

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

**REF** GXCDIFFBT-CE-10

Bruksanvisning

CE **IVD**

## **Varumärken, patent och copyright-uttalanden**

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

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THESE INSTRUCTIONS FOR USE. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

© 2016-2024 Cepheid.

See Revision History for a detailed list of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, Cepheid-logotypen, GeneXpert<sup>®</sup>, och Xpert<sup>®</sup> är varumärken som tillhör Cepheid, registrerade i USA och andra länder.  
Alla andra varumärken tillhör respektive ägare.

KÖPET AV DENNA PRODUKT ÖVERFÖR DEN ICKE-ÖVERFÖRBARA RÄTTIGHETEN TILL KÖPAREN ATT ANVÄNDA PRODUKTEN I ENLIGHET MED DENNA BRUKSANVISNING. INGA ANDRA RÄTTIGHETER ÄR UTTRYCKLIGEN ÖVERFÖRDA, UNDERFÖRSTÅDDA ELLER VIA ESTOPPEL. DESSUTOM MEDFÖLJER INGA RÄTTIGHETER FÖR ÅTERFÖRSÄLJNING VID KÖPET AV DENNA PRODUKT.

© 2016–2024 Cepheid.

Se Avsnitt 25 Revisionshistorik för en beskrivning av ändringar.

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

---

*In vitro*-diagnostisk medicinteknisk produkt

## 1 Egendomsskyddat namn

Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

## 2 Allmänt namn

Xpert C. difficile BTtest

## 3 Avsedd användning

Cepheid Xpert C. difficile BT-testet, utförd på Cepheid är ett kvalitativt *in vitro* diagnostisk test för snabb detektion av C. difficile *tcdB* (toxin B-gen), *cdt* (binär toxingen) och en radering av en nukleotid vid position 117 av *tcdC*-genen från oformade (flytande eller mjuka) avföringsprover insamlade från patienter som misstänks ha *Clostridioides difficile*-infektion (CDI). Xpert C. difficile BT-testet är avsett att hjälpa till vid diagnostisering av CDI och detektion av stammar som potentiellt förknippas med allvarligare sjukdomar. Testet använder automatiserad realtids-PCR (Polymerase Chain Reaction) för att upptäcka radering av *tcdB*, *cdt* och *tcdC* vid bas 117 förknippad med ribotyp 027 stammen. Binärt toxin produceras av ett begränsat antal C. difficile stammar, inklusive 027-stammen. Binärt toxin tillsammans med *tcdB* detektion är ofta en indikator av allvarligare sjukdom eller återkommande sjukdom. Isolater av C. difficile som är negativa för *tcdB* men innehåller enbart binära toxingener kan producera symtom liknande Toxigenic C. difficile-stammar men den kliniska signifikansen av sådana stammar är för närvarande osäker. Samtidig kultur är endast nödvändig om ytterligare typning eller återhämtning av organismer krävs.

## 4 Sammanfattning och förklaring

C. difficile är en grampositiv, sporformande, anaerob stav som först kopplades till sjukdom år 1978.<sup>1</sup>

CDI sträcker sig från mild diarré till allvarlig, livshotande pseudomembranös kolit.<sup>2</sup> Mogen kolonbakterieflora hos en vuxen är i allmänhet resistent mot C. difficile kolonisering.<sup>3</sup> Dock, om den normala kolonfloran ändras, förloras resistens mot kolonisering av andra bakteriearter, såsom C. difficile. Den vanligaste riskfaktorn för att utveckla CDI är exponering för antibiotika.<sup>4</sup> C. difficile primära virulensfaktor är cytotoxin B.<sup>5</sup> Den genetiska kodningen för toxin A (*tcdA*; enterotoxinet) och toxin B (*tcdB*) är en del av patogenicitetsloкус (PaLoc).<sup>6,7</sup> De flesta patogena stammarna är toxin A-positiva, toxin B-positiva (A+B+) stammar, även om toxin A-negativ, toxin B-positiv (A-B+) varianter av isolat har identifierats som patogena.<sup>8</sup> Vissa stammar av C. difficile

producerar också en aktin-specifik ADP-ribosyltransferas, kallad CDT eller binärt toxin. Det binära toxinloket innehåller två olika gener (*cdtA* och *cdtB*) och befinner sig utanför PaLoc.<sup>9,10,11</sup>

CDI diagnosen har traditionellt baserats antingen på upptäckt av toxin B direkt i avföringen (cellkultur cytotoxicitet neutralisationstest [CCCN]) eller på kultur från organismen följt av avgörande om toxin B produktion av isolaten (toxigenisk kultur). Både CCCN-testet och toxigenisk odling är arbetsintensiva men anses ändå vara ”guldstandarden” på grund av den förras specificitet och sensitiviteten hos den andre.<sup>12,13</sup> Flera snabba enzym immunoassayer har utvecklats för detektion av toxin A och B, dock har flera av dessa tester reducerad sensitivitet och specificitet jämfört med CCCN-testet. PCR-metoder för detektion av gener förknippade med toxin A- och/eller toxin B-produktion har utvecklats och visar hög sensitivitet och specificitet jämfört med toxigeniska odlingar.<sup>14</sup>

Utöver toxin A och B har ny forskning visat en länk mellan produktion av binärt toxin och både sjukdomens svårighetsgrad och utfall. Bauer et al.<sup>15</sup> visade närvaro av binära toxingener i toxigeniska isolater hos 23 % av CDI-fallen i Europa. Binärt toxin produceras av *cdt*-gener som ofta observeras i *C. difficile* stammar förknippade med ökad svårighet av CDI. Binärt toxin hör till ADP-ribosylerande familjen av toxiner och består av *cdtA*-gener, den enzymatiska ADP-ribosyltransferasen som modifierar aktin och *cdtB* som binder värdceller och translokerar *cdtA*-produkten till cytosolen. Flera kliniska studier påvisar en förknippning mellan närvaro av binära toxingener i *C. difficile* och ökad 30-dagars CDI-dödlighet oberoende av PCR-ribotyp. Det finns även litteratur som visar att patienter med allvarlig CDI, fulminant kolit och/eller återkommande CDI infekteras oftare med *C. difficile* ribotyper vilka bär generna för binärt toxinproduktion (*cdtA/cdtB*) än de utan dessa komplikationer.<sup>16,17</sup>

En undergrupp av binär-producerande isolat har mutationer i den negativa toxin regulatorgenen (*tdc*), dvs. en radering vid nukleotid 117 (*tdcΔ117*) som är konsekvent med ribotyp 027-stammar. Infektion som orsakats av 027/NAP1/BI-stammar kan vara förknippade med en högre grad av dödlighet och allvarliga sjukdomar, inklusive inskrivning på intensivvård (IVA) och förlängd sjukhusvistelse. Multivariatanalys visade en signifikant association mellan sjukdomsgrad och svårighet samt närvaro av ribotyper som bär på den binära toxingenen med eller utan radering vid nukleotid 117. De senaste två decennierna har det varit utbrott av CDI vilka attribueras till ett antal växande ”hypervirulenta” stammar som inkluderar fluorokinolon-resistenta stammar tillhörande PCR ribotyp 027 (även kända som pulsfältgelelektrofores (pulsed-field electrophoresis), grupp NAP1 och restriktionsendonukleas assay typ BI.)<sup>8,18</sup> Stammar av 027 kan påvisa ökad toxinproduktion, vilket attribueras till raderingar i regleringsgenen *tdc* och kan producera fler sporer, vilket leder till ökat fortbestånd i miljön.<sup>19,20</sup> Ett presumtivt positivt 027-resultat kan hjälpa med identifikation av möjliga källor till ett 027-utbrott.

Slutligen har ytterligare studier rapporterat patientfall med diarré och misstänkt *C. difficile* infektion på grund av toxintyp XI/PCR ribotyp 033 eller 033-liknande stammar positiva för binärt toxin men negativa för toxin A och B.<sup>21,22</sup> Den kliniska signifikansen av sådana binära toxin positiva, toxin B-negativa stammar är inte fullt förstådd.

## 5 Metodens princip

automatiserar och integrerar provförberedelse, nukleinsyrarening och -amplifiering, samt detektion av målsekvenser i enkla eller komplexa prover med realtids-PCR-tester. Systemen består av ett instrument, en dator och förladdad mjukvara för att köra tester på kliniska prover och granska resultaten. Systemet kräver användning av engångs disponibla GeneXpert-kassetter som innehåller reagenser för PCR och handhar processen av DNA-extraktion, -amplifikation och -amplikon-detektion. På grund av att kassetterna är fristående är korskontaminering mellan prov minimerad. För en fullständig beskrivning av systemen, se lämplig *GeneXpert Dx System Operator Manual* och/eller *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert C. difficile BT-testet inkluderar reagenser för detektion av toxinproducerande *C. difficile* och en provbehandlingskontroll (Sample Processing Control, SPC). SPC:n indikerar adekvat behandling av målbakterien och övervakar närvaron av inhibitorer i PCR-reaktionen. Probe check kontroll (PCC) verifierar rehydrering av reagenser, PCR-rörets fyllning i kassetten, probens integritet och färgens hållbarhet.

Primerna och proberna i Xpert C. difficile BT-testet detekterar sekvenser i generna för toxin B (*tcdB*), binärt toxin (*cdt*) och *tcdCA117*.

## 6 Reagenser och instrument

### 6.1 Material som tillhandahålls

Xpert C. difficile BT-kitet innehåller tillräckligt med reagenser för att bearbeta 10 prov eller kvalitetskontrollprov.

Kitet innehåller följande:

<b>Xpert C. difficile BT Kassetter med integrerade reaktionsrör</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kula 1, kula 2 och kula 3 (frystorkade)</li> <li>• Reagens 1</li> <li>• Reagens 2 (natriumhydroxid)</li> </ul>	1 av varje per kassett 3,0 ml per kassett 3,0 ml per kassett
<b>Xpert C. difficile BT-reagenspåsar</b>	<b>10</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Provreagens (Guanidinium tiocyanat)</li> </ul>	10 x 2,0 ml per påse
<b>CD</b>	<b>1 per kit</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Assay definition files (ADF)</li> <li>• Anvisningar om hur man importerar ADF in i -mjukvaran</li> <li>• Bruksanvisning (bruksanvisning)</li> </ul>	

**Anm** Säkerhetsdatabladet (SDS) finns tillgängliga på [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) eller [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) under SUPPORT-fliken.

**Anm** Proteinstabiliseraren för i kulorna inuti denna produkt producerades och tillverkades enbart från bovin plasma insamlad i USA. Inget protein från idisslare eller annat djurprotein gavs till djuren. Djuren testades och godkändes före och efter döden. Under bearbetning blandades inte materialet med andra djurmaterial.

## 6.2 Förvaring och hantering

- Förvara Xpert C. difficile BT-kitet i 2–28 °C.
- Använd inte provreagens eller kassetter som har passerat utgångsdatumet.
- Öppna inte ett kassetlock förrän du är klar att genomföra testningen.
- Använd inte provreagens som blivit grumlig eller missfärgad.
- Använd inte en kassett som har läckt.

## 6.3 Nödvändiga material som inte tillhandahålls

- eller (katalognummer varierar med konfiguration): GeneXpert-instrument, dator med proprietär GeneXpert-mjukvara version 4.3 eller högre, streckodskanner och bruksanvisning.
- Skrivare: Om en skrivare behövs kan en Cepheid försäljningsrepresentant kontaktas för att arrangera en rekommenderad skrivare.
- Vortexblandare
- Engångs, rena överföringspipetter
- Torr svabb för provöverföring, till exempel svabben som finns i Cepheid provinsamlingsprodukt (Cepheid katalognummer: 900-0370), Cepheid svabb för engångsbruk (Cepheid katalognummer SDPS-120), eller Copan dubbelsvabb och transportsystem (139C LQ STUART)

## 7 Varningar och försiktighetsåtgärder

- Behandla alla biologiska prov, inklusive använda kassetter och reagenser, som om de kan överföra smittsubstanten. På grund av att det ofta är omöjligt att veta vilket som kan vara smittsamt ska alla biologiska prov behandlas med sedvanliga försiktighetsåtgärder. Riktlinjer för provhantering finns tillgängliga hos U.S. Centers for Disease Control and Prevention och Clinical and Laboratory Standards Institute.<sup>23,24</sup>
- Följ din institutions säkerhetsprocedurer vid arbete med kemikalier och hantering av biologiska prov.
- Använd rena laboratorierockar och handskar. Byt handskar mellan varje provbearbetning.
- Ersätt inte Xpert C. difficile BT-reagenser med andra reagenser.
- Öppna inte Xpert C. difficile BT-kassetten lock förutom när prov eller reagenser tillförs eller för att ta bort provet från originalkassetten för att utföra ett nytt prov i en ny kassett.
- Använd inte en kassett som tappats efter uttagandet ur förpackningen.
- Skaka inte kassetten. Om kassetten skakas eller tappas efter öppnandet av kassetlocket kan ogiltiga resultat erhållas.
- Använd inte en kassett som har ett skadat reaktionsrör.
- Placera inte provets ID-etikett på kassetlocket eller på streckodsetiketten på kassetten.
- Varje Xpert C. difficile BT-kassett för engångsbruk används för att bearbeta ett test. Återanvänd inte en förbrukad kassett.
- Biologiska prov, överföringsanordningar och använda kassetter bör anses kunna överföra smittsubstanter som kräver sedvanliga försiktighetsåtgärder. Följ din institutions rutiner för miljöavfall för korrekt bortskaffande av använda kassetter

och oanvända reagenser. Dessa material kan uppvisa egenskaper som kemiskt farligt avfall som kräver specifika nationella eller regionala bortskaffningsförfaranden. Om nationella eller regionala föreskrifter inte ger tydliga riktlinjer för korrekt bortskaffande ska biologiska prov och använda kassetter kasseras enligt WHO:s (Världshälsoorganisationens) föreskrifter om hantering och bortskaffande av medicinskt avfall.

- I händelse av kontaminering av arbetsområdet eller utrustning med prov eller kontroller ska den kontaminerade ytan rengöras noggrant med en lösning av 1:10 utspädning av klorblekmedel för hushåll och sedan upprepa rengöringen av arbetsområdet med 70 % etanol. Torka arbetsytorna helt torra innan du fortsätter.

## 8 Kemiskt farliga ämnen<sup>25,26</sup>

- Signalord: VARNING
- **FN GHS riskuttalande:**
  - Skadligt vid förtäring.
  - Irriterar huden.
  - Orsakar allvarlig ögonirritation.
- **FN GHS skyddsangivelser:**
  - **Förebyggande**
    - Tvätta grundligt efter användning.
    - Ät inte, drick inte och rök inte när du använder produkten.
    - Undvik utsläpp till miljön.
    - Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.
  - **Svar**
    - VID HUDKONTAKT: Tvätta med mycket tvål och vatten.
    - Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen.
    - Specifik behandling, se kompletterande information om första hjälpen.
    - Vid hudirritation: Sök läkarhjälp.
    - VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja.
    - Vid bestående ögonirritation: Sök läkarhjälp.
    - VID FÖRTÄRING: Vid obehag, kontakta omedelbart GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare.
    - Skölj munnen.
- **Förvaring/kassering**
  - Avyttra innehållet och/eller behållaren i enlighet med lokala, regionala, nationella och/eller internationella förordningar.

## 9 Provinsamling, transport och förvaring

1. Insamling av flytande och mjuk avföring i en ren behållare. Följ inrättningens riktlinjer för insamling av prov för testning av *C. difficile*.
2. Märk med patient-ID och skicka till laboratoriet för testning.

3. Förvara provet i 2–8 °C. Provet är stabilt i upp till 5 dagar vid förvaring i 2–8 °C. Alternativt kan prover förvaras i rumstemperatur (20–30 °C) i upp till 24 timmar.

## 10 Metod

### 10.1 Förbereda kassetten

---

**Viktigt** Starta testet inom 30 minuter från det att provet tillsatts till kassetten.

---

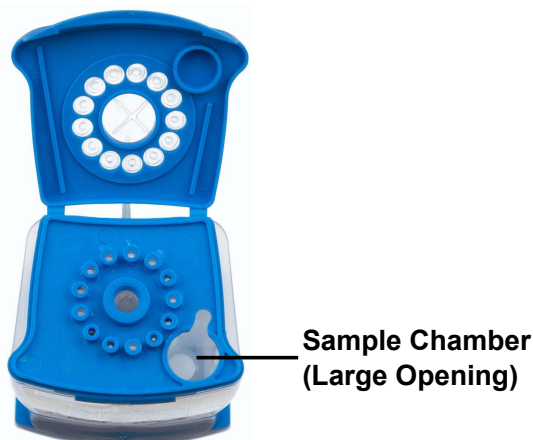
Hur man adderar prov till kassetten:

1. Ta ut kassetten och provreagensen ur förpackningen.
  2. Doppa svabben snabbt i provet med flytande och mjuk avföring. Svabben behöver inte genomdränkas helt.
  3. För in svabben i röret med provreagensen.
- 

**Anm** Använd steril gasväv för att minimera kontamineringsrisker.

---

4. Håll svabben i skaftet nära rörets kant, lyft svabben några millimeter från rörets botten och tryck skaftet mot rörets kant för att bryta av det. Säkerställ att svabben är tillräckligt kort för att medge att locket kan sättas på ordentligt.
5. Stäng locket och vortexa vid hög hastighet under 10 sekunder.
6. Öppna kassetts lock. Överför hela innehållet av provreagensen med en ren transferpipett till kassetts provkammare.
7. Stäng locket på kassetten.



Figur 1. Kasset (vy från ovan)

### 10.2 Starta testet

---

**Viktigt** Om du kör ett *GeneXpert Dx-system* ska du, innan du startar testet, säkerställa att systemet kör GeneXpert Dx programvaruversion 4.7b eller senare och att rätt analysdefinitionsfil importerats till programvaran.

---

**Viktigt** Om du kör ett *GeneXpert Infinity-system* ska du, innan du startar testet, säkerställa att systemet kör Xpertise programvaruversion 6.4b eller senare och att rätt analysdefinitionsfil importerats till programvaran.

---



Detta avsnitt anger de grundläggande stegen för att köra testet. För detaljerade anvisningar, se *GeneXpert Dx systemets användarmanual* eller *GeneXpert Infinity-systemets användarmanual*, beroende på vilken modell som används.

**Anm** De steg som du följer kan skilja sig om systemadministratören har ändrat systemets standardarbetsflöde.

1. Sätt på GeneXpert-instrumentet:
  - Om du använder *GeneXpert Dx-instrumentet*, sätt först på GeneXpert-instrumentet och sedan datorn. GeneXpert-programvaran kommer att starta automatiskt. Om den inte startar, dubbelklicka på genvägsikonen för GeneXpert Dx-programvaran på Windows® skrivbord.  
eller
  - Om du använder *GeneXpert Infinity-instrumentet*, starta instrumentet. Xpertise-programvaran kommer att starta automatiskt. Om den inte startar, dubbelklicka på genvägsikonen för Xpertise-programvaran på Windows®-skrivbord.
2. Logga in på GeneXpert-instrumentsystemets programvara med användning av ditt användarnamn och lösenord.
3. I **GeneXpert-systemets** fönster, klicka på **Skapa test (Create Test)** (GeneXpert Dx) eller **Beställningar (Orders)** och **Beställa test (Order Test)** (Infinity). Fönstret **Skapa test (Create Test)** öppnas. Dialogrutan **Skanna streckkod för patient-id (Scan Patient ID barcode)** visas.
4. Skanna eller skriv in Patient-ID (Patient ID). Om du skriver in Patient-ID (Patient ID), se till att du skriver in det rätt. Patient-ID associeras med testresultaten och visas i fönstret **Granska resultat (View Results)** och alla rapporter. Dialogrutan **Skanna streckkod för prov-ID (Scan Sample ID barcode)** visas.
5. Skanna eller skriv in Prov-ID (Sample ID). Om du skriver in Prov-ID (Sample ID), se till att du skriver in det rätt. Prov-ID associeras med testresultaten och visas i fönstret **Granska resultat (View Results)** och alla rapporter. Dialogrutan **Skanna kassetts streckkod (Scan Cartridge Barcode)** visas.
6. Skanna streckkoden på kassetten. Programvaran fyller automatiskt i rutorna i de följande fälten med hjälp av streckkodsinformation: Välj assay (Select Assay), reagenslot-ID (Reagent Lot ID), kassetts serienummer (Cartridge SN) och utgångsdatumet (Expiration Date).

**Anm** Om streckkoden på kassetten inte skannas, upprepa testet med en ny kassett. Om du har skannat kassetts streckkod i programvaran och assay definition file inte är tillgänglig visas en skärm som anger att assay definition file inte är laddad i systemet. Kontakta Cepheid teknisk support om den här skärmen visas.

7. Klicka på **Starta test (Start Test)** (GeneXpert Dx) eller **Skicka (Submit)** (Infinity). Skriv in ditt lösenord i den visade dialogrutan om så krävs.
8. För *GeneXpert Infinity-systemet* ska kassetten placeras på transportbandet. Kassetten kommer automatiskt att laddas, testet kommer att köras och den använda kassetten kommer att placeras i avfallsbehållaren.  
eller  
*För GeneXpert Dx-instrumentet:*
  - a) Öppna instrumentmodulens dörr med den blinkande gröna lampan och ladda kassetten.

- b) Stäng dörren. Testet startas och den gröna lampan slutar att blinka. När testet är klart slutar lampan att lysa.
- c) Vänta tills systemet frigör dörregeln innan du öppnar moduldörren. Ta därefter ut kassetten.
- d) Kassera använda kassetter i lämpliga avfallsbehållare för prov enligt din institutions standardpraxis.

## 11 Granska och skriva ut resultat

Detta avsnitt anger de grundläggande stegen för att granska och skriva ut resultat. För mer detaljerade anvisningar om hur man granskar och skriver ut resultat, se *GeneXpert Dx-systemets användarmanual*, eller *GeneXpert Infinity-systemets användarmanual*, beroende på vilken modell som används.

1. Klicka på ikonen **Granska resultat (View Results)** för att visa resultaten.
2. Klicka på knappen **Rapport (Report)** i fönstret **Granska resultat (View Results)** efter att testet har slutförts för att visa och/eller generera en rapportfil i PDF-format.

## 12 Kvalitetskontroll

Varje test inkluderar en sample processing control (SPC) och en probe check kontroll (PCC).

- **Provbearbetningskontroll (sample processing control, SPC):** Säkerställer att provet bearbetades korrekt. SPC innehåller sporer från *Bacillus globigii* i form av en torr kula som ingår i varje kassett för att verifiera adekvat bearbetning av provet. SPC verifierar att lysering av *C. difficile*-bakterier och en spor har inträffat om organismerna är närvarande och verifierar att probbearbetningen är tillfredsställande. Dessutom detekterar denna kontroll provassocierad inhibering av Realtids-PCR-testet, säkerställer att PCR-reaktionens förhållanden (temperatur och tid) är lämpliga för amplifieringsreaktionen och att PCR-reagenserna fungerar. SPC ska vara positivt i ett negativt prov och kan vara negativt eller positivt i ett positivt prov. SPC godkänns om det uppfyller validerade acceptanskriterier.
- **Probe check kontroll (PCC):** Före start av PCR-reaktionen, mäter GeneXpert-systemet fluorescenssignalen från proberna för att övervaka rehydreringen av kulan, fyllningen av reaktionsröret, probeintegriteten och färgstabiliteten. Probekontrollen godkänns om den uppfyller de tilldelade acceptanskriterierna.

## 13 Tolkning av resultat

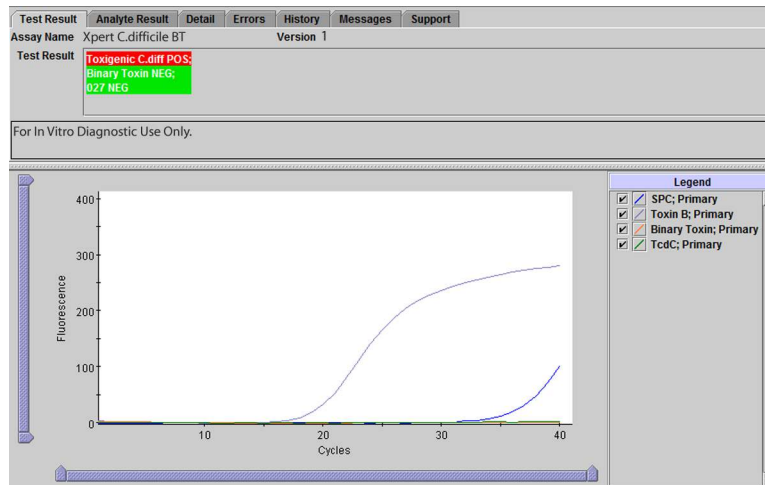
Resultaten tolkas av från uppmätta fluorescenssignaler och inneslutna beräkningsalgoritmer och kommer att visas i fönstret **Granska resultat (View Results)**. Möjliga resultat visas i tabellen nedan.

Tabell 1. Xpert *C. difficile* BT Resultat och tolkning

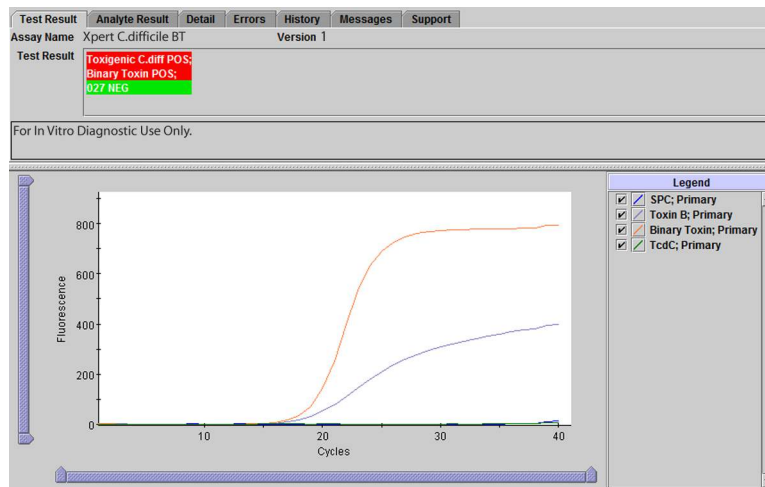
Resultat	Tolkning
<b>Toxigenic C. diff POS, Binärt toxin NEG, 027 NEG</b> Se Figur 2.	Toxinproducerande <i>C. difficile</i> mål-DNA-sekvenser detekteras. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toxinproducerande <i>C. difficile</i> — toxinproducerande <i>C. difficile</i> mål (toxin B-gen) har en Ct inom det giltiga intervallet och en slutpunkt över den minsta inställningen.</li> <li>• Binär toxigenen och raderingen av <i>tcdC</i> vid nt 117 detekteras inte.</li> <li>• SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom <i>C. difficile</i> mål-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>
<b>Toxigenic C. diff POS, Binärt toxin POS, 027 NEG</b> Se Figur 3.	Toxinproducerande <i>C. difficile</i> mål-DNA-sekvenser detekteras. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toxinproducerande <i>C. difficile</i> mål (toxin B-gen plus binär toxigenen) har Ct inom det giltiga intervallet och slutpunkter över den minsta inställningen, raderingen av <i>tcdC</i> vid nr 117 detekteras inte</li> <li>• SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom <i>C. difficile</i> mål-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll.</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>
<b>Toxigenic C. diff POS, Binärt toxin POS, 027 PRESUMTIVT POS</b> Se Figur 4.	Toxinproducerande <i>C. difficile</i> och presumtivt 027 mål-DNA-sekvenser detekteras. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Alla toxinproducerande <i>C. difficile</i>, presumtiva 027 mål (toxin B, binärt toxin och raderingen av <i>tcdC</i> vid nr 117) har Ct inom det giltiga intervallet och slutpunkt över den minsta inställningen.</li> <li>• SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom <i>C. difficile</i> mål-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll.</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>
<b>Toxigenic C.diff NEG; Binärt Toxin POS; 027 NEG</b> Se Figur 5.	<i>C. difficile</i> toxin B-gensekvenser detekteras inte, dock detekteras ett annat DNA-mål (binär toxigenen) och har en Ct inom det giltiga intervallet och en slutpunkt över den minsta inställningen. Den kliniska signifikansen av positivt binärt toxin, endast isolat, har ännu ej fastställts. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC – Inte tillämpligt (NA); SPC ignoreras eftersom <i>C. difficile</i> mål-amplifiering kan konkurrera med denna kontroll.</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>
<b>Toxigenic C.diff NEG; Binärt Toxin NEG; 027 NEG</b> Se Figur 6.	<i>C. difficile</i> mål-DNA-sekvenser (toxin B-gen, binär toxigenen) detekteras inte. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toxinproducerande <i>C. difficile</i> gensekvenser (toxin B-gen och binär toxigenen) detekteras inte, andra DNA-mål för toxigenic <i>C. difficile</i> (raderingen av <i>tcdC</i> vid nt 117) detekteras inte.</li> <li>• SPC – GODKÄND (PASS); SPC har en Ct inom giltigt intervall och slutpunkten över minimiinställningen.</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>

Resultat	Tolkning
<b>OGILTIGT (INVALID)</b> Se Figur 7.	Närvaro eller frånvaro av <i>C. difficile</i> mål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt instruktionerna i Avsnitt 15. SPC uppfyller inte acceptanskriterierna, provet bearbetades inte korrekt eller PCR är hämmad. <ul style="list-style-type: none"> <li>• OGILTIGT (INVALID) — Närvaro eller frånvaro av <i>C. difficile</i> mål-DNA kan inte fastställas.</li> <li>• SPC — EJ GODKÄND (FAIL); SPC-måleresultatet är negativt och SPC Ct ligger inte inom giltigt intervall och slutpunkten är under den minsta inställningen.</li> <li>• Probekontroll – GODKÄND (PASS), alla probekontrollresultat är godkända.</li> </ul>
<b>FEL (ERROR)</b>	Närvaro eller frånvaro av <i>C. difficile</i> mål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt instruktionerna i Avsnitt 15. Probe check kontrollen misslyckades antagligen på grund av att reaktionskammaren fylldes felaktigt, ett probeintegritetsproblem detekterades eller att maximala tryckgränserna överskreds. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toxin B — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• Binärt toxin — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• Radering av <i>tcdC</i> vid nt 117 — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• *SPC — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• Probe kontroll — EJ GODKÄND* (FAIL); ett eller flera av probe kontrollresultaten är ej godkända.</li> </ul> <p>* Om probekontrollen är godkänd orsakas felet av ett systemkomponentfel.</p>
<b>INGET RESULTAT (NO RESULT)</b>	Närvaro eller frånvaro av <i>C. difficile</i> mål-DNA kan inte fastställas. Upprepa testet enligt instruktionerna i Avsnitt 15. Otillräckligt med data har samlats in för att ge ett testresultat (till exempel kan detta ske om operatören stoppat ett pågående test). <ul style="list-style-type: none"> <li>• Toxin B (<i>tcdB</i>) — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• Binärt toxin (<i>cdt</i>) — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• <i>tcdC</i>Δ117 — INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• SPC – INGET RESULTAT (NO RESULT)</li> <li>• Probekontroll – Ej tillämpligt (NA, not applicable)</li> </ul>

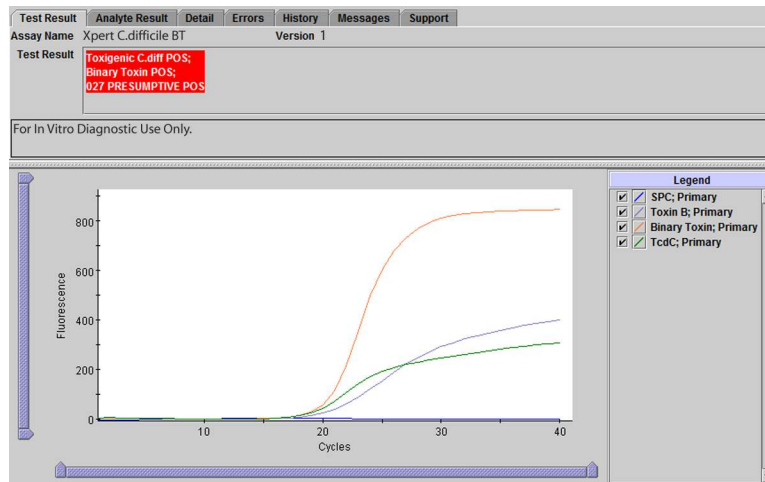
**Anm** Skärmarna som visas i detta avsnitt (Figur 2, Figur 3, Figur 4, Figur 5, Figur 6 och Figur 7) är från mjukvaran som körs .



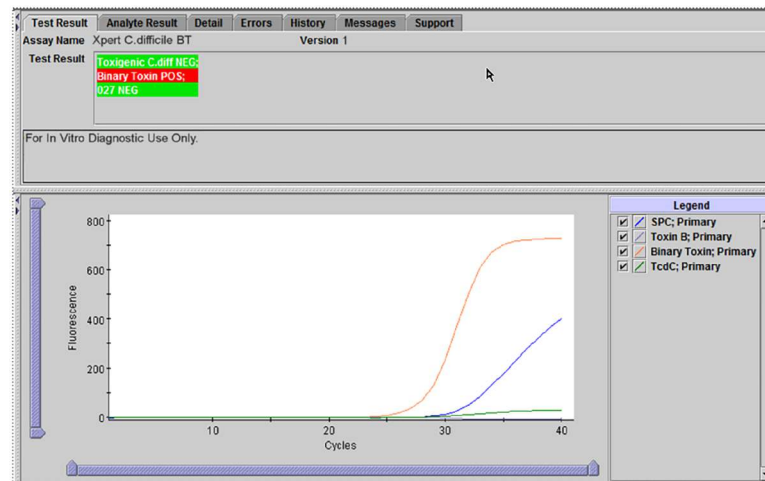
**Figur 2. Exempel på Toxigenic C. diff positiv, binärt toxin negativt och 027 negativa resultat**



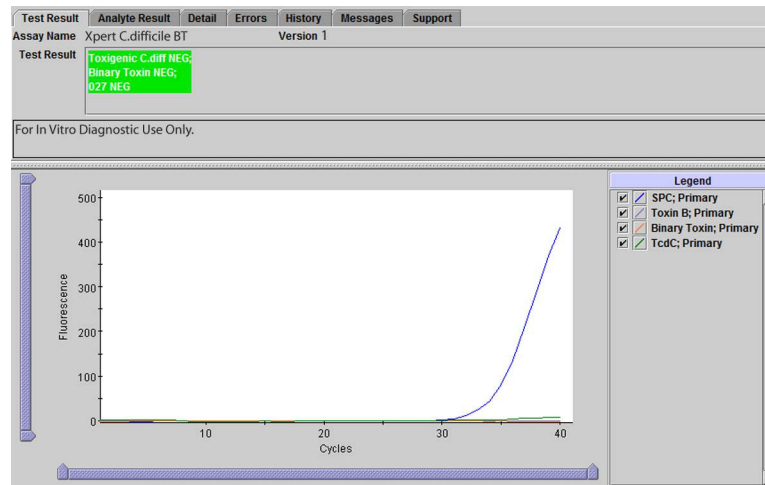
**Figur 3. Exempel på Toxigenic C. diff positiv, binärt toxin positivt och 027 negativa resultat**



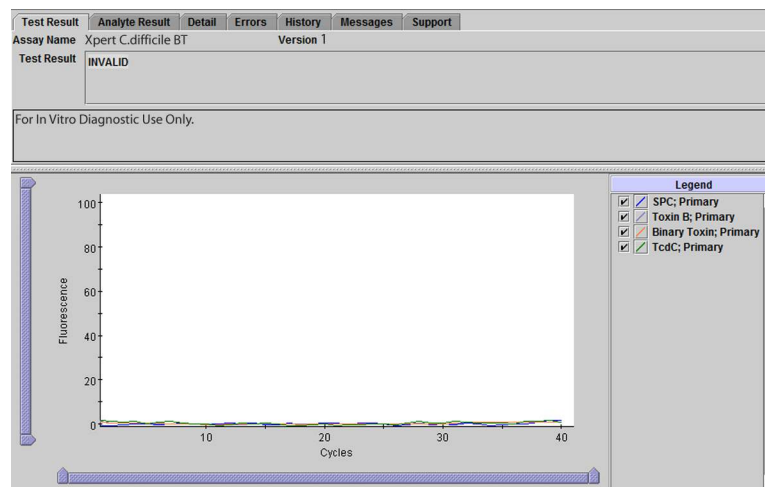
**Figur 4. Exempel på Toxigenic C. diff positiv, binärt toxin positivt och 027 presumtivist positiva resultat**



**Figur 5. Exempel på Toxigenic C. diff negativ, binärt toxin positivt och 027 negativa resultat**



Figur 6. Exempel på Toxigenic C. diff negativ, binärt toxin negativt och 027 negativa resultat



Figur 7. Exempel på ett ogiltigt resultat

## 14 Anledningar till att upprepa testet

Om något av testresultaten nämnda nedan uppstår, upprepa testet en gång enligt anvisningarna i Avsnitt 15.

- Ett **OGILTIGT (INVALID)** resultat tyder på att SPC inte godkändes. Provet bearbetades inte korrekt, eller PCR inhiberades.
- Ett **FEL (ERROR)**-resultat anger att probe check kontrollen kan ha misslyckats och testet avbröts möjligen på grund av att en reaktionskammare inte fyllts korrekt, ett integritetsproblem med reagensproben detekterades eller att maximala tryckgränserna överskreds, eller ett ventilpositioneringsfel detekterades.
- Ett **INGET RESULTAT (NO RESULT)** tyder på att otillräckligt med data insamlades. Till exempel stoppade användaren ett test som kördes.

## 15 Omtestningsmetod

För att testa om inom 3 timmar efter ett obestämt resultat, använd en ny kassett (återanvänd inte kassetten) och en ny reagens.

1. Ta ut en ny kassett från kitet.
2. Överför allt det resterande innehållet från provkammaren till en ny provreagensflaska med en transferpipett för engångsbruk.
3. Vortexa och tillsätt hela innehållet av provreagensen till provkammaren på den nya Xpert *C. difficile*-kassetten.
4. Sätt på locket och starta det nya testet.

För att testa om efter 3 timmar efter ett obestämt resultat, upprepa testet med ett nytt svabbprov från det ursprungliga patientprovet.

## 16 Begränsningar

- Icke-027 isolat som representerar toxintyp XIV kommer rapporteras som **Toxigenic *C. diff* POS; Binärt toxin POS; 027 PRESUMPTIVT POS** med Xpert *C. difficile* BT-testet.
- **Toxigenic *C. diff* NEG; Binärt toxin POS, presumtivt 027 NEG** genom Xpert *C. difficile* BT som kan ha toxin B-gen och/eller raderingen av *tcdC* under detektionsgräns (LoD) för testet.
- Ibland kommer icke-027 isolat som representerar toxintyper IV, V and X rapporteras som **Toxigenic *C. diff* POS; Binärt toxin POS; 027 PRESUMPTIVT POS** med Xpert *C. difficile* BT-testet.
- Prestandan hos Xpert *C. difficile* BT-testet validerades endast med användning av metoderna i denna bruksanvisning. Modifiering av dessa metoder kan ändra testens prestanda.
- Resultat från Xpert *C. difficile* BT-testet ska tolkas tillsammans med andra laboratorieresultat och kliniska uppgifter som är tillgängliga för klinikern.
- Felaktiga testresultat kan uppstå vid felaktig provinsamling, underlåtenhet att följa den rekommenderade provinsamlingsmetoden, hanterings- och förvaringsmetoder, tekniskt fel, sammanblandning av prov eller på grund av att antalet organismer i provet är för lågt för att detekteras av testet. Noggrann följsamhet av instruktionerna i denna bruksanvisning är nödvändig för att undvika felaktiga resultat.
- På grund av spädningsfaktorn förknippad med omtestningsmetoden är det möjligt att positiva *C. difficile*-prov, mycket nära eller vid detektionsgränsen (LoD) för Xpert *C. difficile* BT-testet, kan resultera i ett falskt negativt resultat vid omtestning.
- Inhibering av Xpert *C. difficile* BT-testet har observerats i närvaro av följande substanser: Zinkoxidpasta och Vagisil®-kräm.
- Utbrott av CDI kan orsakas av andra stammar än 027.
- Falska-negativa resultat kan förekomma när den infekterande organismen har genomiska mutationer, införingar, raderingar eller omarrangemang eller när de utförs väldigt tidigt i sjukdomsförloppet.
- Positiva resultat som erhålls vid immunosupprimerade patienter kan reflektera asymtomatisk bärare av *C. difficile*.



- Detektion av *C. difficile* nukleinsyra i avföring bekräftar närvaron av organismer i patienter med diarré men indikerar kanske inte att *C. difficile* är orsaken till diarrén.
- Prestanda och egenskaper har inte fastställts för patienter <2 års ålder.
- Mutationer eller polymorfismer i primer- eller probelbindande regioner kan påverka detektering av *C. difficile*-måltyper vilket resulterar i ett falskt negativt resultat.

## 17 Förväntade värden

I Xpert *C. difficile* BT-testets kliniska studie inkluderades totalt 2 293 flytande eller mjuka avföringsprov från 7 centers i USA och Kanada. Antalet och procentandelen toxigeniska, positiva *C. difficile*-fall genom odling, beräknade per ålder och kön visas i tabellerna nedan.

**Tabell 2. Observerad prevalens av Toxigenic *C. difficile* per åldersgrupp<sup>a</sup>**

Åldersgrupp	N	Toxigenic <i>C. difficile</i> Prevalens (inkluderar 027)	Binärt toxin prevalens	027 Prevalens
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	1 274	20,7 % (264/1 274)	9,2 % (117/1 274)	7,2 % (92/1 274)
<b>Total</b>	<b>2 293</b>	<b>18,8% (430/2 293)</b>	<b>7,2 % (165/2 293)</b>	<b>5,5% (125/2 293)</b>

<sup>a</sup> Prevalens baserad på Xpert-resultat.

**Tabell 3. Observerad prevalens av Toxigenic *C. difficile* per kön<sup>a</sup>**

Kön	N	Toxigenic <i>C. difficile</i> Prevalens (inkluderar 027)	Binärt toxin prevalens	027 Prevalens
Män	1 072	18,2 % (195/1 072)	6,3 % (68/1 072)	5,0 % (54/1 072)
Kvinnor	1 221	19,2 % (235/1 221)	7,9 % (97/1 221)	5,8 % (71/1 221)
<b>Total</b>	<b>2 293</b>	<b>18,8% (430/2 293)</b>	<b>7,2 % (165/2 293)</b>	<b>5,5% (125/2 293)</b>

<sup>a</sup> Prevalens baserad på Xpert-resultat.

## 18 Prestanda och egenskaper

### 18.1 Klinisk prestanda

Prestanda och egenskaper hos Xpert *C. difficile* BT-testet fastställdes i en prospektiv utredningsstudie på flera platser, vid sju kliniker i USA och Kanada genom att jämföra Xpert *C. difficile* BT-testet med referensodling efter en CCCN-testning av isolat och stamtypning på de toxigena stammarna genom PCR-ribotypning.

Försökspersoner inkluderade individer vars rutinvård krävde testning av *C. difficile*. En del av varje överblivet flytande eller mjukt avföringsprov erhöles för testning med Xpert *C. difficile* BT-testet. Det återstående överblivna provet skickades till ett centrallaboratorium för referensodling och testning av cytotoxin B. Varje avföringsprov inokulerades på förreducerad CCFA-D (cykloserin-cefoxitin-fruktosagar) –direkt platta och CCMB-TAL (cykloserin-cefoxitin-mannitol-buljong med taurocholate lysozym-cystein). Efter 24 timmar subodlades CCMB-TAL på en andra CCFA-E-platta (CCFA-berikad). Denna direkt berikade odlingsmetod kallas hädanefter ”referensodling”.

Om *C. difficile* isolerades från CCFA-D-plattan och isolatet var positivt med CCCN-testet, klassificerades provet som ”toxigenic *C. difficile* positiv” och CCFA-E-plattan analyserades inte vidare. Om inget *C. difficile* isolerades från CCFA-D-plattan eller om isolatet var negativt med cell CCCN-testet, analyserades CCFA-E-plattan ytterligare.

Om CCFA-E var positivt för *C. difficile* och isolatet var positivt för CCCN-testet, klassificerades provet som ”toxigenic *C. difficile* positiv”. Provet rapporterades som ”negativt” om CCFA-E var negativt för *C. difficile* eller isolatet visades vara negativt med CCCN-testet.

Efter referensodlingstestning, skickades de toxigeniska, positiva *C. difficile*-isolaten till en andra uppsättning referenslaboratorier för stamidentifiering genom PCR-ribotypning.

Xpert *C. difficile* BT-testets prestanda beräknades relativt till resultaten av direktodling med stamtypning och referensodling med stamtypning.

## 18.2 Totalresultat

Totalt 2 293 prover testades med Xpert *C. difficile* BT-test, odling och stamtypning.

### 18.2.1 Prestandaresultat kontra direkt odling

Relativt till direkt odling med PCR-ribotypning, uppvisade Xpert *C. difficile* BT-testet en sensitivitet och specificitet för toxigenic *C. difficile* på 98,78 % respektive 90,86 %. Xpert *C. difficile* BT-testet visade också en 100 % positiv överensstämmelse och 97,70 % negativ överensstämmelse för 027 (se tabellen nedan).

**Tabell 4. Xpert *C. difficile* BT Testprestanda kontra direkt odling och PCR-ribotypning**

Direkt odling och PCR-ribotypning					
		Toxin B + 027+	Toxin B + 027-	NEG	Total
Xpert <i>C. difficile</i> BT <sup>b</sup>	Toxin B + 027+	74	4	47	125
	Toxin B + 027-	0	164	140	304 <sup>a</sup>
	NEG	0	3	1 860	1 863
	Total	74	171	2 047	2 292 <sup>a</sup>
			Toxigenic <i>C. difficile</i>	Toxigenic <i>C. difficile</i> / 027	

Direkt odling och PCR-ribotypning					
		Toxin B + 027+	Toxin B + 027-	NEG	Total
		Sensitivitet: 98,78 % (242/245)		Pos överensstämmelse: 100 % (74/74)	
		Specificitet: 90,86 % (1 860/2 047)		Neg överensstämmelse: 97,70 % (2 167/2 218)	
		Noggrannhet: 91,71 % (2 102/2 292)		Noggrannhet: 97,77 % (2 241/2 292)	
		PPV <sup>c</sup> : 56,41 % (242/429)		PPV: 59,20 % (74/125)	
		NPV <sup>d</sup> : 99,84 % (1 860/1 863)		NPV: 100 % (2 218/2 218)	

- a. Ett isolat var inte typningsbart på grund av kontaminering: detta prov inkluderades inte i prestandastatistiken.
- b. Xpert-resultat som visas är för första eller andra försöket. Cirka 3,2 % av proven var obestämda vid det första försöket.
- c. Positivt prediktivt värde
- d. Negativt prediktivt värde

## 18.2.2 Prestanda kontra referensodling

Relativt till referensodling med PCR-ribotypning, uppvisade Xpert *C. difficile* BT-testet en sensitivitet och specificitet för toxigenic *C. difficile* på 93,39 % respektive 94,02 %. Xpert *C. difficile* BT-testet visade också en 98,89 % positiv överensstämmelse och 98,36 % negativ överensstämmelse för 027 (se Tabell 5).

**Tabell 5. Xpert *C. difficile* BT-testets prestanda kontra referensodling och PCR-ribotypning**

Referensodling och PCR-ribotypning					
		Toxin B + 027+	Toxin B + 027-	NEG	Total
<b>Xpert <i>C. difficile</i> BT<sup>b</sup></b>	<b>Toxin B + 027+</b>	89	5	31	125
	<b>Toxin B + 027-</b>	0	217	86	303 <sup>a</sup>
	<b>NEG</b>	1	21	1 841	1 863
	<b>Total</b>	90	243	1 958	2 291 <sup>a</sup>
		<b>Toxigenic <i>C. difficile</i></b>		<b>Toxigenic <i>C. difficile</i> / 027</b>	

	Sensitivitet: 93,39 % (311/333)	Pos överensstämmelse: 98,89 % (89/90)
	Specificitet: 94,02 % (1 841/1 958)	Neg överensstämmelse: 98,36 % (2 165/2 201)
	Noggrannhet: 93,93 % (2 152/2 291)	Noggrannhet: 98,38 % (2 254/2 291)
	PPV <sup>c</sup> : 72,66 % (311/428)	PPV: 71,20 % (89/125)
	NPV <sup>d</sup> : 98,82 % (1 841/1 863)	NPV: 99,95 % (2 165/2 166)

- a. Två isolat var inte typningsbara på grund av kontaminering: dessa prov inkluderades inte i prestandastatistiken.
- b. Xpert-resultat som visas är för första eller andra försöket. Cirka 3,2 % av proven var obestämda vid det första försöket.
- c. Positivt prediktivt värde.
- d. Negativt prediktivt värde.

### 18.2.3 Sammanfattning

Tabellen nedan listar det totala antalet prov för varje olik testresultat från de 2 293 proven som är inkluderade i den kliniska prestandadataanalysen.

**Tabell 6. Xpert C. difficile BT Test total prestanda**

Testresultat	N
Toxigenic C. diff POS; Binärt toxin NEG; 027 NEG	272
Toxigenic C. diff POS, Binärt toxin POS, 027 NEG	36
Toxigenic C. diff POS, Binärt toxin POS, 027 PRESUMTIVT POS	122
Toxigenic C. diff NEG; Binärt toxin POS; 027 NEG	7 <sup>a</sup>
Toxigenic C.diff NEG; Binärt toxin NEG; 027 NEG	1 856
<b>Total</b>	<b>2 293</b>

<sup>a</sup> Vid ytterligare testning, visades 4 av 7 stammar ha toxin B-genen.

### 18.2.4 Antibiotikaanvändning

Bland de 2 293 fallen som ingick i det primära datasetet rapporterades antibiotikaanvändning för 1 630 patienter inom 2 månader före provinsamlingen och ingen antibiotikaanvändning bekräftades för 570 patienter. I 93 fall var antibiotikastatus okänd. Antibiotikaanvändning orsakade inte en statistiskt signifikant skillnad i testprestanda.

## 19 Analytisk prestanda

### 19.1 Analytisk specificitet

Femtiofem (55) stammar samlades in, kvantifierades och testades med Xpert C. difficile BT-testet. Stammarna härrörde från American Type Culture Collection (ATCC), Culture Collection University of Göteborg (CCUG), German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Institute of Public Health, Maribor, Slovenien och Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI).

Av de bakteriearter som testades inkluderades tio (10) icke-toxigeniska C. difficile-stammar och elva (11) icke-C. difficile Clostridium-arter. De testade organismerna identifierades antingen som grampositiva (37) eller gramnegativa (18). Organismerna klassificerades vidare som aeroba (24), anaeroba (29) eller mikroaeroba (2).

Varje stam testades i triplikat vid koncentrationer varierande från  $1,1 \times 10^8$  till  $2,2 \times 10^{10}$  CFU/svabb. Positiva och negativa kontroller ingick i studien.

Under förhållandena i studien rapporterades alla isolat som **Toxigenic C. diff NEG; Binärt toxin NEG; 027 NEG** (se tabell 7). Den analytiska specificiteten var 100 %.

Ytterligare en serie icke-difficila Clostridium-arter testades för att visa specificiteten hos den binära toxinanalysen.

**Tabell 7. Studieresultat binär toxingen specificitet**

Genus	Arter	Antal testade	Toxin A/B	Binärt toxin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>aminovalericum-lik</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
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	neg	neg

Genus	Arter	Antal testade	Toxin A/B	Binärt toxin
<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 typ 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 grupp</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	+	+

Alla de icke-binära toxin som innehåller isolat var negativa med Xpert *C. difficile* BT-testet.

## 19.2 Analytisk sensitivitet

Studier utfördes för att fastställa de 95 % konfidensintervallen för den analytiska detektionsgränsen (LoD) av *C. difficile* utspädd till en fekal matris av human ursprung som kan detekteras av Xpert *C. difficile* BT-testet. Fekalmatrisen bestod av human flytande avföring (negativt *C. difficile* med Xpert *C. difficile* BT-testet) utspädd i PBS med 15 % glycerol. Detektionsgränsen (LoD) definieras som det lägsta antalet kolonibildande enheter (CFU) per svabb som reproducerbart kan särskiljas från negativa prov med 95 % konfidens.

Replikat av 20 utvärderades vid varje *C. difficile*-koncentration som testats (CFU/svabb) för 7 olika *C. difficile*-stammar som representerar toxintyper 0 (två stammar), III (två stammar), IV, V och VIII (en av varje stam).

Uppskattningen och konfidensintervallen fastställdes med användning av logistisk regression med data (antal positiva resultat per antal replikat på varje nivå) över intervallet för CFU som testades. Konfidensintervallen fastställdes med användning av maximala sannolikhetsuppskattningar av de logistiska modellparametrarna med användning av den stora provvarians-kovariansmatrisen. Detektionsgräns LoD-punktuppskattningarna och övre och nedre 95 % konfidensintervall för varje testad *C. difficile* toxintyp sammanfattas i tabellen nedan.

**Tabell 8. 95 % konfidensintervall för analytisk detektionsgräns LoD–*C. difficile***

Stam-ID	Toxintyp	LoD <sub>95%</sub> (CFU/svabb)	Nedre 95 % KI	Övre 95 % KI
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) <sup>a</sup>	III	23	19	31
LUMC-5 (027) <sup>a</sup>	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9 101	XII	41	34	49

<sup>a</sup> Med PCR-ribotypning

Resultaten i denna studie anger att Xpert *C. difficile* BT-testet kommer att ge ett positivt *C. difficile*-resultat 95 % av tiden för ett fekalt prov som innehåller 460 CFU/svabb och ett 027 presumtivt positivt resultat 95 % av tiden för en svabb som innehåller 75 CFU.

Utöver fastställande av detektionsgräns (LoD), testades 18 *C. difficile*-stammar som representerar toxintyper 0 plus 12 varianter toxintyper, inklusive fyra 027 toxintyp III isolat med Xpert *C. difficile* BT-assayen. *C. difficile*-stammar valdes ut för att brett representera majoriteten av *C. difficile* toxintyper som påträffas i praktiken. Stamodlingar bereddes genom att suspendera bakterieväxten från agarplattor i PBS-buffert innehållande 15 % glycerol. Koncentrationen i varje stam justerades till 1,4–5,9 McFarland-enheter. Alla stammar späddes ut seriellt till cirka 900 CFU/svabb och testades i triplikat.

Under förhållandena i denna studie, identifierade Xpert *C. difficile* BT-assayen korrekt alla 18 stammar som testades som Toxigenic *C. diff* POS. I panelen ingick 8 toxintyper som även rapporterades vara positiva för binär toxinproduktion (CDT). Alla var CDT-positiva med Xpert *C. difficile* BT-assayen. Alla fyra 027 isolat som representerar toxintyp III identifierades korrekt som Toxigenic *C. diff* POS; binärt toxin POS; 027 PRESUMPTIVT POS.

Sju *C. difficile*-isolat med PCR ribotyp 033 och tre ytterligare *C. difficile*-isolat av relaterad PCR ribotyp som var negativa för *tdcA* och *tdcB*, men producerade binärt toxin (CDT)<sup>22</sup> testades med Xpert *C. difficile* BT-assayen. Alla 10 isolat gav positivt resultat endast för binärt toxin (se tabell 9), vilket bekräftar assayens förmåga att detektera isolat som är toxin A-, toxin B-, binärt toxin +).

**Tabell 9. Testning av organismer som endast producerar binärt toxin (toxin A-, toxin B-) med Xpert *C. difficile* BT-testet**

Organism	Stam-ID	PCR ribotyp	Testresultat
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Toxigenic <i>C.diff</i> NEG; binärt toxin POS; 027 NEG

### 19.3 Interfererande substanser

Tjugoett (21) biologiska och kemiska substanser ibland används eller hittas i avföringsprover, testades för interferens med Xpert *C. difficile* BT-testet. Potentiellt interfererande substanser inkluderar, men begränsas inte till, Vagisil-kräm och zinkoxidpasta (se avsnitt 16, Begränsningar). De 19 substanser som listas i tabellen nedan visade ingen detekterbar interferens med Xpert *C. difficile* BT-testet.



Tabell 10. Testade substanser som inte visar någon testinterferens

Substans	Substans
Helblod Karolinska universitetssjukhuset	K-Y Jelly/Gelé® McNeil-PPC
Mucin (gris) Sigma	Vaselin Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Beredning H portabla våtservetter Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginal Contraceptive Film (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vankomycin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Fekala fetter Karolinska universitetssjukhuset	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E Z HDTM bariumsulfat med hög densitet för suspension E-Z EM Canada
Hydrokortisonkräm Longs Drugs	

## 20 Reproducerbarhet

En panel av 7 prover med varierande koncentrationer av toxigenic *C. difficile* och *C. difficile* ribotyp 027 testades på 10 olika dagar av 2 olika operatörer på vardera av de 3 platserna (7 prover x 2 operatörer/ dag x 10 dagar x 3 platser). En lot med Xpert C. *difficile* BT-test användes vid vardera av de 3 testplatserna. Xpert C. *difficile* BT-tester utfördes enligt Xpert C. *difficile* BT testmetod. Resultat sammanfattas i de två tabellerna nedan.

Tabell 11. Sammanfattning av resultat för reproducerbarhet (alla)

Prov-ID	% överensstämmelse <sup>a</sup>			% total överensstämmelse per prov
	Plats 1	Plats 2	Plats 3	
Negativ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> hög negativ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> låg positiv	100 % (20/20)	85 % (17/20)	85 % (17/20)	90 % (54/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> måttligt positiv	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> ribotyp 027 hög negativ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> ribotyp 027 låg positiv	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,7 % (58/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> ribotyp 027 måttligt positiv	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
% total överensstämmelse per plats	100 % (140/140)	97,1 % (136/140)	97,1 % (136/140)	98,1 % (412/420)

<sup>a</sup> För negativa och höga negativa prov % överensstämmelse = (antal negativa resultat/totala antalet bearbetade prov); för låga och måttligt positiva prov, % överensstämmelse = (antal positiva resultat/totala antalet bearbetade prov).

Tabell 12. Sammanfattning av Ct-värderesultat per provnivå och probe

Sample processing control (SPC)			
Nivå	Medel	Stdavv	CV
Toxigenic <i>C. diff</i> hög neg	32,17	0,59	1,83 %
Toxigenic <i>C. diff</i> låg pos	32,14	0,53	1,66 %
Toxigenic <i>C. diff</i> måttl pos	31,98	0,47	1,47 %
027 hög neg	32,11	0,65	2,03 %
027 låg pos	31,93	0,72	2,26 %
027 måttl pos	31,96	0,61	1,90 %
Neg	32,26	0,72	2,22 %
<i>tcdB</i> (Toxin B)			
Nivå	Medel	Stdavv	CV
Toxigenic <i>C. diff</i> hög neg	39,59	0,70	1,77 %
Toxigenic <i>C. diff</i> låg pos	35,88	0,81	2,24 %

Toxigenic <i>C. diff</i> måttl pos	32,17	0,45	1,39 %
027 hög neg	39,11	0,98	2,50 %
027 låg pos	35,49	0,58	1,65 %
027 måttl pos	32,10	0,63	1,97 %

En ytterligare panel med 6 prover, 3 negativa och 3 toxigenic *C. difficile* hög-negativ, testades på 5 olika dagar av 2 olika operatörer på vardera av de 3 platserna (6 prover x 2 operatörer/dag x 5 dagar x 3 platser). De höga-negativa proverna bereddes vid en koncentration under detektionsgräns (LoD) så att de förväntades ge ett negativt resultat 20 till 80 % av tiden. En lot med Xpert *C. difficile* BT-test användes vid vardera av de 3 testplatserna. Xpert *C. difficile* BT-tester utfördes enligt Xpert *C. difficile* BT testmetod. Resultat sammanfattas i tabellen nedan.

**Tabell 13. Sammanfattning av ytterligare provresultat för reproducerbarhet**

Prov-ID	% överensstämmelse <sup>a</sup>			% total överensstämmelse per prov
	Plats 1	Plats 2	Plats 3	
Negativ	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)
Toxigenic <i>C. difficile</i> hög negativ <sup>b</sup>	60 % (18/30)	60 % (18/30)	53,3 % (16/30)	57,8 % (52/90)

a (antal negativa resultat / totalt höga negativa prov)

b 20-80 % överensstämmelse förväntad för högt negativt prov

## 21 Referenser

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-ribo-transferase 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. Document M29 (se den senaste utgåvan).
25. REGULATION (EG) 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/EEG and 1999/45/EG (amending Regulation (EG) 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 Platser för Cepheid-huvudkontor

### 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 assistans

### Innan kontakt

Innan kontakt med Cepheid teknisk support, samla in följande information:

- Produktnamn
- Lotnummer
- Instrumentets serienummer
- Felmeddelanden (om några)
- Mjukvaruversion och, om tillämpligt, datorns service tag-nummer

### Teknisk support i USA

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

### Teknisk support i Frankrike

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

Kontaktinformation till alla Cepheid-kontor med teknisk support finns tillgänglig på vår hemsida: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 24 Tabell med symboler

Symbol	Betydelse
	Katalognummer
	<i>In vitro</i> -diagnostisk medicinteknisk enhet
	Får ej återanvändas
	Satskod
	Se bruksanvisningen
	Försiktighet
	Tillverkare
	Tillverkningsland
	Innehåller tillräckligt för $n$ test
	Kontroll
	Utgångsdatum
	CE-märkning – Europeisk överensstämmelse
	Temperaturbegränsning
	Biologiska risker
	Varning
	Auktoriserad representant i Schweiz
	Importör



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 Revisionshistorik

: 301-6190-SV, Rev. D till Rev. E

Avsnitt	Beskrivning av ändringen
Analytisk sensitivitet	Korrigerade fel i avsnittet "Analytisk sensitivitet".
Tabell med symboler	Korrigerade fel i avsnittet "Tabell med symboler".