

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Bruksanvisning

CE **IVD**

Erklæringer om varemerke, patenter og opphavsrett

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-logoen, GeneXpert[®] og Xpert[®] er varemerker for Cepheid, registrert i USA og andre land.

Alle andre varemerker tilhører sine respektive eiere.

KJØP AV DETTE PRODUKTET OVERFØRER TIL KJØPEREN EN IKKE-OVERFØRBAR RETT TIL Å BRUKE DET I SAMSVAR MED DENNE BRUKSANVISNINGEN. INGEN ANDRE RETTIGHETER OVERFØRES EKSPLISITT, IMPLISITT ELLER VED «ESTOPPEL». VIDERE OVERFØRES DET IKKE NOEN RETTIGHETER TIL VIDERESALG MED KJØP AV DETTE PRODUKTET.

© 2016–2024 Cepheid.

Se Avsnitt 25 Revisjonshistorikk for en beskrivelse av endringer.

Xpert[®] C. difficile BT

In vitro diagnostisk medisinsk utstyr

1 Proprietært navn

Xpert[®] C. difficile BT

2 Vanlig navn

Xpert C. difficile BT-test

3 Tiltenkt bruk

Cepheid Xpert C. difficile BT-testen, utfør på Cepheid, er en kvalitativ *in vitro* diagnostisk test for rask deteksjon av *C. difficile tcdB* (toksin B-gen), *cdt* (binært toksin-gen), og en sletting av et nukleotid i posisjon 117 på *tcdC*-genet fra uformede (flytende eller myke) avføringsprøver tatt fra pasienter som mistenkes å ha *Clostridium difficile*-infeksjon (CDI). Xpert C. difficile BT-testen er tiltenkt som et hjelpemiddel ved diagnose av CDI og deteksjon av stammer potensielt forbundet med mer alvorlig sykdom. Testen bruker automatisk sanntids polymerasekjedereaksjon (PCR) til å detektere *tcdB*, *cdt* og *tcdC*-slettingen på base 117 forbundet med ribotype 027-stammen. Binært toksin produseres av et begrenset antall *C. difficile*-stammer, inkludert 027-stammen. Deteksjon av binært toksin sammen med *tcdB* er ofte en indikator på mer alvorlig sykdom eller tilbakevendende sykdom. Isolater av *C. difficile* som er negative for *tcdB*, men bare inneholder binært toksin-gener, kan produsere lignende symptomer som toksigene *C. difficile*-stammer, men den kliniske signifikansen til slike stammer er for tiden usikker. Samtidig dyrking er bare nødvendig hvis det er nødvendig med videre typebestemmelse eller gjenoppretting av organismen.

4 Oppsummering og forklaring

C. difficile er en grampositiv, sporedannende, anaerob stavbakterie som først ble koblet til sykdom i 1978.¹

CDI spenner fra mild diaré til alvorlig livstruende pseudomembranøs kolitt.² Moden tarmbakterieflora hos en frisk voksen person er vanligvis motstandsdyktig mot kolonisering av *C. difficile*.³ Hvis den vanlige tarmfloraen endres, mistes imidlertid motstandskraften mot kolonisering av andre bakteriearter, for eksempel *C. difficile*. Den vanligste risikofaktoren for å utvikle CDI, er eksponering for antibiotika.⁴ *C. difficile*'s primære virulensfaktor er cytotoksin B.⁵ Genene som koder for toksin A (*tcdA*; enterotoksinet) og toksin B (*tcdB*) er en del av patogenitetloket (PaLoc).^{6,7} De fleste patogene stammer er toksin A-positive, toksin B-positive (A+B+)-stammer, selv om toksin A-negative, toksin B-positive (A-B+)-variantisolater har blitt gjenkjent

som patogene.⁸ Noen stammer av *C. difficile* produserer også en aktinspesifikk ADP-ribosyltransferase som kalles CDT eller binært toksin. Lokuset for binært toksin inneholder to separate gener (*cdtA* og *cdtB*) og befinner seg utenfor PaLoc.^{9,10,11}

CDI-diagnose har tradisjonelt vært basert enten på deteksjon av toksin B direkte i avføring (test av nøytralisering av cellekulturens cytotoksitet [CCCN-test]) eller på kultur av organismen etterfulgt av bestemmelse av isolatets toksin B-produksjon (toksigen kultur). Både CCCN-testen og toksigen kultur er arbeidsintensive, men anses fortsatt som «gullstandardene» grunnet den førstes spesifisitet og den andres sensitivitet.^{12,13} Flere raske immunoanalyser med enzym er utviklet for deteksjon av toksin A og B. Disse testene har imidlertid redusert sensitivitet og spesifisitet sammenlignet med CCCN-testen. Det er utviklet PCR-metoder for deteksjon av gener forbundet med produksjon av toksin A og/eller toksin B, og de viser høy sensitivitet og spesifisitet sammenlignet med toksigen kultur.¹⁴

I tillegg til toksin A og B antyder nyere litteratur en forbindelse mellom produksjon av binært toksin og både alvorlighet og utfall av sykdommen. Bauer et al.¹⁵ viste tilstedeværelse av gener for binært toksin i toksigene isolater i 23 % av CDI-tilfellene i Europa. Binært toksin produsert av *cdt*-gener observeres ofte i *C. difficile*-stammer forbundet med mer alvorlig CDI. Binært toksin tilhører familien med ADP-ribosylerende toksiner og består av *cdtA*-gener, den enzymatiske ADP-ribosyltransferasen, som modifiserer aktin, og *cdtB*, som binder seg til vertsceller og translokerer produktet av *cdtA* til cytosol. Flere kliniske studier indikerer en forbindelse mellom tilstedeværelse av gener for binært toksin i *C. difficile* og økt CDI-mortalitet etter 30 dager uavhengig av PCR-ribotype. Det er også litteratur som viser at personer som har alvorlig CDI, fulminant kolitt og/eller tilbakevendende CDI, oftere er smittet med *C. difficile*-ribotyper som inneholder genene for produksjon av binært toksin (*cdtA/cdtB*), enn dem som ikke har disse komplikasjonene.^{16,17}

En delmengde av binærtproduserende isolater har mutasjoner i genet som regulerer det negative toksinet (*tcdC*), dvs. en sletting i nukleotid 117 (*tcdCΔ117*) som stemmer overens med ribotype 027-stammer. Infeksjon forårsaket av 027/NAP1/BI-stammer kan være forbundet med en høyere mortalitets- og morbiditetsrate, inkludert innleggelse på intensivavdeling og forlenget sykehusopphold. Multivariat analyse viste en betydelig forbindelse mellom sykdommens alvorlighet og tilstedeværelsen av ribotyper med genet for binært toksin med eller uten sletting i nukleotid 117. I de siste to tiårene har det vært utbrudd av CDI som tilskrives en rekke nye «hypervirulente» stammer som inkluderer fluorokinolonresistente stammer som tilhører PCR-ribotype 027 (kalles også pulsfeltgelelektroforese gruppe NAP1 og restriksjonsendonukleaseanalyse type BI.)^{8,18} Stammer av 027 kan utvise økt toksinproduksjon, noe som tilskrives slettinger i reguleringsgenet *tcdC*, og kan produsere flere sporer, noe som fører til økt persistens i miljøet.^{19,20} Et presumptivt positivt 027-resultat kan bistå ved identifisering av mulige kilder til et 027-utbrudd.

Til slutt har ytterligere studier rapportert tilfeller av pasienter med diaré og mistenkt *C. difficile*-infeksjon grunnet toksinotype XI/PCR-ribotype 033, eller 033-lignende stammer positive for binært toksin, men negative for toksin A og B.^{21,22} Den kliniske signifikansen av slike binært toksin-positive, toksin B-negative stammer er ikke fullt ut forstått.

5 Prosedyrens prinsipper

automatiserer og integrerer klargjøring av prøver, rensing og amplifikasjon av nukleinsyre og deteksjon av målsekvensene i enkle eller komplekse prøver ved bruk av sanntids PCR-tester. Systemet består av et instrument, en PC og forhåndsinstallert programvare for å kjøre testene på kliniske prøver og vise resultatene. Systemene krever bruk av GeneXpert-patroner til engangsbruk som inneholder PCR-reagenser, og hvor prosessene for DNA-ekstraksjon, amplifikasjon og amplikondeteksjon foregår. Siden patronene er selvstendige, minimaliseres krysskontaminasjon mellom prøvene. Se den relevante *GeneXpert Dx System Operator Manual* eller *GeneXpert Infinity System Operator Manual* for en fullstendig beskrivelse av systemene.

Xpert C. difficile BT-testen inkluderer reagenser for deteksjon av toksinproduserende *C. difficile* og en prøveprosesseringskontroll (SPC). SPC indikerer tilstrekkelig prosessering av målbakterien og overvåker tilstedeværelsen av hemmere i PCR-reaksjonen. Probekontrollen (PCC) verifiserer reagensrehydrering, PCR-rørfylling i patronen, probeintegritet og fargestoffstabilitet.

Primerne og probene i Xpert C. difficile BT-testen detekterer sekvenser i genene for toksin B (*tcdB*), binært toksin (*cdt*) og *tcdA117*.

6 Reagenser og instrumenter

6.1 Materialer som følger med

Xpert C. difficile BT-settet inneholder nok reagenser til å prosessere 10 prøver eller kvalitetskontrollprøver.

Settet inneholder følgende:

| | |
|---|--|
| Xpert C. difficile BT patroner med integrerte reaksjonsrør | 10 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Perle 1, perle 2 og perle 3 (frysetørket) • Reagens 1 • Reagens 2 (natriumhydroksid) | 1 av hver per patron 3,0 ml per patron 3,0 ml per patron |
| Xpert C. difficile BT reagensposer | 10 |
| <ul style="list-style-type: none"> • Prøvereagens (Guanidinium thiocyanate) | 10 × 2,0 ml per pose |
| CD | 1 per sett |
| <ul style="list-style-type: none"> • Analysedefinisjonsfiler (ADF) • Instruksjoner for å importere ADF i programvaren • Bruksanvisning (pakningsvedlegg) | |

Merk Sikkerhetsdatablader (SDS) er tilgjengelige på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com under fanen **STØTTE**.

Merk Bovint serumalbumin (BSA)- i perlene i dette produktet ble utelukkende produsert av bovin plasma anskaffet i USA. Intet drøvtyggerprotein eller annet animalsk protein ble gitt til dyrene; dyrene besto testing ante og post mortem. Det var ingen blanding av materialet med andre animalske materialer under behandlingen.

6.2 Oppbevaring og håndtering

- Oppbevar Xpert C. difficile BT-settet ved 2–28 °C.
- Ikke bruk prøvereagens eller patroner som har gått ut på dato.
- Ikke åpne lokket på patronen før du er klar til å utføre testing.
- Ikke bruk prøvereagens som har blitt grumsete eller misfarget.
- Ikke bruk en patron som har lekket.

6.3 Nødvendige materialer som ikke følger med

- eller (katalognummer varierer etter konfigurasjon): GeneXpert-instrument, datamaskin med proprietær GeneXpert-programvare versjon 4.3 eller høyere, strekkodeskanner og operatørhåndbok.
- Skriver: Hvis det er behov for en skriver, kontaktes en Cepheid salgsrepresentant for å arrangere kjøp av en anbefalt skriver.
- Vortex-blander
- Rene overføringspipetter til engangsbruk
- Tørr prøvetakingspinne for overføring av prøven, for eksempel prøvetakingspinne i Cepheid prøvetakingsenhet (Cepheid katalognummer: 900-0370), Cepheid prøvetakingspinne til engangsbruk (Cepheid katalognummer SDPS-120) eller Copan dobbel prøvetakingspinne og transportsystemer (139C LQ STUART)

7 Advarsler og forholdsregler

- Håndter alle biologiske prøver, inkludert brukte patroner og reagenser, som om de kan overføre smittsomme agenser. Siden det ofte er umulig å vite hvilke som kan være smittsomme, skal alle biologiske prøver behandles med standard forholdsregler. Retningslinjer for håndtering av prøver er tilgjengelig fra U.S. Centers for Disease Control and Prevention og Clinical and Laboratory Standards Institute.^{23,24}
- Følg institusjonens sikkerhetsprosedyrer for arbeid med kjemikalier og håndtering av biologiske prøver.
- Bruk ren laboratoriefrakk og rene hansker. Bytt hansker mellom prosessering av hver prøve.
- Ikke erstatt Xpert C. difficile BT-reagenser med andre reagenser.
- Ikke åpne lokket på Xpert C. difficile BT-patronen unntatt når du tilsetter prøve og reagenser eller for å fjerne prøve fra den opprinnelige patronen for å teste på nytt i en ny patron.
- Ikke bruk en patron som har falt etter at den ble tatt ut av emballasjen.
- Ikke rist patronen. Hvis patronen ristes eller faller etter at lokket er åpnet, kan den gi ugyldige resultater.
- Ikke bruk en patron som har et skadet reaksjonsrør.
- Ikke plasser prøve-ID-etiketten på patronens lokk eller på strekkodeetiketten.
- Hver Xpert C. difficile BT-patron til engangsbruk brukes til å prosessere én test. Ikke gjenbruk en brukt patron.
- Biologiske prøver, overføringsenheter og brukte patroner skal anses som i stand til å overføre smittsomme agenser og krever standard forholdsregler. Følg institusjonens miljøavfallsprosedyrer for riktig avhending av brukte patroner og ubrukte reagenser. Disse materialene kan utvise egenskaper til kjemisk farlig avfall som krever spesifikk nasjonal eller regional avhending. Hvis nasjonale eller regionale forskrifter ikke gir

klare retningslinjer for riktig avhending, skal biologiske prøver og brukte patroner avhendes i henhold WHO's (Verdens helseorganisasjons) retningslinjer for håndtering og avhending av medisinsk avfall.

- Hvis arbeidsområdet eller utstyret blir kontaminert med prøve eller kontroller, rengjør du det kontaminerte området grundig med en løsning av 1:10 fortykning av vanlig klorholdig blekemiddel og gjentar deretter rengjøringen av arbeidsområdet med 70 % etanol. Tørk arbeidsflatene helt tørre før du fortsetter.

8 Kjemiske farer^{25,26}

- Signalord: ADVARSEL
- **UN GHS faresetninger:**
 - Farlig ved svelging.
 - Irriterer huden.
 - Gir øyeirritasjon.
- **UN GHS sikkerhetssetninger:**
 - **Forebygging**
 - Vask grundig etter bruk.
 - Ikke spis, drikk eller røyk ved bruk av produktet.
 - Unngå utslipp til miljøet.
 - Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern.
 - **Tiltak**
 - VED HUDKONTAKT: Vask med mye såpe og vann.
 - Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt.
 - Særlig behandling, se supplerende førstehjelpsinformasjon.
 - Ved hudirritasjon: Søk legehjelp.
 - VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen.
 - Ved vedvarende øyeirritasjon: Søk legehjelp.
 - VED SVELGING: Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER eller en lege ved ubehag.
 - Skyll munnen.
- **Oppbevaring/avhending**
 - Avhend innhold og/eller beholder i samsvar med lokale, regionale, nasjonale og/eller internasjonale forskrifter.

9 Prøvetaking og transport av prøver

1. Ta den uformede avføringen i en ren beholder. Følg institusjonens retningslinjer for prøvetaking for *C. difficile*-testing.
2. Merk med pasient-ID og send til laboratoriet for testing.
3. Oppbevar prøven ved 2–8 °C. Prøven er holdbar i opptil 5 dager når den oppbevares ved 2–8 °C. Alternativt kan prøvene oppbevares ved romtemperatur (20–30 °C) i opptil 24 timer.

10 Prosedyre

10.1 Klargjøre patronen

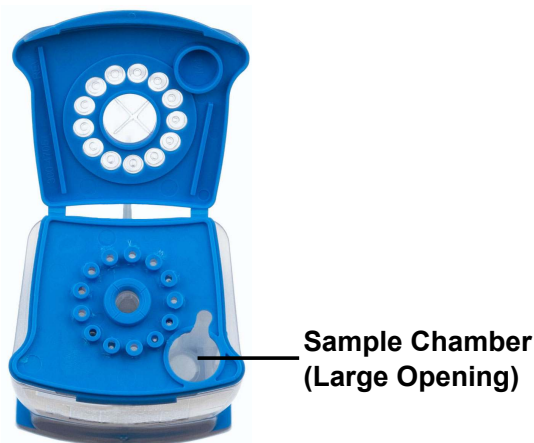
Viktig Start testen innen 30 minutter etter at prøven er tilsatt i patronen.

Slik tilsetter du prøven i patronen:

1. Ta patronen og prøvereagensen ut av pakningen.
2. Dypp prøvetakingspinnen kort i den uformede avføringsprøven. Prøvetakingspinnen trenger ikke å gjennomvætes.
3. Plasser prøvetakingspinnen i røret som inneholder prøvereagensen.

Merk Bruk sterilt gasbind for å minimere risikoen for kontaminasjon.

4. Hold prøvetakingspinnen i pinnedelen i nærheten av rørets kant, løft prøvetakingspinnen noen millimeter fra bunnen av røret og skyv pinnedelen mot kanten av røret for å brette den. Sørg for at prøvetakingspinnen er kort nok til at korken kan lukkes tett.
5. Lukk lokket og vortex-bland ved høy hastighet i 10 sekunder.
6. Åpne lokket på patronen. Bruk en ren overføringspipette til å overføre hele innholdet av prøvereagensen til prøvekompartimentet i patronen.
7. Lukk lokket på patronen.



Figur 1. Patron (sett ovenfra)

10.2 Starte testen

Viktig Hvis du bruker et *GeneXpert Dx-system*, skal du sørge for at systemet kjører GeneXpert Dx programvareversjon 4.7b eller nyere, og at riktig analysedefinisjonsfil er importert i programvaren før du starter testen.

Viktig Hvis du bruker et *GeneXpert Infinity-system*, skal du sørge for at systemet kjører Xpertise programvareversjon 6.4b eller nyere, og at riktig analysedefinisjonsfil er importert i programvaren før du starter testen.

Dette avsnittet beskriver de grunnleggende trinnene for å kjøre testen. Se *operatørhåndboken for GeneXpert Dx-systemet* eller *operatørhåndboken for GeneXpert Infinity-systemet*, avhengig av modellen som brukes, for mer detaljerte instruksjoner.

Merk Trinnene du følger, kan avvike hvis systemadministratoren endret systemets standard arbeidsflyt.

1. Slå på GeneXpert-instrumentet:
 - Hvis *GeneXpert Dx-instrumentet* brukes, slå først på GeneXpert Dx-instrumentet og slå deretter på datamaskinen. GeneXpert-programvaren starter automatisk. Hvis den ikke gjør det, dobbeltklikker du på snarveiikonet til GeneXpert Dx-programvaren på skrivebordet i Windows®.
 - eller
 - Hvis *GeneXpert Infinity-instrumentet* brukes, slå på instrumentet. Xpertise-programvaren vil automatisk starte. Hvis den ikke gjør det, dobbeltklikker du på snarveiikonet til Xpertise-programvaren på skrivebordet i Windows®.
2. Logg på programvaren til GeneXpert instrumentsystemet med brukernavn og passord.
3. I **GeneXpert System**-vinduet, klikk på **Opprett test (Create Test)** (GeneXpert Dx) eller **Bestillinger (Orders)** og **Bestill test (Order Test)** (Infinity). Vinduet **Opprett test (Create Test)** åpnes. Dialogboksen **Skann pasient-ID (Scan Patient ID)** åpnes.
4. Skann eller skriv inn pasient-ID-en (Patient ID). Hvis du skriver inn pasient-ID-en (Patient ID), må du passe på at den skrives inn riktig. Pasient-ID-en (Patient ID) er knyttet til testresultatene og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og alle rapportene. Dialogboksen **Skann prøve-ID (Scan Sample ID)** åpnes.
5. Skann eller skriv inn prøve-ID-en (Sample ID). Hvis du skriver inn prøve-ID-en (Sample-ID), må du passe på at den skrives inn riktig. Prøve-ID-en (Sample ID) er knyttet til testresultatene og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og alle rapportene. Dialogboksen **Skann reagenskassettsstrekkode (Scan Cartridge Barcode)** åpnes.
6. Skann strekkoden på reagenskassetten. Programvaren bruker strekkodeinformasjonen til automatisk å fylle ut følgende felt: Velg analyse (Select Assay), Reagensparti-ID (Reagent Lot ID), reagenskassettserienummer (Cartridge SN) og Utløpsdato (Expiration Date).

Hvis strekkoden på reagenskassetten ikke kan skannes, gjentas testen med en ny reagenskasset. Hvis du har skannet reagenskassetts strekkode i programvaren og analysedefinisjonsfilen ikke er tilgjengelig, vises en skjerm som indikerer at analysedefinisjonsfilen ikke er lastet inn i systemet. Hvis denne skjermen vises, kontakter du Cepheids tekniske brukerstøtte.

Merk

7. Klikk på **Start test (Start Test)** (GeneXpert Dx) eller **Send (Submit)** (Infinity). I dialogboksen som vises, skriver du inn passordet ditt om nødvendig.
8. For *GeneXpert Infinity-systemet* plasseres reagenskassetten på transportbåndet. Reagenskassetten blir automatisk lastet inn, testen vil kjøre, og den brukte reagenskassetten vil plasseres i avfallsbeholderen.

eller

For GeneXpert Dx-instrumentet:

- a) Åpne luken med den blinkende grønne lampen på instrumentmodulen og last inn reagenskassetten.
- b) Lukk luken. Testen starter, og den grønne lampen slutter å blinke. Når testen er ferdig, slukker lampen.
- c) Vent til systemet frigjør låsen på luken før du åpner modulluken. Deretter fjerner du reagenskassetten.
- d) Kast de brukte reagenskassetene i de riktige prøveavfallsbeholderne i samsvar med institusjonens standard praksis.

11 Vise og skrive ut resultater

Dette avsnittet beskriver de grunnleggende trinnene for å vise og skrive ut resultater. Se *operatørhåndboken for GeneXpert Dx-systemet* eller *operatørhåndboken for GeneXpert Infinity-systemet*, avhengig av instrumentmodellen som brukes, for mer detaljerte instruksjoner om hvordan du viser og skriver ut resultatene.

1. Klikk på ikonet **Vis resultater (View Results)** for å vise resultater.
2. Når testen er ferdig, klikker du på knappen **Rapport (Report)** i vinduet **Vis resultater (View Results)** for å vise og/eller generere en PDF-rapportfil.

12 Kvalitetskontroll

Hver test inneholder en prøveprosesseringskontroll (SPC) og en probekontroll (PCC).

- **Prøveprosesseringskontroll (SPC):** Sikrer at prøven ble prosessert riktig. SPC inneholder sporer av *Bacillus globigii* i form av en tørr perle som er inkludert i hver patron for å verifisere tilstrekkelig prosessering av prøven. SPC verifiserer at det har forekommet lysering av *C. difficile*-bakterier og en spore hvis organismene er til stedet, og verifiserer at prøveprosesseringen er tilstrekkelig. Denne kontrollen detekterer også prøveassosiert hemming av sanntids PCR-testen, sikrer at tilstandene for PCR-reaksjonen (temperatur og tid) er egnet for amplifikasjonsreaksjonen, og at PCR-reagensene fungerer som de skal. SPC skal være positiv i en negativ prøve og kan være negativ eller positiv i en positiv prøve. SPC består hvis den oppfyller de validerte godkjenningsskriteriene.
- **Probekontroll (PCC):** Før PCR-reaksjonen starter, måler GeneXpert-systemet fluorescenssignalet fra probene for å overvåke rehydrering av perler, fylling av reaksjonsrør, probeintegritet og fargestoffstabilitet. Probekontrollen består hvis den oppfyller de tildelte godkjenningsskriteriene.

13 Tolkning av resultater

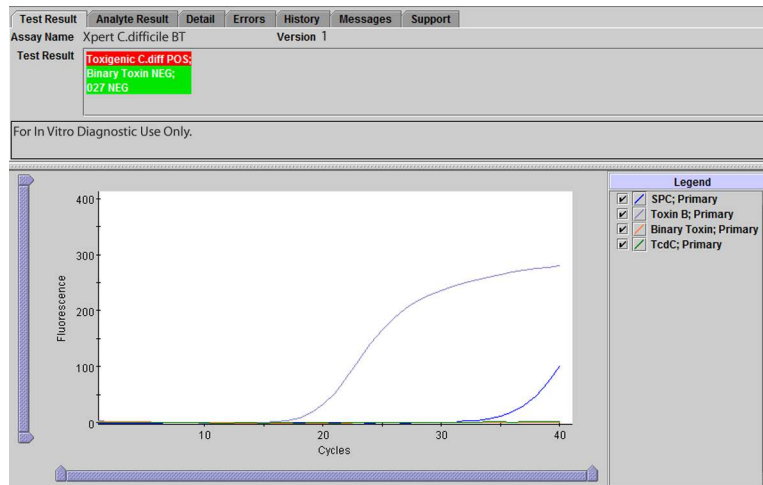
Resultatene tolkes av ut fra målte fluorescenssignaler og innebygde beregningsalgoritmer og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)**. De mulige resultatene vises i tabellen nedenfor.

Tabell 1. Xpert *C. difficile* BT – resultater og tolkning

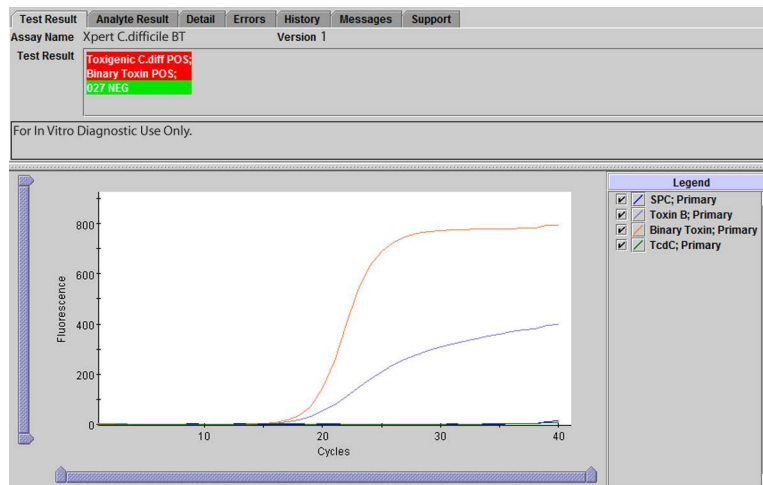
| Resultat | Tolkning |
|---|---|
| <p>Toksigen <i>C. diff</i> POS, binært toksin NEG, 027 NEG (Toksigen <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 2.</p> | <p>Mål-DNA-sekvenser for toksinproduserende <i>C. difficile</i> er detektert.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksinproduserende <i>C. difficile</i> – målet for toksinproduserende <i>C. difficile</i> (toksin B-gen) har en Ct innenfor det gyldige området, og endepunktet er over minimumsinnstillingen. • Genet for binært toksin og <i>tcdC</i>-slettingen i nt 117 er ikke detektert. • SPC – IR (NA) (ikke relevant); SPC ignoreres siden amplifikasjonen av <i>C. difficile</i>-målet kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |
| <p>Toksigen <i>C. diff</i> POS, binært toksin POS, 027 NEG (Toksigen <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 3.</p> | <p>Mål-DNA-sekvenser for toksinproduserende <i>C. difficile</i> er detektert.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mål for toksinproduserende <i>C. difficile</i> (toksin B-gen pluss gen for binært toksin) har Ct-er innenfor det gyldige området, og endepunktene er over minimumsinnstillingen; <i>tcdC</i>-slettingen i nt 117 er ikke detektert. • SPC — IR (ikke relevant) (NA (not applicable)); SPC ignoreres siden amplifikasjonen av <i>C. difficile</i>-målet kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |
| <p>Toksigen <i>C. diff</i> POS, binært toksin POS, 027 PRESUMPTIVT POS (Toksigen <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS)</p> <p>Se Figur 4.</p> | <p>Mål-DNA-sekvenser for toksinproduserende <i>C. difficile</i> og presumptiv 027 er detektert.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alle mål for toksinproduserende <i>C. difficile</i>, presumptiv 027 (toksin B, binært toksin og <i>tcdC</i>-sletting i nt 117) har Ct-er innenfor det gyldige området og endepunkt over minimumsinnstillingen. • SPC — IR (ikke relevant) (NA (not applicable)); SPC ignoreres siden amplifikasjonen av <i>C. difficile</i>-målet kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |
| <p>Toksigen <i>C. diff</i> NEG, binært toksin POS, 027 NEG (Toksigen <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 5.</p> | <p><i>C. difficile</i> toksin B-gensekvensene er ikke detektert. Et annet DNA-mål (gen for binært toksin) er imidlertid detektert og har en Ct innenfor det gyldige området og et endepunkt over minimumsinnstillingen. Den kliniske signifikansen av isolater som kun er binært toksin-positive, er ennå ikke bestemt.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC — IR (ikke relevant) (NA (not applicable)); SPC ignoreres siden amplifikasjonen av <i>C. difficile</i>-målet kan konkurrere med denne kontrollen. • Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |

| Resultat | Tolkning |
|---|--|
| <p>Toksigen <i>C. diff</i> NEG, binært toksin NEG, 027 NEG (Toksigen <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 6.</p> | <p>Mål-DNA-sekvenser for <i>C. difficile</i> (toksin B-gen, gen for binært toksin) er ikke detektert.</p> <ul style="list-style-type: none"> Gensekvenser for toksinproduserende <i>C. difficile</i> (toksin B-gen og gen for binært toksin) er ikke detektert; andre DNA-mål for toksigen <i>C. difficile</i> (<i>tcdC</i>-sletting i nt 117) er ikke detektert. SPC – BESTÅTT (PASS); SPC har en Ct innenfor det gyldige området og endepunkt over minimumsinnstillingen for endepunkt. Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |
| <p>UGYLDIG (INVALID)</p> <p>Se Figur 7.</p> | <p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA for <i>C. difficile</i> kan ikke bestemmes. Gjenta testen i henhold til instruksjonene i Avsnitt 15. SPC oppfyller ikke godkjeningskriteriene, prøven ble ikke skikkelig prosessert, eller PCR er hemmet.</p> <ul style="list-style-type: none"> UGYLDIG (INVALID) – Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA for <i>C. difficile</i> kan ikke bestemmes. SPC – IKKE BESTÅTT (FAIL); SPC-måleresultatet er negativt, og SPC Ct er ikke innenfor gyldig område, og endepunktet er under minimumsinnstillingen. Probekontroll – BESTÅTT (PASS); alle probekontrollresultater er bestått. |
| <p>FEIL (ERROR)</p> | <p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA for <i>C. difficile</i> kan ikke bestemmes. Gjenta testen i henhold til instruksjonene i Avsnitt 15. Probekontrollen ble ikke bestått, sannsynligvis siden reaksjonsrøret ikke ble fylt riktig, et probeintegritetsproblem ble detektert, eller maksimumsgrensene for trykk ble overskredet.</p> <ul style="list-style-type: none"> Toksin B – INTET RESULTAT (NO RESULT) Binært toksin – INTET RESULTAT (NO RESULT) <i>tcdC</i>-sletting i nt 117 — INTET RESULTAT (NO RESULT) *SPC – INTET RESULTAT (NO RESULT) Probekontroll – IKKE BESTÅTT (FAIL); alle eller ett av probekontrollresultatene er ikke bestått. <p>* Hvis probekontrollen ble bestått, er feilen forårsaket av en systemkomponentsvikt.</p> |
| <p>INTET RESULTAT (NO RESULT)</p> | <p>Tilstedeværelse eller fravær av mål-DNA for <i>C. difficile</i> kan ikke bestemmes. Gjenta testen i henhold til instruksjonene i Avsnitt 15. Det ble innhentet utilstrekkelig data for å produsere et testresultat (for eksempel, operatøren stoppet en test mens den kjørte).</p> <ul style="list-style-type: none"> Toksin B (<i>tcdB</i>) — INTET RESULTAT (NO RESULT) Binært toksin (<i>cdt</i>) – INTET RESULTAT (NO RESULT) <i>tcdCA117</i> – INTET RESULTAT (NO RESULT) SPC – INTET RESULTAT (NO RESULT) Probekontroll – IR (ikke relevant (NA (not applicable))) |

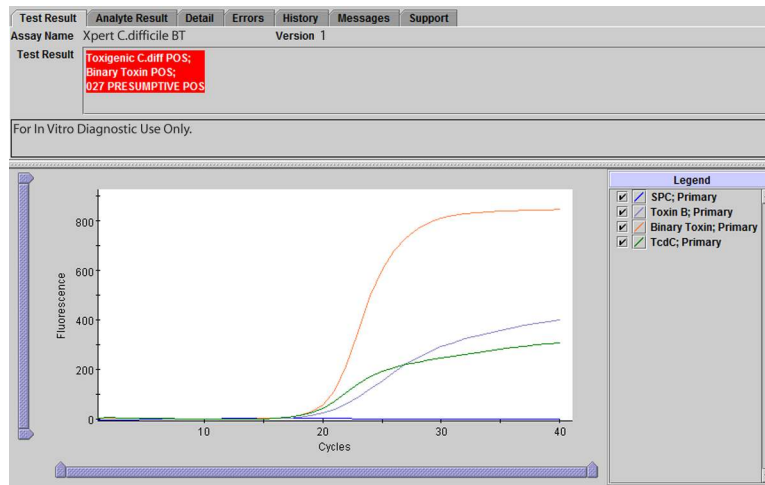
Merk Skjermbildene som vises i dette avsnittet (figur 2, figur 3, figur 4, figur 5, figur 6 og figur 7), er fra et som kjører -programvaren.



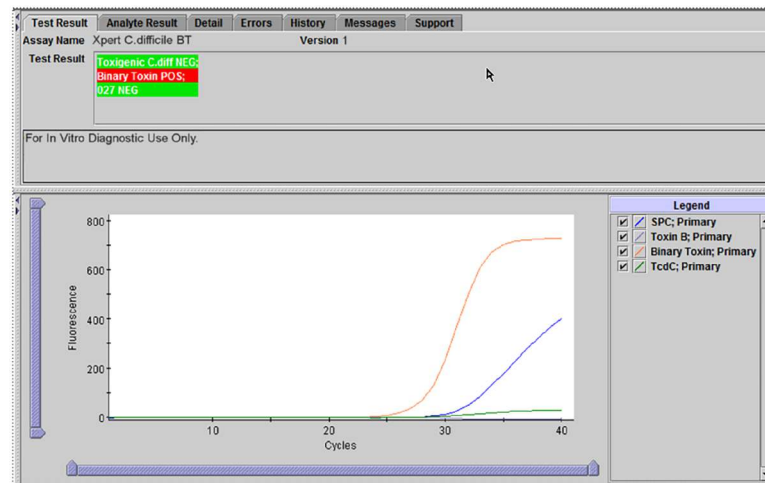
Figur 2. Eksempel på toksigen C. diff positiv, binært toksin negativ og 027 negativ-resultat.



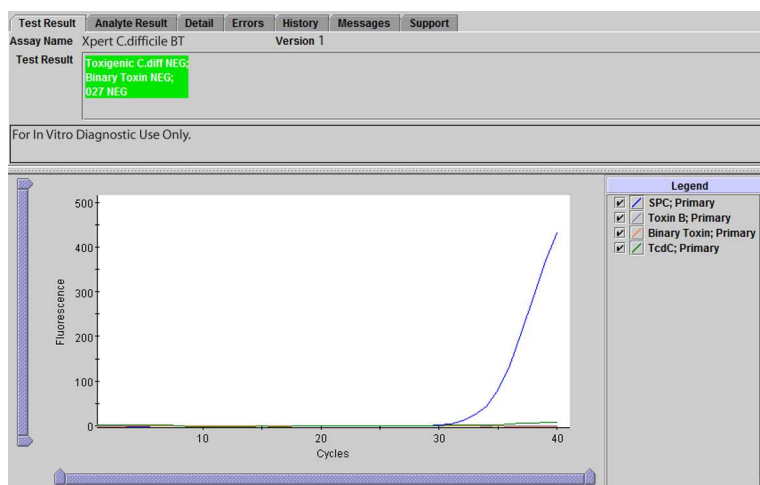
Figur 3. Eksempel på toksigen C. diff positiv, binært toksin positiv og 027 negativ-resultat.



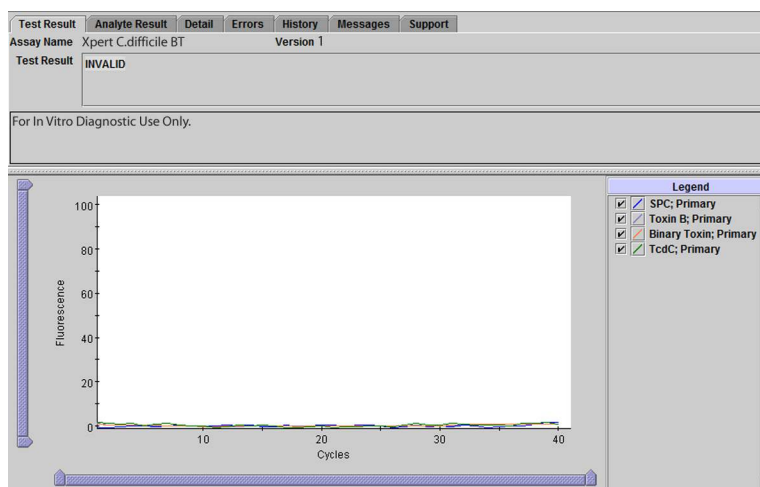
Figur 4. Eksempel på toksigen C. diff positiv, binært toksin positiv og 027 presumptivt positiv-resultat.



Figur 5. Eksempel på toksigen C. diff negativ, binært toksin positiv og 027 negativ-resultat.



Figur 6. Eksempel på toksigen C. diff negativ, binært toksin negativ og 027 negativ-resultat.



Figur 7. Eksempel på et ugyldig resultat.

14 Grunner til å gjenta testen

Hvis noen av testresultatene under oppstår, gjentas testen én gang i henhold til instruksjonene i Avsnitt 15.

- Et **UGYLDIG (INVALID)** resultat indikerer at SPC ikke er bestått. Prøven ble ikke prosessert skikkelig, eller PCR ble hemmet.
- Et **FEIL (ERROR)** resultat indikerer at probekontrollen ikke kan ha bestått, og at testen ble avbrutt, muligens på grunn av at reaksjonsrøret ikke ble fylt riktig, et reagensprobeintegritetsproblem ble detektert, eller fordi maksimumsgrensene for trykk ble overskredet, eller en ventilposisjoningsfeil ble detektert.
- Et **INTET RESULTAT (NO RESULT)** indikerer at det ble innhentet utilstrekkelige data. For eksempel at operatøren stoppet en test mens den kjørte.

15 Prosedyre for å teste på nytt

For å teste på nytt innen 3 timer etter et ubestemmelig resultat bruker du en ny patron (ikke gjenbruk patronen) og nye reagenser.

1. Ta en ny patron ut av settet.
2. Overfør alt gjenværende innhold fra prøvekammeret til en nytt prøvereagensflaske med en overføringspipette til engangsbruk.
3. Vortex-bland og tilsett hele innholdet av prøvereagensen i prøvekammeret til den nye Xpert *C. difficile* BT-patronen.
4. Lukk lokket og start den nye testen.

For å teste på nytt mer enn 3 timer etter et ubestemmelig resultat gjentar du testen med en ny penselprøve fra den opprinnelige pasientprøven.

16 Begrensninger

- Ikke-027-isolater som representerer toksinotype XIV, vil rapporteres som **Toksigen *C. diff* POS; Binært toksin POS; 027 PRESUMPTIVT POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** med Xpert *C. difficile* BT-testen.
- **Toksigen *C. diff* NEG; Binært toksin POS; presumptiv 027 NEG (Toxigenic *C. diff* NEG; Binary Toxin POS, Presumptive 027 NEG)** fra Xpert *C. difficile* BT kan inneholde toksin B-genet og/eller *tdcC*-slettingen under testens LoD.
- Noen ganger vil ikke-027-isolater som representerer toksinotype IV, V og X, rapporteres som **Toksigen *C. diff* POS; Binært toksin POS; 027 PRESUMPTIVT POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** med Xpert *C. difficile* BT-testen.
- Ytelsen til Xpert *C. difficile* BT-testen er kun validert med prosedyrene oppgitt i dette pakningsvedlegget. Modifikasjoner av disse prosedyrene kan påvirke testens ytelse.
- Resultater fra Xpert *C. difficile* BT-testen skal tolkes sammen med andre laboratedata og kliniske data som er tilgjengelig for klinikeren.
- Feilaktige testresultater kan oppstå fra feil prøvetaking, at de anbefalte prosedyrene for prøvetaking og håndtering og oppbevaring av prøver ikke følges, teknisk feil, forbytting av prøver eller fordi antall organismer i prøven er for lite til å detekteres av testen. Instruksjonene i dette vedlegget må følges nøye for å unngå feilaktige resultater.
- På grunn av fortynningsfaktoren forbundet med prosedyren for å teste på nytt er det mulig at *C. difficile*-positive prøver som er svært nær eller på deteksjonsgrensen (LoD) til Xpert *C. difficile* BT-testen, kan resultere i et falskt negativt resultat når de testes på nytt.
- Hemming av Xpert *C. difficile* BT-testen er observert ved tilstedeværelse av følgende stoffer: Sinkkoksidskrem og Vagisil®-krem.
- Utbrudd av CDI kan forårsakes av andre stammer enn 027.
- Falskt negative resultater kan oppstå når den infiserende organismen har genomiske mutasjoner, tillegg, slettinger eller omorganiseringer, eller når testen utføres svært tidlig i sykdomsforløpet.
- Positive resultater oppnådd med immunkompromitterte pasienter kan gjenspeile asymptomatisk bæring av *C. difficile*.

- Deteksjon av *C. difficile*-nukleinsyre i avføring bekrefter tilstedeværelsen av organismen hos pasienter med diaré, men indikerer ikke nødvendigvis at *C. difficile* er årsaken til diareen.
- Ytelsesegenskaper ble ikke etablert for pasienter < 2 år gamle.
- Mutasjoner eller polymorfismer i primer- og probebindingsregioner kan påvirke deteksjon av *C. difficile*-typene testen er rettet mot, og resultere i et falskt negativt resultat.

17 Forventede verdier

I den kliniske studien av Xpert *C. difficile* BT-testen ble det inkludert totalt 2293 uformede avføringsprøver fra 7 sentre i USA og Canada. Antallet og prosentandelen av toksigen *C. difficile*-positive tilfeller etter kultur, beregnet etter alder og kjønn, vises i tabellene nedenfor.

Tabell 2. Observert prevalens av toksigen *C. difficile* etter aldersgruppe^a

| Aldersgruppe | N | Prevalens av toksigen <i>C. difficile</i> (inkluderer 027) | Prevalens av binært toksin | Prevalens av 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) |
| Totalt | 2293 | 18,8 % (430/2293) | 7,2 % (165/2293) | 5,5 % (125/2293) |

^a Prevalens basert på Xpert-resultater.

Tabell 3. Observert prevalens av toksigen *C. difficile* etter kjønn^a

| Kjønn | N | Prevalens av toksigen <i>C. difficile</i> (inkluderer 027) | Prevalens av binært toksin | Prevalens av 027 |
|---------------|-------------|--|----------------------------|-------------------------|
| Menn | 1072 | 18,2 % (195/1072) | 6,3 % (68/1072) | 5,0 % (54/1072) |
| Kvinner | 1221 | 19,2 % (235/1221) | 7,9 % (97/1221) | 5,8 % (71/1221) |
| Totalt | 2293 | 18,8 % (430/2293) | 7,2 % (165/2293) | 5,5 % (125/2293) |

^a Prevalens basert på Xpert-resultater.

18 Ytelsesegenskaper

18.1 Klinisk ytelse

Ytelsesegenskapene til Xpert *C. difficile* BT-testen ble bestemt i en prospektiv undersøkelsesstudie på flere steder ved sju amerikanske og canadiske institusjoner ved å sammenligne Xpert *C. difficile* BT-testen med referansekultur etterfulgt av CCCN-testing av isolatene og stammetyping av de toksigenene stammene med PCR-ribotyping.

Personene inkluderte personer som ble testet for *C. difficile* som en del av sin vanlige pleie. En del av hver resterende uformede avføringsprøve ble innhentet for testing med Xpert *C. difficile* BT-testen. Gjenværende overskytende prøve ble sendt til et sentralt laboratorium for referansekultur- og cytotoksin B-testing. Hver avføringsprøve ble inokulert på forhåndsreduert cykloserin-cefoxitin-fruktose-agar – direkte plate (CCFA-D) og cycloserin-cefoxitin-mannitol-væske med taurocholat lysozym cystein (CCMB-TAL). Etter 24 timer ble CCMB-TAL overført til en ny CCFA-E-plate (CCFA-beriket). Denne direkte-berikede kulturmetoden kalles heretter «referansekultur».

Hvis *C. difficile* ble isolert fra CCFA-D-platen og isolatet var positivt ved CCCN-testen, ble prøven klassifisert som «toksigen *C. difficile*-positiv», og CCFA-E-platen ble ikke videre analysert. Hvis ingen *C. difficile* ble isolert fra CCFA-D-platen, eller hvis isolatet var negativt ved CCCN-testen, ble CCFA-E-platen videre analysert.

Hvis CCFA-E var positiv for *C. difficile* og isolatet var positivt for CCCN-testen, ble prøven klassifisert som «toksigen *C. difficile*-positiv». Prøven ble rapportert som «negativ» hvis CCFA-E var negativ for *C. difficile* eller isolatet ble funnet å være negativt av CCCN-testen.

Etter referansekulturtesting ble toksigen *C. difficile*-positive isolater sendt til et nytt sett med referanselaboratorier for stammeidentifikasjon med PCR-ribotyping.

Ytelsen til Xpert *C. difficile* BT-testen ble beregnet i forhold til resultatene fra direktekultur med stammetyping og referansekultur med stammetyping.

18.2 Samlede resultater

Totalt 2293 prøver ble testet med Xpert *C. difficile* BT-testen, dyrking og stammetyping.

18.2.1 Ytelsesresultater kontra direktekultur

I forhold til direktekultur med PCR-ribotyping viste Xpert *C. difficile* BT-testen en sensitivitet og spesifisitet for toksigen *C. difficile* på henholdsvis 98,78 % og 90,86 %. Xpert *C. difficile* BT-testen viste også et 100 % positivt samsvar og 97,70 % negativt samsvar for 027 (se tabellen nedenfor).

Tabell 4. Xpert *C. difficile* BT-testens ytelse kontra direktekultur og PCR-ribotyping

| Direktekultur og PCR-ribotyping | | | | | |
|---|----------------|----------------|-------------------------------------|------|-------------------|
| | | Toxin B + 027+ | Toxin B + 027- | NEG | Totalt |
| Xpert <i>C. difficile</i> BT ^b | Toxin B + 027+ | 74 | 4 | 47 | 125 |
| | Toxin B + 027- | 0 | 164 | 140 | 304 ^a |
| | NEG | 0 | 3 | 1860 | 1863 |
| | Totalt | 74 | 171 | 2047 | 2292 ^a |
| Toksigene <i>C. difficile</i> | | | Toksigene <i>C. difficile</i> / 027 | | |

| Direktekultur og PCR-ribotyping | | | | | |
|---------------------------------|--|--|-------------------|--|--------|
| | | Toxin B + 027+ | Toxin B + 027- | NEG | Totalt |
| | | Sensitivitet: 98,78 % (242/245) | | Positivt samsvar: 100 % (74/74) | |
| | | Spesifisitet: 90,86 % (1860/2047) | | Negativt samsvar: 97,70 % (2167/2218) | |
| | | Nøyaktighet: 91,71 % (2102/2292) | | Nøyaktighet: 97,77 % (2241/2292) | |
| | | PPV ^c : 56,41 % (242/429) | | PPV: 59,20 % (74/125) | |
| | | NPV ^d : 99,84 % (1860/1863) | | NPV: 100 % (2218/2218) | |

a. Ett isolat kunne ikke typebestemmes på grunn av kontaminasjon: Denne prøven er ikke inkludert i ytelsesstatistikkene.

b. Viste Xpert-resultater er for første eller andre forsøk. Cirka 3,2 % av prøvene var ubestemmelige på første forsøk.

c. Positiv prediktiv verdi

d. Negativ prediktiv verdi

18.2.2 Ytelse kontra referansekultur

I forhold til referansekultur med PCR-ribotyping viste Xpert *C. difficile* BT-testen en sensitivitet og spesifisitet for toksigen *C. difficile* på henholdsvis 93,39 % og 94,02 %. Xpert *C. difficile* BT-testen viste også et 98,89 % positivt samsvar og 98,36 % negativt samsvar for 027 (se tabell 5).

Tabell 5. Ytelsen til Xpert *C. difficile* BT-testen kontra referansekultur og PCR-ribotyping

| Referansekultur og PCR-ribotyping | | | | | |
|---|---------------------------|-------------------------------------|-------------------|---|-------------------|
| | | Toxin B + 027+ | Toxin B + 027- | NEG | Totalt |
| Xpert <i>C. difficile</i> BT^b | Toxin B + 027+ | 89 | 5 | 31 | 125 |
| | Toxin B + 027- | 0 | 217 | 86 | 303 ^a |
| | NEG | 1 | 21 | 1841 | 1863 |
| | Totalt | 90 | 243 | 1958 | 2291 ^a |
| | | Toksigen <i>C. difficile</i> | | Toksigen <i>C. difficile</i> / 027 | |

| | | |
|--|--|--|
| | Sensitivitet: 93,39 % (311/333) | Positivt samsvar: 98,89 % (89/90) |
| | Spesifisitet: 94,02 % (1841/1958) | Negativt samsvar: 98,36 % (2165/2201) |
| | Nøyaktighet: 93,93 % (2152/2291) | Nøyaktighet: 98,38 % (2254/2291) |
| | PPV ^c : 72,66 % (311/428) | PPV: 71,20 % (89/125) |
| | NPV ^d : 98,82 % (1841/1863) | NPV: 99,95 % (2165/2166) |

a. To isolater kunne ikke typebestemmes på grunn av kontaminasjon: Prøvene er ikke inkludert i ytelsesstatistikken.

b. Viste Xpert-resultater er for første eller andre forsøk. Cirka 3,2 % av prøvene var ubestemmelige på første forsøk.

c. Positiv prediktiv verdi.

d. Negativ prediktiv verdi.

18.2.3 Oppsummering

Tabellen nedenfor viser totalt antall prøver for hvert testresultat av de 2293 prøvene inkludert i dataanalysen av den kliniske ytelsen.

Tabell 6. Xpert C. difficile BT-testens samlede ytelse

| Testresultat | N |
|--|----------------|
| Toksigen C. diff POS; binært toksin NEG; 027 NEG | 272 |
| Toksigen C. diff POS; binært toksin POS; 027 NEG | 36 |
| Toksigen C. diff POS; binært toksin POS; 027 PRESUMPTIVT POS | 122 |
| Toksigen C. diff NEG; binært toksin POS; 027 NEG | 7 ^a |
| Toksigen C. diff NEG; binært toksin NEG; 027 NEG | 1856 |
| Totalt | 2293 |

^a I ytterligere testing ble det vist at 4 av 7 stammer inneholdt toksin B-genet.

18.2.4 Antibiotikabruk

Blant de 2293 tilfellene inkludert i hoveddatasettet ble det rapportert antibiotikabruk i løpet av de 2 månedene før prøvetaking for 1630, og ingen antibiotikabruk ble bekreftet for 570. For 93 tilfeller var antibiotikastatusen ukjent. Antibiotikabruk forårsaket ikke en statistisk signifikant forskjell i testens ytelse.

19 Analytisk ytelse

19.1 Analytisk spesifisitet

Femtifem (55) stammer ble innhentet, kvantifisert og testet med Xpert C. difficile BT-testen. Stammene stammet fra American Type Culture Collection (ATCC), Culture Collection University of Gothenburg (CCUG), German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Folkehelseinstituttet i Maribor i Slovenia og Smittskyddsinstituttet (SMI).

Av bakterieartene som ble testet, ble ti (10) ikke-toksogene C. difficile-stammer og elleve (11) ikke-C. difficile Clostridium-arter inkludert. De testede organismene ble identifisert som enten grampositive (37) eller gramnegative (18). Organismene ble videre klassifisert som aerobe (24), anaerobe (29) eller mikroaerobe (2).

Hver stamme ble testet i triplikate ved konsentrasjoner fra $1,1 \times 10^8$ til $2,2 \times 10^{10}$ CFU/penselprøve. Positive og negative kontroller ble inkludert i studien.

Under studiens betingelser ble alle isolatene rapportert **Toksigen C. diff NEG; binært toksin NEG; 027 NEG (Toxigenic C. diff NEG; Binary Toxin NEG; 027 NEG)** (se tabell 7). Den analytiske spesifisiteten var 100 %.

En ytterligere serie med ikke-difficile Clostridium-arter ble testet for å demonstrere spesifisiteten til den binære toksinanalysen.

Tabell 7. Resultater av spesifisitetsstudien for binært toksin-gen

| Slekt | Art | Antall testet | Toksin A/B | Binært toksin |
|--------------------|--------------------------------|---------------|------------|---------------|
| <i>Clostridium</i> | <i>aldenense</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>aminovalericum-lignende</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>bifermentans</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>bolteae</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>butyricum</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>cadaveris</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>celerecrescens</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>citroniae</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | clostridioforme | 2 | neg | neg |
| <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 |

| Slekt | Art | Antall testet | Toksin A/B | Binært toksin |
|--------------------|----------------------------|---------------|------------|---------------|
| <i>Clostridium</i> | <i>hathewayi</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>hylemonae</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>innocuum</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>lactatifermentans</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>lavalense</i> | 1 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>limosum</i> | 2 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>mangenotii</i> | 1 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>mayombei-lignende</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 type 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>arter</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-gruppe</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>xylano/aerotolerans</i> | 1 | neg | neg |
| <i>Clostridium</i> | <i>difficile</i> RT 027 | 5 | + | + |
| <i>Clostridium</i> | <i>difficile</i> RT 078 | 2 | + | + |

Alle isolatene som ikke inneholdt binært toksin, var negative med Xpert *C. difficile* BT-testen.

19.2 Analytisk sensitivitet

Det ble utført studier for å bestemme 95 % konfidensintervallene for den analytiske deteksjonsgrensen (LoD) for *C. difficile* fortynnet i en fekal matriks av human opprinnelse som kan detekteres av Xpert *C. difficile* BT-testen. Den fekale matriksen besto av flytende avføring fra mennesker (*C. difficile*-negativ med Xpert *C. difficile* BT-testen) fortynnet i PBS med 15 % glyserol. LoD er definert som det laveste antallet kolonidannende enheter (CFU) per penselprøve som reproduserbart kan skilles fra negative prøver med 95 % sikkerhet.

Replikater på 20 ble evaluert ved hver *C. difficile*-konsentrasjon som ble testet (CFU/penselprøve) for 7 ulike *C. difficile*-stammer som representerte toksinotype 0 (to stammer), III (to stammer), IV, V og VIII (én av hver stamme).

Estimatet og konfidensintervallene ble bestemt med logistisk regresjon med data (antall positive resultater per antall replikater på hvert nivå) over CFU-området som ble testet. Konfidensintervallene ble bestemt med estimater av maksimal sannsynlighet på parametrene til den logistiske modellen ved hjelp av varians-kovariansmatrisen for stort utvalg. Punkttestimatene og 95 % øvre og nedre konfidensintervall for LoD for hver toksinotype av *C. difficile* som ble testet, er oppsummert i tabellen nedenfor.

Tabell 8. 95 % konfidensintervaller for analytisk LoD – *C. difficile*

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

^a Etter PCR-ribotyping

Resultatene av denne studien indikerer at Xpert *C. difficile* BT-testen vil produsere et positivt *C. difficile*-resultat i 95 % av tilfellene for en avføringsprøve som inneholder 460 CFU/penselprøve, og et 027 presumptivt positivt resultat i 95 % av tilfellene for en penselprøve som inneholder 75 CFU.

I tillegg til bestemmelsen av LoD ble 18 *C. difficile*-stammer som representerer toksinotype 0 pluss 12 varianter av toksinotyper, inkludert fire 027 toksinotype III-isolater, testet med Xpert *C. difficile* BT-analysen. *C. difficile*-stammer ble valgt for bredt å representere majoriteten av *C. difficile*-toksinotypene som man i praksis møter. Cellekulturer ble klargjort ved å suspendere bakterieveksten fra agarplater i PBS-buffert som inneholdt 15 % glyserol. Konsentrasjonen av hver kultur ble justert til 1,4–5,9 McFarland-enheter. Alle stammene ble serielt fortynt til cirka 900 CFU/penselprøve og testet i triplikat.

Under studiens betingelser identifiserte Xpert *C. difficile* BT-analysen korrekt alle de 18 stammene som Toksigen *C. diff* POS (Toxigenic *C. diff* POS). Inkludert i panelet var det 8 toksinotyper som også var rapportert å være positive for produksjon av binært toksin (CDT). Alle var CDT-positive med Xpert *C. difficile* BT-analysen. Alle fire 027-isolater som representerte toksinotype III, ble korrekt identifisert som Toksigen *C. diff* POS; binært toksin POS; 027 PRESUMPTIVT POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS).

Sju *C. difficile*-isolater av PCR-ribotype 033 og ytterligere tre *C. difficile*-isolater av beslektet PCR-ribotype som var negative for tcdA og tcdB, men som produserte binært toksin (CDT),²² ble testet med Xpert *C. difficile* BT-analysen. Alle de 10 isolatene ga kun positive resultater for binært toksin (se tabell 9), noe som bekreftet analysens evne til å detektere isolater som er toksin A-, toksin B-, binært toksin+.

Tabell 9. Testing av organismer som kun produserer binært toksin (toksin A-, toksin B) med Xpert *C. difficile* BT-analysen

| Organisme | Stamme-ID | PCR-ribotype | Testresultat |
|---------------------|-----------|--------------|---|
| <i>C. difficile</i> | CD12-066 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | CD12-203 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | CD13-022 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | 06-08-02 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | 06-20-01 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | NT077 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | AI-0016 | 238 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | WA-0012 | 239 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | ES-0145 | 288 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |
| <i>C. difficile</i> | R-0010 | 033 | Toksigen <i>C. diff</i> NEG; binært toksin POS; 027 NEG |

19.3 Interfererende stoffer

Tjueen (21) biologiske og kjemiske stoffer som noen ganger brukes eller finnes i avføringsprøver, ble testet for interferens med Xpert *C. difficile* BT-testen. Potensielt interfererende stoffer inkluderer, men er ikke begrenset til, Vagisil-krem og sinkoksidkrem (se avsnitt 16, Begrensninger). De 19 stoffene som er oppgitt i tabellen nedenfor, viste ingen detekterbar interferens med Xpert *C. difficile* BT-testen.

Tabell 10. Stoffer som ble testet, og som ikke viste noen interferens med testen

| Stoff | Stoff |
|--|---|
| Fullblod Karolinska Universitetssjukhuset | K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC |
| Mucin (gris) Sigma | Vaseline Unilever |
| Kaopectate® Chattem | Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals |
| Immodium® McNeil-PPC | Preparation H Portable Wipes Wyeth Consumer Healthcare |
| Pepto-Bismol® Proctor & Gamble | Vaginal prevensjonsfilm (VCF) Apothecus Pharmaceutical |
| Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare | Vancomycin Fluka |
| Fleet® CB Fleet Company | Metronidazole Actavis |
| Fettsyrer i avføring Karolinska Universitetssjukhuset | Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company |
| Monistat® McNeil-PPC | E-Z HDTM bariumsulfat med høy tetthet for suspensjon E-Z EM Canada |
| Hydrokortisonkrem Longs Drugs | |

20 Reproduserbarhet

Et panel med 7 prøver med ulike konsentrasjoner av toksigen *C. difficile* og *C. difficile* ribotype 027 ble testet på 10 forskjellige dager av 2 forskjellige operatører på hvert av 3 steder (7 prøver × 2 operatører/dag × 10 dager × 3 steder). Ett parti av Xpert *C. difficile* BT-testen ble brukt på hvert av de 3 teststedene. Xpert *C. difficile* BT-tester ble utført i samsvar med prosedyren for Xpert *C. difficile* BT-testen. Resultatene er oppsummert i de to neste tabellene nedenfor.

Tabell 11. Oppsummering av reproduserbarhetsresultater (alle)

| Prøve-ID | % samsvar ^a | | | % totalt samsvar etter prøve |
|---|------------------------|---------------------|---------------------|------------------------------|
| | Sted 1 | Sted 2 | Sted 3 | |
| Negativ | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> høy negativ | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> lav positiv | 100 % (20/20) | 85 % (17/20) | 85 % (17/20) | 90 % (54/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> moderat positiv | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> ribotype 027 høy negativ | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> ribotype 027 lav positiv | 100 % (20/20) | 95 % (19/20) | 95 % (19/20) | 96,7 % (58/60) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> ribotype 027 moderat positiv | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| % totalt samsvar etter sted | 100 % (140/140) | 97,1 % (136/140) | 97,1 % (136/140) | 98,1 % (412/420) |

^a For negative og høyt negative prøver er % samsvar = (antall negative resultater / totalt antall prøver testet); for lavt og moderat positive prøver er % samsvar = (antall positive resultater / totalt antall prøver testet).

Tabell 12. Oppsummering av Ct-verdiresultater per prøvenivå og probe

| SPC | | | |
|---------------------------------|--------------|---------------|--------|
| Nivå | Gjennomsnitt | Standardavvik | CV |
| Toksigen <i>C. diff</i> høy neg | 32,17 | 0,59 | 1,83 % |
| Toksigen <i>C. diff</i> lav pos | 32,14 | 0,53 | 1,66 % |
| Toksigen <i>C. diff</i> mod pos | 31,98 | 0,47 | 1,47 % |
| 027 høy neg | 32,11 | 0,65 | 2,03 % |
| 027 lav pos | 31,93 | 0,72 | 2,26 % |
| 027 mod pos | 31,96 | 0,61 | 1,90 % |
| Neg | 32,26 | 0,72 | 2,22 % |
| <i>tcdB</i> (toksin B) | | | |
| Nivå | Gjennomsnitt | Standardavvik | CV |
| Toksigen <i>C. diff</i> høy neg | 39,59 | 0,70 | 1,77 % |
| Toksigen <i>C. diff</i> lav pos | 35,88 | 0,81 | 2,24 % |

| | | | |
|---------------------------------|-------|------|--------|
| Toksigen <i>C. diff</i> mod pos | 32,17 | 0,45 | 1,39 % |
| 027 høy neg | 39,11 | 0,98 | 2,50 % |
| 027 lav pos | 35,49 | 0,58 | 1,65 % |
| 027 mod pos | 32,10 | 0,63 | 1,97 % |

Ytterligere et panel med 6 prøver, 3 negative og 3 toksigen *C. difficile* høye negative, ble testet på 5 forskjellige dager av 2 forskjellige operatører på hvert av 3 steder (6 prøver × 2 operatører/dag × 5 dager × 3 steder). Høy negativ-prøvene ble klargjort på et konsentrasjonsnivå under LoD slik at de var forventet å gi et negativt resultat i 20 til 80 % av tilfellene. Ett parti av Xpert *C. difficile* BT-testen ble brukt på hvert av de 3 teststedene. Xpert *C. difficile* BT-tester ble utført i samsvar med prosedyren for Xpert *C. difficile* BT-testen. Resultatene er oppsummert i tabellen nedenfor.

Tabell 13. Oppsummering av ytterligere resultater for reproduserbarhet av prøver

| Prøve-ID | % samsvar ^a | | | % totalt samsvar etter prøve |
|---|------------------------|------------------|-------------------|------------------------------|
| | Sted 1 | Sted 2 | Sted 3 | |
| Negativ | 100 % (30/30) | 100 % (30/30) | 100 % (30/30) | 100 % (90/90) |
| Toksigen <i>C. difficile</i> høy negativ ^b | 60 % (18/30) | 60 % (18/30) | 53,3 % (16/30) | 57,8 % (52/90) |

a (antall negative resultater / totalt antall høye negative prøver testet)

b 20–80 % samsvar forventet for høy negativ prøve

21 Referanser

- Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063–1066.
- Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334–339
- Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61–67
- Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40:1–15.
- Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257–262.
- Braun V, Hundsberger T, Leukel P, et al. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. 1996; Gene 181:29–38.
- Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. Microb Pathog. 1995;19:203–213.
- Sambol SP, Merrigan MM, Lyerly 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, Lyerly 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 (se siste versjon).
25. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of

Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2006).

26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol* 2008;46:431–437.

22 Cepheids hovedkontorer

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 Teknisk assistanse

Før du kontakter oss

Innhent følgende informasjon før du kontakter Cepheids tekniske brukerstøtte:

- Produktnavn
- Partinummer
- Instrumentets serienummer
- Feilmeldinger (om det er noen)
- Programvareversjon og, hvis relevant, nummeret på datamaskinens serviceetikett

Teknisk brukerstøtte i USA


















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

Teknisk brukerstøtte i Frankrike

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

Kontaktinformasjon for alle Cepheids kontorer for teknisk brukerstøtte finnes på nettstedet vårt: www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Symboltabell

| Symbol | Betydning |
|---|--|
|  | Katalognummer |
|  | <i>In vitro</i> diagnostisk medisinsk utstyr |
|  | Skal ikke gjenbrukes |
|  | Partikode |
|  | Se bruksanvisningen |
|  | Forsiktig |
|  | Produsent |
|  | Produksjonsland |
|  | Inneholder nok til n tester |
|  | Kontroll |
|  | Utløpsdato |
|  | CE-merking – europeisk samsvar |
|  | Temperaturbegrensning |
|  | Biologiske farer |
|  | Advarsel |
|  | Autorisert representant i Sveits |
|  | Importør |



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 Revisjonshistorikk

Beskrivelse av endringer: 301-6190-NO, rev. D til rev. E

| Seksjon | Beskrivelse av endringer |
|------------------------|--|
| Analytisk sensitivitet | Korrigert feil i avsnittet «Analytisk sensitivitet». |
| Symboltabell | Korrigert feil i avsnittet «Symboltabell». |