоваться как можно быстрее. Допускается хранение проб в течение 72 часов при температуре 2-8°C или замораживание при температуре -20°C. Перед использованием замороженные пробы необходимо нагреть до комнатной температуры и перемешать. Не допускается повторное замораживание/размораживание проб более 2 раз.

## 9. ХРАНЕНИЕ ЭКСТРАКТА

Экстракт кала стабилен в течение 4 часов при комнатной температуре (18 - 25°C), или 24 часа при температуре 2 - 8°C. При необходимости экстракт можно заморозить при температуре -20°C и хранить не более 4 недель. Не допускается повторное замораживание экстракта. Для подготовки к длительному хранению в холодильнике или морозильной камере или к для транспортировки экстракт должен быть очищен от видимого дебриса, который может быть на дне конической пробирки. Перенесите экстракт в другую пробирку, не перемешивайте экстракт и видимый дебрис.

## 10. КАЛИБРОВКА УРОВЕНЬ 1 И 2

Калибраторы *C.difficile* ГДГ поставляются в лиофилизированном виде. Их необходимо ресуспендировать в 1мл дистиллированной или деионизированной воды. После разведения оставьте флаконы при комнатной температуре в течение 5 минут, а затем аккуратно перемешайте. Перенесите полный объем в стеклянную или пластиковую пробирку. Наклейте на пробирку соответствующий штрих-код, который входит в состав набора, и поместите в анализатор. Проведите процедуру калибровки согласно инструкции. Калибраторы для данного исследования стабильны в течение 2 часов при комнатной температуре (18 - 25°C). Каждый калибратор содержит объем для проведения 2 калибровок (300 мкл объема необходимы для трехкратной калибровки и 300 мкл – мертвый объем). Калибратор и Интегральный Реагент специфичны по номеру лота. Не используйте калибраторы и реагенты с разными лотами в одном исследовании.

### LIAISON Analyzer:

Поместите пробирку в анализатор **LIAISON®** в штатив с буквенным обозначением “А” штрих-кодом наружу.

### LIAISON XL Analyzer:

Поместите пробирку в анализатор **LIAISON®XL** в штатив с буквенным обозначением “А” штрих-кодом наружу.

## 11. КАЛИБРОВКА

Исследование калибраторов, входящих в состав интеграла, позволяет перекалибровать мастер-кривую, хранящуюся в памяти анализатора, с использованием значений концентрации калибраторов, зашифрованных в штрих-коде этикетки интеграла.

Калибровка должна быть проведена в следующих случаях:

- Используется новая серия набора реактивов или набора запускающих реактивов.
- Прошло более 21 дня с момента последней калибровки.
- Было проведено обслуживание анализатора.
- Результаты исследования контрольных сывороток выходят за пределы допустимого диапазона.

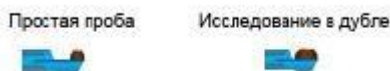
## 12. ПРОБОПОДГОТОВКА

Для пробоподготовки необходимо специальное устройство для экстракции кала (LIAISON® Stool Extraction Device). Объемы образца и дилуента (Sample Diluent A) определяются по Таблице 1 и представленной ниже диаграмме, которые зависят от того, будет ли это единичная проба или проба в дубле.

1. Добавьте дилуент (Sample Diluent A) в устройство для экстракции кала (LIAISON® Stool Extraction Device) для смешивания в количестве, указанном в Таблице 1.
2. Подготовка кала: Перемешайте кал насколько это возможно для того, чтобы перенести пробу
  - а. *Жидкий или полужидкий стул:* Используя дозатор, измерьте и перенесите образец кала (согласно Таблице 1) в устройство для экстракции кала, содержащее дилуент. При необходимости промойте пипетор несколько раз смесью суспензии для кала, чтобы убедиться, что максимальное количества образца было собрано из устройства для жидкого кала.

**ПРИМЕЧАНИЕ:** Если, в случае необходимости добавления 750 мкл жидкого или полужидкого кала, количество пробы недостаточно, можно разбавить пробу с разбавителем в соотношении 1:1. (Пример 400 мкл жидкой или полужидкой пробы к 400 мкл дилуента). Окончательный объем супернатанта для проведения исследования должен составлять 400 мкл для проведения единичного исследования.

*б. Твердый стул:* Используя лопатку, которая находится в устройстве для экстракции кала (LIAISON® Stool Extraction Device) на конце голубого конического фильтра или используя другое устройство, отмерьте количество пробы, указанное в Таблице 1 и добавьте в пробирку для смешивания, которая содержит дилуент. Необходимо визуально проверить лопатку после того, как будет проведена процедура перемешивания (4 этап), чтобы убедиться, что на ней не остались частички биологического материала. В противном случае снова закройте устройство, чтобы удалить частички кала с лопатки. При необходимости можно повторить данную процедуру. При очень твердом стуле допускается использование альтернативных приспособлений.



3. Закрутите конический голубой фильтр на пробирке для смешивания.
4. Хорошо перемешайте содержимое пробирки примерно 20 секунд.
5. Отцентрифугируйте содержимое пробирки на скорости  $\geq 2000 \times g$  в течение 10 минут. Коническая пробирка при этом должна быть сверху устройства.
6. После центрифугирования переверните устройство для экстракции конической стороной пробирки вниз. Отцентрифугируйте содержимое при скорости  $200 \times g$  в течение минуты. **После центрифугирования не переворачивайте устройство, оно должно оставаться строго в вертикальном положении.**
7. Открутите и утилизируйте пробирку для перемешивания и голубой фильтр. Проверьте жидкий супернатант в конической пробирке, он может быть мутным, но не должен содержать дебриса или пузырей.
8. Поместите коническую пробирку в штатив “S” и установите в анализатор LIAISON® или поместите коническую пробирку в штатив “H” с адаптором и установите в анализатор LIAISON®XL.
9. Обработайте рабочую зону 10% отбеливателя (0,5% раствор гипохлорита).

\*  $g = (1118 \times 10^{-8}) (\text{радиус в см}) (\text{число оборотов в минуту})$

Таблица 1

| Число исследований | Количество разбавителя | Количество пробы<br>(жидкий стул) | Количество пробы<br>(твёрдый стул) |
|--------------------|------------------------|-----------------------------------|------------------------------------|
| Единичная проба    | 750 мкл                | 750 мкл                           | 5 мм                               |
| Проба в дубле      | 1 мл                   | 1 мл                              | 7,5 мм                             |

В конце инструкции Вы найдете иллюстрированную схему использования приспособления для экстракции кала.

### 13. ПРОЦЕДУРА АНАЛИЗА

Строгое следование рекомендациям инструкции пользователя гарантирует получение корректных результатов.

**Анализатор LIAISON®.** Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в штрих-коде этикетки интеграла. Если информации со штрих-кода не считывается, то картридж является непригодным для использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Операции постановки анализа имеют следующую последовательность:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля
2. Добавление конъюгата и магнитных частиц в кюветы реакционного модуля
3. Инкубация
4. Промывка Системной/Промывочной жидкостью
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

**Анализатор LIAISON® XL.** Для идентификации каждой методики используется информация, зашифрованная в радиочастотной метке интеграла. Если информации с радиочастотной метки не читается, то картридж является негодным к использованию и должен быть утилизирован (см. Инструкцию пользователя).

Операции постановки анализа имеют следующую последовательность:

1. Раскапывание калибраторов, контролей или проб в кюветы реакционного модуля
2. Добавление конъюгата и магнитных частиц в кюветы реакционного модуля
3. Инкубация
4. Промывка Системной/Промывочной жидкостью
5. Добавление запускающих реактивов и измерение интенсивности свечения.

На результаты иммуноанализа могут влиять колебания температуры. Пользователи должны знать об изменениях в своей лабораторной среде; может потребоваться более частое использование контролей и последующая калибровка.

### 14. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА

Контроль качества должен выполняться один раз в день использования или в соответствии с руководящими принципами или требованиями местных нормативных актов или аккредитованных организаций. Пользователю рекомендуется обратиться к CLSI C24-A35 и 42 CFR 493.1256 (c) для получения инструкций по надлежащей практике контроля качества.

Контроль LIAISON *C.difficile* GDH Control Set (Кат. № 318931) предназначен для мониторинга правильности работы реагента. Контроль необходимо проводить в 1 повторности для проверки правильности работы реагента. Тестирование проведено успешно, если значения контроля входят в ожидаемый диапазон. Если результаты измерения контрольных сывороток выходят за допустимые пределы, необходимо повторно провести калибровку методики, а измерение контрольных материалов и образцов должно быть проведено повторно. Результаты тестирований образцов верны только при условии, что значения тестированных контролей входят в ожидаемый диапазон.

Перед использованием других контрольных материалов необходимо оценить возможность их использования с данным набором реактивов, после чего необходимо установить подходящие пределы допустимых значений.

Пределы допустимых значений каждого контроля обозначены в сертификате исследования и указывают границы, установленные компанией DiaSorin для контрольных значений, которые могут быть получены при выполнении исследования.

### 15. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

Анализатор автоматически рассчитывает концентрацию ГДГ в заданной величине и оценивает результат. Подробная информация в инструкции пользователя.

Пороговое значение для набора LIAISON® *C.difficile* GDH определялось на основе результатов исследуемых проб в популяции пациентов с положительными и отрицательными значениями ГДГ.

Пробы исследовались в параллели с помощью наборов сторонних производителей и набора DiaSorin LIAISON® *C.difficile* GDH.

Было определено, что пороговая величина для ГДГ составляет 1,0.

**ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ** – Если в результате отображается сообщение «invalid PLU» и предупреждающий (!) флаг, то результат не может считаться достоверным и необходимо повторить постановку исследования. Если при повторной постановке анализатор выдаст такое же сообщение, обратитесь в службу поддержки.

Результаты исследований должны быть интерпретированы следующим образом:

| Индекс          | Результат      | Интерпретация                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
|-----------------|----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ≤ 0,90          | Отрицательный  | Указывает на низкое содержание ГДГ (или уровень ГДГ ниже предела обнаружения)                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| > 0,90 и < 1,10 | Неопределенный | Пробы с неопределённым результатом должны быть экстрагированы и исследованы повторно.<br>Считаются положительными пробы, результат которых при повторном исследовании ≥1,10.<br>Считаются отрицательными пробы, результат которых при повторном исследовании ≤0,90.<br>Если результат пробы повторно определяется как неопределенный, следует повторить забор биологического материала с последующим его исследованием. |
| ≥1,10           | Положительный  | Указывает на наличие ГДГ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |

## 16. ОГРАНИЧЕНИЯ МЕТОДА

1. Результаты анализа должны использоваться в сочетании с другими клиническими и лабораторными данными, чтобы помочь клиницисту принимать индивидуальные решения по ведению пациентов.
2. Наличие навыков и прямое следование инструкции пользователя необходимы для получения точных результатов.
3. Положительный результат не определяет наличие заболевания *C. difficile* или наличие токсигенного *C. difficile*, а только указывает на обнаружение организма. Все LIAISON® *C. difficile* GDH-положительные образцы должны быть проверены другим методом для подтверждения наличия токсигенного *C. difficile*.
4. Иммуноспецифическая кросс-реакция была обнаружена с *C. Sporogenes*, который редко встречается в кале.
5. Набор LIAISON® EHEC Toxins не оценивался в педиатрической популяции.
6. Не могут быть использованы образцы кала, стабилизированные в 10% формалине, соединениях мертиолята формалина, ацетат натрия и формалина, или поливиниловый спирт. Образцы, находящиеся в транспортных средах, таких как Cary Blair или C & S, не могут быть использованы.
7. Интегралы не могут переноситься между анализаторами LIAISON® и LIAISON®XL. После распознавания реагентного картриджа одним типом анализаторов, он должен использоваться там до конца.
8. Из-за проблем прослеживаемости, вытекающих из вышеприведенного утверждения, последующие наблюдения пациентов могут не быть заключены между типами анализаторов. Это должно быть выполнено на одном конкретном типе анализатора (LIAISON® или LIAISON® XL).

## 17. ОЖИДАЕМЫЕ ЗНАЧЕНИЯ

Частота антибиотикосвязанной диареи, ассоциированной с *C. difficile*, зависит от некоторых факторов, таких как: контингент пациентов, тип лечебного учреждения и эпидемиология. Статистика 2008 года по европейским странам показывает, что случаи инфицирования *C. difficile* варьировались по лечебным учреждениям (5,5 случаев на 10000 пациентов в день, 0-36,3%) и странам (0-19,1%).<sup>5</sup>

В США у 15-25% пациентов обнаруживаются нозокомиальные заболевания, ассоциированные с *C. difficile*, выраженные антибиотикосвязанной диареей,<sup>6</sup> хотя по разным данным эти значения могут быть выше.

## 18. СПЕЦИФИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 18.1 Сравнение

Было исследовано 200 клинических образцов с набором LIAISON® *C. difficile* GDH и культуральным методом. Результаты приведены в таблице ниже:

| LIAISON® <i>C. difficile</i> GDH | Сравнительный культуральный метод |               |       |
|----------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------|
|                                  | Положительный                     | Отрицательный | Всего |
| Положительный                    | 111                               | 1             | 112   |
| Сомнительный                     | 0                                 | 0             | 0     |
| Отрицательный                    | 1                                 | 87            | 88    |
| Всего                            | 112                               | 88            | 200   |

Совпадение по положительным результатам = (111/112) 99,1% 95%CI(95,2%-99,8%)

Совпадение по отрицательным результатам = (87/88) 98,9% 95%CI(93,9%-99,7%)

Общее совпадение = (198/200) 99,0% 95% CI(96,5%-99,7%)

Было исследовано 200 клинических образцов набором LIAISON® *C. difficile* GDH и ИФА методом для определения ГДГ *C. difficile*. Результаты приведены в таблице ниже:

| LIAISON® <i>C. difficile</i> GDH | ИФА           |               |       |
|----------------------------------|---------------|---------------|-------|
|                                  | Положительный | Отрицательный | Всего |
| Положительный                    | 109           | 3             | 112   |
| Сомнительный                     | 0             | 0             | 0     |
| Отрицательный                    | 0             | 88            | 88    |
| Всего                            | 109           | 91            | 200   |

Совпадение по положительным результатам = (109/109) 100% 95%CI(96,7%-100%)

Совпадение по отрицательным результатам = (88/91) 96,7% 95%CI(90,8%-98,8%)

Общее совпадение = (197/200) 98,5% 95% CI(95,7%-99,5%)

## 18.2 Точность

### Анализатор LIAISON®.

В течение 12 дней в дубле были исследованы 2 набора контролей и 6 разбавленных проб кала с использованием наборов LIAISON® *C.difficile* GDH одного лота на анализаторе LIAISON®. Пробы были разделены по следующим уровням: 2 отрицательные, 1 с пограничными значениями, 3 положительные. Исследование проводилось согласно требованиям EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов.<sup>7</sup>

#### Сходимость

| Проба                           | Отр контроль | Полож контроль | 1      | 2     | 3     | 4     | 5    | 6    |
|---------------------------------|--------------|----------------|--------|-------|-------|-------|------|------|
| Количество определений          | 48           | 48             | 48     | 48    | 48    | 48    | 48   | 48   |
| Значения (Индекс)               | 0,12         | 4,51           | 0,14   | 0,88  | 1,11  | 1,35  | 12,8 | 25,3 |
| Стандартное отклонение (Индекс) | 0,0159       | 0,17           | 0,0104 | 0,041 | 0,058 | 0,058 | 0,60 | 0,99 |
| Коэффициент вариации (%CV)      | 13,0         | 3,8            | 7,5    | 4,7   | 5,2   | 4,3   | 4,7  | 3,9  |

#### Воспроизводимость

| Проба                           | Отр контроль | Полож контроль | 1      | 2     | 3     | 4     | 5    | 6    |
|---------------------------------|--------------|----------------|--------|-------|-------|-------|------|------|
| Количество определений          | 48           | 48             | 48     | 48    | 48    | 48    | 48   | 48   |
| Значения (Индекс)               | 0,12         | 4,51           | 0,14   | 0,88  | 1,11  | 1,35  | 12,8 | 25,3 |
| Стандартное отклонение (Индекс) | 0,0165       | 0,21           | 0,0223 | 0,051 | 0,071 | 0,075 | 0,76 | 1,36 |
| Коэффициент вариации (%CV)      | 13,4         | 4,7            | 16,2   | 5,8   | 6,4   | 5,6   | 5,9  | 5,4  |

### Анализатор LIAISON®XL.

В течение 12 дней в дубле были исследованы 2 набора контролей и 6 разбавленных проб кала с использованием наборов LIAISON® *C.difficile* GDH одного лота на анализаторе LIAISON®XL. Пробы были разделены по следующим уровням: 2 отрицательные, 1 с пограничными значениями, 3 положительные. Исследование проводилось согласно требованиям EP5-A2 Института клинических и лабораторных стандартов.<sup>7</sup>

#### Сходимость

| Проба                           | Отр контроль | Полож контроль | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|---------------------------------|--------------|----------------|------|------|------|------|------|------|
| Количество определений          | 48           | 48             | 48   | 48   | 48   | 48   | 48   | 48   |
| Значения (Индекс)               | 0,14         | 4,52           | 0,15 | 0,74 | 0,86 | 1,11 | 12,1 | 26,3 |
| Стандартное отклонение (Индекс) | 0,01         | 0,15           | 0,02 | 0,02 | 0,03 | 0,04 | 0,23 | 0,83 |
| Коэффициент вариации (%CV)      | 7,3          | 3,3            | 10,0 | 3,2  | 4,0  | 3,5  | 1,9  | 3,2  |

#### Воспроизводимость

| Проба                           | Отр контроль | Полож контроль | 1    | 2    | 3    | 4    | 5    | 6    |
|---------------------------------|--------------|----------------|------|------|------|------|------|------|
| Количество определений          | 48           | 48             | 48   | 48   | 48   | 48   | 48   | 48   |
| Значения (Индекс)               | 0,14         | 4,52           | 0,15 | 0,74 | 0,86 | 1,11 | 12,1 | 26,3 |
| Стандартное отклонение (Индекс) | 0,02         | 0,27           | 0,02 | 0,04 | 0,05 | 0,06 | 0,85 | 1,96 |
| Коэффициент вариации (%CV)      | 11,8         | 5,9            | 13,7 | 5,7  | 6,0  | 5,0  | 7,0  | 7,5  |

## 18.3 Предел обнаружения

Согласно EP12-A2<sup>8</sup> предел обнаружения для набора составляет 220 пкг/мл.

## 18.4 Интерференция

Контролируемые исследования потенциально мешающих веществ, включенных в образцы с низким положительным и высоким отрицательным значениями, не выявили интерференции в анализе LIAISON® *C. difficile* GDH с концентрациями веществ, указанных ниже.

| Вещество                | Концентрация                |
|-------------------------|-----------------------------|
| Гемоглобин              | 3,2 мг/мл                   |
| Кровь                   | 25%                         |
| Белые кровяные тельца   | 5%                          |
| Сульфат бария           | 5,0 мг/мл                   |
| Стеариновая кислота     | 2,65 мг/мл                  |
| Пальмитиновая кислота   | 1,3 мг/мл                   |
| Муцин                   | 3,33 мг/мл                  |
| Метронидазол            | 12,5 мг/мл                  |
| Гидрохлорид ванкомицина | 2,5 мг/мл                   |
| Имодиум                 | $6,67 \times 10^{-3}$ мг/мл |
| Висмут субсалицилат     | 0,87 мг/мл                  |
| Пепто бисмол            | 0,87 мг/мл                  |
| Прилосек                | 0,5 мг/мл                   |
| Gas-X                   | 0,625 мг/мл                 |
| Тамс                    | 0,5 мг/мл                   |
| Циметидин               | 0,5 мг/мл                   |
| Маалокс                 | 4,2 мг/мл                   |
| Миралакс                | 79,05 мг/мл                 |
| Полиэтилен гликоль 4600 | 79,05 мг/мл                 |

### 18.5 Перекрестная реактивность

Была исследована перекрестная реактивность набора LIAISON® *C.difficile* GDH Assay с нижеуказанными микроорганизмами. В слабopоложительные или отрицательные образцы кала были добавлены данные микроорганизмы и исследованы с помощью набора LIAISON® *C.difficile* GDH Assay. Единственный микроорганизм, вызывающий перекрестную реактивность – *Clostridium sporogenes*, штамм, который обычно не обнаруживается в кале.

Все нижеперечисленные микроорганизмы не продемонстрировали интерференцию в образцах кала.

| Микроорганизмы (в алфавитном порядке) | Конечные концентрации    | Микроорганизмы (в алфавитном порядке) | Конечные концентрации          |
|---------------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| <i>Aeromonas hydrophila</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Porphyromonas assaccharolytica</i> | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Campylobacter coli</i>             | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Proteus vulgaris</i>               | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Campylobacter fetus</i>            | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>         | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Campylobacter jejuni</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Pseudomonas fluorescens</i>        | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Candida albicans</i>               | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Salmonella group B</i>             | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Citrobacter freundii</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Salmonella group C</i>             | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium perfringens Type A</i> | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Salmonella group D</i>             | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium perfringens Type B</i> | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Salmonella group E</i>             | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium perfringens Type D</i> | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Serratia liquefaciens</i>          | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium perfringens Type E</i> | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Shigella boydii</i>                | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium sordellii</i>          | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Shigella flexneri</i>              | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Clostridium sporogenes*</i>        | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Shigella sonnei</i>                | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Enterobacter cloacae</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Staphylococcus aureus</i>          | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Enterobacter faecalis</i>          | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Staphylococcus aureus (Cowan)</i>  | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Escherichia coli</i>               | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Staphylococcus epidermidis</i>     | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Escherichia fergusonii</i>         | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Vibrio parahaemolyticus</i>        | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Escherichia hermannii</i>          | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | <i>Yersinia enterocolitica</i>        | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл       |
| <i>Helicobacter pylori</i>            | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | Adenovirus Type 40                    | $1 \times 10^{5,88}$ ДИКТ50/мл |
| <i>Klebsiella pneumonia</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | Adenovirus Type 41                    | $1 \times 10^{5,40}$ ДИКТ50/мл |
| <i>Lactobacillus lactis</i>           | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | Coxsackievirus                        | $1 \times 10^{8,38}$ ДИКТ50/мл |
| <i>Listeria monocytogenes</i>         | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | Echovirus                             | $1 \times 10^{5,93}$ ДИКТ50/мл |
| <i>Peptostreptococcus anaerobius</i>  | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл | Rotavirus                             | $1 \times 10^{6,25}$ ДИКТ50/мл |
| <i>Plesiomonas shigelloides</i>       | $1,2 \times 10^8$ КОЕ/мл |                                       |                                |

\*Положительная перекрестная реактивность

### 18.6 Реакционная способность штаммов

Реакционная способность штаммов *Clostridium difficile* определялась путем добавления в образцы отрицательного кала нижеперечисленных штаммов в концентрации  $5,7 \times 10^7$  КОЭ/мл. Образцы исследовались с помощью набора LIAISON® GDH Assay. Все они показали положительный результат:

Токсигенные штаммы *C. difficile*: 2004111, 2004118, 2004205, 2005070, 2005105, 2005106, 2005195, 2005126, 2005220, 2005257, 2005323, 2005325, 2005451, 2005506, 2006060, 2006062, 2006240, 2006366, 2007050, 2007077, 2007279, 2007431, 2007435, 2007459, 2007802, 2007858, 2008016, 2008029, 2008068, 2008162, 2008188, 2008341, 2008351, 2009018, 2009065, 2009066, 2009099, 2009287, 2009363, 20100278, 20100280, 20100304, 20100307, 20100378, 20100381,

ATCC43255, ATCC43598

Нетоксигенные штаммы *C. difficile*: 20110962, 20100459, 20110074, 20110203, 20110336, 20110451, 20110471, 20110682, 2011812, 20110836, ATCC700057

#### **18.7 Контаминация**

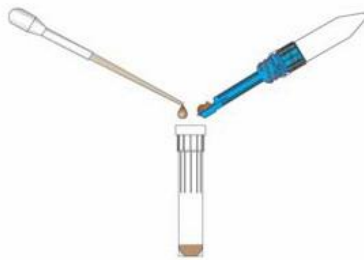
Были проведены исследования для определения вероятности контаминации при выполнении данного исследования. Полученные результаты показали, что изменений в значениях не наблюдалось, результаты демонстрировали отсутствие контаминации в пробах при использовании набора LIAISON® *C.difficile* GDH Assay, выполненного на анализаторе LIAISON®.

Контаминация на анализаторе LIAISON®XL невозможна благодаря использованию одноразовых наконечников.

## 1. LIAISON® *C. difficile* GHD Пробоподготовка с использованием устройства для экстракции кала



Добавьте Разбавитель LIAISON® *C. difficile* в пробирку для смешивания.

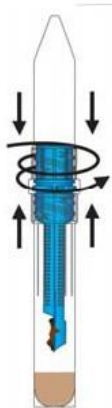


Добавьте кал:

А) Жидкий или полужидкий с помощью дозатора

В) Твердый: с помощью лопатки на конце голубого фильтра пробирки или похожего устройства.

## 2. Сборка устройства



ПЛОТНО закрутите элемент с голубым фильтром на пробирку для смешивания. Наружные кромки каждого элемента должны плотно прилегать друг к другу  
**ПРИМЕЧАНИЕ:** Если устройство собрано верно, не должно быть прорезей



Устройство собрано правильно:  
Нет прорезей



Устройство собрано неправильно:  
Видна прорезь между элементами

## 3. Перемешивание



Перемешайте содержимое в течение 20 секунд на вортексе.

## 4. Центрифугирование



Отцентрифугируйте содержимое на скорости 2000 об/мин в течение 10 минут. Устройство должно быть помещено в центрифугу конической пробиркой вверх



Переверните устройство конической пробиркой вниз. Отцентрифугируйте на скорости 200 об/мин в течение 1 минуты.  
**ПРИМЕЧАНИЕ:** После этого устройство должно находиться строго в вертикальном положении.

## 5. Проведение исследования



Открутите коническую пробирку от устройства. Утилизируйте пробирку для перемешивания и голубой фильтр. Проверьте супернатант. Он может быть мутным, но в нем не должно быть дебриса или пузырей.

Поместите коническую пробирку в анализатор для исследования или прочтите раздел 9, где Вы найдете рекомендации по хранению экстракта. Обработайте рабочую зону 5% гпх.



Биологическая опасность  
Одноразовое устройство