

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

**REF** GXCDIFFBT-CE-10

Instrukcja użycia

CE **IVD**

## **Oświadczenia o znakach towarowych, patentach i prawach autorskich**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> 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<sup>®</sup>, logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> i Xpert<sup>®</sup> to znaki towarowe firmy Cepheid, zarejestrowane w USA i w innych krajach.

Wszystkie inne znaki towarowe są własnością ich właścicieli.

NABYWCA TEGO PRODUKTU UZYSKUJE NIEZBYWALNE PRAWO DO UŻYWANIA TEGO PRODUKTU ZGODNIE Z NINIEJSZĄ INSTRUKCJĄ UŻYCIA. NABYWCA NIE UZYSKUJE ŻADNYCH INNYCH PRAW W SPOSÓB WYRAŹNY, DOROZUMIANY LUB PRZEZ ESTOPPEL. PONADTO NABYWCA TEGO PRODUKTU NIE UZYSKUJE ŻADNYCH PRAW DO ODSPRZEDAŻY TEGO PRODUKTU.

© 2016-2024 Cepheid.

Opis zmian można znaleźć w części Historia zmian Sekcja 25.

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

---

Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki *in vitro*

## 1 Nazwa zastrzeżona

Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

## 2 Nazwa powszechna lub zwyczajowa

Test Xpert C. difficile BT

## 3 Przeznaczenie

Test Xpert C. difficile BT firmy Cepheid, wykonywany na aparatach firmy Cepheid, to test diagnostyczny *in vitro* do analizy jakościowej umożliwiający szybkie wykrywanie toksyny C. difficile *tcdB* (gen toksyny B), *cdt* (gen toksyny binarnej) oraz delecji nukleotydu w pozycji 117 genu *tcdC* w próbkach nieufornowanego kału (płynnego lub miękkiego) pobranych od pacjentów z podejrzeniem zakażenia bakterią *Clostridium difficile* (CDI). Test Xpert C. difficile BT jest przeznaczony jako pomoc w diagnozowaniu zakażenia *Clostridium difficile* (CDI) oraz wykrywaniu szczepów potencjalnie powiązanych z cięższą chorobą. Test wykorzystuje zautomatyzowaną reakcję łańcuchową polimerazy w czasie rzeczywistym (PCR) do wykrywania toksyny *tcdB*, *cdt* oraz delecji *tcdC* w pozycji 117 powiązanej ze szczepem rybotypu 027. Toksyna binarna jest wytwarzana przez ograniczoną liczbę szczepów bakterii C. difficile, w tym szczep 027. Wykrycie toksyny binarnej razem z toksyną *tcdB* jest często wskaźnikiem cięższej choroby lub nawrotu choroby. Izolaty bakterii C. difficile z wynikiem ujemnym pod kątem toksyny *tcdB*, które mają tylko geny toksyny binarnej, mogą powodować objawy podobne do tych, które powodują toksynogenne szczepy bakterii C. difficile, jednak znaczenie kliniczne takich szczepów jest obecnie nieokreślone. Jednoczesna hodowla bakteryjna jest konieczna tylko wtedy, gdy jest wymagane dalsze typowanie lub wzrost drobnoustroju.

## 4 Podsumowanie i objaśnienie

C. difficile to Gram-dodatnia, przetrwalnikująca, beztlenowa pałeczka, która po raz pierwszy została powiązana z chorobą w 1978 roku.<sup>1</sup>

Objawy infekcji *Clostridium Difficile* sięgają od łagodnej biegunki po ciężkie i zagrażające życiu rzekomobłoniaste zapalenie jelita grubego.<sup>2</sup> Dojrzała flora bakteryjna jelita grubego zdrowych dorosłych jest na ogół oporna na kolonizację C. difficile.<sup>3</sup> Jeżeli jednak dojdzie do zmian w zakresie prawidłowej flory jelita grubego, dochodzi do utraty odporności na kolonizację przez inne gatunki bakterii, jak na przykład C. difficile. Najczęstszym czynnikiem ryzyka rozwoju CDI jest ekspozycja na antybiotyki.<sup>4</sup> Pierwotnym czynnikiem wirulencji bakterii C. difficile jest cytotoksyna B.<sup>5</sup> Geny kodujące toksynę A (*tcdA*; enterotoksynę) i toksynę B (*tcdB*) są częścią locus patogenności (PaLoc).<sup>6,7</sup> Większość patogennych szczepów to szczepy dodatnie pod kątem toksyny A i toksyny B (A+B+), jednak izolaty wariantów ujemnych pod kątem toksyny A i dodatnich pod kątem toksyny B (A-B+) zostały również rozpoznane jako patogenne.<sup>8</sup> Niektóre szczepy C. difficile wytwarzają również swoistą względem aktywny ADP-rybozylotransferazę (zwaną toksyną binarną lub CDT). Locus toksyny binarnej zawiera dwa oddzielne geny (*cdtA* i *cdtB*) i jest zlokalizowany poza PaLoc.<sup>9,10,11</sup>

Diagnostyka zakażeń *Clostridium difficile* (CDI) tradycyjnie opiera się albo na wykrywaniu toksyny B bezpośrednio w kale (test neutralizacji cytotoksyczności hodowli komórkowej [CCCN]), albo na hodowli drobnoustroju i oznaczaniu wytwarzania toksyny B przez izolat (hodowla toksykogenna). Zarówno test CCCN, jak i hodowla toksykogenna są pracochłonne, ale są wciąż uważane za „złoty standard” z uwagi na swoistość pierwszego rozwiązania oraz czułość drugiego.<sup>12,13</sup> Opracowano kilka szybkich testów immunoenzymatycznych do wykrywania toksyn A i B, jednak te testy

mają mniejszą czułość i swoistość w porównaniu z testem CCCN. Opracowano metody PCR do wykrywania genów powiązanych z wytwarzaniem toksyny A i/lub toksyny B, które wykazują wysoką czułość i swoistość w porównaniu z hodowlą toksykogenną.<sup>14</sup>

Oprócz toksyn A i B najnowsza literatura sugeruje związek między wytwarzaniem toksyny binarnej a ciężkością choroby i jej skutkiem. Bauer i in.<sup>15</sup> wykazali obecność genów toksyny binarnej w izolatach toksykogennych w 23% przypadków zakażeń *Clostridium difficile* (CDI) w Europie. Toksyna binarna wytwarzana przez geny *cdt* jest często obserwowana w szczepach bakterii *C. difficile* powiązanych ze zwiększoną ciężkością zakażenia *Clostridium difficile* (CDI). Toksyna binarna należy do rodziny toksyn ADP-rybozylujących i składa się z genów *cdtA*, enzymatycznej ADP-rybozylotransferazy, która modyfikuje aktywną, i genu *cdtB*, który wiąże się z komórkami gospodarza i powoduje translokację produktu genu *cdtA* do cytozolu. Wiele badań klinicznych wykazało związek między obecnością genów toksyny binarnej w bakterii *C. difficile* a zwiększoną 30-dniową śmiertelnością spowodowaną zakażeniem *Clostridium difficile* (CDI) niezależnie od rybotypu PCR. Literatura wykazuje również, że u osób z ciężkim zakażeniem *Clostridium difficile* (CDI), piorunującym zapaleniem okrężnicy i/lub nawracającym zakażeniem *Clostridium difficile* częściej występuje zakażenie rybotypami *C. difficile* mającymi geny powodujące wytwarzanie toksyny binarnej (*cdtA/cdtB*), niż u osób, u których takie powikłania nie występują.<sup>16,17</sup>

Podzbiór izolatów wytwarzających toksynę binarną ma mutacje genu ujemnie regulującego toksynę (*tcdC*), tj. delecję nukleotydu 117 (*tcdCΔ117*) spójną ze szczepami rybotypu 027. Zakażenie spowodowane przez szczepy 027/NAP1/BI może być powiązane z wyższym współczynnikiem śmiertelności i chorobowości, w tym z przyjęciami na oddział intensywnej opieki medycznej (OIOM) i dłuższym pobytem na oddziale. Analiza wieloczynnikowa wykazała istotne powiązanie pomiędzy ciężkością choroby oraz obecnością rybotypów z genem toksyny binarnej z delecją na poziomie nukleotydu 117 lub bez niej. W ciągu ostatnich dwóch dekad występowały epidemie zakażeń *Clostridium difficile* (CDI) przypisywane pojawiającym się „hiperwirulentnym” szczepom, które obejmują szczepy odporne na fluorochinolon należące do rybotypu PCR 027 (które są również znane jako grupa NAP1 zgodnie z wzorcem elektroforezy pulsacyjnej w żelu oraz typ BI zgodnie z testem enzymów restrykcyjnych).<sup>8,18</sup> Szczepy rybotypu 027 mogą wykazywać zwiększone wytwarzanie toksyn, co jest przypisywane delecjom w genie regulującym *tcdC*, i mogą wytwarzać więcej przetrwalników, co prowadzi do zwiększonej trwałości w środowisku.<sup>19,20</sup> Wynik dodatni pod kątem przypuszczalnego rybotypu 027 może ułatwić identyfikację możliwych źródeł epidemii rybotypu 027.

Ponadto w dodatkowych badaniach zgłoszono przypadki pacjentów z biegunką i podejrzeniem zakażenia bakterią *C. difficile* spowodowanego toksynotypem XI / rybotypem PCR 033 lub szczepami podobnymi do rybotypu 033 z wynikiem dodatnim pod kątem toksyny binarnej, ale ujemnym pod kątem toksyn A i B.<sup>21,22</sup> Znaczenie kliniczne takich szczepów z wynikiem dodatnim pod kątem toksyny binarnej i ujemnym pod kątem toksyn A i B nie jest w pełni zrozumiałe.

## 5 Zasada procedury

Analizatory automatyzują i integrują przygotowanie próbki, oczyszczenie i amplifikację kwasu nukleinowego oraz wykrywanie sekwencji docelowych w próbkach prostych lub złożonych za pomocą testów rRT-PCR (reakcja PCR z odwrotną transkryptazą wykonywana w czasie rzeczywistym). Systemy składają się z aparatu, komputera osobistego oraz wstępnie zainstalowanego oprogramowania umożliwiających wykonywanie badań na próbkach klinicznych i wyświetlanie wyników. Systemy wymagają stosowania jednorazowych kartridży GeneXpert, które zawierają odczynniki do reakcji PCR oraz w których odbywają się procesy ekstrakcji DNA, amplifikacji i wykrywania amplikonów. Ponieważ kartridże są samowystarczalne, ryzyko zanieczyszczenia krzyżowego między próbkami jest zminimalizowane. Pełny opis systemu znajduje się w odpowiedniej części *GeneXpert Dx System Operator Manual* i/lub *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Test Xpert *C. difficile* BT zawiera odczynniki umożliwiające wykrywanie szczepu bakterii *C. difficile* wytwarzającego toksynę oraz kontrolę przetwarzania próbki (SPC). Kontrola SPC służy do kontrolowania odpowiedniego przetwarzania bakterii docelowych oraz do monitorowania obecności substancji powodujących hamowanie reakcji PCR. Kontrola sondy (PCC) weryfikuje stopień nawodnienia odczynników, napełnienie próbki do PCR w kartridżu, integralność sondy i stabilność barwnika.

Startery i sondy testu Xpert *C. difficile* BT wykrywają sekwencje genów pod kątem toksyny B (*tcdB*), toksyny binarnej (*cdt*) i *tcdCΔ117*.

## 6 Odczynniki i aparaty

### 6.1 Materiały dostarczone

Zestaw testu Xpert C. difficile BT zawiera odczynniki w ilości wystarczającej do przetworzenia 10 próbek lub próbek kontroli jakości.

Zestaw zawiera następujące elementy:

#### Xpert C. difficile BT Kartridże testu ze zintegrowanymi komorami reakcyjnymi

- |  |                    |
|--|--------------------|
| • Granulki typu 1, granulki typu 2 i granulki typu 3 (liofilizowane) | <b>10</b>          |
|  | 1 na kartridż      |
| • Odczynnik 1  | 3,0 ml na kartridż |
| • Odczynnik 2 (wodorotlenek sodu)                                    | 3,0 ml na kartridż |

#### Woreczki z odczynnikiem testu Xpert C. difficile BT

- |   |                         |
|---|-------------------------|
| • Odczynnik do próbek (tiocyjanian guanidyny) | <b>10</b>               |
|   | 10 x 2,0 ml na woreczek |

#### Płyta CD

**1 na zestaw**

- Pliki definicji testu (ADF)
- Instrukcja importowania pliku ADF do oprogramowania
- Instrukcja użycia (ulotka informacyjna)

#### Uwaga

Karty charakterystyki substancji niebezpiecznej (SDS) są dostępne na stronie internetowej [www.cephheid.com](http://www.cephheid.com) lub [www.cephheidinternational.com](http://www.cephheidinternational.com) w karcie **WSPARCIE**.

#### Uwaga

Albuminę surowicy bydłej (BSA) w kulkach w tym produkcie uzyskano i wytworzona wyłącznie z osocza wołowego pochodzącego z USA. Zwierząt nie karmiono białkiem pochodzącym od przeżuwaczy ani innym białkiem zwierzęcym; zwierzęta przebadano zarówno przed ubojem, jak i po nim. Podczas przetwarzania nie nastąpiło wymieszanie materiału z innymi materiałami pochodzenia zwierzęcego.

### 6.2 Przechowywanie i obsługa

- Zestaw testu Xpert C. difficile BT należy przechowywać w temperaturze 2–28°C.
- Nie używać odczynnika do próbek lub kartridży po upływie daty ważności.
- Wieczko kartridża można otworzyć dopiero wtedy, gdy użytkownik będzie gotowy do wykonania badania.
- Nie używać odczynnika do próbek, który uległ zmętnieniu lub przebarwieniu.
- Nie używać nieszczelnego kartridża.

### 6.3 Materiały wymagane, ale nie dostarczone

- System lub (numer katalogowy zależy od konfiguracji): aparat GeneXpert, komputer z oprogramowaniem własnościowym GeneXpert w wersji 4.3 lub nowszej, skaner kodów kreskowych i instrukcja obsługi.
- Drukarka: jeśli wymagana jest drukarka, informacji o zakupie zalecanej drukarki udzieli przedstawiciel handlowy firmy Cepheid.
- Wytrząsarka typu vortex
- Czyste jednorazowe pipety transferowe
- Sucha wymazówka do celu przeniesienia próbki, jak wymazówka dostępna w systemie do pobierania próbek firmy Cepheid (nr kat. firmy Cepheid: 900-0370), jednorazowa wymazówka firmy Cepheid (nr kat. firmy Cepheid SDPS-120) lub systemu do transportu z dwiema wymazówkami firmy Copan (139C LQ STUART)

## 7 Ostrzeżenia i środki ostrożności

- Wszystkie próbki biologiczne, w tym użyte kartridże i odczynniki, należy traktować jako mogące przenosić czynniki zakaźne. Ponieważ często niemożliwe jest określenie, który z preparatów biologicznych może być zakaźny, ze wszystkimi należy pracować, zachowując standardowe środków ostrożności. Wytyczne dotyczące obsługi próbek można uzyskać w amerykańskiej agencji Centers for Disease Control and Prevention oraz w instytucie Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>23,24</sup>
- Należy przestrzegać procedur bezpieczeństwa obowiązujących w placówce w zakresie pracy z substancjami chemicznymi i próbkami biologicznymi.
- Stosować czyste fartuchy laboratoryjne i rękawiczki. Zmieniać rękawiczki między przetwarzaniem każdej próbki.
- Nie wolno zastępować odczynników testu Xpert C. difficile BT innymi odczynnikami.
- Nie wolno otwierać wieczka kartridża testu Xpert C. difficile BT w celu innym niż dodanie próbki i odczynników lub usunięcie próbki z pierwotnego kartridża i powtórzenie badania w nowym kartridżu.
- Nie używać kartridża, który upadł po wyjęciu z opakowania.
- Nie wolno potrząsać kartridżem. Potrząsanie kartridżem lub jego upuszczenie po otwarciu wieczka może prowadzić do uzyskania nieważnych wyników.
- Nie wolno używać kartridża, jeśli jego komora reakcyjna jest uszkodzona.
- Nie umieszczać etykiety z identyfikatorem próbki na wieczku kartridża ani na etykiecie z kodem kreskowym.
- Każdy jednorazowy kartridż testu Xpert C. difficile BT służy do wykonania jednego badania. Nie używać ponownie użytych kartridży.
- Preparaty biologiczne, produkty służące do przenoszenia materiału i zużyte kartridże należy traktować jako materiały potencjalnie zakaźne i wymagające zachowania standardowych środków ostrożności. Należy przestrzegać obowiązujących w instytucji procedur dotyczących odpadów środowiskowych w zakresie odpowiedniego usuwania zużytych kartridży i niewykorzystanych odczynników. Te materiały mogą stanowić niebezpieczne materiały chemiczne, których usuwanie musi się odbywać zgodnie ze swoistymi krajowymi lub regionalnymi przepisami dotyczącymi usuwania. Jeśli krajowe lub regionalne przepisy nie regulują kwestii dotyczących odpowiedniego usuwania odpadów, wówczas próbki biologiczne i zużyte kartridże należy usuwać zgodnie z wytycznymi Światowej Organizacji Zdrowia (WHO, World Health Organization) dotyczącymi obsługi i usuwania odpadów medycznych.
- W przypadku zanieczyszczenia obszaru roboczego lub sprzętu próbkami lub kontrolami zanieczyszczony obszar należy dokładnie wyczyścić przy pomocy roztworu w stosunku 1:10 wybielacza chlorowego, a następnie należy ponownie wyczyścić obszar roboczy przy pomocy etanolu 70%. Przed kontynuowaniem pracy powierzchnie robocze należy wytrzeć całkowicie do sucha.

## 8 Zagrożenia chemiczne<sup>25,26</sup>

- Hasło ostrzegawcze: OSTRZEŻENIE
- Zwroty GHS ONZ wskazujące rodzaj zagrożenia
  - Działa szkodliwie po połknięciu.
  - Działa drażniąco na skórę.
  - Powoduje poważne podrażnienia oczu.
- Zwroty GHS ONZ wskazujące środki ostrożności
  - **Zapobieganie**
    - Dokładnie umyć po użyciu.
    - Nie jeść, nie pić ani nie palić podczas używania produktu.
    - Unikać uwolnienia do środowiska.
    - Stosować rękawice ochronne/odzież ochronną/ochronę oczu/ochronę twarzy.
  - **Reagowanie**
    - W PRZYPADKU KONTAKTU ZE SKÓRĄ: Umyć dużą ilością wody z mydłem.
    - Zanieczyszczoną odzież zdjąć i wyprać przed ponownym użyciem.
    - Zastosować określone leczenie (patrz informacje uzupełniające dotyczące pierwszej pomocy).
    - W przypadku wystąpienia podrażnienia skóry: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
    - W PRZYPADKU DOSTANIA SIĘ DO OCZU: Ostrożnie płukać wodą przez kilka minut. Wyjąć soczewki kontaktowe, jeżeli są i można je łatwo usunąć. Kontynuować płukanie.

- W przypadku utrzymywania się działania drażniącego na oczy: Zasięgnąć porady/zgłosić się pod opiekę lekarza.
- W PRZYPADKU POŁKNIĘCIA: W przypadku złego samopoczucia natychmiast skontaktować się z OŚRODKIEM ZATRUĆ lub lekarzem.
- Wypłukać usta.
- **Przechowywanie/usuwanie**
  - Zawartość/pojemnik usuwać zgodnie z miejscowymi/regionalnymi/krajowymi/międzynarodowymi przepisami.

## 9 Pobieranie, transportowanie i przechowywanie próbek

1. Pobrać nieuformowany kał do czystego pojemnika. Przestrzegać wytycznych obowiązujących w placówce dotyczących pobierania próbek w celu wykonania badań pod kątem bakterii *C. difficile*.
2. Oznaczyć identyfikatorem pacjenta i przesłać do laboratorium w celu wykonania badań.
3. Próbkę przechowywać w temperaturze 2–8°C. Próbka zachowuje stabilność przez maksymalnie 5 dni w przypadku przechowywania w temperaturze 2–8°C. Ewentualnie próbki można przechowywać w temperaturze pokojowej (20–30°C) przez maksymalnie 24 godziny.

## 10 Procedura

### 10.1 Przygotowywanie kartridża

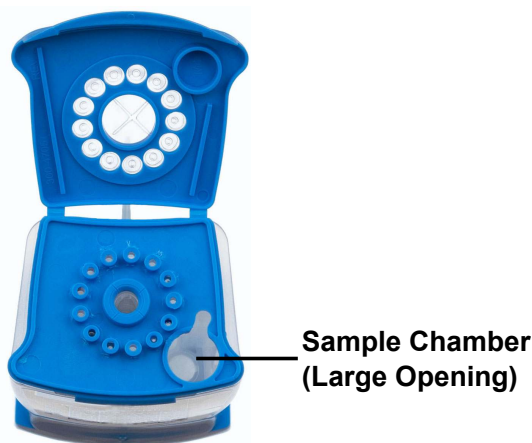
**Ważne** Rozpocząć badanie w ciągu 30 minut od momentu dodania próbki do kartridża.

Aby dodać próbkę do kartridża:

1. Wyjąć kartridż i odczynnik do próbek z opakowania.
2. Na krótko zanurzyć wymazówkę w próbce nieuformowanego kału. Wymazówka nie musi być całkowicie zanurzona.
3. Włożyć wymazówkę do próbki zawierającej odczynnik do próbek.

**Uwaga** Użyć sterylnej gazy w celu zminimalizowania ryzyka zanieczyszczenia.

4. Trzymając wymazówkę za trzon blisko krawędzi próbki, unieść wymazówkę na wysokość kilku milimetrów od dna próbki, a następnie przycisnąć trzon do krawędzi próbki w celu jego złamania. Upewnić się, że wymazówka jest wystarczająco krótka i umożliwi szczelne zamknięcie zatyczki.
5. Zamknąć zatyczkę i mieszać w wytrząsarce przy wysokiej prędkości przez 10 sekund.
6. Otworzyć wieczko kartridża. Przy pomocy czystej pipety transferowej przenieść całą zawartość odczynnika do próbek do komory na próbkę kartridża.
7. Zamknij wieczko kartridża.



Ilustracja 1. Kartridż (widok z góry)

## 10.2 Rozpoczęcie badania

**Ważne** W przypadku używania systemu *GeneXpert Dx*, przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że w systemie jest uruchomione oprogramowanie *GeneXpert Dx* w wersji 4.7b lub nowszej oraz że do oprogramowania zaimportowano odpowiedni plik definicji testu.

**Ważne** W przypadku używania systemu *GeneXpert Infinity* przed rozpoczęciem badania należy się upewnić, że w systemie jest uruchomione oprogramowanie *Xpertise* w wersji 6.4b lub nowszej oraz że do oprogramowania zaimportowano odpowiedni plik definicji testu.

Niniejszy punkt zawiera opis podstawowych kroków umożliwiających wykonanie badania. Szczegółowe instrukcje można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

**Uwaga** Wykonywane czynności mogą być inne, jeśli administrator systemu zmienił domyślny cykl pracy.

### 1. Włączyć aparat GeneXpert:

- W przypadku używania aparatu *GeneXpert Dx*, najpierw włączyć aparat *GeneXpert Dx*, a następnie włączyć komputer. Oprogramowanie *GeneXpert* zostanie uruchomione automatycznie. W przeciwnym razie należy dwukrotnie kliknąć ikonę skrótu oprogramowania *GeneXpert Dx* na pulpicie systemu Windows®.
- lub
- W przypadku używania aparatu *GeneXpert Infinity*, włączyć aparat. Oprogramowanie *Xpertise* zostanie uruchomione automatycznie. W przeciwnym razie należy dwukrotnie kliknąć ikonę skrótu oprogramowania *Xpertise* na pulpicie systemu Windows®.

### 2. Zalogować się do oprogramowania aparatu GeneXpert, podając nazwę użytkownika i hasło.

### 3. W oknie systemu **GeneXpert** kliknąć polecenie **Nowe badanie (Create Test)** (*GeneXpert Dx*) lub przycisk **Zlecenia (Orders)** i **Zleć badanie (Order Test)** (*Infinity*). Zostanie wyświetlone okno **Nowe badanie (Create Test)**. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego identyfikatora pacjenta (Scan Patient ID Barcode)**.

### 4. Zeskanować lub wpisać Identyfikator pacjenta (Patient ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora pacjenta (Patient ID) należy upewnić się, że Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator pacjenta (Patient ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)** oraz we wszystkich raportach. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego identyfikatora próbki (Scan Sample ID barcode)**.

### 5. Zeskanować lub wpisać Identyfikator próbki (Sample ID). W wypadku wpisywania Identyfikatora próbki (Sample ID) upewnić się, że Identyfikator próbki (Sample ID) jest wpisany poprawnie. Identyfikator próbki (Sample ID) jest powiązany z wynikami badania i wyświetlany w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)** oraz we wszystkich raportach. Pojawi się okno dialogowe **Skanowanie kodu kreskowego kartridża (Scan Cartridge Barcode)**.

### 6. Zeskanować kod kreskowy na kartridżu testu. Na podstawie informacji zawartych w kodzie kreskowym, oprogramowanie automatycznie wypełni następujące pola: Wybierz test (Select Assay), Identyfikator serii odczynników (Reagent Lot ID), Numer seryjny kartridża (Cartridge SN) i Data ważności (Expiration Date).

**Uwaga** Jeśli nie można zeskanować kodu kreskowego na kartridżu testu, wówczas należy powtórzyć badanie z użyciem nowego kartridża. Jeśli kod kreskowy kartridża został zeskanowany w oprogramowaniu, a plik definicji testu nie jest dostępny, pojawi się ekran wskazujący, że plik definicji testu nie został wczytany do systemu. Jeśli pojawi się ten ekran, należy skontaktować się z centrum wsparcia klienta firmy Cepheid.

### 7. Kliknąć **Rozpocznij badanie (Start Test)** (*GeneXpert Dx*) lub **Prześlij (Submit)** (*Infinity*). W razie potrzeby wpisać hasło w wyświetlonym oknie dialogowym.

### 8. W przypadku systemu *GeneXpert Infinity* umieścić kartridż na taśmie transportowej. Kartridż zostanie załadowany automatycznie, rozpocznie się badanie, a zużyty kartridż zostanie umieszczony w pojemniku na odpady.

lub

W przypadku aparatu *GeneXpert Dx*:

- a) Otworzyć drzwiczki modułu aparatu z migającą zieloną lampką i załadować kartridż.
- b) Zamknąć drzwiczki. Badanie zostanie rozpoczęte, a zielona lampka przestanie migać. Po zakończeniu badania lampka przestanie świecić.
- c) Poczekać, aż system zwolni blokadę drzwiczek, a następnie otworzyć drzwiczki modułu. Wyjąć kartridż.



- d) Wyrzucić zużyte kartridże do odpowiedniego pojemnika na odpady, zgodnie ze standardową praktyką obowiązującą w placówce.

## 11 Wyświetlanie i drukowanie wyników

W niniejszym punkcie opisano podstawowe kroki umożliwiające wyświetlanie i drukowanie wyników. Szczegółowe instrukcje dotyczące wyświetlania i drukowania wyników można znaleźć w *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Dx* lub *instrukcji obsługi systemu GeneXpert Infinity*, w zależności od używanego modelu.

1. Kliknąć ikonę **Wyświetl wyniki (View Results)**, aby wyświetlić wyniki.
2. Po zakończeniu badania kliknąć przycisk **Raport (Report)** w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)**, aby wyświetlić i/lub utworzyć plik PDF z raportem.

## 12 Kontrola jakości

Każdy test zawiera kontrolę przetwarzania próbki (Sample Processing Control, SPC) oraz kontrolę sondy (Probe Check Control, PCC).

- **Kontrola przetwarzania próbki (SPC):** Pozwala się upewnić, że próbkę przetworzono prawidłowo. SPC zawiera przetrwalniki bakterii *Bacillus globigii* w postaci suchej kulki, która jest umieszczona w każdym kartridżu i umożliwia weryfikację prawidłowości przetwarzania badanej próbki. Kontrola SPC weryfikuje, czy w przypadku obecności drobnoustrojów nastąpiła liza bakterii *C. difficile* i przetrwalnika oraz czy przetwarzanie próbki jest prawidłowe. Ponadto kontrola SPC wykrywa hamowanie reakcji real-time PCR związane z próbką, a także umożliwia upewnienie się, że warunki reakcji PCR (temperatura i czas) są odpowiednie dla reakcji amplifikacji oraz że odczynniki do reakcji PCR działają poprawnie. Wynik kontroli SPC powinien być dodatni w próbce ujemnej i może być ujemny lub dodatni w próbce dodatniej. Kontrola SPC zakończy się powodzeniem, jeśli spełni zatwierdzone kryteria akceptacji.
- **Kontrola sondy (PCC):** Przed rozpoczęciem reakcji PCR aparat GeneXpert mierzy sygnał fluorescencji z sondy w celu monitorowania nawadniania kulek, napełnienia komory reakcyjnej, integralności sondy i stabilności barwnika. Kontrola sondy sprawdza, czy są spełnione przypisane kryteria akceptacji.

## 13 Interpretacja wyników

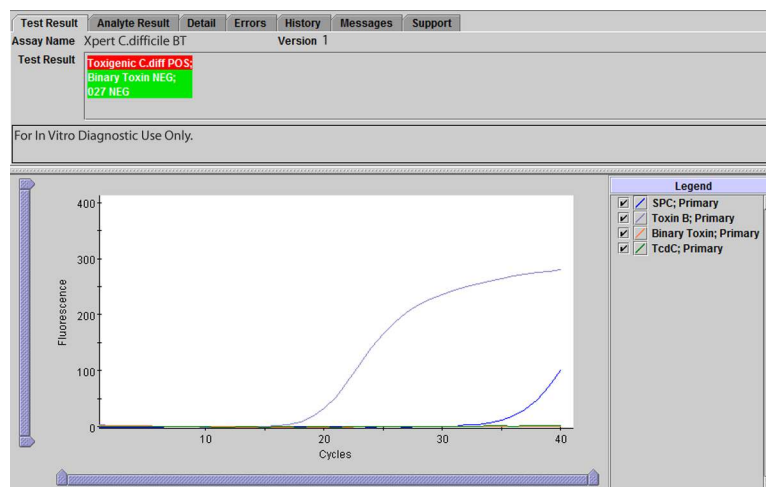
Wyniki są interpretowane przez na podstawie zmierzonych sygnałów fluorescencji i wbudowanych algorytmów obliczeniowych, a następnie wyświetlane w oknie **Wyświetlanie wyników (View Results)**. Możliwe wyniki przedstawia poniższa tabela.

Tabela 1. Wyniki testu Xpert *C. difficile* BT i ich interpretacja

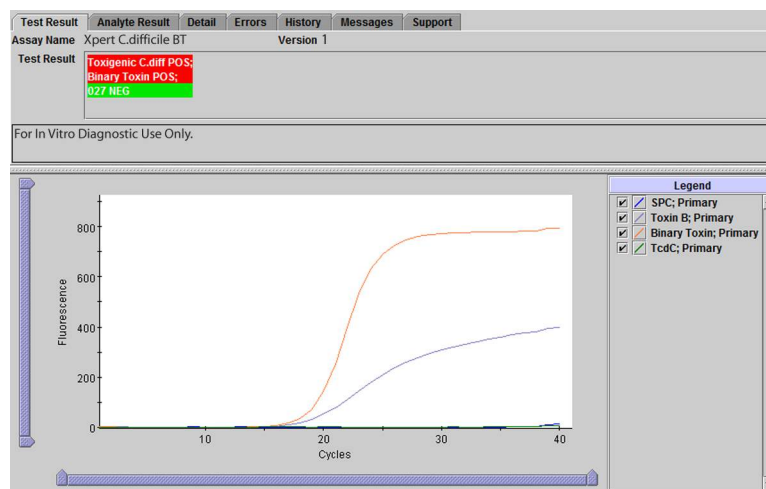
Wynik	Interpretacja
<p><b>Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS), Wynik UJEMNY pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin NEG), Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 2.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Szczep bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzający toksynę — wartość Ct sekwencji docelowej szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę (gen toksyny B) mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego.</li> <li>• Nie został wykryty gen toksyny binarnej ani delecja nukleotydu 117 genu <i>tcdC</i>.</li> <li>• SPC — NIE DOTYCZY (NA): kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej bakterii <i>C. difficile</i> może konkurować z tą kontrolą.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS), Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS), Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 3.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wartości Ct sekwencji docelowych szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę (gen toksyny B i gen toksyny binarnej) mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe znajdują się powyżej ustawienia minimalnego; nie została wykryta delecja nukleotydu 117 genu <i>tcdC</i>.</li> <li>• SPC — NIE DOTYCZY (NA): kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej bakterii <i>C. difficile</i> może konkurować z tą kontrolą.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS), Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS), Wynik PRAWDOPODOBNI DODATNI pod kątem rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE POS)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 4.</p>	<p>Zostały wykryte sekwencje docelowe DNA szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę oraz przypuszczalnie rybotypu 027.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Wartości Ct wszystkich sekwencji docelowych szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę oraz przypuszczalnie rybotypu 027 (toksyna B, toksyna binarna i delecja nukleotydu 117 genu <i>tcdC</i>) mieszczą się w prawidłowym zakresie, a punkty końcowe znajdują się powyżej ustawienia minimalnego.</li> <li>• SPC — NIE DOTYCZY (NA): kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej bakterii <i>C. difficile</i> może konkurować z tą kontrolą.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>Wynik UJEMNY pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG), Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS), Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 5.</p>	<p>Nie zostały wykryte sekwencje docelowe genu toksyny B bakterii <i>C. difficile</i>; została jednak wykryta inna sekwencja docelowa DNA (gen toksyny binarnej) z wartością Ct mieszczącą się w prawidłowym zakresie i punktem końcowym znajdującym się powyżej ustawienia minimalnego. Znaczenie kliniczne izolatów z wynikiem dodatnim tylko pod kątem toksyny binarnej jest obecnie nieokreślone.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC — NIE DOTYCZY (NA): kontrola SPC jest ignorowana, ponieważ amplifikacja sekwencji docelowej bakterii <i>C. difficile</i> może konkurować z tą kontrolą.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>

Wynik	Interpretacja
<p><b>Wynik UJEMNY pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG), Wynik UJEMNY pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin NEG), Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 6.</p>	<p>Nie zostały wykryte sekwencje docelowe DNA bakterii <i>C. difficile</i> (gen toksyny B, gen toksyny binarnej).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Nie zostały wykryte sekwencje docelowe genów szczepu bakterii <i>C. difficile</i> wytwarzającego toksynę (gen toksyny B i gen toksyny binarnej); nie zostały wykryte inne sekwencje docelowe DNA toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> (delecja nukleotydu 117 genu <i>tcdC</i>).</li> <li>• SPC — POWODZENIE (PASS): wartość Ct kontroli SPC mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się powyżej ustawienia minimalnego punktu końcowego.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>WYNIK NIEWAŻNY (INVALID)</b></p> <p>Patrz Ilustracja 7.</p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej DNA bakterii <i>C. difficile</i>. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 15. Kontrola SPC nie spełniła kryteriów akceptacji, próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• NIEWAŻNY (INVALID) — Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej DNA bakterii <i>C. difficile</i>.</li> <li>• SPC — NIEPOWODZENIE (FAIL): wynik kontroli SPC jest ujemny, wartość Ct kontroli SPC nie mieści się w prawidłowym zakresie, a punkt końcowy znajduje się poniżej ustawienia minimalnego.</li> <li>• Kontrola sondy — POWODZENIE (PASS): wszystkie wyniki kontroli sondy są poprawne.</li> </ul>
<p><b>BŁĄD (ERROR)</b></p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej DNA bakterii <i>C. difficile</i>. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 15. Kontrola sondy zakończyła się niepowodzeniem, prawdopodobnie z powodu niewłaściwego napełnienia komory reakcyjnej, wykrycia błędu dotyczącego integralności sondy lub przekroczenia wartości granicznej ciśnienia maksymalnego.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toksyna B — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Toksyna binarna — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Delecja nukleotydu 117 genu <i>tcdC</i> — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• *SPC — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Kontrola sondy — NIEPOWODZENIE (FAIL)*: wszystkie lub jeden wynik kontroli sondy był nieprawidłowy.</li> </ul> <p>* Jeśli kontrola sondy zakończyła się powodzeniem, błąd został spowodowany awarią elementu systemu.</p>
<p><b>BRAK WYNIKU (NO RESULT)</b></p>	<p>Nie można określić obecności ani nieobecności sekwencji docelowej DNA bakterii <i>C. difficile</i>. Powtórzyć badanie zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 15. Nie można uzyskać wyniku badania z powodu zgromadzenia niewystarczających danych (taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toksyna B (<i>tcdB</i>) — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Toksyna binarna (<i>cdt</i>) — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• <i>tcdC</i>Δ117 — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• SPC — BRAK WYNIKU (NO RESULT)</li> <li>• Kontrola sondy — NIE DOTYCZY (NA)</li> </ul>

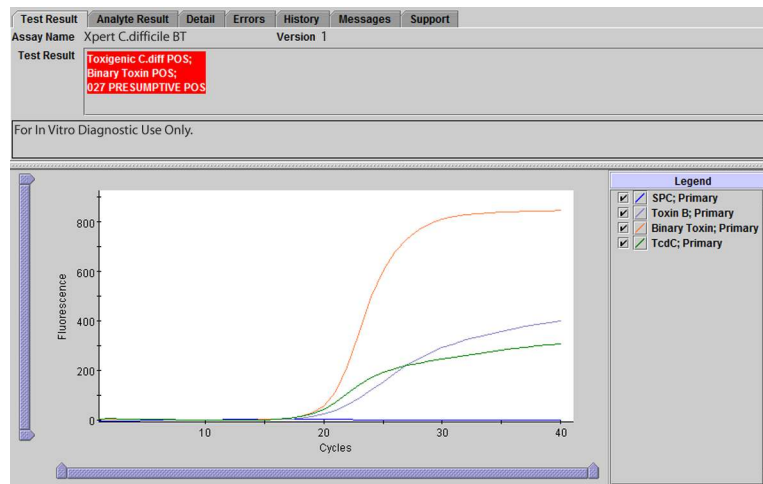
**Uwaga** Ekran zawarty w tej sekcji (il. 2, il. 3, il. 4, il. 5, il. 6 i il. 7) pochodzi z systemu z oprogramowaniem .



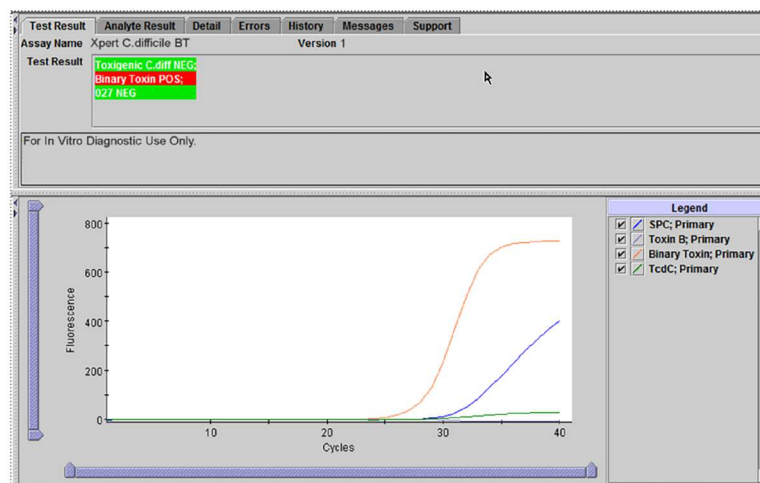
Ilustracja 2. Przykład wyniku dodatniego pod kątem toksykogenego szczepu bakterii C. diff, wyniku ujemnego pod kątem toksyny binarnej i wyniku ujemnego pod kątem rybotypu 027



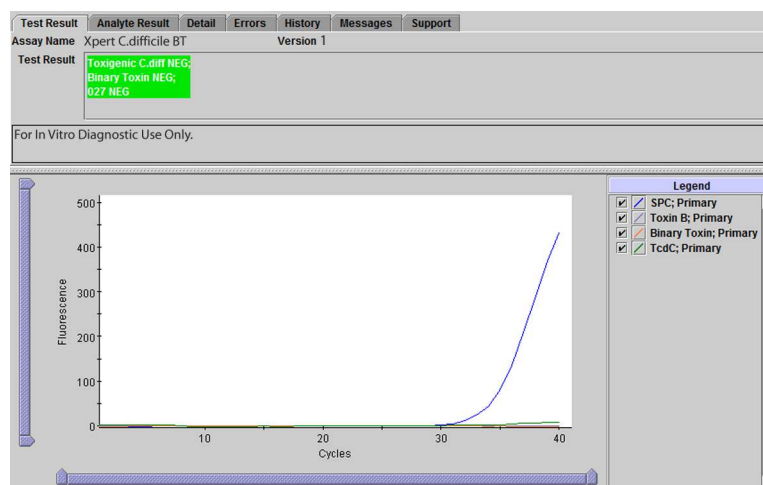
Ilustracja 3. Przykład wyniku dodatniego pod kątem toksykogenego szczepu bakterii C. diff, wyniku dodatniego pod kątem toksyny binarnej i wyniku ujemnego pod kątem rybotypu 027



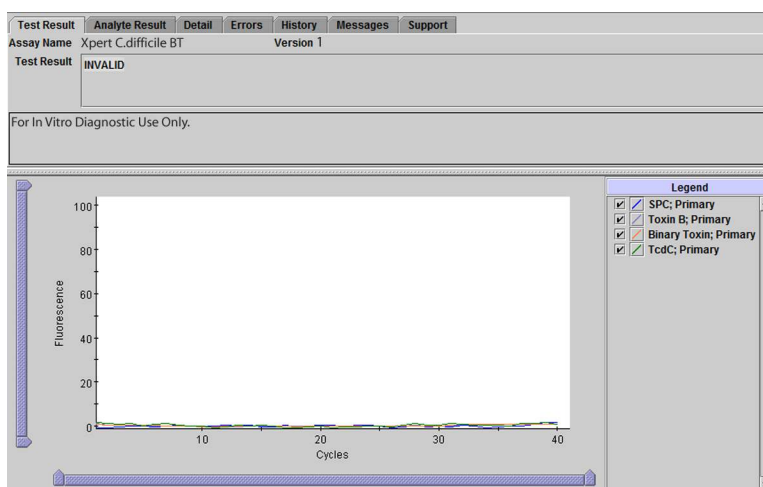
**Ilustracja 4. Przykład wyniku dodatniego pod kątem toksykogennego szczepu bakterii C. diff, wyniku dodatniego pod kątem toksyny binarnej i wyniku dodatniego pod kątem przypuszczalnie dodatniego wyniku dla rybotypu 027**



**Ilustracja 5. Przykład wyniku ujemnego pod kątem toksykogennego szczepu bakterii C. diff, wyniku dodatniego pod kątem toksyny binarnej i wyniku ujemnego pod kątem rybotypu 027**



**Ilustracja 6. Przykład wyniku ujemnego pod kątem toksykogennego szczepu bakterii C. diff, wyniku ujemnego pod kątem toksyny binarnej i wyniku ujemnego pod kątem rybotypu 027**



Ilustracja 7. Przykład wyniku nieważnego

## 14 Sytuacje, w których należy powtórzyć badanie

W przypadku wystąpienia któregokolwiek z poniższych wyników badań należy powtórzyć badanie jeden raz zgodnie z instrukcjami, które zawiera Sekcja 15.

- Wynik **NIEWAŻNY (INVALID)** oznacza, że kontrola SPC się nie powiodła. Próbka nie została poprawnie przetworzona lub nastąpiło zahamowanie reakcji PCR.
- Wynik **BŁĄD (ERROR)** oznacza niepowodzenie kontroli sondy i przerwanie badania prawdopodobnie spowodowane niewłaściwym napełnieniem komory reakcyjnej, wykryciem błędu dotyczącego integralności sondy odczynnikowej, przekroczeniem wartości granicznej ciśnienia maksymalnego lub wykryciem błędu pozycjonowania zaworu.
- Komunikat **BRAK WYNIKU (NO RESULT)** oznacza, że zgromadzono niewystarczające dane. Taka sytuacja może wystąpić na przykład wtedy, gdy operator zatrzymał badanie będące w toku.

## 15 Procedura powtórzenia badania

Aby powtórzyć badanie przed upływem 3 godzin od uzyskania wyniku nieokreślonego, należy użyć nowego kartridża (nie należy ponownie używać tego samego kartridża) i nowych odczynników.

1. Wyjąć nowy kartridż z zestawu.
2. Przy pomocy jednorazowej pipety transferowej przenieść całą pozostałą zawartość komory na próbkę do nowej fiołki z odczynnikami do próbek.
3. Worteksować i dodać całą zawartość odczynnikową do próbek do komory na próbkę nowego kartridża testu Xpert C. *difficile*.
4. Zamknąć wieczko i rozpocząć nowe badanie.

Aby powtórzyć badanie po upływie 3 godzin od uzyskania wyniku nieokreślonego, należy powtórzyć badanie z użyciem nowej próbki wymazu pobranej z pierwotnej próbki pacjenta.

## 16 Ograniczenia

- Izolaty inne niż rybotypu 027 reprezentujące toksynotyp XIV będą zgłaszane z wynikiem **Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii C. diff (Toxigenic C. diff POS); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik PRAWDOPODOBNIIE DODATNI pod kątem rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE POS)** przez test Xpert C. *difficile* BT.
- **Wynik UJEMNY pod kątem toksykogennego szczepu bakterii C. diff (Toxigenic C. diff NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik PRAWDOPODOBNIIE UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE NEG)** przez test Xpert C. *difficile* BT może oznaczać obecność genu toksyny B i/lub delekcji *tcdC* poniżej granicy wykrywalności testu.

- Niekiedy izolaty inne niż rybotypu 027 reprezentujące toksynotypy IV, V i X będą zgłaszane z wynikiem **Wynik DODATNI pod kątem toksynogennego szczepu bakterii *C. diff* (Toxigenic *C. diff* POS); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik PRZYPUSZCZALNIE DODATNI pod kątem rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE POS) przez test Xpert *C. difficile* BT.**
- Skuteczność testu Xpert *C. difficile* BT weryfikowano wyłącznie za pomocą procedur opisanych w niniejszej ulotce informacyjnej. Modyfikacja tych procedur może wpłynąć na skuteczność testu.
- Wyniki testu Xpert *C. difficile* BT należy interpretować z uwzględnieniem innych danych laboratoryjnych i klinicznych dostępnych dla klinicysty.
- Błędne wyniki badania mogą być spowodowane niewłaściwym pobraniem próbki, nieprzestrzeganiem zalecanych procedur pobierania, obsługi i przechowywania próbki, błędem technicznym, pomieszczeniem próbek bądź zbyt małą liczbą drobnoustrojów w próbce uniemożliwiająca ich wykrycie przez test. Uważne przestrzeganie instrukcji zawartych w niniejszej ulotce informacyjnej pozwoli uniknąć uzyskania błędnych wyników.
- Z uwagi na współczynnik rozcieńczenia związany z procedurą powtórzenia badania istnieje możliwość, że próbki z wynikiem dodatnim pod kątem bakterii *C. difficile*, będące bardzo blisko lub na granicy wykrywalności (LoD) testu Xpert *C. difficile* BT, mogą po powtórzeniu badania mieć wynik fałszywie ujemny.
- Zahamowanie testu Xpert *C. difficile* BT zaobserwowano w obecności następujących substancji: maść z tlenkiem cynku i krem Vagisil®.
- Epidemie zakażeń *Clostridium difficile* (CDI) mogą być powodowane przez szczepy inne niż rybotypu 027.
- Wyniki fałszywie ujemne mogą być zgłaszane, jeśli drobnoustrój powodujący zakażenie ma mutacje genomowe, insercje, delekcje lub rearanżacje, bądź jeśli badanie jest wykonywane na bardzo wczesnym etapie choroby.
- Wyniki dodatnie uzyskane u pacjentów z obniżoną odpornością mogą odzwierciedlać bezobjawowe zakażenie bakterią *C. difficile*.
- Wykrycie kwasu nukleinowego bakterii *C. difficile* w kale potwierdza obecność drobnoustrojów u pacjentów z biegunką, ale może nie oznaczać, że bakteria *C. difficile* jest przyczyną biegunki.
- Nie określono charakterystyki roboczej w przypadku pacjentów w wieku < 2 lat.
- Mutacje lub polimorfizmy w regionach wiążących startera lub sondy mogą wpływać na wykrywanie docelowych typów bakterii *C. difficile*, co może prowadzić do uzyskania wyniku fałszywie ujemnego.

## 17 Wartości oczekiwane

W badaniu klinicznym testu Xpert *C. difficile* BT uwzględniono łącznie 2293 próbki nieufornowanego kału z 7 ośrodków w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie. Liczbę i odsetek wyników dodatnich pod kątem toksynogennego szczepu bakterii *C. difficile* wg hodowli, obliczone wg wieku i płci, przedstawiają poniższe tabele.

**Tabela 2. Zaobserwowana prewalencja toksynogennego szczepu bakterii *C. difficile* wg grupy wiekowej<sup>a</sup>**

Grupa wiekowa	N	Prewalencja toksynogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> (w tym 027)	Prewalencja toksyny binarnej	Prewalencja rybotypu 027
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)
<b>Łącznie</b>	<b>2293</b>	<b>18,8% (430/2293)</b>	<b>7,2% (165/2293)</b>	<b>5,5% (125/2293)</b>

<sup>a</sup> na podstawie wyników testu Xpert.

Tabela 3. Zaobserwowana prevalencja toksynogennego szczepu bakterii *C. difficile* wg płci<sup>a</sup>

Płeć	N	Prevalencja toksynogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> (w tym 027)	Prevalencja toksyny binarnej	Prevalencja rybotypu 027
Mężczyzna	1072	18,2% (195/1072)	6,3% (68/1072)	5,0% (54/1072)
Kobieta	1221	19,2% (235/1221)	7,9% (97/1221)	5,8% (71/1221)
<b>Łącznie</b>	<b>2293</b>	<b>18,8% (430/2293)</b>	<b>7,2% (165/2293)</b>	<b>5,5% (125/2293)</b>

<sup>a</sup> na podstawie wyników testu Xpert.

## 18 Charakterystyka robocza

### 18.1 Skuteczność kliniczna

Charakterystykę roboczą testu Xpert *C. difficile* BT określono w wieloośrodkowym, prospektywnym badaniu klinicznym w siedmiu ośrodkach w Stanach Zjednoczonych i Kanadzie, porównując wyniki testu Xpert *C. difficile* BT z wynikami referencyjnej hodowli bakteryjnej, a następnie wykonując testy CCCN na izolatach oraz typowanie szczepów na szczepach toksykogennych poprzez rybotypowanie PCR.

Uczestnikami były osoby, których rutynowa opieka wymagała wykonywanie badań pod kątem bakterii *C. difficile*. Do badań wykonywanych przy pomocy testu Xpert *C. difficile* BT uzyskano porcję każdej pozostałości próbki nieufornowanego kału. Pozostałą próbkę przesłano do laboratorium centralnego w celu wykonania referencyjnej hodowli bakteryjnej i badań pod kątem cytotoksyny B. Każdą próbkę kału posiano na wstępnie zredukowanym agarze z cykloseryną, cefoksytyną i fruktozą z użyciem metody bezpośredniego naniesienia na płytkę (CCFA-D) oraz w bulionie z cykloseryną, cefoksytyną i mannitolem z taurocholanem, lizozymem i cysteiną (CCMB-TAL). Po 24 godzinach bulion CCMB-TAL posiano wtórnie na drugą płytkę CCFA-E (CCFA-Enriched). W dalszej części niniejszego dokumentu ta metoda bezpośrednio wzbogaconej hodowli bakteryjnej jest zwana „referencyjną hodowlą bakteryjną”.

Jeśli z płytki CCFA-D uzyskano izolat bakterii *C. difficile* i miał on wynik dodatni w teście CCCN, wówczas próbkę klasyfikowano jako „dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile*”, a płytka CCFA-E nie była poddawana dalszej analizie. Jeśli z płytki CCFA-D nie uzyskano izolatu bakterii *C. difficile* lub jeśli izolat miał wynik ujemny w teście CCCN, wówczas płytka CCFA-E była poddawana dalszej analizie.

Jeśli płytka CCFA-E miała wynik dodatni pod kątem bakterii *C. difficile* i izolat miał wynik dodatni w teście CCCN, wówczas próbkę klasyfikowano jako „dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile*”. Próbka była zgłaszana jako „ujemna”, jeśli płytka CCFA-E miała wynik ujemny pod kątem bakterii *C. difficile* lub jeśli izolat miał wynik ujemny w teście CCCN.

Po wykonaniu badań referencyjnej hodowli bakteryjnej izolaty z wynikiem dodatnim pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile* zostały wysłane do drugiego zestawu laboratoriów referencyjnych w celu identyfikacji szczepów poprzez rybotypowanie PCR.

Skuteczność testu Xpert *C. difficile* BT obliczono w odniesieniu do wyników hodowli bezpośredniej z typowaniem szczepów i referencyjnej hodowli bakteryjnej z typowaniem szczepów.

### 18.2 Wyniki ogólne

Przy użyciu testu Xpert *C. difficile* BT, hodowli oraz typowania szczepów przebadano łącznie 2293 próbki.

#### 18.2.1 Wyniki skuteczności w porównaniu z hodowlą bezpośrednią

W odniesieniu do hodowli bezpośredniej z rybotypowaniem PCR test Xpert *C. difficile* BT wykazał czułość i swoistość pod kątem toksynogennego szczepu bakterii *C. difficile* na poziomie odpowiednio 98,78% i 90,86%. Test Xpert *C. difficile* BT wykazał również 100% zgodność wyników dodatnich i 97,70% zgodność wyników ujemnych pod kątem rybotypu 027 (patrz poniższa tabela).



Tabela 4. Xpert *C. difficile* BT Wydajność testu vs. hodowla bezpośrednia oraz rybotypowanie techniką PCR

Hodowla bezpośrednia i rybotypowanie PCR					
		Toksyna B+ 027+	Toksyna B+ 027-	UJEMNY (NEG)	Łącznie
Xpert <i>C. difficile</i> BT <sup>b</sup>	Toksyna B+ 027+	74	4	47	125
	Toksyna B+ 027-	0	164	140	304 <sup>a</sup>
	UJEMNY (NEG)	0	3	1860	1863
	Łącznie	74	171	2047	2292 <sup>a</sup>
		<b>Toksynogeny szczep bakterii <i>C. difficile</i></b>		<b>Toksynogeny szczep bakterii <i>C. difficile</i> / rybotyp 027</b>	
		Czułość: 98,78% (242/245) Swoistość: 90,86% (1860/2047) Dokładność: 91,71% (2102/2292) PPV <sup>c</sup> : 56,41% (242/429) NPV <sup>d</sup> : 99,84% (1860/1863)		Zgodność wyników dodatnich: 100% (74/74) Zgodność wyników ujemnych: 97,70% (2167/2218) Dokładność: 97,77% (2241/2292) PPV: 59,20% (74/125) Ujemna wartość predykcyjna (NPV): 100% (2218/2218)	

a. Jednego izolatu nie można było poddać typowaniu z powodu kontaminacji: tej próbki nie uwzględniono w statystykach wydajności.

b. Przedstawione wyniki testu Xpert dotyczą pierwszej lub drugiej próby. Około 3,2% próbek miało wynik nieokreślony przy pierwszej próbie.

c. Dodatnia wartość predykcyjna

d. Ujemna wartość predykcyjna

### 18.2.2 Skuteczność w porównaniu z referencyjną hodowlą bakteryjną

W odniesieniu do referencyjnej hodowli bakteryjnej z rybotypowaniem PCR test Xpert *C. difficile* BT wykazał czułość i swoistość pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile* na poziomie odpowiednio 93,39% i 94,02%. Test Xpert *C. difficile* BT wykazał również 98,89% zgodność wyników dodatnich i 98,36% zgodność wyników ujemnych pod kątem rybotypu 027 (patrz tabela 5).

Tabela 5. Skuteczność testu Xpert *C. difficile* BT w porównaniu z referencyjną hodowlą bakteryjną i rybotypowaniem PCR

Referencyjna hodowla bakteryjna i rybotypowanie PCR					
		Toksyna B+ 027+	Toksyna B+ 027-	UJEMNY (NEG)	Łącznie
Xpert <i>C. difficile</i> BT <sup>b</sup>	Toksyna B+ 027+	89	5	31	125
	Toksyna B+ 027-	0	217	86	303 <sup>a</sup>

	<b>UJEMNY (NEG)</b>	1	21	1841	1863
	<b>Łącznie</b>	90	243	1958	2291 <sup>a</sup>
		<b>Toksynogeny szczep bakterii <i>C. difficile</i></b>		<b>Toksynogeny szczep bakterii <i>C. difficile</i> / rybotyp 027</b>	
		Czułość: 93,39% (311/333) Swoistość: 94,02% (1841/1958) Dokładność: 93,93% (2152/2291) PPV <sup>c</sup> : 72,66% (311/428) NPV <sup>d</sup> : 98,82% (1841/1863)		Zgodność wyników dodatnich: 98,89% (89/90) Zgodność wyników ujemnych: 98,36% (2165/2201) Dokładność: 98,38% (2254/2291) PPV: 71,20% (89/125) Ujemna wartość predykcyjna (NPV): 99,95% (2165/2166)	

a. Dwóch izolatów nie można było poddać typowaniu z powodu kontaminacji: tych próbek nie uwzględniono w statystykach wydajności.

b. Przedstawione wyniki testu Xpert dotyczą pierwszej lub drugiej próby. Około 3,2% próbek miało wynik nieokreślony przy pierwszej próbie.

c. Dodatnia wartość predykcyjna.

d. Ujemna wartość predykcyjna.

### 18.2.3 Podsumowanie

Poniższa tabela przedstawia łączną liczbę próbek dla każdego wyniku badania spośród 2293 próbek uwzględnionych w analizie danych skuteczności klinicznej.

**Tabela 6. Xpert *C. difficile* BT Ogólna wydajność testu**

<b>Wynik badania</b>	<b>N</b>
Wynik DODATNI pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS); Wynik UJEMNY pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin NEG); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)	272
Wynik DODATNI pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)	36
Wynik DODATNI pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> POS); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik DODATNI pod kątem PRZYPUSZCZALNEGO rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE POS)	122
Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)	7 <sup>a</sup>
Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik UJEMNY pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin NEG); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)	1856
<b>Łącznie</b>	<b>2293</b>

<sup>a</sup> Dodatkowe badania wykazały, że 4 z 7 szczepów zawierały gen toksyny B.

### 18.2.4 Stosowanie antybiotyków

Spośród 2293 przypadków uwzględnionych w głównym zestawie danych stosowanie antybiotyków w okresie 2 miesięcy poprzedzających pobranie próbki zgłoszono dla 1630 próbek, a brak stosowania antybiotyków — dla 570 próbek; w 93 przypadkach nie można było ustalić, czy antybiotyki były stosowane. Stosowanie antybiotyków nie spowodowało statystycznie istotnej różnicy w skuteczności testu.

## 19 Skuteczność analityczna

### 19.1 Swoistość analityczna

Pięćdziesiąt pięć (55) szczepów pobrano, oceniono ilościowo i przebadano, używając testu Xpert *C. difficile* BT. Szczepy pochodziły z kolekcji hodowli następujących organizacji: Amerykańska Kolekcja Hodowli Komórkowych (American Type Culture Collection, ATCC), Kolekcja Hodowli Uniwersytetu w Göteborgu (Culture Collection University of Göteborg, CCUG), Niemiecka Kolekcja Drobnoustrojów i Hodowli Komórkowych (German Collection of Microorganisms and Cell Cultures, DSMZ), Centra Kontroli i Prewencji Chorób (Centers for Disease Control and Prevention, CDC), Instytut Zdrowia Publicznego w Mariborze w Słowenii i Szwedzki Instytut Kontroli Chorób Zakaźnych (Swedish Institute for Infectious Disease Control, SMI).

W badanych gatunkach bakterii uwzględniono dziesięć (10) gatunków nietoksykogennych szczepów bakterii *C. difficile* i jedenaście (11) gatunków *Clostridium* innych niż *C. difficile*. Badane drobnoustroje zidentyfikowano jako Gram-dodatnie (37) lub Gram-ujemne (18). Następnie drobnoustroje zaklasyfikowano jako bakterie tlenowe (24), bakterie beztlenowe (29) lub mikroaerofile (2).

Każdy szczep badano w trzech kopiach w stężeniach od  $1,1 \times 10^8$  do  $2,2 \times 10^{10}$  CFU/wymaz.

W warunkach badania wszystkie izolaty miały wynik **Wynik UJEMNY pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. diff* (Toxigenic *C. diff* NEG); Wynik UJEMNY pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin NEG); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)** (patrz tabela 7). Swoistość analityczna wyniosła 100%.

Przebadano dodatkową serię non-difficile gatunków *Clostridium*, aby wykazać specyficzność testu na toksynę binarną.

Tabela 7. Wyniki badania swoistości pod kątem genu toksyny binarnej

Rodzaj	Gatunek	Liczba przebadanych	Toksyna A/B	Toksyna binarna
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>podobny do aminovalericum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>baratii</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>bartletti</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>bifermantans</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>bolteae</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>butyricum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>cadaveris</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>celerecrescens</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>citroniae</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	clostridioforme	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>cochlearium</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>colicanis</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>disporicum</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	ujem.	ujem.

Rodzaj	Gatunek	Liczba przebadanych	Toksyna A/B	Toksyna binarna
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>podobny do mayombei</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>novyi</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens Typ E</i>	3	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>species</i>	19	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>grupa subterminale</i>	3	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</i>	2	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>xylano/aerotolerans</i>	1	ujem.	ujem.
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 027</i>	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 078</i>	2	+	+

Wszystkie izolaty zawierające toksynę inną niż binarna miały wynik ujemny w teście Xpert *C. difficile* BT.

## 19.2 Czulość analityczna

Przeprowadzono badania mające na celu określenie 95% przedziałów ufności dla analitycznej granicy wykrywalności (LoD) bakterii *C. difficile* rozcieńczonej w matrycy kału pochodzenia ludzkiego, która może zostać wykryta przez test Xpert *C. difficile* BT. Matryca kału składała się z ludzkiego kału w stanie płynnym (z wynikiem ujemnym pod kątem bakterii *C. difficile* w teście Xpert *C. difficile* BT) rozcieńczonego w roztworze buforowym PBS zawierającym 15% glicerolu. Granicę wykrywalności definiuje się jako najmniejszą liczbę jednostek tworzących kolonie (CFU) na wymaz, którą w sposób odtwarzalny można odróżnić od próbek ujemnych z ufnością na poziomie 95%.

Oceniono 20 powtórzeń w każdym badanym stężeniu bakterii *C. difficile* (CFU/wymaz) dla 7 różnych szczepów bakterii *C. difficile* reprezentujących toksynotypy 0 (dwa szczepy), III (dwa szczepy), IV, V, and VIII (po jednym szczepie).

Wartość szacunkową i przedziały ufności określono przy pomocy regresji logistycznej z użyciem danych (liczba wyników dodatnich na liczbę powtórzeń na każdym poziomie) uzyskanych dla badanych wartości CFU. Przedziały ufności określono na podstawie szacunków maksymalnego prawdopodobieństwa z użyciem parametrów modelu logistycznego i macierzy wariancji-kowariancji w dużej próbie. Podsumowanie szacunkowych wartości punktu granicy wykrywalności oraz górnych i dolnych 95% przedziałów ufności dla każdego badanego toksynotypu bakterii *C. difficile* zawiera poniższa tabela.

**Tabela 8. 95% przedziały ufności dla analitycznej granicy wykrywalności — *C. difficile***

Identyfikator szczepu	Toksynotyp	LoD <sub>95%</sub> (CFU/wymaz)	Dolny przedział ufności 95% CI	Górny przedział ufności 95% CI
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) <sup>a</sup>	III	23	19	31
LUMC-5 (027) <sup>a</sup>	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

<sup>a</sup> Poprzez rybotypowanie techniką PCR

Wyniki tego badania wskazują, że test Xpert *C. difficile* BT daje wynik dodatni pod kątem bakterii *C. difficile* w 95% przypadków dla próbek kału zawierających 460 CFU/wymaz i wynik dodatni pod kątem przypuszczalnego rybotypu 027 w 95% przypadków dla wymazów zawierających 75 CFU.

Oprócz określenia granicy wykrywalności przy pomocy testu Xpert *C. difficile* BT przebadano 18 szczepów bakterii *C. difficile* reprezentujących toksynotypy 0 oraz 12 wariantów toksynotypów, w tym cztery izolaty rybotypu 027 toksynotypu III. Szczepy bakterii *C. difficile* wybrano w taki sposób, aby reprezentowały większość toksynotypów bakterii *C. difficile* spotykanych w praktyce. Hodowle podstawowe przygotowano poprzez zawieszenie hodowli bakteryjnych z płytek agarowych w roztworze buforowym PBS zawierającym 15% glicerolu. Stężenie każdej hodowli podstawowej dostosowano do 1,4–5,9 jednostki McFarlanda. Wszystkie szczepy rozcieńczono seryjnie do około 900 CFU/wymaz i badano w trzech kopiach.

W warunkach tego badania test Xpert *C. difficile* BT umożliwił poprawną identyfikację wszystkich 18 badanych szczepów z wynikiem **Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. diff* (Toxigenic *C. diff* POS)**. Ponadto w panelu uwzględniono 8 toksynotypów zgłoszonych jako dodatnie pod kątem wytwarzania toksyny binarnej (CDT). Wszystkie miały wynik dodatni pod kątem CDT w teście Xpert *C. difficile* BT. Wszystkie cztery izolaty rybotypu 027 reprezentujące toksynotyp III zostały poprawnie zidentyfikowane jako **Wynik DODATNI pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. diff* (Toxigenic *C. diff* POS); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik DODATNI pod kątem PRZYPUSZCZALNEGO rybotypu 027 (027 PRESUMPTIVE POS)**.

Przy pomocy testu Xpert *C. difficile* BT przebadano siedem izolatów *C. difficile* rybotypu PCR 033 i trzy dodatkowe izolaty *C. difficile* powiązanego rybotypu PCR, które miały wynik ujemny pod kątem *tedA* i *tedB*, ale które wytwarzały toksynę binarną (CDT)<sup>22</sup>. Wszystkie spośród 10 izolatów miały wynik dodatni pod kątem tylko toksyny binarnej (patrz Tabela 9), co potwierdza, że test wykrywa izolaty ujemne pod kątem toksyny A i toksyny B, ale dodatnie pod kątem toksyny binarnej).

**Tabela 9. Drobnoustroje wytwarzające tylko toksynę binarną (ujemne pod kątem toksyny A i toksyny B) badane przy pomocy testu Xpert *C. difficile* BT**

Drobnoustrój	Identyfikator szczepu	Rybotyp PCR	Wynik badania
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogenego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)

Drobnoustrój	Identyfikator szczepu	Rybotyp PCR	Wynik badania
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Wynik UJEMNY pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i> (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Wynik DODATNI pod kątem toksyny binarnej (Binary Toxin POS); Wynik UJEMNY pod kątem rybotypu 027 (027 NEG)

### 19.3 Substancje interferujące

Dwadzieścia jeden (21) substancji biologicznych i chemicznych, które niekiedy są stosowane w odniesieniu do próbek kału lub się w nich znajdują, przebadano pod kątem interferencji przy pomocy testu Xpert *C. difficile* BT. Do potencjalnie interferujących substancji należą między innymi krem Vagisil i maść z tlenkiem cynku (patrz punkt 16, Ograniczenia). 19 substancji wymienionych w poniższej tabeli nie dawało wykrywalnej interferencji z testem Xpert *C. difficile* BT.

**Tabela 10. Przebadane substancje, które nie powodują żadnych interferencji testu**

Substancja	Substancja
Krew pełna Karolinska University Hospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucyna (świńska) Sigma	Wazelina Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Chusteczki Preparation H Portable Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginal Contraceptive Film (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Wankomycyna Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Tłuszcze kałowe Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	Siarczan baru o dużej gęstości E-Z HDTM do zawiesiny E-Z EM Canada
Krem z hydrokortyzonem Longs Drugs	

## 20 Odtwarzalność

Panel 7 próbek o różnych stężeniach toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile* i *C. difficile* rybotypu 027 badano w ciągu 10 różnych dni z udziałem 2 różnych operatorów w każdym z 3 ośrodków (7 próbek × 2 operatorów/dzień × 10 dni × 3 ośrodki). W każdym z 3 ośrodków wykonujących badania użyto jednej partii testu Xpert *C. difficile* BT. Xpert *C. difficile* BT — liczba testów wykonanych według procedury testu Xpert *C. difficile* BT. Wyniki podsumowano w poniższych dwóch tabelach.

**Tabela 11. Podsumowanie wyników odtwarzalności (wszystkich)**

Identyfikator próbki	% zgodność <sup>a</sup>			% całkowitej zgodności wg próbki
	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	
Wynik ujemny	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Wysoko ujemna pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Nisko dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i>	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Średnio dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i>	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Wysoko ujemna pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> rybotypu 027	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Nisko dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> rybotypu 027	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,7% (58/60)
Średnio dodatnia pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. difficile</i> rybotypu 027	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% całkowitej zgodności wg ośrodka	100% (140/140)	97,1% (136/140)	97,1% (136/140)	98,1% (412/420)

<sup>a</sup> W przypadku próbek ujemnych i wysoko ujemnych % zgodność = (liczba wyników ujemnych / łączna liczba badanych próbek); w przypadku próbek nisko i średnio dodatnich % zgodność = (liczba wyników dodatnich / łączna liczba badanych próbek).

**Tabela 12. Podsumowanie wyników wartości Ct wg poziomu próbki i sondy**

SPC			
Poziom	Średnia	SD	CV
Wysoko ujemne pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	32,17	0,59	1,83%
Nisko dodatnie pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	32,14	0,53	1,66%
Średnio dodatnie pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	31,98	0,47	1,47%
Wysoko ujemne pod kątem rybotypu 027	32,11	0,65	2,03%
Nisko dodatnie pod kątem rybotypu 027	31,93	0,72	2,26%



Średnio dodatnie pod kątem rybotypu 027	31,96	0,61	1,90%
Ujemne	32,26	0,72	2,22%
<b>tcdB (toksyna B)</b>			
<b>Poziom</b>	<b>Średnia</b>	<b>SD</b>	<b>CV</b>
Wysoko ujemne pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	39,59	0,70	1,77%
Nisko dodatnie pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	35,88	0,81	2,24%
Średnio dodatnie pod kątem toksykogennego szczepu bakterii <i>C. diff</i>	32,17	0,45	1,39%
Wysoko ujemne pod kątem rybotypu 027	39,11	0,98	2,50%
Nisko dodatnie pod kątem rybotypu 027	35,49	0,58	1,65%
Średnio dodatnie pod kątem rybotypu 027	32,10	0,63	1,97%

Dodatkowy panel 6 próbek, 3 ujemnych i 3 wysoko ujemnych pod kątem toksykogennego szczepu bakterii *C. difficile*, badano w ciągu 5 różnych dni z udziałem 2 różnych operatorów w każdym z 3 ośrodków (6 próbek × 2 operatorów/ dzień × 5 dni × 3 ośrodki). Próbkę wysoko ujemną przygotowano w stężeniu poniżej granicy wykrywalności, tak aby dały wynik ujemny w 20% do 80% przypadków. W każdym z 3 ośrodków wykonujących badania użyto jednej partii testu Xpert *C. difficile* BT. Xpert *C. difficile* BT — liczba testów wykonanych według procedury testu Xpert *C. difficile* BT. Podsumowanie wyników zawiera poniższa tabela.

**Tabela 13. Podsumowanie dodatkowych wyników odtwarzalności próbek**

Identyfikator próbki	% zgodność <sup>a</sup>			% całkowitej zgodności wg próbki
	Ośrodek 1	Ośrodek 2	Ośrodek 3	
Wynik ujemny	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Próbka wysoko ujemna pod kątem toksynogennego szczepu <i>C. difficile</i> <sup>b</sup>	60% (18/30)	60% (18/30)	53,3% (16/30)	57,8% (52/90)

<sup>a</sup> (liczba wyników ujemnych / łączna liczba badanych próbek wysoko ujemnych)

<sup>b</sup> Dla próbek wysoko ujemnych oczekiwana jest 20–80% zgodność

## 21 Piśmiennictwo

- 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.

8. 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.
9. Goncalves C, Decre D, Barbut F, et al. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP- ribosyl-transferase) from *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol* 2004;42:1933-1939
10. 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.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun* 1998;56:2299-2306.
12. 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.
13. Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. *Clin Microbiol*. 2003 Feb;41:531-534.
14. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect*. 2001;7:411-416.
15. 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.
16. 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.
17. 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.
18. 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.
19. 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. Dokument M29 (patrz najnowsze wydanie).
25. ROZPORZĄDZENIE PARLAMENTU EUROPEJSKIEGO I RADY (WE) NR 1272/2008 z dnia 16 grudnia 2008 r. w sprawie klasyfikacji, oznakowania i pakowania substancji i mieszanin, zmieniające i uchylające listę zwrotów wskazujących środki ostrożności, dyrektywy 67/548/EWG i 1999/45/WE (zmieniające rozporządzenie (WE) nr 1907/2006).
26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 marca 2012 r.) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Porównanie siedmiu technik stosowanych w ramach typowania międzynarodowych szczepów epidemicznych *Clostridium difficile*: analiza endonukleaz restrykcyjnych, elektroforeza pulsacyjna w żelu, rybotypowanie techniką PCR, technika MLST (multilocus sequence typing, typowanie sekwencji w wielu loci), technika MLVA (multilocus variable-number tandem-repeat analysis, analiza zmiennej liczby tandemowych powtórzeń w wielu loci), technika AFLP (amplified fragment length polymorphism, polimorfizm długości amplifikowanego fragmentu) i typowanie sekwencji genów powierzchniowego białka A. *J Clin Microbiol* 2008;46:431-437.

## 22 Lokalizacja siedziby głównej firmy Cepheid

### 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 Wsparcie techniczne

### Przed skontaktowaniem się z firmą Cepheid

Przed skontaktowaniem się z Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid należy przygotować następujące informacje:

- Nazwa produktu
- Numer serii
- Numer seryjny aparatu
- Komunikaty o błędach (jeśli występują)
- Wersja oprogramowania i numer znacznika serwisowego komputera (w odpowiednim przypadku)

### Centrum wsparcia klienta w Stanach Zjednoczonych


















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

### Centrum wsparcia klienta we Francji

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

Dane kontaktowe wszystkich oddziałów Centrum wsparcia klienta firmy Cepheid są dostępne na naszej stronie internetowej: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 24 Tabela symboli

Symbol	Znaczenie
	Numer katalogowy
	Wyrób medyczny przeznaczony do diagnostyki <i>in vitro</i>
	Nie używać ponownie
	Kod serii
	Zapoznać się z instrukcją użycia
	Przeostroga
	Producent
	Kraj produkcji
	Zawiera ilość wystarczającą do wykonania <i>n</i> testów
	Kontrola
	Data ważności
	Oznaczenie CE — zgodność z wymogami UE
	Zakres temperatury
	Zagrożenia biologiczne
	Ostrzeżenie
	Upoważniony przedstawiciel w Szwajcarii
	Importer



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 Historia zmian

: 301-6190-PL, Rev. D do Rev. E

Punkt	Opis zmiany
Czułość analityczna	Poprawiono błąd w sekcji "Czułość analityczna".
Tabela symboli	Poprawiono błąd w sekcji "Tabela symboli".