

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Brugsanvisning

CE **IVD**

Varemærke, patenter og erklæringer om ophavsret

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-logoet, GeneXpert[®] og Xpert[®] er varemærker tilhørende Cepheid registreret i USA og andre lande.

Alle andre varemærker tilhører deres respektive ejere.

KØBET AF DETTE PRODUKT GIVER KØBEREN DEN IKKE-OVERDRAGELIGE RET TIL AT BRUGE DET I OVERENSSTEMMELSE MED DENNE BRUGSANVISNING. INGEN ANDRE RETTIGHEDER FORMIDLES UDTRYKKELIGT, VED IMPLIKATIONER ELLER VED AFSKÆRELSE (ESTOPPEL). DESUDEN ER DER INGEN RETTIGHEDER TIL VIDERESALG VED KØB AF DETTE PRODUKT.

© 2016–2024 Cepheid.

En beskrivelse af ændringer kan findes i #unique_2, Revisionshistorik.

Xpert[®] C. difficile BT

Medicinsk udstyr til *in vitro*-diagnostik

1 Handelsnavn

Xpert[®] C. difficile BT

2 Trivialnavn eller alment navn

Xpert C. difficile BT-test

3 Tilsigtet brug

Cepheid Xpert C. difficile BT-testen udført på Cepheid, er en kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test til hurtig påvisning af *C. difficile tcdB* (genet for toksin B), *cdt* (genet for binært toksin) og en deletion af et nukleotid i position 117 af *tcdC*-genet i præparater af uformet (flydende eller blød) afføring indsamlet fra patienter, der mistænkes for at have *Clostridium difficile*-infektion (CDI). Xpert C. difficile BT-testen er beregnet som et hjælpemiddel til diagnosticering af CDI og påvisning af stammer, der potentielt er forbundet med mere alvorlig sygdom. Testen benytter automatiseret polymerase-kædereaktion (PCR) i realtid til at påvise *tcdB*, *cdt* og *tcdC*-deletionen ved base 117, der er forbundet med ribotype 027-stammen. Binært toksin produceres af et begrænset antal *C. difficile*-stammer, herunder 027-stammen. Påvisning af binært toksin sammen med *tcdB* er ofte en indikator på mere alvorlig sygdom eller tilbagevendende sygdom. Isolater af *C. difficile*, der er negative for *tcdB*, men indeholder gener for binært toksin kan i sig selv give symptomer, som ligner toksigene *C. difficile*-stammer, men den kliniske signifikans af sådanne stammer er på nuværende tidspunkt usikker. Samtidig celledyrkning er kun nødvendig, hvis yderligere typebestemmelse eller genvinding af organismen er påkrævet.

4 Resumé og forklaring

C. difficile er en grampositiv, sporedannende anaerobisk stavbakterie, der først blev forbundet med sygdom i 1978.¹

CDI spænder fra mild diarré til alvorlig livstruende pseudomembranøs colitis.² Moden bakterieflora i tyktarmen hos en rask voksen er generelt modstandsdygtig over for kolonisering af *C. difficile*.³ Men hvis den normale tyktarmsflora ændres, går modstandsdygtigheden over for kolonisering af andre bakteriearter, som f.eks. *C. difficile*, tabt. Eksponering for antibiotika er den mest almindelige risikofaktor for udvikling af CDI.⁴ Cytotoksin B er *C. difficile*'s primære virulensfaktor.⁵ Generne, der koder for toksin A (*tcdA*; enterotoksinet) og toksin B (*tcdB*), er del af patogenitetslocusset (PaLoc).^{6,7} De fleste patogene stammer er toksin A-positive, toksin B-positive (A+B

+) stammer, selvom isolater af toksin A-negative, toksin B-positive (A-B+) varianter er blevet konstateret patogene.⁸ Nogle stammer af *C. difficile* producerer også en aktin-specifik ADP-ribosyltransferase, der hedder CDT eller binært toksin. Locusset for binært toksin indeholder to separate gener (*cdtA* og *cdtB*) og er placeret uden for PaLoc.^{9,10,11}

CDI-diagnosen har traditionelt enten været baseret på påvisning af toksin B direkte i afføringen (testen af cellekulturs neutralisering af cytotoxicitet [CCCN]) eller på kultur af organismen efterfulgt af bestemmelse af isolatets (den toksigene kultur) toksin B-produktion. Både CCCN-testen og den toksigene kultur er arbejdskrævende, men på grund af den førstes specificitet og den sidstes sensitivitet, betragtes de som "guldstandarder".^{12,13} Der er udviklet flere hurtige enzym-immunanalyser til påvisning af toksin A og B; disse tests har dog nedsat sensitivitet og specificitet i forhold til CCCN-testen. Der er udviklet PCR-metoder til påvisning af gener, der er forbundet med produktion af toksin A og/eller toksin B, som viser høj sensitivitet og specificitet i forhold til toksigen dyrkning.¹⁴

Ud over toksin A og B, tyder nyere litteratur på en sammenhæng mellem produktionen af binært toksin og både sygdommens sværhedsgrad og udfald. Bauer et al.¹⁵ viste tilstedeværelsen af gener for binært toksin i toksigene isolater i 23 % af CDI-tilfældene i Europa. Binært toksin produceret af *cdt*-gener observeres ofte i *C. difficile*-stammer, der er forbundet med øget sværhedsgrad af CDI. Binært toksin tilhører familien af ADP-ribosylerende toksiner og består af *cdtA*-gener, den enzymatiske ADP-ribosyltransferase, som modificerer aktin, og *cdtB*, der binder til værtsceller og translokerer produktet af *cdtA* ind i cytosolen. Adskillige kliniske undersøgelser tyder på en sammenhæng mellem tilstedeværelsen af gener for binært toksin i *C. difficile* og øget 30-dages mortalitet uafhængigt af PCR-ribotype. Der er også litteratur, der viser at forsøgspersoner med alvorlig CDI, fulminant colitis og/eller tilbagevendende CDI oftere er inficeret med *C. difficile*-ribotyper, som bærer generne for produktion af binært toksin (*cdtA/cdtB*) end dem uden disse komplikationer.^{16,17}

Et undersøgt af binært-producerende isolater har mutationer i toksinets negative regulatorgen (*tcdC*), dvs. en deletion ved nukleotid 117 (*tcdC*Δ117) i overensstemmelse med ribotype 027-stammer. Infektion forårsaget af 027/NAP1/BI-stammer kan være forbundet med en højere grad af mortalitet og morbiditet, herunder indlæggelse på intensivafdeling (ICU) og længere ophold. Multivariat analyse viste en signifikant sammenhæng mellem sygdommens sværhedsgrad og forekomsten af ribotyper, som bærer genet for binært toksin med eller uden deletion ved nukleotid 117. I de to årtier har der været udbrud af CDI, der tilskrives en række nye "hypervirulente" stammer, som omfatter fluoroquinolin-resistente stammer, der tilhører PCR-ribotype 027, (der også er kendt som pulserende felt-gelelektroforese gruppe NAP1 og restriktionsendonukleaseanalyse type BI).^{8,18} Stammer af 027 kan have øget toksinproduktion, hvilket tilskrives deletioner i det regulatoriske gen *tcdC* og kan producere flere sporer, hvilket fører til øget persistens i miljøet.^{19,20} Et formodet positivt 027-resultat kan hjælpe med at identificere mulige kilder til et udbrud af 027.

Endelig, har yderligere undersøgelser rapporteret tilfælde af patienter med diarré og mistænkt *C. difficile*-infektion på grund af toksinotype XI/PCR-ribotype 033 eller 033-lignende stammer, der er positive for binært toksin, men negative for toksin A og B.^{21,22} Den kliniske betydning af sådanne binært toksin-positive, toksin B-negative stammer er ikke helt forstået.

5 Procedurens princip

automatiserer og integrerer prøveklargøring, nukleinsyreoprensning og amplifikation, og påvisning af målsekvenserne i enkle eller komplekse prøver ved hjælp af PCR-tests i realtid. Systemerne består af et instrument, en PC og forudinstalleret software til at køre testene på kliniske præparater og vise resultaterne. Systemerne kræver, at der bruges GeneXpert-kassetter til engangsbrug, som indeholder reagenserne til PCR og udfører processerne til DNA-ekstraktion, amplifikation og amplikon-påvisning. Fordi kassetterne er selvstændige, minimeres krydskontaminering mellem prøverne. For en komplet beskrivelse af systemet henvises til den relevante og/eller .

Xpert C. difficile BT-testen inkluderer reagenser til påvisning af toksinproducerende C. difficile og en prøvebehandlingskontrol (SPC). SPC angiver passende behandling af målbakterierne og monitorerer tilstedeværelsen af inhibitorer i PCR-reaktionen. Probekontrol (PCC) verificerer reagensrehydrering, fyldning af PCR-rør i kassetten, probeintegritet og farvestofstabilitet.

Primerne og proberne i Xpert C. difficile BT-testen påviser sekvenser i generne for toksin B (*tcdB*), binært toksin (*cdt*) og *tcdCΔ117*.

6 Reagenser og instrumenter

6.1 Medfølgende materialer

Xpert C. difficile BT-kittet indeholder tilstrækkeligt med reagenser til at behandle 10 præparater eller kvalitetskontrolprøver.

Kittet indeholder følgende:

Xpert C. difficile BT Kassetter med integrerede reaktionsrør	10
<ul style="list-style-type: none"> ● Perle 1, perle 2 og perle 3 (frysetørrede) ● Reagens 1 ● Reagens 2 (natriumhydroxid) 	1 af hver pr. kassette 3,0 ml pr. kassette 3,0 ml pr. kassette
Xpert C. difficile BT-reagensposer	10
<ul style="list-style-type: none"> ● Prøvereagens (guanidiniumthiocyanat) 	10 x 2,0 ml pr. pose
CD	1 pr. kit
<ul style="list-style-type: none"> ● Analysedefinitionsfiler (ADF) ● Anvisninger til import af ADF til software ● Brugsanvisning (indlægsseddel) 	

Bemærk Sikkerhedsdatablade (SDS) er tilgængelige på www.cepheid.com eller www.cepheidinternational.com **under fanen** ASSISTANCE (SUPPORT).

Bemærk Proteinstabilisatoren af bovint serumalbumin (BSA) i perlerne i dette produkt blev produceret og fremstillet udelukkende af bovint plasma fra USA. Intet drøvtyggerprotein eller andet animalsk protein blev fodret til dyrene. Dyrene bestod test før og efter slagtning. Under behandlingen var der ingen blanding af materialet med andre animalske materialer.

6.2 Opbevaring og håndtering

- Opbevar Xpert *C. difficile* BT-kittet ved 2–28 °C.
- Brug ikke prøvereagens eller -kassetter, der har overskredet udløbsdatoen.
- Åbn ikke låget på kassetten, før du er klar til udføre testen.
- Brug ikke prøvereagens, der er blevet uklart eller misfarvet.
- Brug ikke en kassette, der er lækket.

6.3 Materialer, der kræves, men ikke medfølger

- eller (katalognummer varierer efter konfiguration): GeneXpert instrument, computer med ophavsretligt beskyttet GeneXpert software version 4.3 eller nyere, strekkodescanner og betjeningsvejledning.
- Printer: Hvis der er behov for en printer, skal du kontakte en salgsrepræsentant fra Cepheid for at arrangere køb af en anbefalet printer.
- Vortexmixer
- Rene overførselspipetter til engangsbrug
- Tør podepind til overførsel af præparatet, såsom podepinden, der findes i Cepheids prøvetagningsudstyr (Cepheid katalognr. 900-0370), Cepheids podepind til engangsbrug (Cepheid katalognr. SDPS-120), eller Copan dobbelt podepind eller transportsystemer (139C LQ STUART)

7 Advarsler og forholdsregler

- Alle biologiske præparater, herunder brugte kassetter og reagenser, skal behandles som værende i stand til at overføre smitsomme stoffer. Da det ofte er umuligt at vide, hvilke der kan være smitsomme, bør alle biologiske præparater behandles med standardforholdsregler. Retningslinjer for håndtering af præparater er tilgængelige fra de amerikanske centre for sygdomsbekæmpelse og forebyggelse og Clinical and Laboratory Standards Institute.^{23,24}
- Følg din institutions sikkerhedsprocedurer for arbejde med kemikalier og håndtering af biologiske prøver.
- Brug rene laboratoriekittler og handsker. Skift handsker mellem behandling af hver prøve.
- Erstat ikke Xpert *C. difficile* BT-reagenser med andre reagenser.
- Låget på Xpert *C. difficile* BT-kassetten må ikke åbnes, undtagen ved tilsætning af prøve og reagenser eller for at fjerne prøve fra den oprindelige kassette for at udføre en gentest i en ny kassette.
- Brug ikke en kassette, der har været tabt, efter den er taget ud af emballagen.
- Ryst ikke kassetten. Hvis kassetten rystes eller tabes efter åbning af låget, kan det give ugyldige resultater.
- Brug ikke en kassette med et beskadiget reaktionsrør.
- Anbring ikke etiketten med prøve-id på kassettelåget eller på strekkodeetiketten.
- Hver Xpert *C. difficile* BT-kassette til engangsbrug anvendes til at behandle én test. Brug ikke en brugt kassette igen.
- Biologiske præparater, overførselsudstyr og brugte kassetter skal behandles som værende i stand til at overføre smitsomme stoffer, der kræver brug af standardforholdsregler. Overhold institutionens procedurer for miljøaffald vedrørende korrekt bortskaffelse af brugte beholdere og ubrugte reagenser. Dette materiale kan

udvise egenskaber svarende til kemisk farligt affald, der skal bortskaffes ifølge specifikke nationale eller regionale procedurer. Hvis nationale eller regionale forordninger ikke indeholder klare retningslinjer for korrekt bortskaffelse, skal biologiske præparater og brugte kassetter bortskaffes ifølge retningslinjer fra WHO [Verdenssundhedsorganisationen] vedrørende håndtering og bortskaffelse af medicinsk affald.

- I tilfælde af arbejdsområdet eller udstyret kontamineres med prøve eller kontroller, skal det kontaminede område rengøres grundigt med en opløsning af husholdningsklorblegemiddel fortyndet 1:10. Gentag derefter rengøringen med 70 % ethanol. Tør arbejdsfladerne helt tørre, inden der fortsættes.

8 Kemiske farer^{25,26}

- Signalord: ADVARSEL
- **FN GHS faresætninger:**
 - Farlig ved indtagelse.
 - Forårsager hudirritation.
 - Forårsager alvorlig øjenirritation.
- **FN GHS P-sætninger:**
 - **Forebyggelse**
 - Vask grundigt efter brug.
 - Der må ikke spises, drikkes eller ryges under brugen af dette produkt.
 - Undgå udledning til miljøet.
 - Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.
 - **Handling**
 - VED KONTAKT MED HUDEN: Vask med rigeligt sæbe og vand.
 - Forurenede tøj tages af og vaskes, før det bruges igen.
 - Særlig behandling, se supplerende oplysninger om førstehjælp.
 - Ved hudirritation: Søg lægehjælp.
 - VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning.
 - Ved vedvarende øjenirritation: Søg lægehjælp.
 - I TILFÆLDE AF INDTAGELSE: I tilfælde af ubehag ring til en GIFTINFORMATION eller en læge.
 - Skyl munden.
- **Opbevaring/bortskaffelse**
 - Bortskaffelse af indholdet af og/eller beholder skal ske i overensstemmelse med alle lokale, regionale, nationale og/eller internationale krav.

9 Præparattagning og -transport

1. Indsaml den uformede afføring i en ren beholder. Følg din institutions retningslinjer for indsamling af prøver til test for *C. difficile*.
2. Mærk med patient-id og send til laboratoriet til test.

3. Opbevar præparatet ved 2–8 °C. Prøven er stabil i op til 5 dage når den opbevares ved 2–8 °C. Alternativt kan præparaterne opbevares ved stuetemperatur (20–30 °C) i op til 24 timer.

10 Procedure

10.1 Klargøring af kassetten

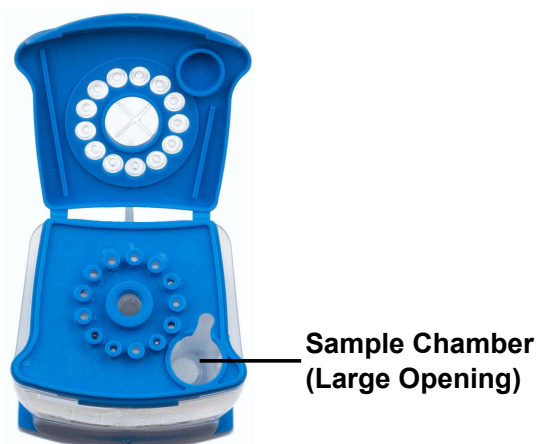
Vigtigt Start testen inden for 30 minutter efter tilsætning af prøven til kassetten.

Tilsætning af prøven til kassetten:

1. Tag kassetten og prøvereagenset ud af pakken.
2. Dyp kortvarigt podepinden i prøven med uformet afføring. Det er ikke nødvendigt, at podepinden er helt gennemvædet.
3. Indsæt podepinden i røret, der indeholder prøvereagens.

Bemærk Brug steril gaze for at minimere risikoen for kontaminering.

4. Hold podepinden ved stilken nær kanten af røret. Løft podepinden et par millimeter fra bunden af røret og skub stilken mod kanten af røret for at knække den. Sørg for, at podepinden er kort nok til, at hættten kan lukkes tæt.
5. Luk låget og vortex ved høj hastighed i 10 sekunder.
6. Åbn kassetelåget. Brug en ren overførselspipette til at overføre alt indholdet af prøvereagenset til prøvekommeret på kassetten.
7. Luk kassetelåget.



Figur 1. Kasette (ovenfra)

10.2 Start af testen

Vigtigt Hvis du kører et *GeneXpert Dx-system*, skal du, før du starter testen, sikre dig, at systemet kører *GeneXpert Dx-software* version 4.7b eller nyere, og at den korrekte analysedefinitionsfil er importeret til softwaren.

Vigtigt Hvis du kører et *GeneXpert Infinity-system*, skal du, før du starter testen, sikre dig, at systemet kører Xpertise-software version 6.4b eller nyere, og at den korrekte analysedefinitionsfil er importeret til softwaren.

Dette afsnit indeholder de basale trin til at køre testen. Du kan finde detaljerede anvisninger i *betjeningsvejledningen til GeneXpert Dx-systemet* eller i *betjeningsvejledningen til GeneXpert Infinity-systemet*, afhængigt af den model, der bruges.

Bemærk De trin, du skal følge kan være nogle andre, hvis systemadministratoren har ændret systemets standardarbejdsgang.

1. Tænd for GeneXpert-instrumentet:
 - Hvis du bruger *GeneXpert Dx-instrumentet*, skal du først tænde GeneXpert Dx-instrumentet og dernæst tænde computeren. GeneXpert-softwaren starter automatisk. Hvis den ikke gør, skal du dobbeltklikke på genvejsikonet for GeneXpert Dx-softwaren på Windows®-skrivebordet.
eller
 - Hvis du bruger *GeneXpert Infinity-instrumentet*, skal du tænde instrumentet. Xpertise-softwaren starter automatisk. Hvis den ikke starter, skal du dobbeltklikke på genvejsikonet for Xpertise-softwaren på Windows®-skrivebordet.
2. Log på GeneXpert instrumentsystem-softwaren ved hjælp af dit brugernavn og din adgangskode.
3. I **GeneXpert systemets** vindue skal du klikke på **Opret test (Create Test)** (GeneXpert Dx) eller **Bestillinger (Orders)** og **Bestil test (Order test)** (Infinity). Vinduet **Opret test (Create Test)** åbner. Dialogboksen **Scan patient-ID-stregkode (Scan Patient ID barcode)** vises.
4. Scan eller skriv patient-id'et (Patient ID). Hvis du indtaster patient-id'et (Patient ID), skal du sørge for, at patient-id'et (Patient ID) er indtastet korrekt. Patient-id'et (Patient ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter. Dialogboksen **Scan prøve-id-stregkode (Scan Sample ID barcode)** vises.
5. Scan eller skriv prøve-id'et (Sample ID). Hvis du indtaster prøve-id'et (Sample ID), skal du sørge for, at prøve-id'et (Sample ID) er indtastet korrekt. Prøve-id'et (Sample ID) er knyttet til testresultaterne og vises i vinduet **Vis resultater (View Results)** og i alle rapporter. Dialogboksen **Scan kassettestregkode (Scan Cartridge Barcode)** vises.
6. Scan stregkoden på kassetten. Ved hjælp af stregkodeoplysningerne udfylder softwaren automatisk kasserne for de følgende felter: Vælg analyse (Select Assay), Reagenslot-ID (Reagent Lot ID), Kasette-SN (Cartridge SN) og Udløbsdato (Expiration Date).

Bemærk Hvis stregkoden på kassetten ikke kan scannes, skal du gentage testen med en ny kassette. Hvis du har scannet kassettestregkoden i softwaren, og analysedefinitionsfilen ikke er tilgængelig, vises et skærmbillede, der angiver, at analysedefinitionsfilen ikke er indlæst i systemet. Hvis denne skærm vises, skal du kontakte Cepheid teknisk support.

7. Klik på **Start test (Start Test)** (GeneXpert Dx) eller **Send (Submit)** (Infinity). I den viste dialogboks indtaster du din adgangskode, hvis påkrævet.

8. På *GeneXpert Infinity-systemet*, skal du anbringe kassetten på transportbåndet. Kassetten bliver ført ind automatisk, testen kører og den brugte kassette bliver anbragt i affaldsbeholderen.

eller

På *GeneXpert Dx-instrumentet*:

- a) Åbn instrumentmodullågen med det blinkende grønne lys og indsæt kassetten.
- b) Luk lågen. Testen starter, og det grønne lys holder op med at blinke. Når testen er slut, slukker lyset.
- c) Vent med at åbne modullågen indtil systemet frigiver lågelåsen. Fjern derpå kassetten.
- d) Bortskaf brugte kassetter i de relevante præparataffaldsbeholdere i henhold til din institutions standardpraksis.

11 Visning og udskrivning af testresultater

I dette afsnit vises de grundlæggende trin til visning og udskrivning af resultater. Du kan finde mere detaljerede anvisninger om, hvordan du får vist og udskriver resultaterne i *betjeningsvejledningen til GeneXpert Dx-systemet* eller i *betjeningsvejledningen til GeneXpert Infinity-systemet*, afhængigt af det instrument, der bruges.

1. Klik på ikonet **Vis resultater (View Results)** for at vise resultaterne.
2. Når testen er fuldført, skal du klikke på knappen **Rapport (Report)** i vinduet **Vis resultater (View Results)** for at få vist og/eller generere en rapport i PDF-format.

12 Kvalitetskontrol

Hver test indeholder en prøvebehandlingskontrol (SPC) og en probekontrol (PCC).

- **Prøvebehandlingskontrol (SPC):** Kontrollerer, at prøven blev behandlet korrekt. SPC'en indeholder sporer af *Bacillus globigii* i form af en tør perle, der er inkluderet i hver kassette for at bekræfte tilstrækkelig behandling af prøven. Hvis organismene er til stede, bekræfter SPC'en, at der er sket lysering af *C. difficile*-bakterier og en spore og bekræfter, at præparatet er behandlet tilstrækkeligt. Derudover registrerer denne kontrol prøverelateret hæmning af PCR-analysen i realtid, sikrer, at PCR-reaktionsbetingelserne (temperatur og tid) er passende for amplifikationsreaktionen, og at PCR-reagenserne er funktionelle. SPC skal være positiv i en negativ prøve, og kan være negativ eller positiv i en positiv prøve. SPC består, hvis den opfylder de validerede acceptkriterier.
- **Probekontrol (PCC):** Inden PCR-reaktionen startes måler GeneXpert-systemet fluorescenssignalet fra proberne for at overvåge perlerehydrering, fyldning af reaktionsrør, probeintegritet og farvestofstabilitet. Probekontrol består, hvis den opfylder de foreskrevne acceptkriterier.

13 Fortolkning af resultater

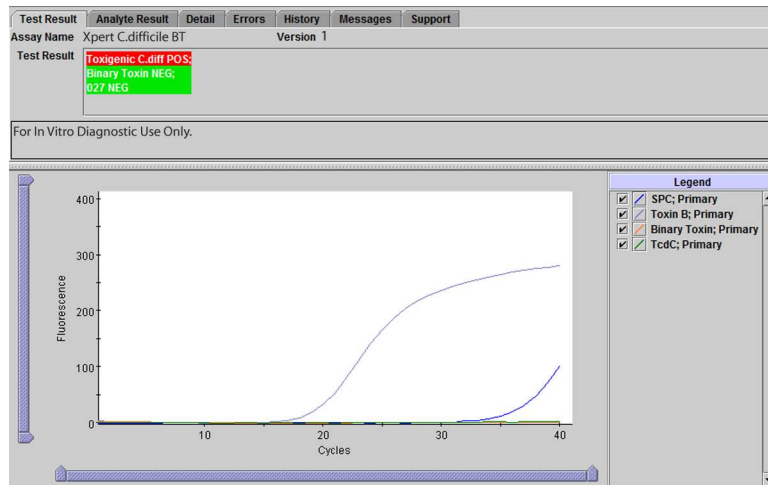
Resultaterne fortolkes automatisk af ud fra målte fluorescenssignaler og indlejrede beregningsalgoritmer og vises tydeligt i vinduet **Vis resultater (View Results)**. De mulige resultater vises i tabellen nedenfor.

Tabel 1. Resultater og fortolkning for Xpert *C. difficile* BT

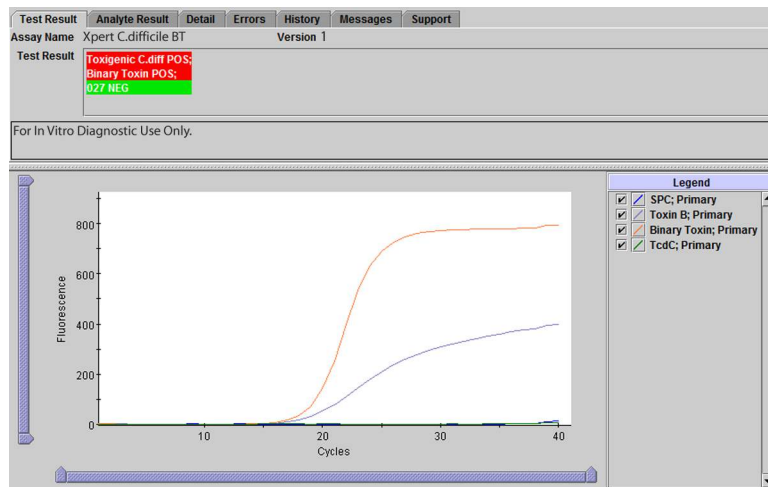
Resultat	Fortolkning
<p>Toksigen <i>C. diff</i>-POS, binært toksin-NEG, 027-NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 2.</p>	<p>Mål-DNA-sekvenser for toksinproducerende <i>C. difficile</i> er påvist.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksinproducerende <i>C. difficile</i> — det toksinproducerende <i>C. difficile</i>-mål (toksin B-genet) har en Ct inden for det gyldige område og et slutpunkt over minimumsindstillingen. • Genet for binært toksin og <i>tcdC</i>-deletionen ved nt 117 er ikke påvist. • SPC — Ikke relevant (NA); SPC er ignoreret, da <i>C. difficile</i>-målampifikation kan konkurrere med denne kontrol • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.
<p>Toksigen <i>C. diff</i>-POS, binært toksin-POS, 027-NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 3.</p>	<p>Mål-DNA-sekvenser for toksinproducerende <i>C. difficile</i> er påvist.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksinproducerende <i>C. difficile</i> (toksin B-genet samt binært toksin-genet) har Ct'er inden for det gyldige område og slutpunkter over minimumsindstillingen; <i>tcdC</i>-deletionen ved nt 117 er ikke påvist • SPC — Ikke relevant (NA); SPC er ignoreret, da <i>C. difficile</i>-målampifikation kan konkurrere med denne kontrol. • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.
<p>Toksigen <i>C. diff</i>-POS, binært toksin-POS, FORMODET 027-POS (Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS)</p> <p>Se Figur 4.</p>	<p>Toksinproducerende <i>C. difficile</i> og formodede 027-mål-DNA-sekvenser er påvist.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alle toksinproducerende <i>C. difficile</i>, formodede 027-mål (toksin B, binært toksin og <i>tcdC</i>-deletion ved nt 117) har Ct'er inden for det gyldige område og slutpunkt over minimumsindstillingen. • SPC — Ikke relevant (NA); SPC er ignoreret, da <i>C. difficile</i>-målampifikation kan konkurrere med denne kontrol. • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.
<p>Toksigen <i>C. diff</i>-NEG, binært toksin-POS, 027-NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 5.</p>	<p><i>C. difficile</i> toksin B-gensekvenser er ikke påvist; men et andet DNA-mål (binært toksin-genet) er påvist og har en Ct inden for det gyldige område og et slutpunkt over minimumsindstillingen. Den kliniske betydning af isolater, der kun er positive for binært toksin er endnu ikke fastlagt.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SPC — Ikke relevant (NA); SPC er ignoreret, da <i>C. difficile</i>-målampifikation kan konkurrere med denne kontrol. • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.
<p>Toksigen <i>C. diff</i>-NEG, binært toksin-NEG, 027-NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG)</p> <p>Se Figur 6.</p>	<p><i>C. difficile</i>-mål-DNA-sekvenser (toksin B-genet, binært toksin-genet) er ikke påvist.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksinproducerende <i>C. difficile</i>-gensekvenser (toksin B-genet og binært toksin-genet) er ikke påvist; andre DNA-mål for toksigen <i>C. difficile</i> (<i>tcdC</i>-deletion ved nt 117) er ikke påvist. • SPC — BESTÅET (PASS); SPC har en Ct inden for det gyldige område og slutpunkt over minimumsindstillingen. • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.

Resultat	Fortolkning
UGYLDIG (INVALID) Se Figur 7.	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>C. difficile</i>-mål-DNA kan ikke afgøres. Gentag testen i henhold til anvisningerne i Afsnit 15. SPC opfylder ikke acceptkriterierne, prøven blev ikke behandlet korrekt eller PCR er hæmmet.</p> <ul style="list-style-type: none"> • UGYLDIG (INVALID) — Tilstedeværelse eller fravær af <i>C. difficile</i>-mål-DNA kan ikke afgøres. • SPC — MISLYKKET (FAIL); resultatet for SPC-målet er negativt, og Ct for SPC er ikke inden for gyldigt område, og slutpunktet er under minimumsindstillingen. • Probekontrol — BESTÅET (PASS); alle probekontrolresultater er bestået.
FEJL (ERROR)	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>C. difficile</i>-mål-DNA kan ikke afgøres. Gentag testen i henhold til anvisningerne i Afsnit 15. Probekontrollen mislykkedes sandsynligvis fordi reaktionsrøret var fyldt forkert, der blev registreret et problem med probens integritet eller de maksimale trykgrænser blev overskredet.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksin B — INTET RESULTAT (NO RESULT) • Binært toksin — INTET RESULTAT (NO RESULT) • <i>tcdC</i>-deletion ved nt 117 — INTET RESULTAT (NO RESULT) • *SPC — INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontrol — MISLYKKET (FAIL*); alle eller et af probekontrolresultaterne er mislykket. <p>* Hvis probekontrollen er bestået, skyldes fejlen en systemkomponentfejl.</p>
INTET RESULTAT (NO RESULT)	<p>Tilstedeværelse eller fravær af <i>C. difficile</i>-mål-DNA kan ikke afgøres. Gentag testen i henhold til anvisningerne i Afsnit 15. Der blev indsamlet utilstrækkelige data til at producere et testresultat (for eksempel stoppede operatøren en test, der var i gang).</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>tcdC</i>Δ117 — INTET RESULTAT (NO RESULT) • SPC — INTET RESULTAT (NO RESULT) • Probekontrol — Ikke relevant (NA)

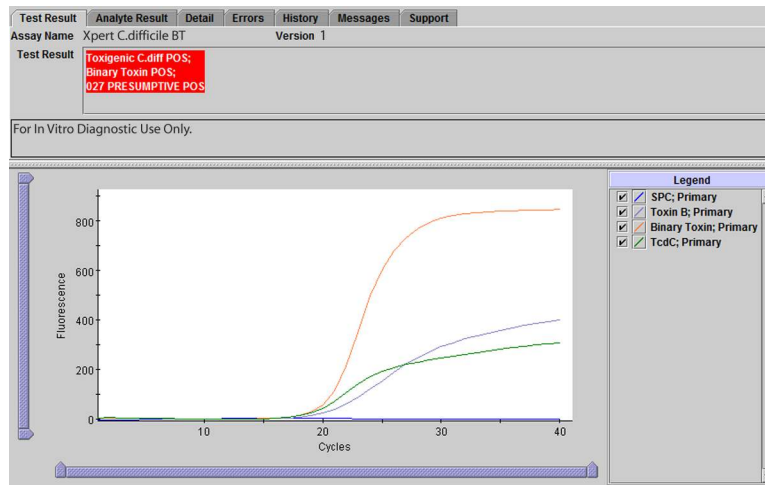
Bemærk Skærbillederne, som vises i dette afsnit (figur 2, figur 3, figur 4, figur 5, figur 6 og figur 7), er fra et der kører -software.



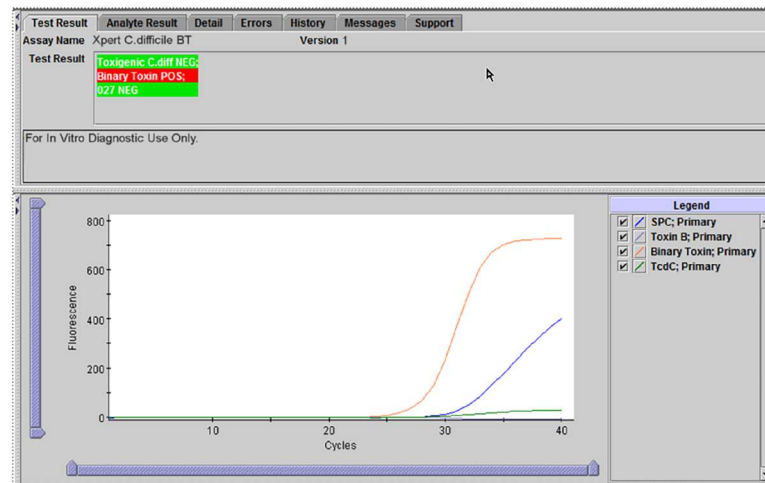
Figur 2. Eksempel på toksigen C. diff-positive, binært toksin-negative og 027-negative resultater



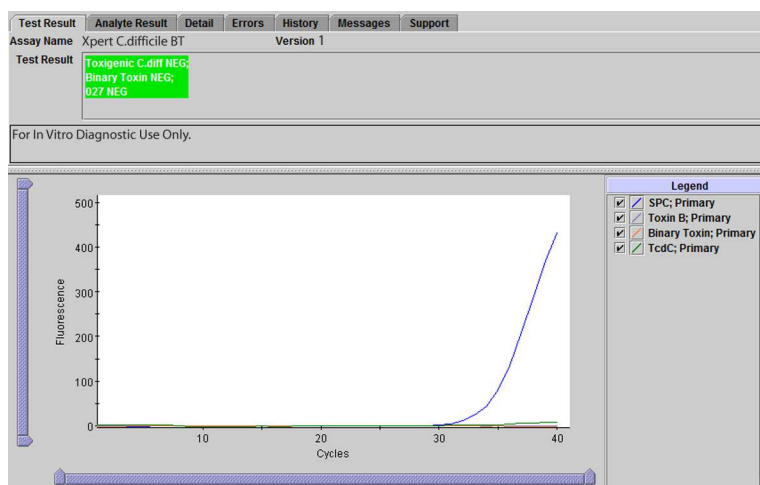
Figur 3. Eksempel på toksigen C. diff-positive, binært toksin-positive og 027-negative resultater



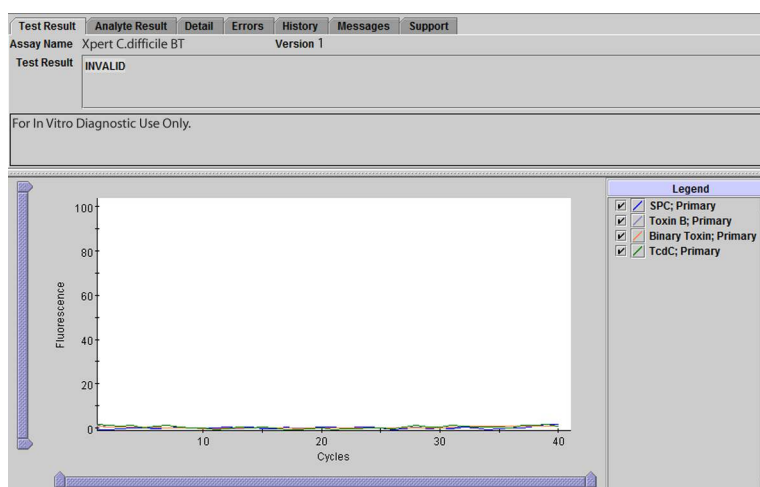
Figur 4. Eksempel på toksigen C. diff-positive, binært toksin-positive og formodet 027-positive resultater



Figur 5. Eksempel på toksigen C. diff-negative, binært toksin-positive og 027-negative resultater



Figur 6. Eksempel på toksigen C. diff-negative, binært-toksin-negative og 027-negative resultater



Figur 7. Eksempel på et negativt resultat

14 Grunde til at gentage testen

Hvis nogen af nedenstående testresultater forekommer, skal testen gentages én gang i henhold til anvisningerne i Afsnit 15.

- Resultatet **UGYLDIG (INVALID)** angiver at SPC er mislykket. Prøven blev ikke behandlet korrekt, eller PCR blev hæmmet.
- Resultatet **FEJL (ERROR)** angiver, at probekontrollen kan være mislykket, og at testen muligvis blev afbrudt på grund af, at reaktionsrøret blev fyldt forkert, der blev registreret et integritetsproblem med reagensproben, eller fordi de maksimale trykgrænser blev overskredet eller der blev registreret en fejl med ventilpositionering.
- Et **INTET RESULTAT (NO RESULT)** angiver, at der ikke blev indsamlet tilstrækkelige data. For eksempel stoppede operatøren en test, der var i gang.

15 Gentestprocedure

Ved gentest inden for 3 timer efter et ubestemt resultat, anvendes en ny kassette (kassetten må ikke genanvendes) og nye reagenser.

1. Fjern en ny kassette fra kittet.
2. Overfør alt resterende indhold fra prøvekammeret til et nyt prøvereagensglas ved hjælp af en overførselspipette til engangsbrug.
3. Vortex og tilføj alt indholdet af prøvekammeret til prøvekammeret på den nye Xpert *C. difficile* BT-kassette.
4. Luk låget og start den nye test.

Ved gentest 3 timer efter et ubestemt resultat, gentages testen med en ny podningsprøve fra det oprindelige patientpræparat.

16 Begrænsninger

- Isolater af non-027, der repræsenterer toksinotype XIV, vil blive rapporteret som **Toksigen *C. diff*-POS; Binært toksin-POS; FORMODET 027-POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** ved hjælp af Xpert *C. difficile* BT-testen.
- **Toksigen *C. diff*-NEG; Binært toksin-POS, Formodet 027-NEG** ved Xpert *C. difficile* BT kan rumme toksin B-genet og/eller *tcdC*-deletionen under analysens LoD.
- Indimellem, vil isolater af non-027, der repræsenterer toksinotyperne IV, V og X, blive rapporteret som **Toksigen *C. diff*-POS; Binært toksin-POS; FORMODET 027-POS (Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS)** ved hjælp af Xpert *C. difficile* BT-testen.
- Ydeevnen af Xpert *C. difficile* BT-testen blev alene valideret ved hjælp af procedurerne i denne indlægsseddel. Ændringer af disse procedurer kan ændre testens ydeevne.
- Resultater fra Xpert *C. difficile* BT-testen skal fortolkes sammen med andre laboratorie- og kliniske data, som klinikerer har til rådighed.
- Der kan forekomme fejlagtige testresultater fra forkert prøvetagning, manglende overholdelse af de anbefalede procedurer for indsamling, håndtering og opbevaring af prøver, tekniske fejl, prøveombytning eller fordi antallet af organismer i præparatet er for lavt til at blive påvist af testen. Det er nødvendigt at overholde anvisningerne i denne indlægsseddel nøje for at undgå fejlagtige resultater.
- På grund af fortyndingsfaktoren, der er forbundet med gentest-proceduren, er det muligt, at præparater, som er positive for *C. difficile* meget tæt på detektionsgrænsen for Xpert *C. difficile* BT-testen, kan give et falsk negativt resultat ved gentaget test.
- Der er blevet observeret hæmning af Xpert *C. difficile* BT-testen ved tilstedeværelse af følgende stoffer: Zinkoxidpasta og Vagisil®-creme.
- Udbrud af CDI kan være forårsaget af andre stammer end 027.
- Falsk negative resultater kan opstå, når den inficerende organisme har genomiske mutationer, insertioner, deletioner eller omarrangementer eller ved udførsel meget tidligt i forløbet.
- Positive resultater, der opnås med immunkompromitterede patienter kan afspejle, at *C. difficile* bæres asymptomatisk.

- Påvisning af *C. difficile*-nukleinsyrer i afføring bekræfter, at organismene er til stede i patienterne med diarré, men indikerer måske ikke, at *C. difficile* er årsagen til diarréen.
- Ydeevneegenskaber blev ikke fastlagt for patienter i <alderen 2 år.
- Mutationer eller polymorfier i primer- eller probebindingsregioner kan påvirke påvisningen af målrettede *C. difficile*-typer, hvilket resulterer i et falsk negativt resultat.

17 Forventede værdier

I det kliniske studie med Xpert *C. difficile* BT-testen blev i alt 2293 præparater af uformet afføring inkluderet fra 7 centre i hele USA og Canada. Antallet og procentdelen af toksigene *C. difficile*-positive tilfælde ved dyrkning, beregnet efter alder og køn, er vist i tabellerne nedenfor.

Table 2. Observeret forekomst af toksigen *C. difficile* efter aldersgruppe^a

Aldersgruppe	N	Forekomst af toksigen <i>C. difficile</i> (omfatter 027)	Forekomst af binært toksin	027 Forekomst af
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)
Samlet	2293	18,8 % (430/2293)	7,2 % (165/2293)	5,5 % (125/2293)

^a Forekomst baseret på Xpert-resultater.

Table 3. Observeret forekomst af toksigen *C. difficile* efter køn^a

Køn	N	Forekomst af toksigen <i>C. difficile</i> (omfatter 027)	Forekomst af binært toksin	027 Forekomst af
Mand	1072	18,2 % (195/1072)	6,3 % (68/1072)	5,0 % (54/1072)
Kvinde	1221	19,2 % (235/1221)	7,9 % (97/1221)	5,8 % (71/1221)
Samlet	2293	18,8 % (430/2293)	7,2 % (165/2293)	5,5 % (125/2293)

^a Forekomst baseret på Xpert-resultater.

18 Ydeevneegenskaber

18.1 Klinisk ydeevne

Xpert *C. difficile* BT-testens ydeevneegenskaber blev fastslået i en prospektiv undersøgelse med flere lokationer på syv amerikanske og canadiske institutioner ved at sammenligne Xpert *C. difficile* BT-testen med referencedyrkning efterfulgt af CCCN-test på isolaterne og stammetypebestemmelse på de toksigene stammer ved PCR-ribotypebestemmelse.

Forsøgspersonerne omfattede personer, hvis rutinemæssige pleje krævede test af *C. difficile*. En del af hvert tilbageværende præparat af uformet afføring blev indhentet til test med Xpert *C. difficile* BT-testen. Det resterende overskydende præparat blev sendt til et centralt laboratorium til referencedyrkning- og cytotoksin B-test. Hvert afføringspræparat blev podet på forreduceret direkte cykloserin-cefoxitin-fruktose-agarplade (CCFA-D) og cykloserin-cefoxitin-mannitol-bouillon med taurocholatlysozym-cystein (CCMB-TAL). Efter 24 timer blev CCMB-TAL subkultiveret på en anden CCFA-E-plade (CCFA-beriget). Denne direkte berigede dyrkningsmetode benævnes i det følgende "referencedyrkning".

Hvis der blev isoleret *C. difficile* fra den anden CCFA-D-plade, og isolatet var positivt med CCCN-testen, blev præparatet klassificeret som "toksigen *C. difficile*-positiv", og CCFA-E-pladen blev ikke yderligere analyseret. Hvis der ikke blev isoleret *C. difficile* fra CCFA-D-pladen, eller hvis isolatet var negativt med celle-CCCN-testen, blev CCFA-E-pladen yderligere analyseret.

Hvis CCFA-E var positiv for *C. difficile*, og isolatet var positivt med CCCN-testen, blev præparatet klassificeret som "toksigen *C. difficile*-positiv". Præparatet blev rapporteret som "negativ", hvis CCFA-E var negativ for *C. difficile*, eller hvis isolatet viste sig at være negativt med CCCN-testen.

Efter referencedyrkningstest blev de toksigene *C. difficile*-positive isolater sendt til et andet sæt referencelaboratorier til stammeidentifikation ved PCR-ribotypebestemmelse.

Xpert *C. difficile* BT-testens ydeevne blev beregnet i forhold til resultaterne af direkte dyrkning med stammetypebestemmelse og referencedyrkning med stammetypebestemmelse.

18.2 Samlede resultater

I alt 2293 præparater blev testet med Xpert *C. difficile* BT-testen, dyrkning og stammetypebestemmelse.

18.2.1 Ydeevneresultater vs. direkte dyrkning

I forhold til direkte dyrkning med PCR-ribotypebestemmelse, viste Xpert *C. difficile* BT-testen en sensitivitet og specificitet for toksigen *C. difficile* på henholdsvis 98,78 % og 90,86 %. Xpert *C. difficile* BT-testen viste også en positiv overensstemmelse på 100 % og en negativ overensstemmelse på 97,70 % for 027 (se tabellen nedenfor).

Tabel 4. Xpert *C. difficile* BT Testens ydeevne vs. direkte dyrkning og PCR-ribotypebestemmelse

Direkte dyrkning og PCR-ribotypebestemmelse					
		Toksin B + 027+	Toksin B+ 027-	NEG	Samlet
Xpert <i>C. difficile</i> BT ^b	Toksin B + 027+	74	4	47	125
	Toksin B+ 027-	0	164	140	304 ^a
	NEG	0	3	1860	1863
	Samlet	74	171	2047	2292 ^a
		Toksigen <i>C. difficile</i>		Toksigen <i>C. difficile</i> / 027	
		Sensitivitet: 98,78 % (242/245)		Pos overensstemmelse: 100 % (74/74)	
		Specificitet: 90,86 % (1860/2047)		Neg overensstemmelse: 97,70 % (2167/2218)	
		Nøjagtighed: 91,71 % (2102/2292)		Nøjagtighed: 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. Ét isolat kunne ikke tybestemmes pga. kontaminering: dette præparat er ikke taget med i statistikken for ydeevne.

b. De viste Xpert-resultater er for første eller andet forsøg. Ca. 3,2 % af præparaterne var ubestemmelige i første forsøg.

c. Positiv prædiktiv værdi

d. Negativ prædiktiv værdi

18.2.2 Ydeevne vs. referencedyrkning

I forhold til referencedyrkning med PCR-ribotypebestemmelse, viste Xpert *C. difficile* BT-testen en sensitivitet og specificitet for toksigen *C. difficile* på henholdsvis 93,39 % og 94,02 %. Xpert *C. difficile* BT-testen viste også en positiv overensstemmelse på 98,89 % og en negativ overensstemmelse på 98,36 % for 027 (se tabel 5).

Tabel 5. Xpert *C. difficile* BT-testens ydeevne vs. referencedyrkning og PCR-ribotypebestemmelse

Referencedyrkning og PCR-ribotypebestemmelse					
		Toksin B + 027+	Toksin B+ 027-	NEG	Samlet
Xpert <i>C. difficile</i> BT ^b	Toksin B + 027+	89	5	31	125
	Toksin B+ 027-	0	217	86	303 ^a

	NEG	1	21	1841	1863
	Samlet	90	243	1958	2291 ^a
		Toksigen C. difficile		Toksigen C. difficile / 027	
		Sensitivitet: 93,39 % (311/333)		Pos overensstemmelse: 98,89 % (89/90)	
		Specificitet: 94,02 % (1841/1958)		Neg overensstemmelse: 98,36 % (2165/2201)	
		Nøjagtighed: 93,93 % (2152/2291)		Nøjagtighed: 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 pga. kontaminering: præparaterne er ikke taget med i statistikken for ydeevnen.

b. De viste Xpert-resultater er for første eller andet forsøg. Ca. 3,2 % af præparaterne var ubestemmelige i første forsøg.

c. Positiv prædiktiv værdi.

d. Negativ prædiktiv værdi.

18.2.3 Resumé

Tabellen nedenfor viser det samlede antal præparater for hvert anderledes testresultat ud af de 2293 præparater, der indgår i dataanalysen for den kliniske ydeevne.

Tabel 6. Xpert C. difficile BT-testens samlede ydeevne

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; FORMODET 027-POS	122
Toksigen C. diff-NEG; Binært toksin-POS; 027-NEG	7 ^a
Toksigen C. diff-NEG; Binært toksin-NEG; 027-NEG	1856
Samlet	2293

^a Ved yderligere test viste det sig, at 4 af 7 stammer bar toksin B-genet.

18.2.4 Brug af antibiotika

Blandt de 2293 tilfælde, der indgik i hoveddatasættet, blev der indberettet brug af antibiotika inden for de 2 måneder, der gik forud for prøveindsamling, for 1630, og der blev ikke bekræftet nogen brug af antibiotika i 570. I 93 tilfælde var antibiotika-status ukendt. Brug af antibiotika forårsagede ikke nogen statistisk signifikant forskel i testens ydeevne.

19 Analytisk ydeevne

19.1 Analytisk specificitet

Der blev udført to undersøgelser for at bestemme den analytiske specificitet af Xpert *C. difficile*-testen. I den første undersøgelse blev der inkluderet stammer, som var fylogenetisk beslægtede med *Clostridium difficile* eller dem, der potentielt kunne forekomme i patienternes tarmflora. Femoghalvtreds (55) stammer blev indsamlet, kvantificeret og testet ved hjælp af Xpert *C. difficile* BT-testen. Stammerne stammer fra American Type Culture Collection (ATCC), Kultursamling Göteborgs universitet (CCUG), Tysk samling af mikroorganismer og cellekulturer (DSMZ), Centrene for sygdomskontrol og forebyggelse (CDC), Institut for offentlig sundhed, Maribor, Slovenien og Svensk institut for infektionssygdomsbekæmpelse (SMI).

Af de bakteriearter, der blev testet blev ti (10) ikke-toksogene *C. difficile*-stammer og elleve (11) ikke-*C. difficile* *Clostridium*-arter inkluderet. De testede organismer blev identificeret som enten grampositive (37) eller gramnegative (18). Organismerne blev yderligere klassificeret som aerobe (24), anaerobe (29) eller mikroaerobe (2).

Hver stamme blev testet i triplikater ved koncentrationer fra $1,1 \times 10^8$ til $2,2 \times 10^{10}$ CFU/podning. Positive og negative kontroller blev inkluderet i studiet.

Under betingelserne i undersøgelsen blev alle isolater rapporteret **Toksigen C. diff-NEG; Binært toksin-NEG; 027-NEG (Toxicogenic C. diff NEG; Binary Toxin NEG; 027 NEG)** (se tabel 7). Den analytiske specificitet var 100 %.

En yderligere serie af ikke-*difficile* *Clostridium*-arter blev testet for at påvise specificiteten af det binære toksinassay.

Tabel 7. Resultater af specificitetsundersøgelsen af genet for binært toksin

Genus	Arter	Antal testet	Toksine A/B	Binært toksin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>aminovaletricum-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

Genus	Arter	Antal testet	Toksin A/B	Binært toksin
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>mayombei-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>subterminal 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/ aerotolerance</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 027	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 078	2	+	+

Alle isolater, der ikke indeholder binært toksin var negative med Xpert *C. difficile* BT-testen.

19.2 Analytisk sensitivitet

Der er blevet udført undersøgelser for at bestemme 95 % konfidensintervallerne for den analytiske detektionsgrænse (LoD) for *C. difficile* fortyndet i en fækal matrix af human oprindelse, som kan påvises af Xpert *C. difficile* BT-testen. Den fækale matrix bestod af flydende human fæces (*C. difficile* negativ ved Xpert *C. difficile* BT-test) fortyndet i PBS med 15 % glycerol. LoD defineres som det laveste antal kolonidannende enheder (CFU) pr. podning, der kan skelnes reproducerbart fra negative prøver med 95 % konfidens.

20 replikater blev evalueret ved hver testet koncentration (CFU/podning) af *C. difficile* for 7 forskellige *C. difficile*-stammer, der repræsenterer toksintype 0 (to stammer), III (to stammer), IV, V og VIII (en af hver stamme).

Estimat- og konfidensintervallerne blev bestemt ved brug af logistisk regression med data (antal positive resultater pr. antal replikater på hvert niveau) i forhold til intervallet af testede CFU'er. Konfidensintervallerne blev bestemt ved brug af maksimale sandsynlighedsestimater på de logistiske modelparametre ved brug af varians-kovariansmatricen for stor prøvestørrelse. Punktestimaterne for LoD og de øvre og nedre 95 % konfidensintervaller for hver testet toksintype af *C. difficile* er sammenfattet i tabellen nedenfor.

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

Stamme-ID	Toksintype	LoD _{95 %} (CFU/ podning)	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI
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 Ved PCR-ribotypebestemmelse

Resultaterne af denne undersøgelse indikerer, at Xpert *C. difficile* BT-testen 95 % af tiden giver et positivt *C. difficile*-resultat for en fækal prøve, der indeholder 460 CFU/podning og 95 % af tiden giver et formodet positivt 027-resultat for en podning, der indeholder 75 CFU.

Udover LoD-bestemmelsen blev 18 *C. difficile*-stammer, der repræsenterer toksintype 0 samt 12 toksintypevarianter, inklusive fire 027-toksintype III-isolater, testet ved brug af Xpert *C. difficile* BT-analysen. *C. difficile*-stammerne blev udvalgt til bredt at repræsentere hovedparten af de *C. difficile*-toksintyper, der ses i praksis. Stamkulturer blev fremstillet ved at suspendere bakterievæksten fra agarplader i PBS-buffer, der indeholdt 15 % glycerol. Koncentrationen af hver stamkultur blev justeret til 1,4-5,9 McFarland-enheder. Alle stammer blev seriefortyndet til ca. 900 CFU/podning og testet i tre eksemplarer.

Under betingelserne for denne undersøgelse identificerede Xpert *C. difficile* BT-analysen korrekt alle 18 testede stammer som toksigen *C. diff*-POS. Inkluderet i panelet var 8 toksintyper, der også er rapporteret positive for produktion af binært toksin (CDT). Alle var CDT-positive ved brug af Xpert *C. difficile* BT-analysen. Alle fire 027-isolater, der repræsenterer toksintype III, blev korrekt identificeret som toksigen *C. diff*-POS, binært toksin-POS, FORMODET 027-POS.

Syv *C. difficile*-isolater af PCR-ribotype 033 og yderligere tre *C. difficile*-isolater af beslægtet PCR-ribotype, som var negative for *tcdA* og *tcdB*, men producerede binært toksin (CDT)²² blev testet med Xpert *C. difficile* BT-analysen. Alle 10 isolater gav kun positive resultater for binært toksin (se tabel 9), hvilket bekræfter analysens evne til at påvise isolater, der er toksin A-, toksin B-, binært toksin +).

Tabel 9. Test af organismer, der kun producerer 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

Enogtyve (21) biologiske og kemiske stoffer, der lejlighedsvis anvendes eller findes i afføringspræparater, blev testet for interferens med Xpert *C. difficile* BT-testen. Potentielt interfererende stoffer inkluderer, men er ikke begrænset til, Vagisil-creme og zinkoxidpasta (se afsnit 16, Begrænsninger). De 19 stoffer anført i tabellen nedenfor viste ikke nogen registrerbar interferens med Xpert *C. difficile* BT-testen.

Tabel 10. Stoffer, der er testet og ikke udviser testinterferens

Stof	Stof
Indsamling af fuldblod Karolinska universitetshospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucin (porcin) Sigma	Vaseline Unilever
Kaopectat® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Preparation H Portable Wipes Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginal svangerskabsforebyggende film (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomycin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazole Actavis
Fækale fedtstoffer Karolinska universitetshospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E-Z HDTM Bariumsulfat med høj densitet til suspension E-Z EM Canada
Hydrocortison creme Longs Drugs	

20 Reproducerbarhed

Et panel på 7 præparater med varierende koncentrationer af toksinogen *C. difficile* og *C. difficile* ribotype 027 blev testet på 10 forskellige dage af 2 forskelle operatører på hvert af de 3 steder (7 præparater x 2 operatører/ dag x 10 dage x 3 steder). Der blev anvendt ét parti af Xpert *C. difficile* BT-testen på hvert af de 3 teststeder. Xpert *C. difficile* BT-testene blev udført i overensstemmelse med proceduren for Xpert *C. difficile* BT-testen. Resultaterne er opsummeret i de næste to tabeller nedenfor.

Tabel 11. Resumé af reproducerbarhedsresultater (alle)

Præparat-ID	Overensstemmelse i % ^a			Samlet overensstemmelse i % efter 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> høj 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 høj negativ	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Toksigen <i>C. difficile</i> ribotype 027 lav positive	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)
Overensstemmelse i % efter sted	100 % (140/140)	97,1 % (136/140)	97,1 % (136/140)	98,1 % (412/420)

^a For negative og høje negative prøver, overensstemmelse i % = (antal negative resultater/samlet antal kørte prøver); for lave og moderat positive prøver, overensstemmelse i % = (antal positive resultater/samlet antal kørte prøver).

Tabel 12. Resumé af resultater for Ct-værdi efter prøveniveau og probe

SPC			
Niveau	Mid	StdAfv	CV
Toksigen <i>C. diff</i> høj 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 høj neg	32,11	0,65	2,03 %
027 lav neg	31,93	0,72	2,26 %
027 mod pos	31,96	0,61	1,90 %
Neg	32,26	0,72	2,22 %
tcdB (toksin B)			
Niveau	Mid	StdAfv	CV
Toksigen <i>C. diff</i> høj 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 høj neg	39,11	0,98	2,50 %
027 lav neg	35,49	0,58	1,65 %
027 mod pos	32,10	0,63	1,97 %

Et ekstra panel på 6 præparater, 3 negative og 3 toksigene høje negative *C. difficile*, blev testet på 5 forskellige dage af 2 forskellige operatører på hvert af de 3 steder (6 præparater x 2 operatører/ dag x 5 dage x 3 steder). De høje negative præparater blev fremstillet i en koncentration under LoD, sådan at de forventedes at give et negativt resultat 20 til 80 % af tiden. Der blev anvendt ét parti af Xpert *C. difficile* BT-testen på hvert af de 3 teststeder. Xpert *C. difficile* BT-testene blev udført i overensstemmelse med proceduren for Xpert *C. difficile* BT-testen. Resultaterne er sammenfattet i tabellen nedenfor.

Tabel 13. Resumé af ekstra prøveresultater for reproducerbarhed

Præparat-ID	Overensstemmelse i % ^a			Samlet overensstemmelse i % efter 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> høj negativ ^b	60 % (18/30)	60 % (18/30)	53,3 % (16/30)	57,8 % (52/90)

^a (antal negative resultater / samlet antal kørte høje negative prøver)

^b 20-80 % overensstemmelse forventet for høj negativ prøve

21 Referencer

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, 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 i: *J Clin Microbiol*. 2007 Jun;45(6):2103.
20. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(2):156-162.
21. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. *New Microbes New Infect*. 2014;8;3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert *C. difficile/Epi* and meridian bioscience illumigene *C. difficile* assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. *J Clin Microbiol*. 2015;53:973-5
23. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).

25. 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 Cepheid hovedsædelokaliteter

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 assistance

Før du kontakter os

Indsaml følgende oplysninger, før du kontakter Cepheids tekniske support:

- Produktnavn
- Partinummer
- Instrumentets serienummer
- Fejlmeddelelser (hvis nogen)
- Softwareversion og, hvis det er relevant, computerservicemærkenummer

Teknisk support i USA














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

Teknisk support i Frankrig

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

Kontaktoplysninger for alle Cepheids tekniske supportkontorer fås på vores hjemmeside:
www.cepheid.com/en/support/contact-us.

24 Symboltabel

Symbol	Betydning
	Katalognummer
	Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik
	Må ikke genanvendes
	Batchkode
	Se brugsanvisningen
	Forsigtig
	Fabrikant
	Produktionsland
	Indeholder tilstrækkeligt til <i>n</i> tests
	Kontrol
	Udløbsdato
	CE-mærkning – europæisk overensstemmelse
	Temperaturbegrænsning
	Biologiske risici
	Advarsel
	Autoriseret repræsentant i Schweiz
	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 Revisionshistorik

Beskrivelse af ændringer: 301-6190-DA, Rev. D to Rev. E

Afsnit	Beskrivelse af ændring
Analytisk sensitivitet	Rettede en fejl i afsnittet "Analytisk sensitivitet".
Symboltabel	Rettede en fejl i afsnittet "Symboltabel".