

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Uputstvo za upotrebu

CE **IVD**

Obaveštenja o zaštitnim znakovima, patentima i autorskom pravu

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[®], Cepheid logotip, GeneXpert[®] i Xpert[®] su zaštitni znakovi kompanije Cepheid, registrovani u SAD-u i drugim zemljama.

Svi ostali zaštitni znakovi su vlasništvo njihovih vlasnika.

KUPOVINA OVOG PROIZVODA PRENOSI KUPCU NEPRENOSIVO PRAVO DA GA KORISTI U SKLADU SA OVIM UPUTSTVOM ZA UPOTREBU. NIKAKVA DRUGA PRAVA SE NE PRENOSE IZRIČITO, IMPLIKACIJOM ILI ZABRANOM. ŠTAVIŠE, NIKAKVA PRAVA NA DALJU PRODAJU SE NE DOBIJAJU KUPOVINOM OVOG PROIZVODA.

© 2016–2024 Cepheid.

Pogledajte Odeljak 25 Istoriju revizija za opis promena.

Xpert[®] *C. difficile* BT

Medicinsko sredstvo za *in vitro* dijagnostiku

1 Vlasničko ime

Xpert[®] *C. difficile* BT

2 Opšte prihvaćeni ili uobičajeni naziv

Xpert *C. difficile* BT test

3 Namena

Cepheid Xpert *C. difficile* BT test izveden na Cepheid GeneXpert[®] Instrument Systems, je kvalitativni *in vitro* dijagnostički test za brzu detekciju *C. difficile tcdB* (toksin B gen), *cdt* (binarni toksin gen) i deleciju nukleotida na položaju 117 *tcdC* gena iz neformiranih (tečnih ili mekanih) uzoraka stolice, prikupljenih od pacijenata za koje se sumnja da imaju *Clostridium difficile* infekciju (CDI). Xpert *C. difficile* BT test je namenjen kao pomoćno sredstvo u dijagnozi CDI i za detekciju sojeva koji su potencijalno povezani sa težom bolešću. Test koristi automatizovanu lančanu reakciju polimeraze (PCR) u realnom vremenu za detekciju *tcdB*, *cdt* i *tcdC* delecije na bazi 117, koja je povezana sa ribotipom 027 soja. Binarni toksin proizvodi ograničeni broj sojeva *C. difficile*, uključujući soj 027. Binarni toksin sa detekcijom *tcdB* često ukazuje na težu bolest ili recidiv bolesti. Izolati *C. difficile* koji su negativni na *tcdB* ali sadrže samo gene za binarni toksin, mogu proizvesti simptome slične onima koje izazivaju toksigeni sojevi *C. difficile*, ali je klinički značaj takvih sojeva za sada nesiguran. Prateća kultura je neophodna samo ako je potrebna dalja tipizacija ili oporavak mikroorganizma.

4 Sažetak i objašnjenje

C. difficile je Gram-pozitivna, sporogena, anaerobna bakterija koja je prvi put povezana sa bolešću 1978. godine.¹

CDI varira od blage dijareje do teškog, životno ugrožavajućeg pseudomembranoznog kolitisa.² Zrela bakterijska flora kolona kod zdrave odrasle osobe je generalno rezistentna na kolonizaciju od strane *C. difficile*.³ Međutim, ako je normalna flora kolona izmenjena, rezistencija na kolonizaciju drugim bakterijskim vrstama, kao što je *C. difficile* je izgubljena. Najčešći faktor rizika za razvoj CDI je izlaganje antibioticima.⁴ Primarni faktor virulencije *C. difficile* je citotoksin B.⁵ Ovi geni koji kodiraju toksin A (*tcdA*; enterotoksin) i toksin B (*tcdB*) deo su lokusa za patogenost (PaLoc).^{6,7} Većina patogenih sojeva su toksin A-pozitivni, toksin B-pozitivni (A+B+) sojevi, iako su toksin A-negativne, toksin B-pozitivne (A-B+) varijante izolata prepoznate kao patogene.⁸ Neki sojevi *C. difficile* takođe proizvode aktin-specifičnu-ADP-riboziltransferazu koja se naziva CDT ili binarni toksin. Lokus za binarni toksin sadrži dva odvojena gena (*cdtA* i *cdtB*) i nalazi se izvan PaLoc.^{9,10,11}

CDI dijagnoza je tradicionalno bila zasnovana ili na detekciji toksina B direktno u stolici (test neutralizacije citotoksičnosti ćelijske kulture [CCCN]) ili u kulturi mikroorganizama, nakon čega je sledilo određivanje proizvodnje toksina B od strane izolata (toksigena kultura). I CCCN test i toksigena kultura su naporne za rad, ali se i dalje smatraju „zlatnim standardom” zbog prethodne specifičnosti i kasnije osetljivosti.^{12,13} Razvijeno je nekoliko brzih enzimskih imunoeseja za detekciju toksina A i B; međutim, ovi testovi su smanjili osetljivost i specifičnost u poređenju sa CCCN testom. Razvijene su PCR metode za detekciju gena povezanih sa proizvodnjom toksina A i/ili toksina B i pokazuju visoku osetljivost i specifičnost u poređenju sa toksigenom kulturom.¹⁴

Pored toksina A i B, novija literatura ukazuje na povezanost između proizvodnje binarnog toksina i težine i ishoda bolesti. Bauer i saradnici¹⁵ prikazali su prisustvo gena za binarni toksin u toksigenim izolatima u 23% CDI slučajeva u Evropi. Binarni toksin koji proizvode *cdt* geni se često uočava kod sojeva *C. difficile* povezanih sa povećanom težinom CDI. Binarni toksin pripada porodici ADP-ribozilirajućih toksina i sastoji se od *cdtA* gena, enzimske ADP-riboziltransferaze

koja modifikuje aktin i *cdtB* koji se vezuje za ćelije domaćina i translocira proizvodnju *cdtA* u citozol. Više kliničkih studija ukazuje na povezanost između prisustva gena za binarni toksin u *C. difficile* i povećanja 30-dnevnog CDI mortaliteta nezavisno od PCR ribotipa. Postoji i literatura koja ukazuje na to da su ispitanici sa težom CDI, fulminantnim kolitisom i/ili recidivom CDI češće inficirani ribotipovima *C. difficile* koji nose gene za proizvodnju binarnog toksina (*cdtA/cdtB*) od onih bez ovih komplikacija.^{16,17}

Podskup izolata koji proizvode binarni toksin, ima mutacije u genu za negativnu regulaciju toksina (*tedC*), tj. deleciju na nukleotidu 117 (*tedCA117*) što je u skladu sa sojevima ribotipa 027. Infekcija izazvana sojevima 027/NAP1/BI može biti povezana sa većom stopom mortaliteta i morbiditeta, uključujući jedinicu intenzivne nege (ICU)-prijem u bolnicu i produženi boravak u bolnici. Multivarijantna analiza pokazala je značajnu povezanost između težine bolesti i prisustva ribotipova koji nose gen za binarni toksin sa ili bez delecije nukleotida 117. U poslednje dve decenije bilo je epidemija CDI koje su pripisane pojavi brojnih „hipervirulentnih” sojeva, koji uključuju fluorohinolon-rezistentne sojeve koji pripadaju PCR ribotipu 027, (koji je takođe poznat i kao gel elektroforeza pulsnog polja grupe NAP1 i analiza restrikcije endonukleaze tip BI).^{8,18} Sojevi 027 mogu pokazati povećanu proizvodnju toksina, što se pripisuje delecijama u regulatornom genu *tedC* i veću proizvodnju spora, što vodi ka naglašenom prisustvu u okolini.^{19,20} Pretpostavljeni pozitivan 027 rezultat može pomoći u identifikaciji mogućih izvora epidemija 027.

Konačno, dodatne studije su prijavile slučajeve pacijenata sa dijarejom i suspektom *C. difficile* infekcijom zbog toksinotipa XI/PCR ribotip 033, ili sojeva sličnih soju 033, pozitivnih na binarni toksin ali negativnih na toksin A i B.^{21,22} Klinički značaj takvih sojeva, pozitivnih na binarni toksin a negativnih na toksin B, nije u potpunosti razumljiv.

5 Princip postupka

GeneXpert Instrument Systems automatizuje i integriše pripremu uzoraka, prečišćavanje i amplifikaciju nukleinske kiseline i detekciju ciljanih sekvenci u jednostavnim ili složenim uzorcima pomoću PCR testova u realnom vremenu. Sistemi se sastoje od instrumenta, računara i unapred instaliranog softvera za obavljanje testova na kliničkim uzorcima i pregled rezultata. Sistemi zahtevaju upotrebu GeneXpert patrona za jednokratnu upotrebu, koje sadrže reagense za PCR i koje su domaćini procesa ekstrakcije DNK, amplifikacije i detekcije amplikona. Kako su patrone samostalne, unakrsna kontaminacija između uzoraka je svedena na minimum. Za pun opis sistema, pogledajte odgovarajući odeljak *GeneXpert Dx System Operator Manual* i/ili *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert C. *difficile* BT test uključuje reagense za detekciju *C. difficile* koja proizvodi toksin i kontrolu obrade uzorka (SPC). SPC ukazuje na odgovarajuću obradu ciljanih bakterija i nadgleda prisustvo inhibitora u PCR reakciji. Kontrola provere probe (PCC) potvrđuje rehidrataciju reagensa, punjenje PCR epruvete u patroni, integritet probe i stabilnost boje.

Prajmeri i probe u Xpert C. *difficile* BT testu detektuju sekvence u genima za toksin B (*tedB*), binarni toksin (*cdt*) i *tedCA117*.

6 Reagensi i instrumenti

6.1 Priloženi materijali

Xpert C. *difficile* BT komplet sadrži dovoljno reagenasa za obradu 10 uzoraka, ili uzoraka za kontrolu kvaliteta.

Komplet sadrži sledeće:

Xpert C. <i>difficile</i> BT Patrone sa integrisanim reakcionim epruvetama	10
<ul style="list-style-type: none"> • Zrno 1, zrno 2 i zrno 3 (liofilizovano) • Reagens 1 • Reagens 2 (natrijum-hidroksid) 	<ul style="list-style-type: none"> 1 od svake po patroni 3,0 ml po patroni 3,0 ml po patroni
Xpert C. <i>difficile</i> BT vrećice sa reagensom	10
<ul style="list-style-type: none"> • Reagens za uzorak (gvanidinijum-tiocijanat) 	10 x 2,0 ml po vrećici
CD	1 po kompletu
<ul style="list-style-type: none"> • Datoteke za definiciju analize (ADF) • Uputstva za uvoz ADF-a u softver • Uputstvo za upotrebu (uputstvo za korisnika) 	

Напомена Listovi sa bezbednosnim podacima (SDS) su dostupni na www.cephheid.com ili www.cephheidinternational.com na kartici PODRŠKA (SUPPORT).

Напомена Stabilizator proteina goveđeg serumskog albumina (BSA) u zrnima ovog proizvoda napravljen je i proizveden isključivo od goveđe plazme poreklom iz Sjedinjenih Država. Životinjama nije davan nijedan protein preživara ili drugi proteini životinjskog porekla; životinje su prošle ante- i post-mortem testiranje. Tokom obrade nije bilo mešanja materijala sa drugim životinjskim materijalima.

6.2 Skladištenje i rukovanje

- Čuvajte Xpert C. difficile BT komplet na temperaturi od 2–28°C.
- Nemojte koristiti reagens za uzorke i patrone kojima je istekao rok trajanja.
- Nemojte otvarati poklopac patrone dok niste spremni za testiranje.
- Nemojte koristiti reagens za uzorke koji je postao zamućen ili je promenio boju.
- Nemojte koristiti patronu koja je procurela.

6.3 Materijali koji su potrebni, ali nisu obezbeđeni

- GeneXpert Dx System ili GeneXpert Infinity System (kataloški broj se razlikuje u zavisnosti od konfiguracije): GeneXpert instrument, računar sa zaštićenim GeneXpert softverom verzije 4.3 ili novijom, bar-kod skener i priručnik za operatera.
- Štampač: Ako je štampač neophodan, obratite se predstavniku prodaje kompanije Cepheid da dogovorite kupovinu preporučenog štampača.
- Vorteks mešalica
- Jednokratne čiste pipete za prenos
- Suvi štapić za prenos uzorka, kao što je štapić koji se nalazi u Cepheid uređaju za prikupljanje uzorka (Cepheid kataloški broj: 900-0370), Cepheid štapić za jednokratnu upotrebu (Cepheid kataloški broj SDPS-120), ili Copan dvostruki štapić i transportni sistemi (139C LQ STUART)

7 Upozorenja i mere predostrožnosti

- Postupajte sa svim biološkim uzorcima, uključujući iskorišćene patrone i reagens, kao da mogu da prenesu infektivne agense. Kako često nije moguće znati šta bi moglo biti zarazno, prema svim biološkim uzorcima se treba odnositi u skladu sa standardnim merama predostrožnosti. Smernice za rukovanje uzorcima dostupne su u američkim Centrima za kontrolu i prevenciju bolesti i Institutu za kliničke i laboratorijske standarde.^{23,24}
- Pridržavajte se sigurnosnih procedura vaše ustanove za rad sa hemikalijama i rukovanje biološkim uzorcima.
- Nosite čiste laboratorijske mantile i rukavice. Rukavice promenite između obrade svakog uzorka.
- Nemojte zamenjivati Xpert C. difficile BT reagens sa drugim reagensima.
- Nemojte otvarati Xpert C. difficile BT poklopac patrone osim prilikom dodavanja uzorka i reagenasa, ili da biste izvadili uzorak iz originalne patrone kako biste obavili ponovno testiranje u novoj patroni.
- Nemojte koristiti patronu koja je pala nakon što ste je izvadili iz pakovanja.
- Nemojte protresati patronu. Protresanje ili ispuštanje patrone nakon otvaranja poklopca može dati netačne rezultate.
- Nemojte koristiti patronu čija je reakciona epruveta oštećena.
- Nemojte stavljati nalepnicu za ID uzorka na poklopac patrone ili na nalepnicu sa bar-kodom.
- Svaka jednokratna Xpert C. difficile BT patrona koristi se za obradu jednog testa. Nemojte ponovo koristiti upotrebљenu patronu.
- Biološke uzorke, sredstva za prenos i korišćene patrone treba smatrati sposobnim za prenos infektivnih agenasa i zahtevaju standardne mere predostrožnosti. Pridržavajte se procedura za pravilno odlaganje iskorišćenih patrona i neiskorišćenih reagenasa u vašoj ustanovi. Ovi materijali mogu imati karakteristike hemijski opasnog otpada i zahtevaju posebne nacionalne ili regionalne procedure za odlaganje. Ako nacionalni ili regionalni propisi ne daju jasne smernice o pravilnom odlaganju, biološke uzorke i iskorišćene patrone treba odlagati prema smernicama WHO (SZO, Svetska zdravstvena organizacija) za rukovanje i odlaganje medicinskog otpada.
- U slučaju kontaminacije radnog prostora ili opreme sa uzorkom ili kontrolama, temeljno očistite kontaminiranu oblast rastvorom kućnog izbeljivača na bazi hlora u razblaženju 1:10, a zatim ponovite čišćenje radnog prostora 70% etanolom. Obrišite radne površine i sačekajte da se potpuno osuše pre nego što nastavite.

8 Opasnosti od hemikalija^{25,26}

- Signalna reč: UPOZORENJE
- UN GHS obaveštenja o opasnosti
 - Štetno ako se proguta.
 - Izaziva iritaciju kože.
 - Izaziva ozbiljnu iritaciju očiju.
- UN GHS obaveštenja o merama predostrožnosti:
 - **Prevenција**
 - Temeljno oprati nakon rukovanja.
 - Nemojte jesti, piti niti pušiti pri upotrebi ovog proizvoda.
 - Izbegavajte ispuštanje u životnu sredinu.
 - Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu oděcu/zaštitu za oči/zaštitu za lice.
 - **Reagovanje**
 - U DODIRU SA KOŽOM: Operite sa puno sapuna i vode.
 - Skinite kontaminiranu oděcu i operite je pre ponovne upotrebe.
 - Za specifično lečenje pogledajte dodatak sa informacijama o merama prve pomoći.
 - Ako dođe do iritacije kože: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
 - AKO DOSPE U OČI: Pažljivo ispirati vodom nekoliko minuta. Ukloniti kontaktna sočiva, ukoliko postoje i ukoliko je to moguće učiniti. Nastaviti sa ispiranjem.
 - Ako iritacija oka ne prolazi: Potražiti medicinski savet/mišljenje.
 - AKO SE PROGUTA: Odmah pozovite CENTAR ZA KONTROLU TROVANJA ili se obratite lekaru ako se ne osećate dobro.
 - Isperite usta.
 - **Skladištenje/odlaganje**
 - Odlagati sadržaj i/ili kontejner u skladu sa lokalnim, regionalnim, nacionalnim i/ili internacionalnim propisima.

9 Prikupljanje uzorka i transport

1. Prikupite neformiranu stolicu u čistu posudu. Sledite smernice vaše ustanove za prikupljanje uzoraka za testiranje na C. difficile.
2. Obeležite ID pacijenta i pošaljite uzorak u laboratoriju na testiranje.
3. Čuvajte uzorak na temperaturi od 2–8°C. Uzorak je stabilan do 5 dana kad se čuva na temperaturi od 2–8°C. Alternativno možete držati uzorke na sobnoj temperaturi (20–30°C) do 24 sata.

10 Postupak

10.1 Priprema patrone

Важно Započnite test u roku od 30 minuta od dodavanja uzorka u patronu.

Da biste dodali uzorak u patronu:

1. Izvadite patronu i reagens za uzorak iz pakovanja.
2. Uronite kratko štapić u neformirani uzorak stolice. Štapić ne treba u potpunosti natopiti.
3. Uvedite štapić u epruvetu koja sadrži reagens za uzorak.

Напомена Koristite sterilnu gazu kako biste rizike od kontaminacije sveli na minimum.

4. Držite štapić za telo blizu ivice epruvete, podignite štapić nekoliko milimetara sa dna epruvete i pritisnite telo štapića o ivicu epruvete kako biste ga polomili. Uverite se da je štapić dovoljno kratak što omogućava da se poklopac čvrsto zatvori.

5. Zatvorite poklopac i promešajte u vorteks mešalici pri velikoj brzini u trajanju od 10 sekundi.
6. Otvorite poklopac patrone. Pomoću čiste pipete za prenos prenesite celokupan sadržaj reagensa za uzorke u komoru za uzorke patrone.
7. Zatvorite poklopac patrone.



Slika 1. Patrona (gornja strana)

10.2 Započinjanje testa

Важно Ako pokrećete *GeneXpert Dx sistem*, pre započinjanja testa, uverite se da sistem radi na *GeneXpert Dx verziji softvera 4.7b* ili novijoj, kao i da je u softver uvezena datoteka sa ispravnom definicijom testa.

Важно Ako pokrećete *GeneXpert Infinity sistem*, pre započinjanja testa, uverite se da sistem radi na *Xpertise verziji softvera 6.4b* ili novijoj, kao i da je u softver uvezena datoteka sa ispravnom definicijom testa.

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za započinjanje testa. Za detaljna uputstva, pogledajte *GeneXpert Dx sistemski priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity sistemski priručnik za operatera*, u zavisnosti od modela koji se koristi.

Напомена Koraci koje pratite mogu se razlikovati ako je administrator sistema promenio podrazumevani tok rada sistema.

1. Uključite GeneXpert instrument:
 - Ako koristite *GeneXpert Dx instrument*, prvo uključite GeneXpert Dx instrument, a zatim uključite računar. GeneXpert softver će se automatski pokrenuti. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za GeneXpert Dx softver na Windows® radnoj površini.
 - ili
 - Ako koristite *GeneXpert Infinity instrument*, uključite instrument. Xpertise softver će se pokrenuti automatski. Ako do toga ne dođe, dvaput kliknite na ikonu prečice za Xpertise softver na Windows® radnoj površini.
2. Prijavite se na softver GeneXpert sistema instrumenata koristeći svoje korisničko ime i lozinku.
3. U prozoru **GeneXpert Sistem**, kliknite na **Kreiraj test (Create test)** (GeneXpert Dx) ili **Naloz (Orders) i Nalog za test (Order Test)** (Infinity). Otvora se prozor **Kreiraj test (Create Test)**. Otvora se okvir za dijalog **Skeniraj barkod za ID pacijenta (Scan Patient ID barcode)**.
4. Skenirajte ili ukucajte ID pacijenta (Patient ID). Ako unosite ID pacijenta (Patient ID), pobrinite se da ID pacijenta (Patient ID) bude tačno upisan. ID pacijenta je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvora se okvir za dijalog **Skeniraj barkod za ID uzorka (Scan Sample ID barcode)**.
5. Skenirajte ili unesite ID uzorka (Sample ID). Ako unosite ID uzorka (Sample ID), pobrinite se da ID uzorka (Sample ID) bude tačno unet. ID uzorka je povezan sa rezultatima testa i prikazuje se u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** i u svim izveštajima. Otvora se okvir za dijalog **Skeniraj barkod patrone (Scan Cartridge barcode)**.
6. Skenirajte bar-kod na patroni. Korišćenjem informacija sa bar-koda, softver automatski popunjava sledeća polja: Izbor testa (Select Assay), ID serije reagensa (Reagent Lot ID), serijski broj patrone (Cartridge SN) i datum isteka roka (Expiration Date).

Напомена

Ako se bar-kod na patroni ne skenira, ponovite test sa novom patronom. Ako ste skenirali bar-kod patrone u softveru i datoteka za definiciju testa nije dostupna, pojavice se ekran koji pokazuje da datoteka za definiciju testa nije ucitana u sistem. Ako se pojavi ovaj ekran, obratite se tehnickoj podrsci kompanije Cepheid.

7. Kliknite na **Započni test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ili **Pošalji (Submit)** (Infinity). U okviru za dijalog koji se pojavljuje, ukucajte lozinku, ako je potrebno.
8. Kod *GeneXpert Infinity sistema*, patronu stavite na pokretnu traku. Patrona ce se automatski ubaciti, test ce se pokrenuti, a iskoricena patrona ce biti postavljena u kontejner za otpad.

ili

Za *GeneXpert Dx instrument*:

- a) Otvorite vrata modula instrumenta na kojima trepce zeleno svetlo i ubacite patronu.
- b) Zatvorite vrata. Test zapocinje i zeleno svetlo prestaje da trepce. Kada je test završen, svetlo se gasi.
- c) Sačekajte dok sistem ne otpusti bravu vrata pre nego što otvorite vrata modula. Zatim izvadite patronu.
- d) Bacite korisćene patrone u odgovarajuće kontejnere za otpad uzoraka u skladu sa standardnom praksom vaše ustanove.

11 Prikazivanje i štampanje rezultata

Ovaj odeljak navodi osnovne korake za prikazivanje i štampanje rezultata. Za detaljna uputstva o prikazivanju i štampanju rezultata, pogledajte *GeneXpert Dx Sistem priručnik za operatera* ili *GeneXpert Infinity Sistem priručnik za operatera*, u zavisnosti od modela koji se koristi.

1. Kliknite na ikonu **Prikaz rezultata (View Results)** da pregledate rezultate.
2. Po završetku testa, kliknite na dugme **Izveštaj (Report)** u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)** da biste pogledali i/ili generisali PDF datoteku izveštaja.

12 Kontrola kvaliteta

Svaki test uključuje kontrolu obrade uzorka (SPC) i kontrolu provere probe (PCC).

- **Kontrola obrade uzorka (SPC):** Osigurava da je uzorak obrađen pravilno. SPC sadri spore *Bacillus globigii* u vidu suvog zrna koje je uključeno u svaku patronu, kako bi se potvrdila odgovarajuća obrada uzorka. SPC potvrđuje da se liza bakterija i spora *C. difficile* dogodila ako su mikroorganizmi prisutni i potvrđuje da je obrada uzorka odgovarajuća. Pored toga, ova kontrola detektuje inhibiciju povezanu sa uzorkom PCR testa u realnom vremenu, obezbeđuje odgovarajuće uslove za PCR reakciju (temperatura i vreme) za reakciju amplifikacije, kao i funkcionalnost PCR reagenasa. SPC treba da bude pozitivna u negativnom uzorku, a može biti negativna ili pozitivna u pozitivnom uzorku. SPC je uspešna ako su kriterijumi za prihvatanje ispunjeni.
- **Kontrola provere probe (PCC):** Pre početka PCR reakcije, GeneXpert sistem meri fluorescentni signal sa proba kako bi nadgledao rehidraciju zrna, punjenje reakcione epruvete, integritet probe i stabilnost boje. Provera probe je uspešna ako ispunjava dodeljene kriterijume prihvatljivosti.

13 Tumačenje rezultata

Rezultati su tumaćeni pomoću GeneXpert Instrument Systems iz izmerenih fluorescentnih signala i ugrađenih algoritama za izračunavanje i biće prikazani u prozoru **Prikaz rezultata (View Results)**. Mogući rezultati su prikazani u tabeli u nastavku.

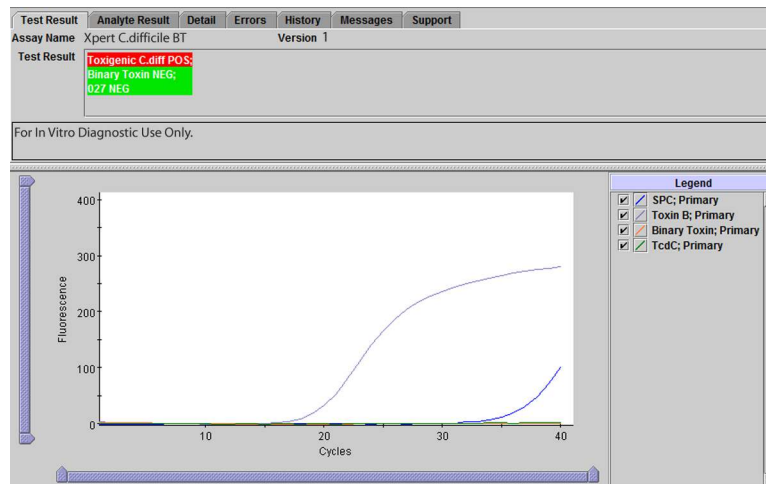
Tabela 1. Xpert *C. difficile* BT Rezultati i tumačenje

Rezultat	Tumačenje
<p>Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin NEG.; 027 NEG. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Pogledajte Slika 2.</p>	<p>Detektovane su ciljane DNK sekvence <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine — cilj <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine (toksin B gen) ima Ct vrednost u vežećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • Binarni toksin gen i <i>tcdC</i> delecija na nt 117 nisu detektovane. • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer ciljana amplifikacija <i>C. difficile</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin POZ.; 027 NEG. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Pogledajte Slika 3.</p>	<p>Detektovane su ciljane DNK sekvence <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Ciljevi <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine (toksin B gen plus binarni toksin gen) imaju Ct vrednosti u važećem opsegu i krajnje tačke iznad minimalnog podešavanja; <i>tcdC</i> delecija na nt 117 nije detektovana • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer ciljana amplifikacija <i>C. difficile</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin POZ.; 027 PRETPOSTAVLJENO POZ. (Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS)</p> <p>Pogledajte Slika 4.</p>	<p>Detektovane su ciljane DNK sekvence <i>C. difficile</i> koja proizvodi toksine i pretpostavlja se prisustvo ciljanih DNK sekvenci za soj 027.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sve <i>C. difficile</i> koje proizvode toksine, pretpostavljeni 027 ciljevi (toksin B, binarni toksin i <i>tcdC</i> delecija na nt 117) imaju Ct vrednosti u važećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer ciljana amplifikacija <i>C. difficile</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>Toksigena C.diff NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Pogledajte Slika 5.</p>	<p><i>C. difficile</i> toksin B gen sekvence nisu detektovane; međutim, drugi DNK cilj (binarni toksin gen) je detektovan i ima Ct vrednost u vežećem opsegu i krajnju tačku iznad minimalnog podešavanja. Klinički značaj izolata koji su pozitivni samo na binarni toksin tek treba utvrditi.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable)); SPC je ignorisana jer ciljana amplifikacija <i>C. difficile</i> može biti kompetitivna sa ovom kontrolom. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>Toksigena C.diff NEG.; binarni toksin NEG.; 027 NEG. (Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Pogledajte Slika 6.</p>	<p><i>C. difficile</i> ciljane DNK sekvence (toksin B gen, binarni toksin gen) nisu detektovane.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Sekvence gena <i>C. difficile</i> koje proizvode toksin (toksin B gen i binarni toksin gen) nisu detektovane, drugi DNK ciljevi za toksigenu <i>C. difficile</i> (<i>tcdC</i> delecija na nt 117) nisu detektovani. • SPC — USPEŠNO (PASS); SPC ima Ct u važećem opsegu, a krajnju tačku iznad podešenog praga za krajnju tačku. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.
<p>NEVAŽEĆI (INVALID)</p> <p>Pogledajte Slika 7.</p>	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>C. difficile</i> ciljane DNK ne može biti određeno. Ponovite test u skladu sa uputstvima u Odeljak 15. SPC ne ispunjava kriterijume prihvatljivosti, uzorak nije pravilno obrađen, ili je PCR inhibirana.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NEVAŽEĆE (INVALID) — Prisustvo ili odsustvo <i>C. difficile</i> ciljane DNK ne može biti određeno. • SPC — NEUSPEŠNO (SPC-FAIL); SPC ciljani rezultat je negativan, a SPC Ct nije u važećem opsegu i krajnja tačka je ispod minimalnog podešavanja. • Provera probe – USPEŠNO (PASS); svi rezultati provere probe su uspešni.

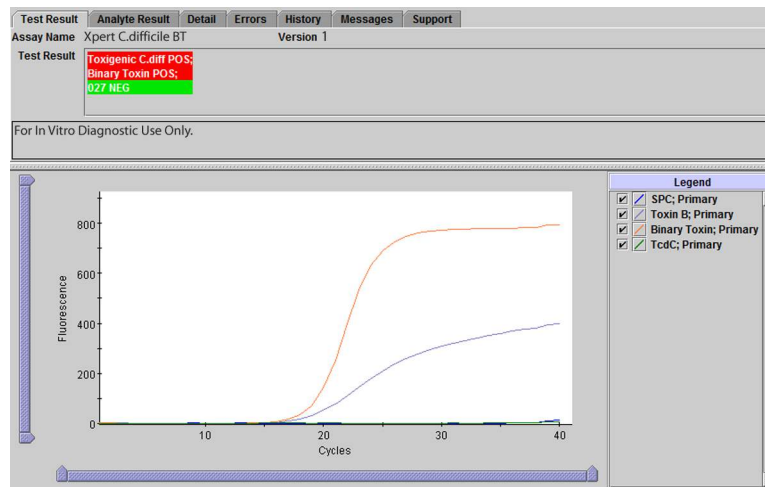
Rezultat	Tumačenje
GREŠKA (ERROR)	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>C. difficile</i> ciljane DNK ne može biti određeno. Ponovite test u skladu sa uputstvima u Odeljak 15. Provera kontrole probe je neuspešna a razlog je verovatno nepravilno napunjena reakciona epruveta, detekcija problema u integritetu probe, ili su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksin B — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Binarni toksin — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • <i>tcdC</i> delecija na nt 117 — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • *SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera PROBE – NEUSPEŠNO* (FAIL); svi ili jedan od rezultata provere probe je neuspešan. <p>* Ako je provera probe uspešna, greška je nastala usled kvara komponente sistema.</p>
NEMA REZULTATA (NO RESULT)	<p>Prisustvo ili odsustvo <i>C. difficile</i> ciljane DNK ne može biti određeno. Ponovite test u skladu sa uputstvima u Odeljak 15. Nije prikupljeno dovoljno podataka da bi se dobio rezultat testa (na primer, operater je zaustavio test koji je bio u toku).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksin B (<i>tcdB</i>) — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Binarni toksin (<i>cdt</i>) — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • <i>tcdC</i>Δ117 — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • SPC — NEMA REZULTATA (NO RESULT) • Provera probe – NP (nije primenjivo) (NA (not applicable))

Напомена

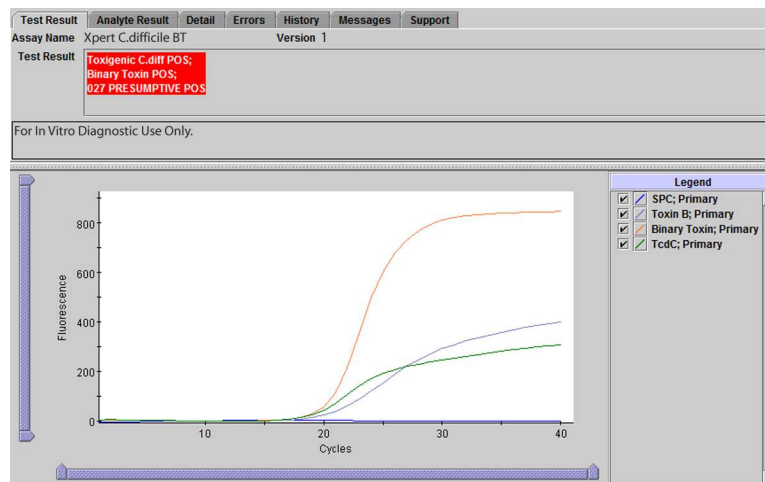
Ekran prikazan u ovom odeljku (Slika 2, Slika 3, Slika 4, Slika 5, Slika 6 i Slika 7) su iz GeneXpert Dx System softvera GeneXpert Dx u radu.



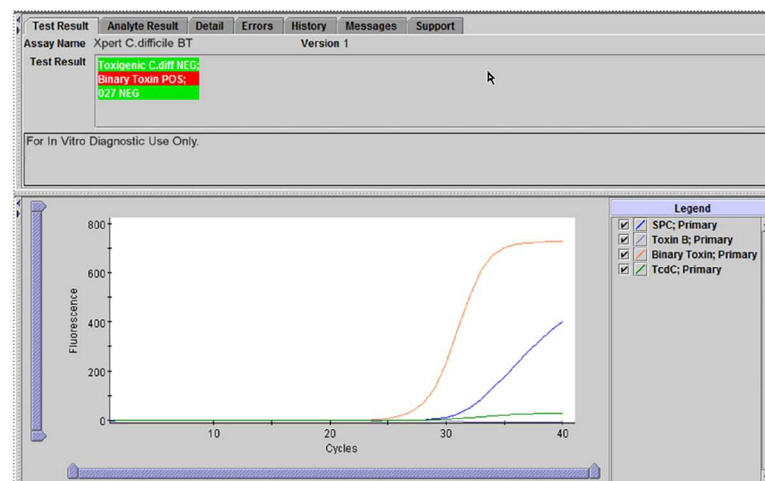
Slika 2. Primer za pozitivnu toksigenu *C. diff*, negativan binarni toksin i negativan 027 rezultat



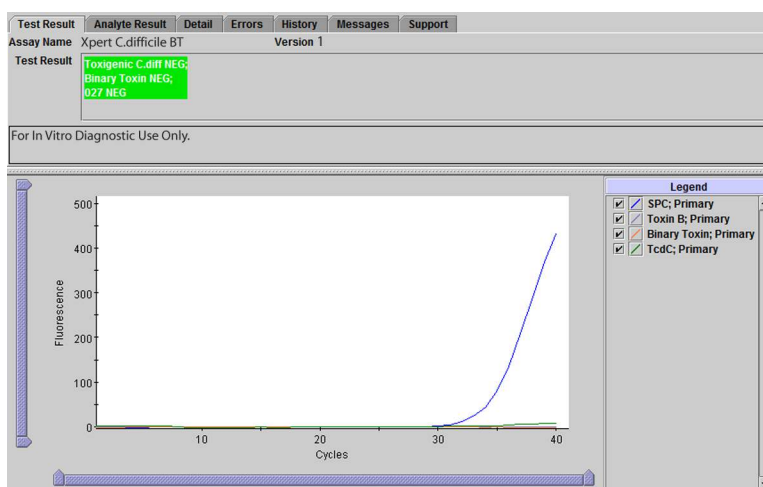
Slika 3. Primer za pozitivnu toksigenu C. diff, pozitivan binarni toksin i negativan 027 rezultat



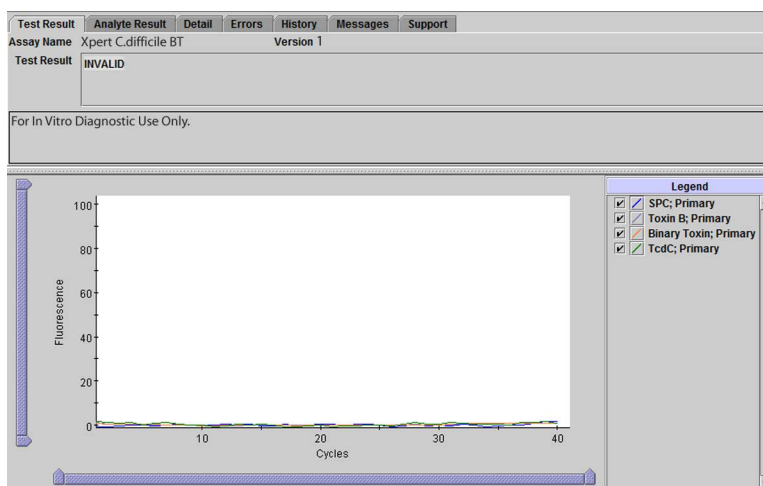
Slika 4. Primer za pozitivnu toksigenu C. diff, pozitivan binarni toksin i pretpostavljeni pozitivan 027 rezultat



Slika 5. Primer za negativnu toksigenu C. diff, pozitivan binarni toksin i negativan 027 rezultat



Slika 6. Primer za negativnu toksigenu C. diff, negativan binarni toksin i negativan 027 rezultat



Slika 7. Primer nevažjećeg rezultata

14 Razlozi za ponavljanje testa

Ako se desi bilo koji od dolenađenih rezultata testa, ponovite test jednom, u skladu sa uputstvima u Odeljak 15.

- **NEVAŽEĆI (INVALID)** rezultat ukazuje na neuspeh SPC. Uzorak nije pravilno obrađen ili je PCR inhibiran.
- Rezultat **GREŠKA (ERROR)** ukazuje na to da je kontrola provere probe neuspešna i da je test obustavljen, moguće usled nepravilno napunjene reakcione epruvete, ili je detektovan problem sa integritetom reagensa probe, ili jer su prekoračena maksimalna ograničenja za pritisak, ili je detektovana greška u pozicioniranju ventila.
- **NEMA REZULTATA (NO RESULT)** znači da nije prikupljeno dovoljno podataka. Na primer, operater je zaustavio test dok je on bio u toku.

15 Postupak ponovnog testiranja

Za ponovno testiranje u roku od 3 sata za neodređeni rezultat, koristite novu patronu (nemojte ponovo koristiti istu patronu) i nove reagense.

1. Izvadite novu patronu iz kompleta.
2. Prenesite preostali sadržaj iz komore za uzorke u novu bočicu sa reagensom za uzorak pomoću jednokratne pipete za prenos.

3. Promešajte u vorteks mešalici i dodajte celokupan sadržaj reagensa za uzorak u komoru za uzorke nove Xpert *C. difficile* BT patrone.
4. Zatvorite poklopac i započnite novi test.

Za ponovno testiranje nakon 3 sata za neodređeni rezultat, ponovite test sa novim uzorkom štapića iz originalnog uzorka pacijenta.

16 Ograničenja

- Non-027 izolati koji predstavljaju toksinotip XIV biće prijavljeni kao **Toksigena *C. diff* POZ.; binarni toksin POZ.; 027 PRETPOSTAVLJENO POZ. (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** pomoću Xpert *C. difficile* BT testa.
- **Toksigena *C. diff* NEG.; binarni toksin POZ.; Pretpostavljeno 027 NEG. (Toxigenic *C. diff* NEG; Binary Toxin POS, Presumptive 027 NEG)** pomoću Xpert *C. difficile* BT može sadržati toksin B gen i/ili *tdcC* deleciju ispod LoD testa.
- Povremeno, non-027 izolati koji predstavljaju toksinotipove IV, V i X biće prijavljeni kao **Toksigena *C. diff* POZ.; binarni toksin POZ.; 027 PRETPOSTAVLJENO POZ. (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** pomoću Xpert *C. difficile* BT testa.
- Performanse Xpert *C. difficile* BT testa potvrđene su samo pomoću postupaka predviđenih u ovom prilogu. Modifikacije ovih postupaka mogu izmeniti performanse testa.
- Rezultate Xpert *C. difficile* BT testa treba tumačiti zajedno sa ostalim laboratorijskim i kliničkim podacima dostupnim lekaru.
- Pogrešni rezultati testa se mogu javiti usled nepravilnog prikupljanja uzorka; nepoštovanja preporučenog načina za prikupljanje uzorka, rukovanja i postupaka čuvanja; usled tehničke greške; zamene uzoraka; ili usled niskog broja mikroorganizama u uzorku, koje test detektuje. Da bi se izbegli pogrešni rezultati, neophodno je poštovanje uputstava u ovom prilogu.
- Zbog faktora razblaženja povezanog sa postupkom ponovnog testiranja, moguće je da *C. difficile* pozitivni uzorci budu veoma blizu granice ili na granici detekcije (LoD) Xpert *C. difficile* BT testa, što može dovesti do lažno negativnog rezultata nakon ponovnog testiranja.
- Inhibicija Xpert *C. difficile* BT testa uočena je u prisustvu sledećih supstanci: Pasta sa cink-oksikom i Vagisil® krema.
- Epidemije CDI mogu biti izazvane sojevima koji nisu 027.
- Lažno negativni rezultati se mogu dogoditi kad infektivni mikroorganizam ima genomske mutacije, insercije, delecije ili rearanžiranja, ili kad se test izvede u ranoj fazi bolesti.
- Pozitivni rezultati pribavljeni od imunokompromitovanih pacijenata mogu odražavati asimptomatskog kliconošu *C. difficile*.
- Detekcija nukleinske kiseline *C. difficile* u stolici potvrđuje prisustvo mikroorganizama kod pacijenata sa dijarejom, ali ne mora ukazivati na to da je *C. difficile* uzročnik dijareje.
- Karakteristike performansi nisu utvrđene za pacijente < 2 godine starosti.
- Mutacije ili polimorfizmi u regionima vezivanja prajmera ili probe mogu uticati na detekciju ciljanih *C. difficile* tipova, što može dovesti do lažno negativnog rezultata.

17 Očekivane vrednosti

U kliničkoj studiji Xpert *C. difficile* BT testa, bilo je uključeno ukupno 2293 uzorka neformirane stolice iz 7 centara širom Sjedinjenih Država i Kanade. Broj i procenat pozitivnih slučajeva toksigene *C. difficile* po kulturi, izračunato po starosti i polu, prikazani su u tabelama u nastavku.

Tabela 2. Uočena prevalencija toksigene *C. difficile* po starosnoj grupi^a

Starosna grupa	N	Prevalencija toksigene <i>C. difficile</i> (uključuje 027)	Prevalencija binarnog toksina	027 prevalencija
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)

Starosna grupa	N	Prevalencija toksigene <i>C. difficile</i> (uključuje 027)	Prevalencija binarnog toksina	027 prevalencija
>60	1274	20,7% (264/1274)	9,2% (117/1274)	7,2% (92/1274)
Ukupno	2293	18,8% (430/2293)	7,2% (165/2293)	5,5% (125/2293)

^a Prevalencija zasnovana na Xpert rezultatima.

Tabela 3. Uočena prevalencija toksigene *C. difficile* po polu^a

Pol	N	Prevalencija toksigene <i>C. difficile</i> (uključuje 027)	Prevalencija binarnog toksina	027 prevalencija
Muški	1072	18,2% (195/1072)	6,3% (68/1072)	5,0% (54/1072)
Ženski	1221	19,2% (235/1221)	7,9% (97/1221)	5,8% (71/1221)
Ukupno	2293	18,8% (430/2293)	7,2% (165/2293)	5,5% (125/2293)

^a Prevalencija zasnovana na Xpert rezultatima.

18 Karakteristike performansi

18.1 Kliničke performanse

Karakteristike performansi Xpert *C. difficile* BT testa određene su u multicentričnoj prospektivnoj istraživačkoj studiji u sedam američkih i kanadskih ustanova, poređenjem Xpert *C. difficile* BT testa sa referentnom kulturom nakon čega je usledilo CCCN testiranje na izolatima i tipizacija sojeva na toksigenim sojevima pomoću PCR-ribotipizacije.

Ispitanici su bili pojedinci čija je rutinska nega zahtevala testiranje na *C. difficile*. Pribavljen je deo svakog preostalog neformiranog uzorka stolice za testiranje pomoću Xpert *C. difficile* BT testa. Preostali višak uzorka je poslat u centralnu laboratoriju na testiranje referentnom kulturom i na citotoksin B. Svaki uzorak je inokulisan u prethodno redukovani cikloserin-cefoksitin-fruktozni agar –direktan preparat (CCFA-D) i cikloserin cefoksitin manitol bujon sa tauroholat lizozim cisteinom (CCMB-TAL). Nakon 24 časa CCMB-TAL je subkultivisan na drugom CCFA-E preparatu (CCFA-obogaćen). Ova metoda sa direktnim obogaćenjem kulture se u daljem tekstu naziva „referentna kultura”.

Ako je *C. difficile* bila izolovana iz CCFA-D preparata, a izolat je bio pozitivan pomoću CCCN testa, uzorak je klasifikovan kao „toksigena *C. difficile* pozitivna”, a CCFA-E preparat nije dalje analiziran. Ako *C. difficile* je bila izolovana iz CCFA-D preparata, ili ako je izolat bio negativan pomoću CCCN ćelijskog testa, CCFA-E preparat je dalje analiziran.

Ako je CCFA-E bio pozitivan na *C. difficile*, a izolat je bio pozitivan pomoću CCCN testa, uzorak je klasifikovan kao „toksigena *C. difficile* pozitivna”. Uzorak je bio prijavljen kao „negativan” ako je CCFA-E bio negativan na *C. difficile*, ili ako je izolat bio negativan pomoću CCCN testa.

Nakon testiranja referentne kulture, toksigeni *C. difficile* pozitivni izolati su slati u drugi skup referentnih laboratorija na identifikaciju soja pomoću PCR-ribotipizacije.

Performanse Xpert *C. difficile* BT testa su izračunate u odnosu na rezultate direktne kulture uz tipizaciju soja i referentne kulture uz tipizaciju soja.

18.2 Sveukupni rezultati

Testirano je ukupno 2293 uzorka pomoću Xpert *C. difficile* BT testa, kulture i tipizacijom soja.

18.2.1 Rezultati performansi naspram direktne kulture

U odnosu na direktnu kulturu sa PCR-ribotipizacijom, Xpert C. *difficile* BT test je demonstrirao osetljivost i specifičnost za toksigenu C. *difficile* od 98,78%, odnosno 90,86%. Xpert C. *difficile* BT test je takođe demonstrirao pozitivno poklapanje od 100% i negativno poklapanje od 97,70% za 027 (pogledajte tabelu u nastavku).

Tabela 4. Xpert C. *difficile* BT Performanse testa naspram direktne kulture i PCR-ribotipizacije

Direktna kultura i PCR-ribotipizacija					
		Toksin B + 027+	Toksin B+ 027-	NEG.	Ukupno
Xpert C. <i>difficile</i> BT ^b	Toksin B + 027+	74	4	47	125
	Toksin B+ 027-	0	164	140	304 ^a
	NEG.	0	3	1860	1863
	Ukupno	74	171	2047	2292 ^a
		Toksigena C. <i>difficile</i>		Toksigena C. <i>difficile</i> / 027	
		Osetljivost: 98,78% (242/245) Specifičnost: 90,86% (1860/2047) Preciznost: 91,71% (2102/2292) PPV ^c : 56,41% (242/429) NPV ^d : 99,84% (1860/1863)		Poz. poklapanje: 100% (74/74) Neg. poklapanje: 97,70% (2167/2218) Preciznost: 97,77% (2241/2292) PPV: 59,20% (74/125) NPV: 100% (2218/2218)	

- Jedan izolat nije mogao biti tipiziran usled kontaminacije: ovaj uzorak nije uključen u statistiku performansi.
- Prikazani Xpert rezultati su za prvi ili drugi pokušaj. Približno 3,2% uzoraka bilo je neodređeno pri prvom pokušaju.
- Pozitivna prediktivna vrednost
- Negativna prediktivna vrednost

18.2.2 Performanse naspram referentne kulture

U odnosu na referentnu kulturu sa PCR-ribotipizacijom, Xpert C. *difficile* BT test je demonstrirao osetljivost i specifičnost za toksigenu C. *difficile* od 93,39%, odnosno 94,02%. Xpert C. *difficile* BT test je takođe demonstrirao pozitivno poklapanje od 98,89% i negativno poklapanje od 98,36% za 027 (pogledajte Tabelu 5).

Tabela 5. Performanse Xpert C. *difficile* BT testa naspram referentne kulture i PCR-ribotipizacije

Referentna kultura i PCR-ribotipizacija					
		Toksin B + 027+	Toksin B+ 027-	NEG.	Ukupno
Xpert C. <i>difficile</i> BT ^b	Toksin B + 027+	89	5	31	125
	Toksin B+ 027-	0	217	86	303 ^a
	NEG.	1	21	1841	1863
	Ukupno	90	243	1958	2291 ^a
		Toksigena C. <i>difficile</i>		Toksigena C. <i>difficile</i> / 027	

	Osetljivost: 93,39% (311/333) Specifičnost: 94,02% (1841/1958) Preciznost: 93,93% (2152/2291) PPV ^c : 72,66% (311/428) NPV ^d : 98,82% (1841/1863)	Poz. poklapanje: 98,89% (89/90) Neg. poklapanje: 98,36% (2165/2201) Preciznost: 98,38% (2254/2291) PPV: 71,20% (89/125) NPV: 99,95% (2165/2166)
--	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

- a. Dva izolata nisu mogla biti tipizirana usled kontaminacije: uzorci nisu uključeni u statistiku performansi.
- b. Prikazani Xpert rezultati su za prvi ili drugi pokušaj. Približno 3,2% uzoraka bilo je neodređeno pri prvom pokušaju.
- c. Pozitivna prediktivna vrednost.
- d. Negativna prediktivna vrednost.

18.2.3 Sažetak

Tabela u nastavku navodi ukupan broj uzoraka za svaki različiti rezultat testa od 2293 uzorka koji su bili uključeni u analizu podataka kliničkih performansi.

Tabela 6. Xpert C. difficile BT Sveukupne performanse testa

Rezultat testa	N
Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin NEG.; 027 NEG.	272
Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.	36
Toksigena C.diff POZ.; binarni toksin POZ.; 027 PRETPOSTAVLJENO POZ.	122
Toksigena C.diff NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.	7 ^a
Toksigena C.diff NEG.; binarni toksin NEG.; 027 NEG.	1856
Ukupno	2293

^a Pored dodatnog testiranja, za 4 od 7 sojeva je pokazano da sadrže gen za toksin B.

18.2.4 Upotreba antibiotika

Među 2293 slučaja koji su uključeni u glavni skup podataka, upotreba antibiotika unutar 2 meseca pre prikupljanja uzorka je prijavljena za 1630 ispitanika, a nekorisćenje antibiotika je potvrđeno za 570 ispitanika; za 93 slučaja, status antibiotika nije bio poznat. Upotreba antibiotika nije prouzrokovala statistički značajnu razliku u performansama testa.

19 Analitičke performanse

19.1 Analitička specifičnost

Izvedene su dve studije kako bi se odredila analitička specifičnost za Xpert C. difficile test. U prvu studiju su bili uključeni sojevi koji su filogenetski povezani sa *Clostridium difficile* ili oni koji se potencijalno mogu naći u crevnoj flori pacijenta. Pedeset pet (55) sojeva je prikupljeno, kvantifikovano i testirano pomoću Xpert C. difficile BT testa. Sojevi su poticali iz Kolekcije kulture američkog tipa (ATCC), Kolekcije kulture Univerziteta u Geteborgu (CCUG), Nemačke kolekcije mikroorganizama i ćelijskih kultura (DSMZ), Centara za kontrolu i prevenciju bolesti (CDC), Instituta za javno zdravlje Maribor, Slovenija i Švedskog instituta za kontrolu zaraznih bolesti (SMI).

Od bakterijskih vrsta koje su testirane, bilo je uključeno deset (10) netoksigenih sojeva C. difficile i jedanaest (11) vrsta non-C. difficile. Mikroorganizmi koji su testirani, identifikovani su ili kao Gram-pozitivni (37) ili Gram-negativni (18). Mikroorganizmi su dalje klasifikovani kao aerobni (24), anaerobni (29) ili mikroaerobni (2).

Svaki soj je testiran u triplikatu pri opsezima koncentracija od $1,1 \times 10^8$ do $2,2 \times 10^{10}$ CFU/štapić. Pozitivne i negativne kontrole su obuhvaćene studijom. U okviru uslova ove studije, svi izolati su prijavljeni kao **Toksigena C. diff. NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG. (Toxigenic C. diff NEGATIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NEG)** (pogledajte Tabelu 6). Analitička specifičnost je bila 100%.

Tabela 7. Xpert C. difficile BT Ekskluzivnost rezultata testa, testirani sojevi i koncentracije

Vrsta	ID soja	Koncentracija (CFU/štapić)	Rezultat testa (n = 3)
<i>Acinetobacter</i>	CCUG34787	$1,2 \times 10^{10}$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Anaerococcus prevotii</i>	CCUG42000	$2,7 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Bacillus subtilis</i>	CCUG10779	$6,8 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Bacteriodes fragilis</i>	CCUG25931	$8,1 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Bifidobacterium adolescent</i>	CCUG24604	$3,1 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Campylobacter jejuni</i>	CCUG43594	$3,1 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Citrobacter freundii</i>	CCUG418	$5,4 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium botulinum</i>	CCUG7968	$1,1 \times 10^{10}$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium bifermentans</i>	CCUG36626	$7,3 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	CCUG37787	$6,8 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	ATCC700057	$4,1 \times 10^9$	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.

Vrsta	ID soja	Koncentracija (CFU/štipić)	Rezultat testa (n = 3)
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	SMI16	1,1x10 ⁸	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	SMI18	2,5x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	6225	2,5x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	ZZV08-579	2,6x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	ZZV08-581	2,6x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	6004	1,9x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	6241/06	4,4x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium difficile</i> (netoksigena)	339/07	2,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium perfringens</i>	CCUG35750	1,1x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium histolyticum</i>	CCUG4854	3,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium innocuum</i>	CCUG57430	1,6x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium novyi</i>	CCUG57219	4,9x10 ⁸	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium septicum</i>	CCUG4855	2,1x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.

Vrsta	ID soja	Koncentracija (CFU/štipić)	Rezultat testa (n = 3)
<i>Clostridium sordelli</i>	DSMZ2141	6,1x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium spiroforme</i>	CCUG46510	7,0x10 ⁸	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium tertium</i>	CCUG4219	4,9x10 ⁸	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Clostridium tetani</i>	CCUG4220	4,1x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Corynebacterium diphtheriae</i>	CCUG33629	1,4x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Enterobacter cloacae</i>	ATCC13047	1,4x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	ATCC25788	6,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Enterococcus faecalis</i>	ATCC19433	1,1x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Enterococcus faecium</i>	ATCC19434	4,7x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Enterococcus gallinarum</i>	ATCC49573	8,1x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Escherichia coli</i>	ATCC25922	1,3x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Fusobacterium necrophorum</i>	CCUG9994	7,4x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Helicobacter pylori</i>	CCUG17874	8,5x10 ⁸	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.

Vrsta	ID soja	Koncentracija (CFU/štipić)	Rezultat testa (n = 3)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC13883	7,4x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Lactobacillus jensenii</i>	CCUG21961	2,0x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Listeria monocytogenes</i>	CCUG33548	6,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Micrococcus luteus</i>	CCUG34677	1,4x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Morganella morganii</i>	CCUG6328	1,1x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	CCUG7835	5,4x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Prevotella loescheii</i>	CCUG5914	8,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC25933	1,5x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Providencia alcalifaciens</i>	CCUG6325	1,6x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	CCUG17619	4,7x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Salmonella enterica</i>	ATCC14028	1,3x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Serratia marcescens</i>	ATCC29930	8,8x10 ⁹	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Shigella sonnei</i>	ATCC29930	1,2x10 ¹⁰	Toksigena C. diff NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.

Vrsta	ID soja	Koncentracija (CFU/štipić)	Rezultat testa (n = 3)
<i>Staphylococcus aureus</i>	CDC102-04	2,0x10 ¹⁰	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	CCUG21989	2,3x10 ¹⁰	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Streptococcus agalactiae</i>	CCUG29780	8,5x10 ⁹	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Streptococcus pyogenes</i>	CCUG33061	4,1x10 ⁹	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
<i>Yersinia enterocolitica</i>	ATCC9610	1,7x10 ¹⁰	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
Negativna kontrola		Samo pufer	Toksigena <i>C. diff</i> NEGATIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO NEG.
Pozitivna kontrola	Ceph-1 /LUMC-1	1,5x10 ³	Toksigena <i>C. diff</i> . POZITIVNA; 027-NAP1-BI PRETPOSTAVLJENO POZ.

U drugoj studiji, analizirane su dodatne serije vrsta non-*difficile* *Clostridium*, kako bi se demonstrirala specifičnost testa na binarni toksin. Specifičnost za Xpert *C. difficile* BT test određena je u okviru 92 non-*difficile* *Clostridium* vrsta navedenih u Tabeli 7. Sedam sojeva *Clostridium difficile* (5 iz PCR ribotipa 027 i 2 iz PCR ribotipa 078) takođe je uključeno kao kontrole. Svaki soj je testiran pri ~2 Mekfarlandove (McFarland) jedinice.

U okviru uslova studije, svi izolati su prijavljeni kao **Toksigena *C. diff*. NEG.; binarni toksin NEG.; 027 NEG.** (pogledajte Tabelu 7). Analitička specifičnost je bila 100%.

Tabela 8. Rezultati studije genske specifičnosti binarnog toksina

Rod	Vrsta	Broj testiranih	Toksin A/B	Binarni toksin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>aminovalerikumu-slično</i>	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.

Rod	Vrsta	Broj testiranih	Toksin A/B	Binarni toksin
Clostridium	clostridioforme	2	neg.	neg.
<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>mayombe-like</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 tip E</i>	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>	<i>species</i>	19	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>subterminale grupa</i>	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>xylo/aerotolerans</i>	1	neg.	neg.
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 027</i>	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 078</i>	2	+	+

Svi izolati koji nisu sadržali binarni toksin bili su negativni pomoću Xpert *C. difficile* BT testa.

19.2 Analitička osetljivost

Sprovedene su studije kako bi se odredili intervali poverenja od 95% za analitičku granicu detekcije (LoD) *C. difficile* razblažene u fekalnom matriksu humanog porekla, koju može detektovati Xpert *C. difficile* BT test. Fekalni matriks se sastojao od humanog tečnog fecesa (*C. difficile* negativna pomoću Xpert *C. difficile* BT testa) razblaženog u PBS-u sa 15% glicerolom. LoD se definiše kao najniži broj jedinica koje formiraju kolonije (CFU) po štapiću, koja se može razlikovati prema reproducibilnosti iz negativnih uzoraka sa poverenjem od 95%.

Procenjeni su replikati od 20 za svaku testiranu koncentraciju *C. difficile* (CFU/štapić) za 7 različitih sojeva *C. difficile*, koji su predstavljali toksinotipove 0 (dva soja), III (dva soja), IV, V i VIII (jedna od svakog soja).

Parametri procene i intervali poverenja određeni su pomoću logističke regresije sa podacima (broj pozitivnih rezultata po broju replikata na svakom nivou) u opsegu testiranih CFU. Intervali poverenja određeni su pomoću procena maksimalne verovatnoće na parametrima logističkog modela pomoću velikog matriksa varijanse-kovarijanse uzorka. Procena tačke LoD i intervali poverenja veći ili manji od 95% za svaki testirani toksinotip *C. difficile*, sumirani su u tabeli u nastavku.

Tabela 9. Intervali poverenja od 95% za analitičku LoD–*C. difficile*

ID soja	Toksinotip	LoD _{95%} (CFU/štapić)	Donji CI od 95%	Gornji CI od 95%
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 pomoću PCR-ribotipizacije

Rezultati ove studije ukazuju na to da će Xpert *C. difficile* BT test proizvesti pozitivan *C. difficile* rezultat u 95% vremena za fekalni uzorak koji sadrži 460 CFU/štapić i 027 pretpostavljeno pozitivan rezultat u 95% vremena za štapić koji sadrži 75 CFU.

Uz određivanje LoD, 18 sojeva *C. difficile* koji predstavljaju toksinotipove 0 plus 12 varijantnih toksinotipova, uključujući četiri izolata 027 toksinotipa III, testirani su pomoću Xpert *C. difficile* BT analize. Izabrani su *C. difficile* sojevi kako bi široko predstavljali većinu *C. difficile* toksinotipova koji se sreću u praksi. Pripremljene su zalihe kultura suspenzijom bakterijskog rasta iz pločica agara u PBS puferu koji sadrži 15% glicerol. Koncentracija svake zalihe bila je podešena na 1,4-5,9 Mckfarlandovih (McFarland) jedinica. Svi sojevi su serijski razblaženi do približno 900 CFU/štapić i testirani u triplicatu.

U okviru uslova ove studije, Xpert *C. difficile* BT analiza je tačno identifikovala svih 18 sojeva testiranih kao Toksigena *C. diff* POZ. U panel je bilo uključeno i 8 toksinotipova koji su prijavljeni kao pozitivni na proizvodnju binarnog toksina (CDT). Svi su bili pozitivni na CDT pomoću Xpert *C. difficile* BT analize. Sva četiri 027 izolata, koji su predstavljali toksinotip III, tačno su identifikovana kao Toksigena *C. diff* POZ.; Binarni toksin POZ.; 027 PRETPOSTAVLJENO POZ.

Pored toga, sedam *C. difficile* izolata PCR ribotipa 033 i tri dodatna *C. difficile* izolata povezanih PCR ribotipova koji su bili negativni na *tcdA* i *tcdB*, ali koji su proizvodili binarni toksin (CDT)²², testirano je pomoću Xpert *C. difficile* BT analize. Svih 10 izolata dalo je pozitivne rezultate samo na binarni toksin (pogledajte Tabelu 9), potvrđujući sposobnost analize da detektuje izolate koji su toksin A-, toksin B-, binarni toksin +).

Tabela 10. Testiranje mikroorganizama koji proizvode samo binarni toksin (toksin A-, toksin B-) pomoću Xpert *C. difficile* BT testa

Mikroorganizam	ID soja	PCR Ribotip	Rezultat testa
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Toksigena <i>C.diff</i> NEG.; binarni toksin POZ.; 027 NEG.

19.3 Ometajuće supstance

Dvadeset jedna (21) biološka i hemijska supstanca koja se povremeno koristi ili se može naći u uzorcima stolice, testirana je na ometanje pomoću Xpert *C. difficile* BT testa. Potencijalno ometajuće supstance uključuju, ali nisu ograničene na Vagisil kremu i pastu sa cink-oksikom (pogledajte Odeljak 16, Ograničenja). 19 supstanci navedenih u tabeli u nastavku nije pokazalo uočljivo ometanje sa Xpert *C. difficile* BT testom.

Tabela 11. Testirane supstance koje ne pokazuju ometanje testa

Supstanca	Supstanca
Puna krv	K-Y Jelly/Gelée®
Univerzitetska bolnica Karolinska	McNeil-PPC
Mucin (porcin)	Vazelin
Sigma	Unilever
Kaopektat®	Dulcolax®
Chattem	Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium®	Preparat H prenosne maramice
McNeil-PPC	Wyeth zdravstvena zaštita potrošača
Pepto-Bismol®	Vaginalni kontraceptivni film (VCF)
Proctor & Gamble	Apothecus Pharmaceutical

Supstanca	Supstanca
Preparation H® Wyeth zdravstvena zaštita potrošača	Vankomicin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Fekalne masnoće Univerzitetska bolnica Karolinska	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E-Z HDTM barijum-sulfat visoke gustine za suspenziju E-Z EM Canada
Hidrokortizon krema Longs Drugs	

20 Reproducibilnost

Testiran je panel od 7 uzoraka sa različitim koncentracijama toksigene *C. difficile* i *C. difficile* ribotip 027 u toku 10 različitih dana od strane 2 različita operatera u svakom od 3 centara (7 uzoraka x 2 operatera/ dana x 10 dana x 3 centra). Jedna serija Xpert C. *difficile* BT testa korišćena je u svakom od 3 test centara. Xpert C. *difficile* BT testovi su izvedeni u skladu sa postupkom za Xpert C. *difficile* BT test. Rezultati su sumirani u sledeće dve tabele u nastavku.

Tabela 12. Sažetak rezultata reproducibilnosti (sve)

ID uzorka	% poklapanja ^a			% ukupnog poklapanja po uzorku
	Centar 1	Centar 2	Centar 3	
Negativno	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> visoko negativna	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> nisko pozitivna	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> umereno pozitivna	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> ribotip 027 visoko negativna	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> ribotip 027 nisko pozitivna	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,7% (58/60)
Toksigena <i>C. difficile</i> ribotip 027 umereno pozitivna	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)

ID uzorka	% poklapanja ^a			% ukupnog poklapanja po uzorku
	Centar 1	Centar 2	Centar 3	
% ukupnog poklapanja po centru	100% (140/140)	97,1% (136/140)	97,1% (136/140)	98,1% (412/420)

^a Za negativne i visoko negativne uzorke, % poklapanja = (br. negativnih rezultata/ukupan broj ciklusa uzoraka); za nisko i umereno pozitivne uzorke, % poklapanja = (br. pozitivnih rezultata/ukupan broj ciklusa uzoraka).

Tabela 13. Sažetak rezultata Ct vrednosti po nivou uzorka i probi

SPC			
Nivo	Prosek	Std. dev.	CV
Toksigena <i>C. diff</i> visoko neg.	32,17	0,59	1,83%
Toksigena <i>C. diff</i> nisko poz.	32,14	0,53	1,66%
Toksigena <i>C. diff</i> umereno poz.	31,98	0,47	1,47%
027 visoko neg.	32,11	0,65	2,03%
027 nisko poz.	31,93	0,72	2,26%
027 umereno poz.	31,96	0,61	1,90%
Neg.	32,26	0,72	2,22%
tcdB (toksin B)			
Nivo	Prosek	Std. dev.	CV
Toksigena <i>C. diff</i> visoko neg.	39,59	0,70	1,77%
Toksigena <i>C. diff</i> nisko poz.	35,88	0,81	2,24%
Toksigena <i>C. diff</i> umereno poz.	32,17	0,45	1,39%
027 visoko neg.	39,11	0,98	2,50%
027 nisko poz.	35,49	0,58	1,65%
027 umereno poz.	32,10	0,63	1,97%

Testiran je dodatni panel od 6 uzoraka, 3 negativna i 3 toksigena *C. difficile* visoko negativna u toku 5 različitih dana od strane 2 operatera u svakom od 3 centara (6 uzoraka x 2 operatera/ dana x 5 dana x 3 centra). Visoko negativni uzorci su pripremljeni pri koncentraciji nižoj od LoD, tako da se od njih očekivalo da će dati negativan rezultat u 20 do 80% vremena. Jedna serija Xpert *C. difficile* BT testa korišćena je u svakom od 3 test centara. Xpert *C. difficile* BT testovi su izvedeni u skladu sa postupkom za Xpert *C. difficile* BTtest. Rezultati su sumirani u tabeli u nastavku.

Tabela 14. Sažetak rezultata o dodatnoj reproducibilnosti uzoraka

ID uzorka	% poklapanja ^a			% ukupnog poklapanja po uzorku
	Centar 1	Centar 2	Centar 3	
Negativno	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Toksigena <i>C. difficile</i> visoko negativna ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53,3% (16/30)	57,8% (52/90)

^a (broj negativnih rezultata / ukupan broj ciklusa visoko negativnih uzoraka)

^b očekivani procenat poklapanja za visoko negativan uzorak je 20-80%

21 Reference

1. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063-1066.
2. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40:1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
6. Braun 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.
7. 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. Document M29 (pogledati poslednje izdanje).
25. UREDBA (EZ) br. 1272/2008 EVROPSKOG PARLAMENTA I SAVETA od 16. decembra 2008. o klasifikacionom označavanju i pakovanju supstanci i smeša koje menja i ukida Listu izjava o predostrožnosti, Direktive 67/548/EEZ i 1999/45/EZ (izmena Uredbe (EZ) br. 1907/2006).
26. Standardi zaštite na radu i zdravlja, Prenos informacija o opasnostima, toksičnim i opasnim supstancama (26. marta 2012.) (29 C.F.R., pt. 1910, podtačka 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 Lokacije sedišta kompanije Cepheid

Sedišta kompanije

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Telefon: + 1 408 541 4191
Faks: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Sedišta u Evropi

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

Telefon: + 33 563 825 300
Faks: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Tehnička pomoć

Pre nego što nam se obratite

Prikupite sledeće informacije pre nego što se obratite službi za tehničku podršku kompanije Cepheid:

- Naziv proizvoda
- Broj serije
- Serijski broj instrumenta
- Poruke o greškama (ako ih ima)
- Verzija softvera i ako je primenjivo, broj servisne oznake računara

Tehnička podrška u SAD


















Telefon: + 1 888 838 3222 I-mejl: techsupport@cepheid.com

Tehnička podrška u Francuskoj

Telefon: + 33 563 825 319 I-mejl: support@cepheideurope.com

Informacije za kontakt sa svim kancelarijama službe tehničke podrške kompanije Cepheid dostupne su na našem Internet sajtu: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Tabela simbola

Simbol	Značenje
	Kataloški broj
	Medicinsko sredstvo za <i>in vitro</i> dijagnostiku
	Ne koristiti ponovo
	Kôd partije
	Pogledajte uputstva za upotrebu
	Oprez
	Proizvođač
	Zemlja proizvodnje
	Sadrži dovoljno za <i>n</i> testova
	Kontrola
	Rok trajanja
	CE oznaka – Evropska usklađenost
	Ograničenje temperature
	Biološki rizici
	Upozorenje
	Ovlašćeni predstavnik u Švajcarskoj
	Uvoznik



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 Istorija revizija

Opis promena: 301-6190-SR, Rev. D u Rev. E

Odeljak	Opis promene
Analitička osetljivost	Ispravljena je greška u odeljku „Analitička osetljivost“.
Tabela simbola	Ispravljena je greška u odeljku „Tabela simbola“.