

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Gebrauchsanweisung

CE **IVD**

Marken-, Patent- und Urheberschutzangaben

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.

© 2016-2024 Cepheid.

See Revision History for a detailed list of changes.

Cepheid[®], das Cepheid-Logo, GeneXpert[®] und Xpert[®] sind Marken von Cepheid, die in den USA und anderen Ländern eingetragen sind.

Alle anderen Marken sind Eigentum ihrer jeweiligen Inhaber.

MIT DEM ERWERB DIESES PRODUKTS WIRD DEM KÄUFER DAS NICHT ÜBERTRAGBARE RECHT ZU SEINER VERWENDUNG ENTSPRECHEND DER VORLIEGENDEN GEBRAUCHSANWEISUNG GEWÄHRT. ES WERDEN KEINE ANDEREN RECHTE ÜBERTRAGEN, WEDER AUSDRÜCKLICH NOCH STILLSCHWEIGEND ODER DULDEND. DARÜBER HINAUS GEHT AUS DEM ERWERB DIESES PRODUKTS KEIN RECHT DES WEITERVERKAUFS HERVOR.

© 2016–2024 Cepheid.

Beschreibung der Änderungen siehe #unique_2 Revisionsverlauf.

Xpert[®] C. difficile BT

In-vitro-Diagnostikum

1 Markenname

Xpert[®] C. difficile BT

2 Gebräuchlicher oder üblicher Name

Xpert C. difficile BT Test

3 Verwendungszweck

Der Cepheid Xpert C. difficile BT Test, durchgeführt auf dem Cepheid , ist ein qualitativer *In-vitro*-Diagnostiktest für die für den schnellen Nachweis von C. difficile *tcdB* (Toxin-B-Gen), *cdt* (Gen für binäres Toxin) sowie die Deletion eines Nukleotids an der Position 117 des *tcdC*-Gens aus ungeformten (flüssigen oder weichen) Stuhlproben, die von Patienten mit einer vermuteten *Clostridium-difficile*-Infektion (CDI) stammen. Der Xpert C. difficile BT Test ist zur Verwendung als Hilfsmittel bei der Diagnostizierung von CDI und beim Nachweis von potenziell mit einer schwereren Erkrankung assoziierten Stämmen bestimmt. Der Test verwendet das Prinzip der automatisierten Polymerase-Kettenreaktion (Polymerase Chain Reaction, PCR) für den Nachweis von *tcdB*, *cdt* und der *tcdC*-Deletion bei Base 117, die mit dem Ribotyp-027-Stamm assoziiert ist. Binäres Toxin wird von einer geringen Anzahl von C. difficile-Stämmen, u. a. dem 027-Stamm, produziert. Binäres Toxin zusammen mit dem Nachweis von *tcdB* ist häufig ein Indikator für eine schwerere bzw. rezidivierende Erkrankung. Isolate von C. difficile, die negativ für *tcdB* sind, aber nur Gene für binäres Toxin enthalten, können Symptome hervorrufen, die toxigenen C. difficile-Stämmen ähneln. Die klinische Bedeutung derartiger Stämme ist jedoch derzeit nicht bekannt. Gleichzeitige Kulturen sind nur erforderlich, wenn Bedarf für eine weitergehende Typisierung oder die Gewinnung von Organismen besteht.

4 Zusammenfassung und Erklärung

C. difficile ist ein grampositiver, sporenbildender, anaerober Bazillus, der im Jahre 1978 erstmals mit Erkrankungen in Verbindung gebracht wurde.¹

Clostridium-difficile-Infektionen (CDI) reichen von leichtem Durchfall bis zur schweren und lebensbedrohlichen pseudomembranösen Colitis.² Die reife bakterielle Darmflora bei gesunden Erwachsenen ist im Allgemeinen resistent gegenüber einer Besiedlung mit C. difficile.³ Wenn jedoch die normale Darmflora verändert wird, geht die Resistenz gegenüber der Besiedlung durch andere Spezies, wie C. difficile, verloren. Der häufigste Risikofaktor zum Entstehen einer CDI ist der Antibiotika-Einsatz.⁴ Der primäre Virulenzfaktor von C. difficile ist das Cytotoxin B.⁵ Die kodierenden Gene für Toxin A (*tcdA*; das Enterotoxin) und Toxin B (*tcdB*) gehören zum Pathogenitätsloкус (PaLoc).^{6,7} Die meisten pathogenen Stämme sind Toxin-A-positive, Toxin-B-positive (A+B+) Stämme. Jedoch sind auch Toxin-A-negative, Toxin-B-positive (A-B+) Isolatvarianten als pathogen anerkannt.⁸ Manche Stämme von C. difficile produzieren darüber hinaus eine Actin-spezifische ADP-Ribosyltransferase, die als CDT oder binäres Toxin bezeichnet wird.⁸ Manche Stämme von C. difficile produzieren darüber hinaus eine Actin-spezifische ADP-Ribosyltransferase, die als CDT oder binäres Toxin bezeichnet wird. Der Lokus für das binäre Toxin enthält zwei separate Gene (*cdtA* und *cdtB*) und liegt außerhalb des PaLoc.^{9,10,11}

Die herkömmliche CDI-Diagnose beruht entweder auf dem Nachweis von Toxin B direkt aus dem Stuhl (der Zellkultur-Zytotoxizitäts-Neutralisationstest [CCCN-Test]) oder auf der Kultur des Organismus mit anschließender Bestimmung der Toxin-B-Produktion durch das Isolat (toxigene Kultur). Sowohl der CCCN-Test als auch die toxigene Kultur sind arbeitsaufwändig, gelten aber aufgrund der hohen Spezifität der ersteren bzw. Sensitivität der letzteren Methode weiterhin als „Goldstandards“.^{12,13} Für den Nachweis von Toxin A und B wurden verschiedene Schnell-Enzymimmunoassays

entwickelt. Diese Tests weisen jedoch eine geringere Sensitivität und Spezifität gegenüber dem CCCN-Test auf. Es wurden PCR-Methoden für den Nachweis der mit der Produktion von Toxin A und/oder Toxin B assoziierten Gene entwickelt, die sich durch hohe Sensitivität und Spezifität gegenüber der toxischen Kultur auszeichnen.¹⁴

Zusätzlich zu Toxin A und B legen neuere Veröffentlichungen eine Verbindung zwischen der Produktion von binärem Toxin einerseits und Schwere und Verlauf der Erkrankung andererseits nahe. Bauer et al.¹⁵ konnten die Anwesenheit von Genen für binäres Toxin in toxischen Isolaten bei 23% der CDI-Fälle in Europa nachweisen. Von *cdt*-Genen produziertes binäres Toxin wird häufig bei *C. difficile*-Stämmen festgestellt, die mit einer erhöhten Schwere der CDI einhergehen. Binäres Toxin gehört zur Familie der ADP-ribosylierenden Toxine und besteht aus *cdtA*-Genen, der enzymatischen ADP-Ribosyltransferase, die Actin modifiziert, und *cdtB*, das sich an Wirtszellen bindet und das *cdtA*-Produkt in das Cytosol transloziert. Zahlreiche klinische Studien weisen auf eine Verbindung zwischen dem Vorliegen von Genen für binäres Toxin bei *C. difficile* und einer erhöhten CDI-Mortalität nach 30 Tagen unabhängig vom PCR-Ribotyp hin. Andere Veröffentlichungen zeigen, dass Personen mit schwerer CDI, fulminanter Kolitis und/oder rezidivierender CDI häufiger mit *C. difficile*-Ribotypen infiziert sind, die die Gene für die Produktion von binärem Toxin (*cdtA/cdtB*) tragen, als diejenigen ohne diese Komplikationen.^{16,17}

Eine Untergruppe der binären Toxine produzierenden Isolate weist Mutationen des Toxin-Negativregulator-Gens (*tcdC*) auf, d. h. eine Deletion bei Nukleotid 117 (*tcdC*Δ117), die mit Ribotyp-027-Stämmen konsistent ist. Eine durch 027/NAP1/BI-Stämme verursachte Infektion geht eventuell mit einer höheren Mortalitäts- und Morbiditätsrate einher, einschließlich Aufnahme in die Intensivstation und verlängertem stationärem Aufenthalt. Eine multivariate Analyse hat eine signifikante Verbindung zwischen Schwere der Erkrankung und dem Vorliegen von Ribotypen, die das Gen für binäres Toxin tragen, mit oder ohne Deletion bei Nukleotid 117 ergeben. In den vergangenen zwei Dekaden ist es zu Ausbrüchen von CDI gekommen, die einer Reihe von neuen, „hypervirulenten“ Stämmen zugeschrieben werden, darunter auch gegen Fluorchinolon resistente Stämme, die zum PCR-Ribotyp 027 gehören (und auch als Pulsed-Field-Gelelektrophorese-Gruppe NAP1 und Restriktionsendonuklease-Assay Typ BI bezeichnet werden).^{8,18} Stämme des Typs 027 können eine erhöhte Toxinproduktion aufweisen, was Deletionen im Regulatorgen *tcdC* zugeschrieben wird, und produzieren eventuell mehr Sporen, wodurch sie widerstandsfähiger in der Umwelt sind.^{19,20} Ein vermutlich positives Ergebnis für 027 kann bei der Identifikation möglicher Ursachen für einen Ausbruch von 027 behilflich sein.

Abschließend sei auf weitere Studien verwiesen, in denen Fälle von Patienten mit Durchfall und Verdacht auf *C. difficile*-Infektion aufgrund von Toxinotyp XI/PCR Ribotyp 033 bzw. 033-ähnlichen Stämmen, die positiv für binäres Toxin, jedoch negativ für Toxin A und B waren, beschrieben werden.^{21,22} Die klinische Bedeutung derartiger für binäres Toxin positiver und für Toxin B negativer Stämme ist derzeit unklar.

5 Verfahrensprinzip

Die automatisieren und integrieren die Probenvorbereitung, Nukleinsäurereinigung und -amplifikation und den Nachweis der Zielsequenzen in einfachen oder komplexen Proben mithilfe von Echtzeit-PCR-Tests. Die Systeme bestehen aus einem Instrument, einem PC und einer vorinstallierten Software zur Durchführung der Tests an klinischen Proben und zum Anzeigen der Ergebnisse. Das System arbeitet mit GeneXpert-Kartuschen (Einwegartikel), die die PCR-Reagenzien enthalten und in denen die Vorgänge zur DNA-Extraktion und -Amplifikation sowie zum Nachweis der Amplikons ablaufen. Da die Kartuschen abgeschlossene Einheiten darstellen, wird die Kreuzkontamination zwischen Proben minimiert. Eine vollständige Beschreibung der Systeme ist im *GeneXpert Dx System Operator Manual* bzw. im *GeneXpert Infinity System Operator Manual* zu finden.

Der Xpert *C. difficile* BT Test enthält Reagenzien für den Nachweis von toxinproduzierendem *C. difficile* und eine Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC). Die SPC zeigt die adäquate Bearbeitung der Zielbakterien an und überwacht die PCR-Reaktion auf vorhandene Hemmsubstanzen. Mit der Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC) werden die Rehydrierung der Reagenzien, die Befüllung des PCR-Gefäßes in der Kartusche, die Sondenintegrität und die Farbstoffstabilität überprüft.

Die Primer und Sonden im Xpert *C. difficile* BT Test weisen Sequenzen in den Genen für Toxin B (*tcdB*), binäres Toxin (*cdt*) sowie die *tcdC*Δ117 nach.

6 Reagenzien und Instrumente

6.1 Enthaltene Materialien

Das Xpert *C. difficile* BT-Kit enthält ausreichend Reagenzien zur Bearbeitung von 10 Patienten- oder Qualitätskontrollproben.

Das Kit enthält die folgenden Materialien:

Xpert C. difficile BT Kartuschen mit integrierten Reaktionsbehältern

- | | |
|--|------------------------------|
| • Kügelchen 1, Kügelchen 2 und Kügelchen 3 (gefriergetrocknet) | 10
1 pro Kartusche |
| • Reagenz 1 | 3,0 ml pro Kartusche |
| • Reagenz 2 (Natriumhydroxid) | 3,0 ml pro Kartusche |

Xpert C. difficile BT Reagenzienbeutel **10**

- Probenreagenz (Guanidinthiocyanat) 10 x 2,0 ml pro Beutel

CD **1 pro Kit**

- Assay-Definitionsdateien (Assay Definition Files, ADF)
- Anweisungen zum Importieren der ADF in die Software
- Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage)

Anmerkung

Sicherheitsdatenblätter (SDB) sind auf den Webseiten www.cepheid.com oder www.cepheidinternational.com unter der Registerkarte **SUPPORT** erhältlich.

Anmerkung

Das bovine Serumalbumin (BSA) in den Kügelchen dieses Produkts wurde ausschließlich aus bovinem Plasma gewonnen und hergestellt, das aus den USA stammt. Die Tiere erhielten keinerlei Wiederkäuer- oder anderes Tierprotein mit dem Futter und wurden ante- und post-mortem Tests unterzogen. Bei der Verarbeitung wurde das Material nicht mit anderen Tiermaterialien vermischt.

6.2 Aufbewahrung und Handhabung

- Wahren Sie das Xpert C. difficile BT Kit bei 2–28 °C auf.
- Probenreagenz oder Kartuschen nicht nach Ablauf des Verfallsdatums verwenden.
- Öffnen Sie den Deckel der Kartusche erst, wenn Sie bereit sind, die Testung durchzuführen.
- Kein Probenreagenz verwenden, das trübe geworden ist oder sich verfärbt hat.
- Keine leckenden Kartuschen verwenden.

6.3 Erforderliche, jedoch nicht im Lieferumfang enthaltene Materialien

- oder (verschiedene Bestellnummern, je nach Konfiguration): GeneXpert-Instrument, Computer mit spezieller GeneXpert-Software, Version 4.3 oder höher, Barcodescanner und Benutzerhandbuch.
- Drucker: Falls ein Drucker benötigt wird, wenden Sie sich bitte an einen Außendienstmitarbeiter von Cepheid, um einen empfohlenen Drucker zu erwerben.
- Vortex-Mixer
- Saubere Einweg-Transferpipetten.
- Trockener Tupfer für den Transfer der Patientenprobe, zum Beispiel der im Cepheid Sample Collection Device (Cepheid Bestellnummer: 900-0370), im Cepheid Single-Use Disposable Swab (Cepheid Bestellnummer: SDPS-120) oder im Copan Doppeltupfer- und Transportsystem (139CFM LQ STUART) enthaltene Tupfer.

7 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

- Alle biologischen Proben und auch die gebrauchten Kartuschen und Reagenzien sind als potenziell infektiös zu behandeln. Da es oft unmöglich ist, potenziell infektiöse Proben zu erkennen, sind alle biologischen Proben gemäß den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu behandeln. Richtlinien für den Umgang mit Proben sind von den U.S. Centers for Disease Control and Prevention und dem Clinical and Laboratory Standards Institute erhältlich.^{23,24}
- Die Sicherheitsvorkehrungen der jeweiligen Einrichtung für den Umgang mit Chemikalien und biologischen Proben sind zu befolgen.

- Saubere Laborkittel und Handschuhe verwenden. Nach der Bearbeitung jeder einzelnen Probe die Handschuhe wechseln.
- Keine Xpert *C. difficile* BT-Reagenzien durch andere Reagenzien ersetzen.
- Der Deckel der Xpert *C. difficile* BT Kartusche darf nur für die Zugabe von Probe und Reagenzien oder zur Entnahme von Proben aus der ursprünglichen Kartusche zur Durchführung eines Wiederholungstests in einer neuen Kartusche geöffnet werden.
- Keine Kartuschen verwenden, die nach der Entnahme aus der Verpackung fallen gelassen wurden.
- Die Kartusche nicht schütteln. Wenn die Kartusche nach dem Öffnen des Deckels geschüttelt oder fallen gelassen wird, sind die Ergebnisse möglicherweise ungültig.
- Kartuschen mit beschädigtem Reaktionsbehälter dürfen nicht verwendet werden.
- Das Etikett mit der Proben-ID nicht auf den Kartuschendeckel oder über das Strichcode-Etikett kleben.
- Jede Einweg-Xpert *C. difficile* BT-Kartusche dient zur Durchführung eines einzigen Tests. Eine verbrauchte Kartusche nicht wiederverwenden.
- Biologische Proben, Transfervorrichtungen und gebrauchte Kartuschen sind als infektiös anzusehen und mit den üblichen Vorsichtsmaßnahmen zu handhaben. Bezüglich der angemessenen Entsorgung gebrauchter Kartuschen und nicht verwendeter Reagenzien sind die Umweltschutzvorschriften der jeweiligen Einrichtung einzuhalten. Diese Materialien können chemischen Sondermüll darstellen, der gemäß bestimmten nationalen oder regionalen Vorgehensweisen entsorgt werden muss. Falls die Vorschriften des jeweiligen Landes bzw. der jeweiligen Region keine klaren Anweisungen zur ordnungsgemäßen Entsorgung enthalten, sollten biologische Proben und gebrauchte Kartuschen gemäß den Richtlinien der WHO (Weltgesundheitsorganisation) zur Handhabung und Entsorgung von medizinischen Abfällen entsorgt werden.
- Bei einer Kontamination des Arbeitsbereichs oder von Geräten mit Proben oder Kontrollen den kontaminierten Bereich mit 1:10 verdünnter haushaltsüblicher Chlorbleiche und anschließend mit 70%igem Ethanol gründlich reinigen. Die Arbeitsoberflächen abwischen, bis sie vollständig getrocknet sind, bevor fortgefahren wird.

8 Chemische Gefahren^{25,26}

- Signalwort: ACHTUNG
- **UN-GHS-Gefahrenhinweise:**
 - Gesundheitsschädlich bei Verschlucken.
 - Verursacht Hautreizungen.
 - Verursacht schwere Augenreizung.
- **UN-GHS-Sicherheitshinweise:**
 - **Prävention**
 - Nach Gebrauch gründlich waschen.
 - Bei Gebrauch nicht essen, trinken oder rauchen.
 - Freisetzung in die Umwelt vermeiden.
 - Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz tragen.
 - **Reaktion**
 - BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT: Mit viel Wasser und Seife waschen.
 - Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen.
 - Besondere Behandlung: Siehe zusätzliche Erste-Hilfe-Informationen.
 - Bei Hautreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen.
 - Bei anhaltender Augenreizung: Ärztlichen Rat einholen/ärztliche Hilfe hinzuziehen.
 - BEI VERSCHLUCKEN: Bei Unwohlsein umgehend GIFTINFORMATIONSZENTRUM oder Arzt anrufen.
 - Mund ausspülen.
 - **Lagerung/Entsorgung**
 - Inhalt und/oder Behälter in Übereinstimmung mit den örtlichen, regionalen, nationalen und/oder internationalen Vorschriften entsorgen.

9 Entnahme, Transport und Aufbewahrung der Proben

1. Die ungeformte Stuhlprobe in einem sauberen Behälter entnehmen. Die Richtlinien Ihrer jeweiligen Einrichtung zur Entnahme von Proben zum Test auf *C. difficile* befolgen.
2. Mit der Patienten-ID beschriften und zum Test ans Labor senden.
3. Die Probe bei 2–8 °C aufbewahren. Bei Aufbewahrung bei 2–8 °C ist die Probe bis zu 5 Tage lang stabil. Die Proben können auch bis zu 24 Stunden lang bei Raumtemperatur (20–30 °C) aufbewahrt werden.

10 Verfahren

10.1 Vorbereitung der Kartusche

Wichtig Der Test muss innerhalb von 30 Minuten nach Zugabe der Probe in die Kartusche begonnen werden.

Zugabe der Probe in die Kartusche:

1. Kartusche und Probenreagenz aus der Verpackung nehmen.
2. Einen Tupfer kurz in die ungeformte Stuhlprobe tauchen. Der Tupfer muss sich dabei nicht vollständig vollsaugen.
3. Den Tupfer in das Fläschchen mit Probenreagenz einführen.

Anmerkung Ein Stück sterilen Mull verwenden, um das Kontaminationsrisiko zu minimieren.

4. Den Tupfer dicht am Rand des Röhrchens am Stiel anfassen, den Tupfer einige Millimeter vom Boden des Röhrchens abheben und den Stiel abbrechen, indem er gegen den Rand des Röhrchens gedrückt wird. Achten Sie darauf, dass der Tupfer kurz genug ist, sodass der Deckel fest verschlossen werden kann.
5. Mit dem Deckel verschließen und 10 Sekunden lang bei hoher Geschwindigkeit im Vortex mixen.
6. Öffnen Sie den Kartuschendeckel. Mit einer sauberen Transferpipette den gesamten Inhalt des Probenreagenzes in die Probenkammer der Kartusche transferieren.
7. Den Kartuschendeckel schließen.

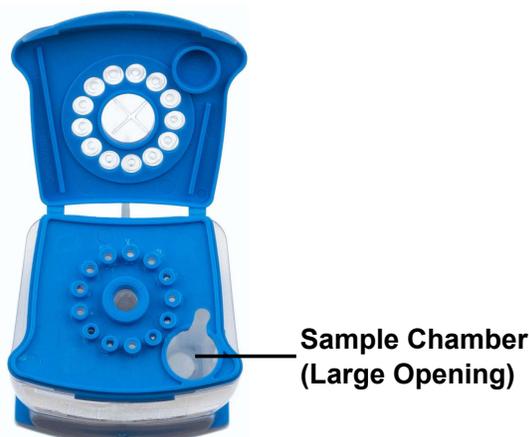


Abbildung 1. Kartusche (Draufsicht)

10.2 Testbeginn

Wichtig Stellen Sie bei Verwendung eines *GeneXpert Dx Systems* vor Beginn des Tests sicher, dass auf dem System die GeneXpert Dx-Softwareversion 4.7b oder höher läuft und dass die richtige Assay-Definitionsdatei in die Software importiert wurde.

Wichtig Stellen Sie bei Verwendung eines *GeneXpert Infinity Systems* vor Beginn des Tests sicher, dass auf dem System die Xpertise-Softwareversion 6.4b oder höher läuft und dass die richtige Assay-Definitionsdatei in die Software importiert wurde.

In diesem Abschnitt werden die grundlegenden Schritte der Testdurchführung beschrieben. Detaillierte Anweisungen finden Sie, abhängig vom benutzten Modell, im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*.

Anmerkung Die zu befolgenden Schritte können sich von der hier enthaltenen Beschreibung unterscheiden, falls der Standard-Workflow des Systems vom Systemverwalter geändert wurde.

1. Schalten Sie das GeneXpert-Instrument ein:
 - Schalten Sie bei Verwendung des *GeneXpert Dx-Instruments* zuerst das GeneXpert Dx-Instrument und dann den Computer ein. Die GeneXpert Software startet automatisch. Falls nicht, doppelklicken Sie auf das Verknüpfungssymbol für die GeneXpert Dx-Software auf dem Windows®-Desktop.
 - oder
 - Bei Verwendung des *GeneXpert Infinity-Instruments* das Instrument hochfahren. Die Xpertise-Software startet automatisch. Falls nicht, doppelklicken Sie auf das Verknüpfungssymbol für die Xpertise-Software auf dem Windows®-Desktop.
2. Melden Sie sich mit Ihrem Benutzernamen und Kennwort bei der Software des GeneXpert-Instrumentensystems an.
3. Klicken Sie im GeneXpert-System-Fenster auf **Test erstellen (Create Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Anforderungen (Orders)** und **Test anfordern (Order Test)** (Infinity). Das Fenster **Test erstellen (Create Test)** erscheint. Das Dialogfeld **Patienten-ID-Barcode scannen (Scan Patient ID Barcode)** öffnet sich.
4. Scannen oder tippen Sie die Patienten-ID (Patient ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Patienten-ID (Patient ID). Die Patienten-ID (Patient ID) ist mit den Testergebnissen verknüpft. Sie wird im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** angezeigt und ist in allen Berichten enthalten. Das Dialogfeld **Proben-ID-Barcode scannen (Scan Sample ID Barcode)** öffnet sich.
5. Scannen oder tippen Sie die Proben-ID (Sample ID) ein. Vermeiden Sie Tippfehler beim Eintippen der Proben-ID (Sample ID). Die Proben-ID ist mit den Testergebnissen verknüpft und erscheint im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)** sowie in allen Berichten. Das Dialogfeld **Kartuschen-Barcode scannen (Scan Cartridge Barcode)** öffnet sich.
6. Den Barcode der Kartusche einscannen. Anhand der über den Barcode erhaltenen Informationen werden die folgenden Felder automatisch ausgefüllt: „Assay auswählen (Select Assay)“, „Chargen-ID (Reagent Lot ID)“, „Kartuschen-Serienr. (Cartridge SN)“ und „Verfallsdatum (Expiration Date)“.

Anmerkung Falls der Barcode auf der Kartusche sich nicht einscannen lässt, wiederholen Sie den Test mit einer neuen Kartusche. Falls Sie den Kartuschen-Barcode in der Software gescannt haben und die Assay-Definitionsdatei nicht verfügbar ist, erscheint ein Bildschirm mit der Meldung, dass die Assay-Definitionsdatei nicht im System geladen ist. Wenn dieser Bildschirm erscheint, wenden Sie sich an den technischen Kundendienst von Cepheid.

7. Klicken Sie auf **Test starten (Start Test)** (GeneXpert Dx) bzw. **Einreichen (Submit)** (Infinity). Geben Sie im Dialogfeld, das sich daraufhin öffnet, falls erforderlich Ihr Kennwort ein.
 8. Bei Verwendung des *GeneXpert Infinity Systems* stellen Sie die Kartusche auf das Förderband. Die Kartusche wird automatisch geladen, der Test wird ausgeführt, und die benutzte Kartusche wird in den Abfallbehälter gelegt.
- oder
- Bei Verwendung des *GeneXpert Dx-Instruments*:
- a) Öffnen Sie die Klappe des Instrumentenmoduls mit der grün blinkenden Leuchte und laden Sie die Kartusche.
 - b) Schließen Sie die Klappe. Der Test beginnt und die grüne Leuchte hört auf zu blinken. Wenn der Test abgeschlossen ist, erlischt die Leuchte.
 - c) Warten Sie, bis das System die Klappenverriegelung freigegeben hat, und öffnen Sie anschließend die Modulklappe. Entfernen Sie dann die Kartusche.
 - d) Verbrauchte Kartuschen müssen entsprechend den üblichen Praktiken der jeweiligen Einrichtung in einem geeigneten Proben-Abfallbehälter entsorgt werden.

11 Anzeigen und Drucken der Ergebnisse

In diesem Abschnitt sind die grundsätzlichen Schritte für Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse aufgelistet. Detailliertere Anweisungen zum Anzeigen und Ausdrucken der Ergebnisse finden Sie im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Dx System* oder im *Benutzerhandbuch für das GeneXpert Infinity System*, je nachdem, welches Modell Sie verwenden.

1. Klicken Sie auf das Symbol **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um die Ergebnisse anzuzeigen.

2. Nach Durchführen des Tests klicken Sie auf die Schaltfläche **Bericht (Report)** im Fenster **Ergebnisse anzeigen (View Results)**, um eine Berichtdatei im PDF-Format anzuzeigen bzw. zu erstellen.

12 Qualitätskontrolle

Alle Tests verwenden eine Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC) und eine Sondenprüfungskontrolle (Probe Check Control, PCC).

- **Probenbearbeitungskontrolle (Sample Processing Control, SPC):** Stellt sicher, dass die Probe korrekt bearbeitet wurde. Die PVK enthält Sporen von *Bacillus globigii* in Form eines trockenen Kügelchens, das in jeder Kartusche enthalten ist, um die angemessene Bearbeitung der Probe zu verifizieren. Die SPC verifiziert, dass die Lyse von *C. difficile*-Bakterien und -Sporen eingetreten ist, sofern diese Organismen vorhanden sind, und dass die Bearbeitung der Patientenprobe adäquat ist. Darüber hinaus stellt diese Kontrolle eine probenbedingte Hemmung des Echtzeit-PCR-Tests fest und stellt sicher, dass die Bedingungen der PCR-Reaktion (Temperatur und Zeit) für die Amplifikationsreaktion geeignet und die PCR-Reagenzien funktionsfähig sind. Bei einer negativen Probe sollte die SPC positiv sein; bei einer positiven Probe kann sie negativ oder positiv sein. Die SPC hat den Test „bestanden“, wenn sie die validierten Akzeptanzkriterien erfüllt.
- **Sondenprüfungskontrolle (PCC):** Vor Beginn der PCR-Reaktion verifiziert das GeneXpert System anhand des gemessenen Fluoreszenzsignals von den Sonden die Rehydrierung der Kügelchen, Füllung des Reaktionsbehälters, Unversehrtheit der Sonden und Stabilität des Farbstoffs. Die Sondenprüfung gilt als bestanden, wenn die festgelegten Akzeptanzkriterien erfüllt sind.

13 Interpretation der Ergebnisse

Die GeneXpert-Instrumentensysteme interpretieren die Ergebnisse anhand der gemessenen Fluoreszenzsignale und eingebauten Berechnungsalgorithmen. Die Ergebnisse werden im Fenster „Ergebnisse anzeigen“ (View Results) angezeigt. Die möglichen Ergebnisse gehen aus der nachstehenden Tabelle hervor.

Tabelle 1. Xpert *C. difficile* BT – Ergebnisse und Auswertung

Ergebnis	Interpretation
<p>Toxigener <i>C. diff</i> POS, binäres Toxin NEG, 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG</p> <p>Siehe Abbildung 2.</p>	<p>Ziel-DNA-Sequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxinproduzierender <i>C. difficile</i> – die Zielsequenz für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> (Toxin-B-Gen) weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • Das Gen für binäres Toxin und die <i>tcdC</i>-Deletion bei Nt 117 wurden nicht nachgewiesen. • SPC – Nicht zutreffend (Not applicable); SPC wird ignoriert, da die <i>C. difficile</i>-Zielamplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
<p>Toxigener <i>C. diff</i> POS, binäres Toxin POS, 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 NEG</p> <p>Siehe Abbildung 3.</p>	<p>Ziel-DNA-Sequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Die Zielsequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> (Toxin-B-Gen sowie Gen für binäres Toxin) weisen einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. Die <i>tcdC</i>-Deletion bei Nt 117 wurde nicht nachgewiesen. • SPC – KA (NA) (nicht zutreffend); SPC wird ignoriert, da die <i>C. difficile</i>-Zielamplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
<p>Toxigener <i>C. diff</i> POS, binäres Toxin POS, 027 VERMUTLICH POS (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS</p> <p>Siehe Abbildung 4.</p>	<p>Ziel-DNA-Sequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> und vermuteten 027 wurden nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alle Zielsequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> und vermutlichen 027 (Toxin B, binäres Toxin und <i>tcdC</i>-Deletion bei Nt 117) weisen einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • SPC – KA (NA) (nicht zutreffend); SPC wird ignoriert, da die <i>C. difficile</i>-Zielamplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
<p>Toxigener <i>C. diff</i> NEG, binäres Toxin POS, 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG</p> <p>Siehe Abbildung 5.</p>	<p><i>C. difficile</i>-Toxin-B-Gensequenzen wurden nicht nachgewiesen; jedoch wurde eine andere Ziel-DNA-Sequenz (Gen für binäres Toxin) nachgewiesen und weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. Die klinische Bedeutung von nur für binäres Toxin positiven Isolaten ist derzeit nicht bekannt.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC – KA (NA) (nicht zutreffend); SPC wird ignoriert, da die <i>C. difficile</i>-Zielamplifikation u. U. mit dieser Kontrolle konkurriert. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
<p>Toxigener <i>C. diff</i> NEG, binäres Toxin NEG, 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG</p> <p>Siehe Abbildung 6.</p>	<p><i>C. difficile</i>-Ziel-DNA-Sequenzen (Toxin-B-Gen, Gen für binäres Toxin) wurden nicht nachgewiesen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Gensequenzen für toxinproduzierenden <i>C. difficile</i> (Toxin-B-Gen und Gen für binäres Toxin) wurden nicht nachgewiesen; andere Ziel-DNA-Sequenzen für toxigenen <i>C. difficile</i> (<i>tcdC</i>-Deletion bei Nt 117) wurden nicht nachgewiesen. • SPC – BEST. (PASS); die SPC weist einen Ct-Wert innerhalb des gültigen Bereichs sowie einen Endpunkt oberhalb der Minimumeinstellung auf. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.

Ergebnis	Interpretation
UNGÜLTIG (INVALID) Siehe Abbildung 7.	<p>Anwesenheit oder Abwesenheit von Ziel-DNA für <i>C. difficile</i> ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 15. SPC erfüllt nicht die Akzeptanzkriterien, die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR war gehemmt.</p> <ul style="list-style-type: none"> • UNGÜLTIG (INVALID) – Anwesenheit oder Abwesenheit von Ziel-DNA für <i>C. difficile</i> ist nicht zu bestimmen. • SPC – DEFEKT (SPC – FAIL); das SPC-Zielergebnis ist negativ und der SPC-Ct-Wert liegt nicht innerhalb des gültigen Bereichs und der Endpunkt liegt unterhalb der Minimumeinstellung. • Sondenprüfung – BEST. (PASS); alle Sondenprüfungsergebnisse waren erfolgreich.
FEHLER (ERROR)	<p>Anwesenheit oder Abwesenheit von Ziel-DNA für <i>C. difficile</i> ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 15. Die Sondenprüfungskontrolle ist fehlgeschlagen. Dies ist wahrscheinlich auf eine unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, ein nachweisliches Problem mit der Unversehrtheit der Sonden oder eine Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte zurückzuführen.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Binäres Toxin – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • <i>tcdC</i>-Deletion bei Nt 117 – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • *PVK – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondenprüfung – DEFEKT (Probe Check – FAIL)*; alle Sondenprüfungsergebnisse sind bzw. ein Sondenprüfungsergebnis ist fehlgeschlagen. <p>* Wenn die Sondenprüfung bestanden wurde, wurde der Fehler durch den Ausfall einer Systemkomponente verursacht.</p>
KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)	<p>Anwesenheit oder Abwesenheit von Ziel-DNA für <i>C. difficile</i> ist nicht zu bestimmen. Wiederholen Sie den Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 15. Es wurden nicht genügend Daten gesammelt, um ein Testergebnis zu erzielen (zum Beispiel hat der Benutzer einen laufenden Test abgebrochen).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B (<i>tcdB</i>) – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Binäres Toxin (<i>cdt</i>) – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • <i>tcdC</i>Δ117 – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • SPC – KEIN ERGEBNIS (NO RESULT) • Sondenprüfung – nicht zutreffend (Probe Check – NA)

Anmerkung Die in diesem Abschnitt gezeigten Bildschirme (Abbildung 2, Abbildung 3, Abbildung 4, Abbildung 5, Abbildung 6 und Abbildung 7) stammen von einer laufenden Software.

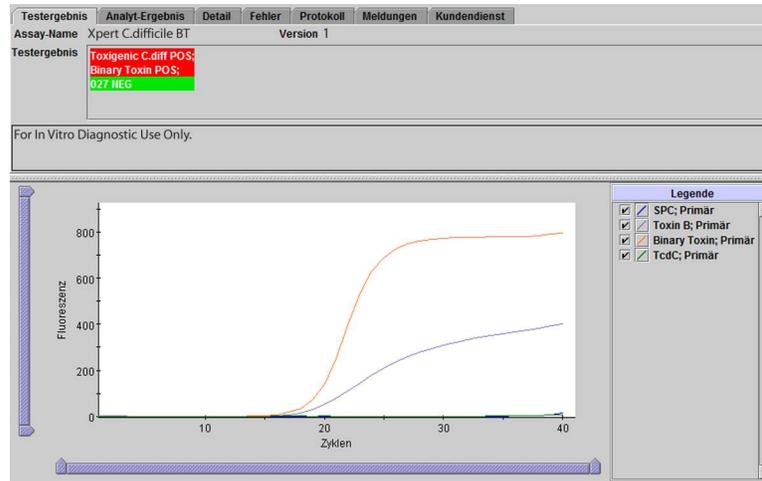


Abbildung 2. Beispiel für das Ergebnis „positiv für toxigenen C. difficile, negativ für binäres Toxin, negativ für 027“ (Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Negative, and 027 Negative)

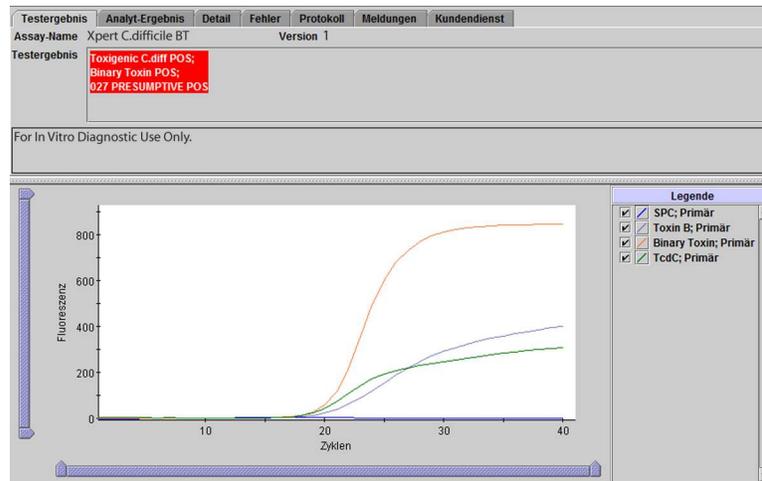


Abbildung 3. Beispiel für das Ergebnis „positiv für toxigenen C. difficile, positiv für binäres Toxin, negativ für 027“ (Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Positive, and 027 Negative)

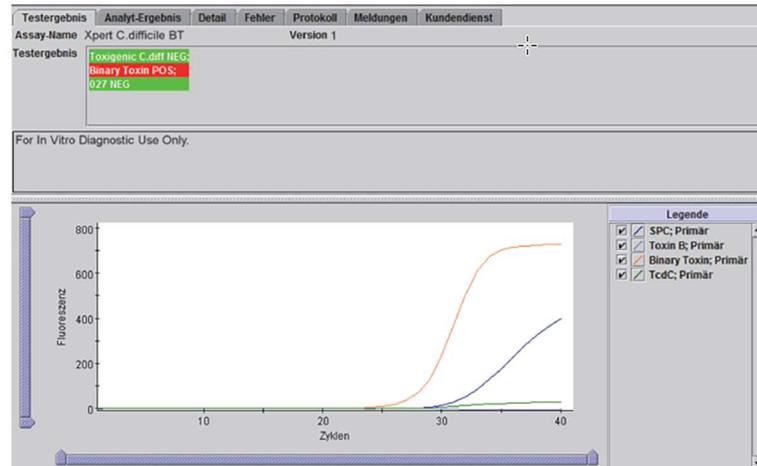


Abbildung 4. Beispiel für das Ergebnis „positiv für toxigenen C. difficile, positiv für binäres Toxin, vermutet positiv für 027“ (Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Positive, and 027 Presumptive Positive)

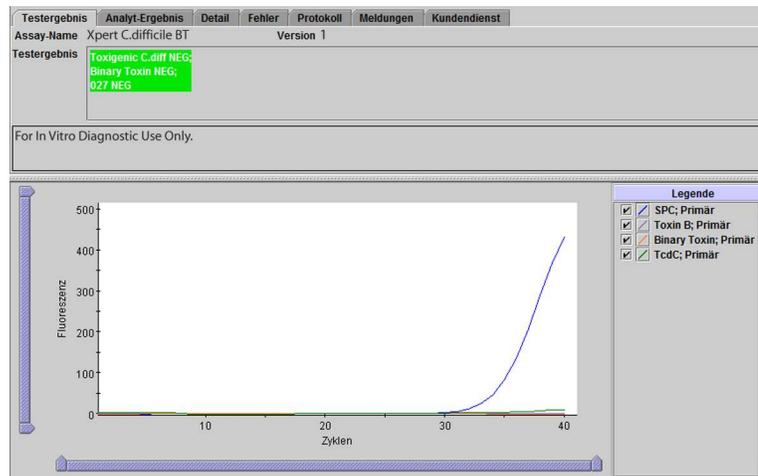


Abbildung 5. Beispiel für das Ergebnis „negativ für toxischen C. difficile, positiv für binäres Toxin, negativ für 027“ (Toxigenic C. diff Negative, Binary Toxin Positive, and 027 Negative Results)

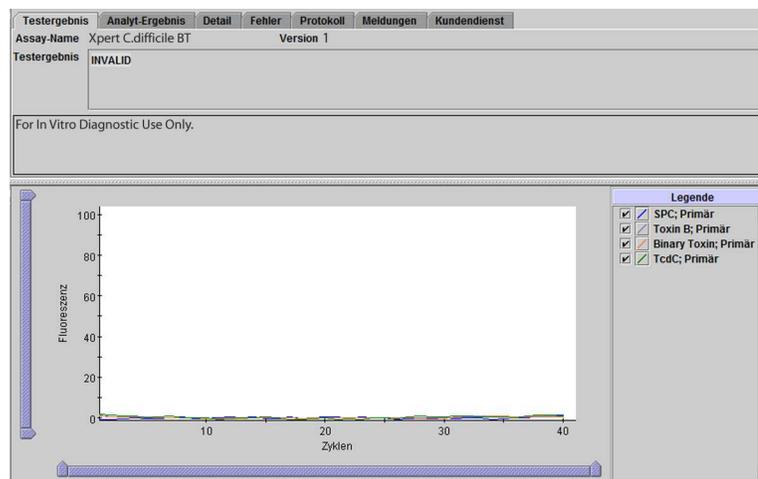


Abbildung 6. Beispiel für das Ergebnis „negativ für toxischen C. difficile, negativ für binäres Toxin, negativ für 027“ (Toxigenic C. diff Negative, Binary Toxin Negative, and 027 Negative)

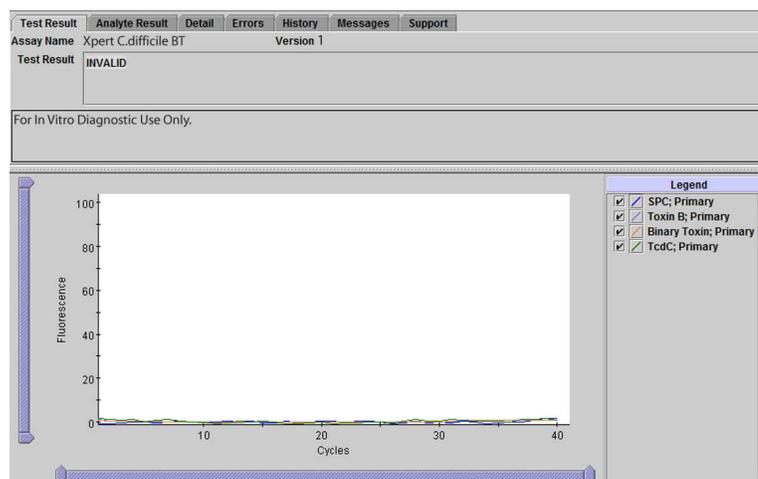


Abbildung 7. Ein Beispiel für das Ergebnis Ungültig (Invalid)

14 Gründe für eine Testwiederholung

Falls es zu einem der nachstehend genannten Testergebnisse kommt, ist der Test gemäß den Anweisungen in Abschnitt 15 ein Mal zu wiederholen.

- Das Ergebnis **UNGÜLTIG (INVALID)** bedeutet, dass die Probenbearbeitungskontrolle (SPC) fehlgeschlagen ist. Die Probe wurde nicht sachgemäß bearbeitet oder die PCR wurde gehemmt.
- Das Ergebnis **FEHLER (ERROR)** bedeutet, dass eventuell die Sondenprüfungskontrolle fehlgeschlagen ist und der Test abgebrochen wurde. Mögliche Ursachen: unzureichende Füllung des Reaktionsbehälters, Problem mit der Unversehrtheit einer Reagenziensonde, Überschreitung der maximalen Druckgrenzwerte, Fehler bei der Ventilpositionierung.
- **KEIN ERGEBNIS (NO RESULT)** bedeutet, dass nicht genügend Daten erfasst wurden. Beispielsweise könnte der Benutzer den Test abgebrochen haben, bevor er abgeschlossen war.

15 Testwiederholung

Bei einem Wiederholungstest innerhalb von 3 Stunden nach einem unbestimmten Ergebnis eine neue Kartusche (Kartusche nicht wiederverwenden) und frische Reagenzien verwenden.

1. Nehmen Sie eine neue Kartusche aus dem Kit.
2. Den verbleibenden Inhalt aus der Probenkammer mithilfe einer Einweg-Transferpipette in ein frisches Fläschchen mit Probenreagenz transferieren.
3. Im Vortex mischen und den gesamten Inhalt des Probenreagenzes in die Probenkammer der neuen Xpert *C. difficile* Kartusche transferieren.
4. Den Deckel schließen und den neuen Test starten.

Bei einem Wiederholungstest mehr als 3 Stunden nach einem unbestimmten Ergebnis den Test mit einer neuen Tupferprobe aus der ursprünglichen Patientenprobe wiederholen.

16 Einschränkungen

- Nicht-027-Isolate, die repräsentativ für den Toxintyp XIV sind, werden vom Test als **Toxigener C. diff POS; Binäres Toxin POS; 027 VERMUTLICH POS (Toxigenic C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** Xpert *C. difficile* BTAusgegeben.
- **Toxigener C. diff NEG; binäres Toxin POS; vermutlich 027 NEG (Toxigenic C. diff NEG; Binary Toxin POS; Presumptive 027 NEG)** mit dem Xpert *C. difficile* BT kann das Toxin-B-Gen und/oder die *tdc*-Deletion unterhalb des LoD des Tests enthalten.
- Gelegentlich werden Nicht-027-Isolate, die repräsentativ für die Toxintypen IV, V und X sind, als **Toxigener C. diff POS; Binäres Toxin POS; 027 VERMUTLICH POS (Toxigenic C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** mit dem Xpert *C. difficile* BT Text ausgegeben.
- Die Leistungsfähigkeit des Xpert *C. difficile* BT Tests wurde ausschließlich anhand der Verfahren validiert, die in dieser Packungsbeilage beschrieben sind. Änderungen an diesen Vorgehensweisen können die Leistung des Tests beeinträchtigen.
- Die Ergebnisse des Xpert *C. difficile* BT Tests sollten in Verbindung mit anderen, dem Arzt zur Verfügung stehenden Labor- und klinischen Daten interpretiert werden.
- Falsche Testergebnisse können durch unsachgemäße Probenentnahme, Nichtbefolgung der empfohlenen Vorgehensweisen für Probenentnahme, -handhabung und -aufbewahrung, Technikfehler, Verwechslung von Proben oder für den Nachweis mit diesem Test zu geringe Anzahl der in der Probe vorhandenen Organismen zustande kommen. Zur Vermeidung falscher Ergebnisse ist die sorgfältige Einhaltung der Anweisungen in dieser Packungsbeilage erforderlich.
- Aufgrund des mit der Durchführung eines Wiederholungstests verbundenen Verdünnungsfaktors ist es möglich, dass *C. difficile*-positive Proben, die sehr nahe an bzw. genau an der Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) des Xpert *C. difficile* BT Tests liegen, beim Wiederholungstest ein falsch negatives Ergebnis erzielen.
- Eine Hemmung des Xpert *C. difficile* BT Tests wurde in Anwesenheit der folgenden Substanzen beobachtet: Zinkoxidpaste und Vagisil® Creme.
- CDI-Ausbrüche können von anderen Stämmen als 027 ausgelöst werden.
- Es kann zu falsch negativen Ergebnissen kommen, wenn der infizierende Organismus Genmutationen, -insertionen, -deletionen oder -umlagerungen aufweist oder der Test in einem sehr frühen Stadium der Erkrankung erfolgt.

- Bei immungeschwächten Patienten erzielte positive Ergebnisse können einen asymptomatischen Trägerstatus für *C. difficile* bedeuten.
- Der Nachweis von *C. difficile*-Nukleinsäure im Stuhl bestätigt das Vorliegen der Organismen bei Patienten mit Durchfall, bedeutet jedoch nicht zwangsläufig, dass *C. difficile* ursächlich für den Durchfall ist.
- Es wurden keine Leistungsmerkmale für Patienten <2 Jahren ermittelt.
- Mutationen oder Polymorphismen in Primer oder Sonden bindenden Regionen können den Nachweis der *C. difficile*-Zieltypen beeinträchtigen und zu einem falsch negativen Ergebnis führen.

17 Erwartete Werte

In die klinische Studie zum Xpert *C. difficile* BT Test wurden insgesamt 2293 ungeformte Stuhlproben von 7 Zentren aus den gesamten USA und Kanada aufgenommen. Anzahl und Prozentanteil der für toxischen *C. difficile* positiven Fälle nach der Kulturmethode werden, nach Alter und Geschlecht berechnet, in den nachstehenden Tabellen wiedergegeben.

Tabelle 2. Beobachtete Prävalenz von toxischem *C. difficile* nach Altersgruppe^a

Altersgruppe	N	Prävalenz von toxischem <i>C. difficile</i> (einschließlich 027)	Prävalenz des binären Toxins	027 Prävalenz von
2-5	16	37,5 % (6/16)	12,5 % (2/16)	12,5 % (2/16)
6-21	105	12,4 % (13/105)	2,9 % (3/105)	0,9 % (1/105)
22-59	898	16,4 % (147/898)	4,8 % (43/898)	3,3 % (30/898)
>60	1274	20,7 % (264/1274)	9,2 % (117/1274)	7,2 % (92/1274)
Insgesamt	2293	18,8 % (430/2293)	7,2 % (165/2293)	5,5 % (125/2293)

^a Prävalenz beruht auf Xpert-Ergebnissen.

Tabelle 3. Beobachtete Prävalenz von toxischem *C. difficile* nach Geschlecht^a

Geschlecht	N	Prävalenz von toxischem <i>C. difficile</i> (einschließlich 027)	Prävalenz des binären Toxins	027 Prävalenz von
Männlich	1072	18,2 % (195/1072)	6,3 % (68/1072)	5,0 % (54/1072)
Weiblich	1221	19,2 % (235/1221)	7,9 % (97/1221)	5,8 % (71/1221)
Insgesamt	2293	18,8 % (430/2293)	7,2 % (165/2293)	5,5 % (125/2293)

^a Prävalenz beruht auf Xpert-Ergebnissen.

18 Leistungsmerkmale

18.1 Klinische Leistungsfähigkeit

Die Leistungsmerkmale des Xpert *C. difficile* BT Tests wurden in einer multizentrischen, prospektiven, investigativen Studie an sieben Einrichtungen in den USA und Kanada durch Vergleich des Xpert *C. difficile* BT Tests mit der Referenzkultur ermittelt. Anschließend erfolgten CCCN-Tests der Isolate und eine Typisierung der toxischen Stämme durch PCR-Ribotypisierung.

Die Probanden waren Personen, deren Routinebehandlung einen Test auf *C. difficile* erforderlich machte. Ein Teil jeder ungeformten Stuhlproben-Restmenge wurde für den Test mit dem Xpert *C. difficile* BT Test entnommen. Die verbleibende überzählige Probenmenge wurde für eine Referenzkultur und Tests auf Cytotoxin B an ein Zentrallabor geschickt. Mit jeder Stuhlprobe wurde eine vorreduzierte Cycloserin-Cefoxitin-Fructose-Agar-Direktplatte (CCFA-D) sowie eine Cycloserin-

Cefoxitin-Mannitol-Bouillon mit Taurocholat-Lysozymcystein (CCMB-TAL) beimpft. Nach 24 Stunden wurde eine zweite CCFA-E-Platte (CCFA- Enriched) als Subkultur mit der CCMB-TAL beimpft. Diese Methode mit direkter und angereicherter Kultur wird im Weiteren als „Referenzkulturmethode“ bezeichnet.

Falls *C. difficile* aus der CCFA-D-Platte isoliert wurde und das Isolat mit dem CCCN-Test positiv war, wurde die Patientenprobe als „toxigener *C. difficile* positiv“ klassifiziert und die CCFA-E-Platte nicht weiter analysiert. Falls kein *C. difficile* aus der CCFA-D-Platte isoliert wurde oder das Isolat mit dem CCCN-Test negativ war, wurde die CCFA-E-Platte weiter analysiert.

Falls die CCFA-E-Platte positiv für *C. difficile* und das Isolat mit dem CCCN-Test positiv war, wurde die Patientenprobe als „toxigener *C. difficile* positiv“ klassifiziert. Die Patientenprobe wurde als „negativ“ gemeldet, falls die CCFA-E-Platte negativ für *C. difficile* war oder das Isolat mit dem CCCN-Test negativ war.

Im Anschluss an die Referenzkulturtests wurden die für toxigenen *C. difficile* positiven Isolate an eine zweite Gruppe von Referenzlabors geschickt, wo eine Stammidentifikation mittels PCR-Ribotypisierung stattfand.

Die Leistungsfähigkeit des Xpert *C. difficile* BT Tests wurde relativ zu den Ergebnissen der direkten Kultur mit Stammtypisierung sowie relativ zur Referenzkultur mit Stammtypisierung berechnet.

18.2 Gesamtergebnisse

Insgesamt 2293 Proben wurden mit dem Xpert *C. difficile* BT Test, der Kultur und Stammtypisierung getestet.

18.2.1 Leistungsergebnisse im Vergleich zur Direktkultur

Relativ zur Direktkultur mit PCR-Ribotypisierung wurden für den Xpert *C. difficile* BT Test eine Sensitivität von 98,78% und Spezifität von 90,86% für toxigenen *C. difficile* ermittelt. Für den Xpert *C. difficile* BT Test wurden darüber hinaus eine positive Übereinstimmung von 100 % und eine negative Übereinstimmung von 97,70 % für 027 ermittelt (siehe nachstehende Tabelle).

Tabelle 4. Leistung des Xpert *C. difficile* BT Tests im Vergleich zur Direktkultur und PCR-Ribotypisierung

Direktkultur und PCR-Ribotypisierung					
		Toxin B+ 027+	Toxin B+ 027-	NEG	Insgesamt
Xpert <i>C. difficile</i> BT^b	Toxin B+ 027+	74	4	47	125
	Toxin B+ 027-	0	164	140	304 ^a
	NEG	0	3	1860	1863
	Insgesamt	74	171	2047	2292 ^a
		Toxigener <i>C. difficile</i>		Toxigener <i>C. difficile</i> / 027	
		Sensitivität: 98,78 % (242/245) Spezifität: 90,86 % (1860/2047) Richtigkeit: 91,71 % (2102/2292) PPV ^c : 56,41 % (242/429) NPV ^d : 99,84 % (1860/1863)		Pos. Übereinstimmung: 100 % (74/74) Neg. Übereinstimmung: 97,70 % (2167/2218) Richtigkeit: 97,77 % (2241/2292) PPV: 59,20 % (74/125) NPV: 100 % (2218/2218)	

a. Ein Isolat war aufgrund von Kontaminationen nicht typisierbar; diese Patientenprobe ging nicht in die oben aufgeführten Leistungsstatistiken ein.

b. Die angegebenen Xpert-Ergebnisse beziehen sich auf den ersten oder zweiten Versuch. Ungefähr 3,2% der Patientenproben waren im ersten Versuch unbestimmt.

c. Positiver prädiktiver Wert

d. Negativer prädiktiver Wert

18.2.2 Leistung im Vergleich zur Referenzkultur

Relativ zur Referenzkultur mit PCR-Ribotypisierung wurden für den Xpert C. difficile BT Test eine Sensitivität von 93,39 % und Spezifität von 94,02 % für toxischen C. difficile ermittelt. Für den Xpert C. difficile BT Test wurden darüber hinaus eine positive Übereinstimmung von 98,89 % und eine negative Übereinstimmung von 98,36 % für 027 ermittelt (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5. Leistung des Xpert C. difficile BT Test im Vergleich zur Referenzkultur und PCR-Ribotypisierung

Referenzkultur und PCR-Ribotypisierung					
		Toxin B+ 027+	Toxin B+ 027-	NEG	Insgesamt
Xpert C. difficile BT^b	Toxin B+ 027+	89	5	31	125
	Toxin B+ 027-	0	217	86	303 ^a
	NEG	1	21	1841	1863
	Insgesamt	90	243	1958	2291 ^a
		Toxischer C. difficile		Toxischer C. difficile / 027	
		Sensitivität: 93,39 % (311/333) Spezifität: 94,02 % (1841/1958) Richtigkeit: 93,93 % (2152/2291) PPV ^c : 72,66 % (311/428) NPV ^d : 98,82 % (1841/1863)		Pos. Übereinstimmung: 98,89 % (89/90) Neg. Übereinstimmung: 98,36 % (2165/2201) Richtigkeit: 98,38 % (2254/2291) PPV: 71,20 % (89/125) NPV: 99,95 % (2165/2166)	

a. Zwei Isolate waren aufgrund von Kontaminationen nicht typisierbar; diese Proben gingen nicht in die oben aufgeführten Leistungsstatistiken ein.

b. Die angegebenen Xpert-Ergebnisse beziehen sich auf den ersten oder zweiten Versuch. Ungefähr 3,2% der Patientenproben waren im ersten Versuch unbestimmt.

c. Positiver prädiktiver Wert

d. Negativer prädiktiver Wert

18.2.3 Zusammenfassung

Die nachstehende Tabelle enthält die Gesamtzahl der Proben für jedes der verschiedenen Testergebnisse unter den 2293 in die Datenanalyse zur klinischen Leistungsfähigkeit eingehenden Proben.

Tabelle 6. Xpert C. difficile BT Test Gesamtleistung

Testergebnis	N
Toxischer C. diff POS; binäres Toxin NEG; 027 NEG (Toxischer C. diff POS; Binary Toxin NEG; 027 NEG)	272
Toxischer C. diff POS; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxischer C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 NEG)	36
Toxischer C. diff POS; binäres Toxin POS; 027 VERMUTLICH POS (Toxischer C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)	122
Toxischer C. diff NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxischer C. diff NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)	7 ^a

Testergebnis	N
Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin NEG; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin NEG; 027 NEG)	1856
Insgesamt	2293

^a In weiteren Tests wurde nachgewiesen, dass 4 von 7 Stämmen das Toxin-B-Gen enthielten.

18.2.4 Antibiotika-Einsatz

Unter den 2293 Fällen im Hauptdatensatz wurde für 1630 Probanden ein Antibiotika-Einsatz im Zeitraum von 2 Monaten vor der Probenentnahme angegeben. Für 570 Probanden wurde bestätigt, dass keine Antibiotika eingesetzt wurden. In 93 Fällen war der Antibiotika-Status nicht bekannt. Der Antibiotika-Einsatz verursachte keine statistisch signifikante Differenz bei der Leistung des Tests.

19 Analytische Leistungsdaten

19.1 Analytische Spezifität

Fünfundfünfzig (55) Stämme wurden gewonnen, quantifiziert und mit dem Xpert *C. difficile* BT Test getestet. Die Stämme wurden von folgenden Quellen bezogen: American Type Culture Collection (ATCC), Kultursammlung (Culture Collection) der Universität Göteborg (CCUG), Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Institut für öffentliche Gesundheit, Maribor (Slowenien) und Schwedisches Institut für die Eindämmung von Infektionskrankheiten (SMI).

Von den getesteten Bakterienspezies wurden zehn (10) nicht toxische *C. difficile*-Stämme und elf (11) Nicht-*C. difficile* *Clostridium*-Spezies aufgenommen. Die getesteten Organismen wurden entweder als grampositiv (37) oder gramnegativ (18) identifiziert. Die Organismen wurden darüber hinaus als aerob (24), anaerob (29) oder mikroaerob (2) klassifiziert.

Alle Stämme wurden in drei Replikaten bei Konzentrationen zwischen $1,1 \times 10^8$ und $2,2 \times 10^{10}$ CFU/Tupfer getestet. Es wurden Positiv- und Negativkontrollen in die Studie mit einbezogen.

Eine zusätzliche Reihe nicht diffiziler *Clostridium*-Spezies wurde getestet, um die Spezifität des binären Toxin-Assays zu demonstrieren.

Unter den Bedingungen dieser Studie wurden alle Isolate als **Toxigener *C. diff* NEG; Binäres Toxin NEG; 027 NEG (Toxigenic *C. diff* NEG; Binary Toxin NEG; 027 NEG)** ausgegeben (siehe Tabelle 7). Die analytische Spezifität betrug 100 %.

Tabelle 7. Ergebnisse der Untersuchung zur Spezifität für das Gen für binäres Toxin

Gattung	Spezies	Getestete Anzahl	Toxin A/B	Binäres Toxin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>aminovalericum</i> -ähnlich	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>baratii</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>bartletti</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>bifermantans</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>bolteae</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>butyricum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>cadaveris</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>celerecrescens</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>citroniae</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	clostridioforme	2	neg.	neg.

Gattung	Spezies	Getestete Anzahl	Toxin A/B	Binäres Toxin
<i>Clostridium</i>	<i>cochlearium</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>colicanis</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>disporicum</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>mayombei-ähnlich</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>novyi</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i> Typ E	3	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	Spezies	19	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	subterminale-Gruppe	3	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>xylano/aerotolerans</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 027	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 078	2	+	+

Alle kein binäres Toxin enthaltenden Isolate waren negativ mit dem Xpert *C. difficile* BT Test.

19.2 Analytische Sensitivität

Es wurden Studien zur Feststellung der 95%-Konfidenzintervalle für die analytische Nachweisgrenze (Limit of Detection, LoD) für *C. difficile* nach Verdünnung in einer mit dem Xpert *C. difficile* BT Test kompatiblen Fäkalmatrix humanen Ursprungs durchgeführt. Die Fäkalmatrix bestand aus flüssigem Humankot (*C. difficile*-negativ mit dem Xpert *C. difficile* BT Test) nach Verdünnung in PBS mit 15 % Glycerol. Die Nachweisgrenze ist definiert als die niedrigste Anzahl koloniebildender Einheiten (Colony Forming Units, CFU) pro Tupfer, die sich mit einer Konfidenz von 95% reproduzierbar von negativen Proben unterscheiden lässt.

Je 20 Replikate jeder getesteten *C. difficile*-Konzentration (CFU/Tupfer) wurden auf 7 verschiedene Stämme von *C. difficile*, die repräsentativ für die Toxinotypen 0 (zwei Stämme), III (zwei Stämme), IV, V und VIII (jeweils ein Stamm) waren, bewertet.

Schätzwert und Konfidenzintervalle wurden mittels logistischer Regression anhand von Daten (Anzahl der positiven Ergebnisse pro Anzahl der Replikate bei jeder Konzentration) über den getesteten CFU-Bereich bestimmt. Die Konfidenzintervalle wurden mittels Maximum-Likelihood-Schätzern zu den logistischen Modellparametern und der Varianz-Kovarianzmatrix für große Proben bestimmt. Die LoD-Punkt-Schätzwerte und das obere und untere 95%-Konfidenzintervall für jeden getesteten *C. difficile*-Toxinotyp sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 8. 95%-Konfidenzintervalle für die analytische LoD – *C. difficile*

Stamm-ID	Toxinotyp	LoD _{95%} (CFU/Tupfer)	Unteres 95%-KI	Oberes 95%-KI
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) ^a	III	23	19	31
LUMC-5 (027) ^a	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

^a Mittels PCR-Ribotypisierung

Die Ergebnisse dieser Studie zeigen, dass der Xpert *C. difficile* BT Test für eine Stuhlprobe mit 460 CFU/Tupfer in 95% der Fälle ein positives *C. difficile*-Ergebnis und für einen Tupfer mit 75 CFU in 95% der Fälle ein vermutlich positives 027-Ergebnis produziert.

Zusätzlich zur Bestimmung der LoD wurden achtzehn *C.-difficile*-Stämme, die repräsentativ für die Toxinotypen 0 plus 12 Toxinotyp-Varianten, darunter vier 027-Toxinotyp-III-Isolate, waren, mit dem Xpert *C. difficile* BT Assay getestet. Die *C.-difficile*-Stämme wurden im Hinblick auf eine möglichst breite Repräsentation der in der Praxis anzutreffenden *C.-difficile*-Toxinotypen ausgewählt. Stammlösungen wurden hergestellt, indem der Bakterienbewuchs von Agarplatten in PBS-Puffer mit 15% Glycerol suspendiert wurde. Jede Stammlösung wurde auf 1,4 bis 5,9 McFarland-Einheiten eingestellt. Alle Stämme wurden seriell auf etwa 900 CFU/Tupfer verdünnt und dreifach getestet.

Unter den Bedingungen dieser Studie konnte der Xpert *C. difficile* BT Assay alle 18 Stämme korrekt als Toxigener *C. diff* POS (Toxigenic *C. diff* POS) identifizieren. Im Panel waren auch 8 Toxinotypen enthalten, für die ein positiver Test auf die Produktion von binärem Toxin (CDT) angegeben wurde. Alle waren mit dem Xpert *C. difficile* BT Assay CDT-positiv. Alle vier 027-Isolate, die repräsentativ für Toxinotyp III waren, wurden korrekt als Toxigener *C. diff* POS; Binäres Toxin POS; 027 VERMUTLICH POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS) identifiziert.

Sieben *C.-difficile*-Isolate des PCR-Ribotyps 033 und drei weitere *C.-difficile*-Isolate eines verwandten PCR-Ribotyps, die negativ für *tcdA* und *tcdB* waren, jedoch binäres Toxin (CDT) produzierten,²² wurden mit dem Xpert *C. difficile* BT Assay getestet. Alle 10 Isolate erzielten positive Ergebnisse nur für binäres Toxin (siehe Tabelle 9), womit bestätigt war, dass der Assay Isolate nachzuweisen vermag, die Toxin A -, Toxin B -, binäres Toxin + sind.

Tabelle 9. Test von Organismen, die nur binäres Toxin produzieren (Toxin A-, Toxin B-) mit dem Xpert *C. difficile* BT Test

Organismus	Stamm-ID	PCR-Ribotyp	Testergebnis (Test Result)
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Toxigener <i>C. diff</i> NEG; binäres Toxin POS; 027 NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG)

19.3 Störsubstanzen

Einundzwanzig (21) biologische und chemische Substanzen, die gelegentlich in Stuhlproben vorkommen, wurden auf eine mögliche Störung des Xpert *C. difficile* BT Tests getestet. Potenzielle Störsubstanzen sind u.a. Vagisil® Creme und Zinkoxidpaste (siehe Abschnitt 16, „Einschränkungen“). Die in der nachstehenden Tabelle aufgeführten 19 Substanzen zeigten keine nachweisliche Störung des Xpert *C. difficile* BT Tests.

Tabelle 10. Getestete Substanzen, die keine Störung des Tests verursachten

Substanz	Substanz
Vollblut	K-Y Jelly/Gelée®
Karolinska Universitätskrankenhaus	McNeil-PPC
Mucin (Schwein)	Vaseline
Sigma	Unilever
Kaopectate®	Dulcolax®
Chattem	Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium®	Preparation H Tücher für unterwegs
McNeil-PPC	Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol®	Vaginaler Kontrazeptivfilm (VCF)
Procter & Gamble	Apothecus Pharmaceutical

Substanz	Substanz
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomicin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Fäkalfette Karolinska Universitätskrankenhaus	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E-Z-HDTM hochdichtes Bariumsulfat zur Suspension E-Z-EM Kanada
Hydrocortison-Creme Longs Drugs	

20 Reproduzierbarkeit

Ein Panel aus 7 Proben mit unterschiedlichen Konzentrationen von toxischen *C. difficile* und *C. difficile* Ribotyp 027 wurde an 10 verschiedenen Tagen von jeweils zwei Benutzern an den 3 Zentren getestet (7 Proben x 2 Benutzer/Tag x 10 Tagen x 3 Zentren). Eine Charge des Xpert *C. difficile* BT Tests wurde an jedem der 3 Teststandorte verwendet. Xpert *C. difficile* BT Tests wurden gemäß des Xpert *C. difficile* BT Testverfahrens durchgeführt. Die Ergebnisse sind in den nachstehenden zwei Tabellen zusammengefasst.

Tabelle 11. Zusammenfassung der Reproduzierbarkeitsergebnisse (alle)

Proben-ID	% Übereinstimmung ^a			Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	
Negativ	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxischer <i>C. difficile</i> hoch negativ	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxischer <i>C. difficile</i> niedrig positiv	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Toxischer <i>C. difficile</i> gemäßigt positiv	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxischer <i>C. difficile</i> Ribotyp 027 hoch negativ	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxischer <i>C. difficile</i> Ribotyp 027 niedrig positiv	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,7% (58/60)

Proben-ID	% Übereinstimmung ^a			Prozentuale Gesamtübereinstimmung (Proben)
	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	
Toxigener <i>C. difficile</i> Ribotyp 027 gemäßigt positiv	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Gesamtübereinstimmung nach Zentren in %	100% (140/140)	97,1% (136/140)	97,1% (136/140)	98,1 % (412/420)

^a Für negative und hoch negative Proben gilt: Übereinstimmung in % = (Anzahl der negativen Ergebnisse/Gesamtzahl der bearbeiteten Proben); für niedrig und gemäßigt positive Proben gilt: Übereinstimmung in % = (Anzahl der positiven Ergebnisse/Gesamtzahl der bearbeiteten Proben).

Tabelle 12. Zusammenfassung der Ct-Wert-Ergebnisse nach Probenkonzentration und Sonde

SPC			
Konzentration	Mittel	Std.-Abw	VK
Toxigener <i>C. diff</i> hoch neg.	32,17	0,59	1,83%
Toxigener <i>C. diff</i> niedr. pos.	32,14	0,53	1,66%
Toxigener <i>C. diff</i> gem. pos.	31,98	0,47	1,47%
027 hoch neg.	32,11	0,65	2,03%
027 niedr. pos.	31,93	0,72	2,26%
027 gem. pos.	31,96	0,61	1,90%
Neg.	32,26	0,72	2,22%
tcdB (Toxin B)			
Konzentration	Mittel	Std.-Abw	VK
Toxigener <i>C. diff</i> hoch neg.	39,59	0,70	1,77%
Toxigener <i>C. diff</i> niedr. pos.	35,88	0,81	2,24%
Toxigener <i>C. diff</i> gem. pos.	32,17	0,45	1,39%
027 hoch neg.	39,11	0,98	2,50%
027 niedr. pos.	35,49	0,58	1,65%
027 gem. pos.	32,10	0,63	1,97%

Ein weiteres Panel aus 6 Proben, von denen 3 negativ und 3 hoch negativ für toxischen *C. difficile* waren, wurde an 5 verschiedenen Tagen von 2 verschiedenen Benutzern an jedem der 3 Zentren getestet (6 Proben x 2 Benutzer/Tag x 5 Tage x 3 Zentren). Die hoch negativen Proben wurden bei Konzentrationen unterhalb der LoD derart vorbereitet, dass ein negatives Ergebnis in 20 bis 80% der Fälle zu erwarten war. Eine Charge des Xpert *C. difficile* BT Tests wurde in jeder der 3 Testzentren verwendet. Xpert *C. difficile* BT Tests wurden gemäß des Xpert *C. difficile* BT Testverfahrens durchgeführt. Die Ergebnisse sind in der nachstehenden Tabelle zusammengefasst.

Tabelle 13. Zusammenfassung der Ergebnisse für die zusätzlichen Reproduzierbarkeitsproben

Proben-ID	% Übereinstimmung ^a			Prozentuale Gesam- tübere- instim- mung (Proben)
	Zentrum 1	Zentrum 2	Zentrum 3	
Negativ	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Toxigenes C. difficile Hoch negativ ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53,3% (16/30)	57,8% (52/90)

^a (Anzahl der negativen Ergebnisse / Gesamtzahl der bearbeiteten hoch negativen Proben)

^b 20-80% erwartete Übereinstimmung für hoch negative Proben

21 Literatur

- Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet* 1978; 1:1063-1066.
- Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med* 2002; 31:334-339
- Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. *Ann Med* 1990; 22:61-67
- Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect* 1998; 40:1-15.
- Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994; 330:257-262.
- Braun V, Hundsberger T, Leukel P, et al. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. 1996; *Gene* 181:29-38.
- Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. *Microb Pathog.* 1995;19:203-213.
- Sambol SP, Merrigan MM, Lysterly D, et al. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect. Immun* 2000;68:5480-5487.
- Goncalves C, Decre D, Barbut F, et al. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP- ribosyltransferase) from *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2004;42:1933-1939
- Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol Lett* 2000;186:307-12.
- Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun* 1998;56:2299-2306.
- MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada. *J Clin Microbiol.* 2006 Jun;44(6):2147-2152.
- Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. *Clin Microbiol.* 2003 Feb;41:531-534.
- Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7:411-416.
- Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. *Lancet.* 2011;377:63-73.
- Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis.* 2013; 56:1589-1600.
- See I, Mu Y, Cohen J, Beldavs ZG, et al. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2014;58:1394-1400.
- 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; 12 Suppl 6:2-18.
- Curry SR, Marsh JW, Muto CA, et al. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* 2007 Jan;45:215-221. Erratum in: *J Clin Microbiol.* 2007 Jun;45(6):2103.

20. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(2):156-162.
21. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. *New Microbes New Infect*. 2014;8;3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert *C. difficile*/Epi and meridian bioscience illumigene *C. difficile* assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. *J Clin Microbiol*. 2015;53:973-5
23. 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.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
25. VERORDNUNG (EG) NR. 1272/2008 DES EUROPÄISCHEN PARLAMENTS UND DES RATES vom 16. Dezember 2008 über die Einstufung, Kennzeichnung und Verpackung von Stoffen und Gemischen, zur Änderung und Aufhebung der Liste der Sicherheitshinweise, Richtlinien 67/548/EWG und 1999/45/EG (Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1907/2006).
26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol* 2008;46:431–437.

22 Standorte der Cepheid-Zentralen

Corporate Headquarters

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telephone: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

European Headquarters

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telephone: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Technische Unterstützung

Bevor Sie uns kontaktieren

Halten Sie bitte die folgenden Informationen bereit, wenn Sie den technischen Kundendienst von Cepheid kontaktieren:

- Produktname
- Chargenbezeichnung
- Seriennummer des Instruments
- Fehlermeldungen (falls vorhanden)
- Software-Version und gegebenenfalls Service-Kennnummer (Service Tag Number) des Computers

Technischer Kundendienst in den Vereinigten Staaten

Telefon: + 1 888 838 3222 E-Mail: techsupport@cepheid.com

Technischer Kundendienst in Frankreich

Telefon: + 33 563 825 319 E-Mail: support@cepheideurope.com

Die Kontaktinformationen aller Vertretungen des technischen Kundendiensts von Cepheid finden Sie auf unserer Website:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Symbolerklärung

Symbol	Bedeutung
	Bestellnummer
	<i>In-vitro</i> -Diagnostikum
	Nicht wiederverwenden
	Chargencode
	Gebrauchsanweisung beachten
	Vorsicht
	Hersteller
	Herstellungsland
	Inhalt reicht aus für <i>n</i> Tests
	Kontrolle
	Verfallsdatum
	CE-Kennzeichnung – Einhaltung der EU-Richtlinien
	Temperaturbegrenzung
	Biologische Risiken
	Achtung
	Bevollmächtigter in der Schweiz
	Importeur



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden





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



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



25 Revisionsverlauf

Beschreibung der Änderung: 301-6190-DE, Rev. D auf Rev. E

Abschnitt	Beschreibung der Änderung
Analytische Sensitivität	Fehler im Abschnitt „Analytische Sensitivität“ korrigiert.
Symbolerklärung	Fehler im Abschnitt „Symbolerklärung“ korrigiert.