

cobas[®] Cdiff

Nukleinsyretest for bruk med cobas[®] Liat[®] System



For bruk til *in vitro*-diagnostikk

Rx Only

**cobas[®] Cdiff Nucleic acid test for use on the
cobas[®] Liat[®] System**

20 Tests

P/N: 07454945190

**cobas[®] Cdiff Positive and Negative Control Kit
for use on the cobas[®] Liat[®] System**

5 Sets

P/N: 07454970190

INNHALDSFORTEGNELSE

Tiltenkt bruk	4
Oppsummering og forklaring av testen	4
Bakgrunn: Deteksjon av <i>C. difficile</i>	4
Forklaring av testen.....	5
Testprinsipper.....	5
Prøvepreparering.....	5
PCR-amplifikasjon og TaqMan®-deteksjon.....	5
Selektiv amplifikasjon.....	5
Reagenser og materialer	6
cobas® Cdiff reagenser og kontroller.....	6
Oppbevaring og håndtering av reagenser.....	8
Ytterligere materiell som kreves.....	8
Valgfritt tilleggsutstyr.....	8
Instrumentering og programvare som kreves, men som ikke medfølger.....	8
Krav til oppbevaring og håndtering	9
Advarsler og forholdsregler.....	9
God laboratoriepraksis.....	9
Kontaminering.....	9
Integritet.....	10
Kassering.....	10
Søl og rengjøring.....	10
Taking, transport og oppbevaring av prøver.....	10
Prøvetaking.....	10
Prøvestabilitet under transport og oppbevaring.....	10
Testprosedyre	11
Arbeidsflyten Legg til lot.....	11
Arbeidsflyt for prøveoverføring.....	11
cobas® Cdiff-arbeidsflyt.....	11
Bruksanvisning.....	12
Prosedyren Legg til lot.....	12
Prøveoverføring i cobas® PCR Media.....	14
Utføre cobas® Cdiff på kliniske prøver.....	14
Utføre ytterligere kontrollkjøringer.....	16

Resultater	17
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater	17
Positiv kontroll	17
Negativ kontroll	17
Internkontroll	17
Tolkning av resultater	18
Forslag til prosedyre for re-testing	19
Testens begrensninger	19
Evaluering av ytelse	20
Analytisk sensitivitet	20
Deteksjon av <i>C. difficile</i> -genotyper	20
Presisjon	21
Analytisk spesifisitet	22
Interferens	24
Klinisk ytelse ved bruk av kliniske prøver	26
Korrelasjon mellom cobas® Cdiff og dyrkning	26
Korrelasjon mellom cobas® Cdiff og komparator-NAT	27
Ugyldig rate	27
Feilkoder	28
Tilleggsinformasjon	29
Viktige analysefunksjoner	29
Symboler	30
Teknisk støtte	31
Produsent og importør	31
Varemerker og patenter	31
Opphavsrett	31
Referanser	32
Dokumentrevisjon	34

cobas® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på cobas® Liat® System skal brukes av helsepersonell eller kvalifiserte operatører som har fått opplæring i bruken av cobas® Liat® System, som pasientnær testing, Point of Care (POC) eller på et klinisk laboratorium.

Tiltenkt bruk

cobas® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på cobas® Liat® System er en automatisk, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test som bruker polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid til deteksjon av toksin B (*tcdB*)-genet av toksigen *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) i løse (flytende eller bløte) avføringsprøver fra pasienter der det er mistanke om *C. difficile*-infeksjon (CDI). cobas® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på cobas® Liat® System skal brukes som et hjelpemiddel ved diagnostisering av CDI hos mennesker sett i sammenheng med kliniske og epidemiologiske risikofaktorer.

Oppsummering og forklaring av testen

Bakgrunn: Deteksjon av *C. difficile*

Clostridioides difficile (*C. difficile*) er en gram positiv, anaerob, sporedannende basill som ble identifisert som en etiologisk agens for antibiotikaassosiert diaré og pseudomembranøs kolitt sent på 1970-tallet.^{1,2} *C. difficile* er det hyppigst rapporterte nosokomiale patogenet³ og antas å være ansvarlig for 15–20 % av antibiotikarelaterte tilfeller av diaré og nesten alle tilfeller av antibiotikaassosiert pseudomembranøs kolitt.⁴ Forekomst av *C. difficile*-infeksjon (CDI) er firedoblet på mindre enn tjue år⁵ og er assosiert med alvorlig sykdom og dødelighet.³ En økt forekomst har delvis vært tilskrevet at det er kommet frem hypervirulente stammer, f.eks. BI/027/nordamerikansk pulsotype 1 (NAP1)-ribotype. Eldre og innlagte pasienter som nylig har brukt antibiotika, er mest utsatt for CDI, men CDI-frekvensen øker utenfor sykehusmiljøet også.^{3,6}

Infeksjoner overføres av sporer, og etter kolonisering med toksigen *C. difficile* kan mennesker bli asymptomatiske bærere eller utvikle sykdom i tykktarmen. De kliniske aspektene av CDI kan variere fra lett diaré til livstruende pseudo-membranøs kolitt, karakterisert av magesmerter, kraftig diaré og systemiske symptomer som feber, anoreksi, kvalme og generell sykdomsfølelse. Selv om det har vært dramatisk økning i forekomst og alvorlighetsgrad av CDI, er metronidazol eller vankomycin fortsatt de foretrukne medisinske behandlingene for akutte episoder og residiverende infeksjon.⁷

CDI-diagnose blir normalt stilt ved forekomst av toksin i avføringsprøver. De fleste toksigene *C. difficile*-stammer produserer typisk to proteineksotoksiner: toksin A og toksin B.⁸ En liten prosentandel av toksigene stammer kan produsere bare toksin B.⁹ Demonstrasjon av den sykdomsfremkallende effekten på et enkeltsjikt med celler under påvirkning av toksin B har vært den tradisjonelle gullstandard.^{10,11} Avføringssupernatant kan inkuberes direkte på enkeltsjiktet med celler. Alternativt kan *C. difficile*-isolater fra avføring dyrkes i anrikingsbuljong før supernatanten inkuberes på enkeltsjiktet med celler (toksigen dyrking). Begge teknikker krever minst 48–72 timer for å oppnå et endelig testresultat.

Dyrking av avføring er ikke særlig utbredt siden prosedyren er kompleks og det tar lengre tid å få et resultat som beskrevet ovenfor. Diagnose stilles dessuten ofte med enten enzymimmunanalyser (EIA) eller DNA-baserte tester.^{3,12} Immunanalyser for toksindeteksjon er utbredt fordi de kan gi positive resultater på mindre enn 4 timer, men sensitiviteten er lavere sammenlignet med dyrking.^{12,13} Deteksjon av *C. difficile*-toksingen med polymerasekjedereaksjon (PCR) rapporteres til sammenligning å ha høyere sensitivitet og kortere tid til resultat enn både dyrking og immunanalyser.^{3, 14-17}

Smitteverntiltak omfatter varsom bruk av antimikrobielle stoffer, forebygging av kryssinfeksjon og aktiv overvåking av tilfeller.¹⁸ Det er derfor et stort behov for svært sensitiv og rask automatisk deteksjon av *C. difficile*. Molekylære metoder

gir muligheten til å redusere deteksjonstiden signifikant og dermed gjøre det mulig med umiddelbar oppstart av anti-mikrobiell behandling og umiddelbar implementering av infeksjonsbegrensende tiltak.¹⁴⁻¹⁶ cobas® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på cobas® Liat® System er utviklet for å være en molekylær hurtigtest for deteksjon av *C. difficile*-toksin B-gen i løse avføringsprøver fra pasienter der det er mistanke om CDI.

Forklaring av testen

cobas® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på cobas® Liat® System (heretter kalt cobas® Cdiff) er en hurtigtest som helautomatiserer prøvepreparering, PCR-amplifikasjon og sanntidsdeteksjon av mål-DNA-sekvenser på cobas® Liat® Analyser. cobas® Cdiff består av et cobas® Cdiff-testrør til engangsbruk som inneholder nukleinsyrerensings- og PCR-reagenser samt en internkontroll (*Bacillus thuringiensis israelensis* eller Bti). Prøvepreparerings- og PCR-prosessene utføres i cobas® Cdiff testrøret. Da cobas® Cdiff testrøret er avgrenset, reduseres risikoen for krysskontaminering mellom prøver.

Testprinsipper

Prøvepreparering

Organismer i avføringsprøven lyses med en kaotrop middel og proteinase K. Frigjorte nukleinsyrer, herunder Bti-internkontroll-DNA, er bundet av magnetiske glasspartikler. Partiklene vaskes, og bundne nukleinsyrer elueres til et lite buffervolum og blandes deretter med Master Mix og aktiverende kofaktor for PCR-reaksjonen.

PCR-amplifikasjon og TaqMan®-deteksjon

Master Mix-reagenset inneholder primerpar og prober for *C. difficile* toksin B og internkontrollen. Hvis målnukleinsyre-sekvensene er til stede, vil det skje en amplifikasjon med de tilhørende primerne ved en termostabil DNA-polymerase der PCR-produkter (amplikoner) blir generert. Disse produktene detekteres av spesifikke TaqMan®-prober som inneholder en fluorescensreporterfarge og en slukker. Normalt vil slukkeren undertrykke fluorescensen i reporterfargen. Hvis PCR-produktet imidlertid er til stede, hybridiseres proben til produktet og blir spaltet av 5'- til 3'-nukleaseaktiviteten til polymerasen. Reporterfargen og slukkeren blir dermed separert. Denne reaksjonen gjør det mulig å fjerne fluorescensen fra reporterfargen, og signalet registreres i sanntid under hver PCR-syklus av cobas® Liat® Analyser. Signalet tolkes av cobas® Liat®-systemets programvare og rapporteres som endelige resultater.


Selektiv amplifikasjon

Selektiv amplifikasjon av målnukleinsyre fra prøven oppnås i cobas® Cdiff-testen ved å bruke AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylase) og deoksyuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet gjenkjenner og katalyserer destruksjon av DNA-tråder som inneholder deoksyuridin¹⁹, men ikke DNA som inneholder deoksytymidin. Deoksyuridin finnes ikke i naturlig forekommende DNA, men finnes alltid i amplikon som følge av bruken av deoksyuridintrifosfat i stedet for tymidintrifosfat som en av dNTP-ene i Master Mix-reagenset. Derfor er det kun amplikon som inneholder deoksyuridin. Deoksyuridin gjør kontaminerende amplikon mottakelig for destruksjon ved hjelp av AmpErase-enzymet forut for amplifikasjon av mål-DNA. AmpErase-enzymet, som inngår i Master Mix-reagenset, katalyserer nedbrytning av DNA som inneholder deoksyuridin, ved å bryte deoksyuridigruppens deoksyribosekjede i C1-posisjonen. Ved temperaturøkningen i det første varmetrinnet, ved alkalisk pH i Master Mix, brytes amplikon-DNA-kjeden der deoksyuridinet finnes. Dette fører til at DNA ikke lenger er amplifiserbart. AmpErase-enzymet er inaktivt ved temperaturer over 55 °C, dvs. gjennom alle termosyklusiske trinn, og derfor blir ikke mål-amplikon ødelagt. cobas® Cdiff-testen har vist seg å kunne deaktivere minst 1000 kopier av deoksyuridinholdig *C. difficile*-amplikon per PCR.

Reagenser og materialer

cobas® Cdiff reagenser og kontroller

Tabell 1: cobas® Cdiff

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System		
Oppbevares ved 2–8 °C 20 tester (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat®-overføringspipettepakker (P/N 09329676001)		
Reagenser i cobas® Cdiff-testrør	Reagensingredienser	Sikkerhetssymbol og advarsel ^a
cobas® Liat® Cdiff-internkontroll	PBS Tween-80 0,01 % ProClin® 300 konserveringsvæske Glyserol EDTA < 1 % Bti-stamløsning (inaktivert)	 <p>FARE</p> <p>H302 + H332: Farlig ved svelging eller innånding. H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H334: Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. H411: Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann. P261: Unngå innånding av støv/røyk/gass/tåke/damp/aerosoler. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselvern. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P342 + P311: Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P391: Samle opp spill. EUH032: Ved kontakt med syre utvikles meget giftig gass. EUH210: Sikkerhetsdatablad er tilgjengelig på anmodning. EUH208: Inneholder blanding av: 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1). Kan utløse en allergisk reaksjon. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on-hydroklorid 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin</p>
cobas® Liat® Proteinase K	Tris-buffer EDTA Kalsiumklorid Kalsiumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glyserin	
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (magnetiske glasspartikler)	Magnetiske glasspartikler Vann	
cobas® Liat® Lysis Buffer (lyseringsbuffer)	Natriumsitrat 3 % polidokanol ^b 42,6 % guanidiniumthiocyanat ^b Ditiotreitol	
cobas® Liat® Wash Buffer (vaskebuffer)	Natriumsitratdihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl	
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (elueringsbuffer)	Rekombinant humant serumalbumin Tris-HCl-buffer 0,09 % natriumazid	

cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System		
Oppbevares ved 2–8 °C 20 tester (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat®-overføringspipettepakker (P/N 09329676001)		
Reagenser i cobas® Cdiff-testrør	Reagensingredienser	Sikkerhetssymbol og advarsel^a
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Trisinbuffer EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroksid < 0,01 % oppstrøms- og nedstrøms <i>C. difficile</i> - og internkontrollprimere < 0,01 % fluorescensmerkede <i>C. difficile</i> - og internkontrollprober 0,09 % natriumazid	
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % oligonukleotidaptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymerase (mikrobiell) < 0,02 % AmpErase (uracil-N-glykosylase) enzym (mikrobiell) 0,09 % natriumazid	
cobas® Liat® Cdiff Cofactor	Manganacetat Magnesiumacetat Bovint serumalbumin fra bovint plasma fra USA 0,09 % natriumazid	

^a Merking av produktsikkerhet følger primært EUs GHS-retningslinjer.

^b Farlig stoff eller blanding

Tabell 2: cobas® Cdiff-kit med positiv og negativ kontroll for bruk i cobas® Liat® System

cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System			
Oppbevares ved 15–30 °C 5 sett (P/N 07454970190)			
Komponenter i kitet	Reagensingredienser	Mengde per kit	Sikkerhetssymbol og advarsel
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff positiv kontroll)	Tris-buffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk) 0,05 % natriumazid < 0,01 % ikke-infeksiøst plasmid-DNA (mikrobielt) som inneholder <i>C. difficile</i> -sekvens	5 hetteglass	N/A
BUF (-) C (cobas® Liat® negativ kontroll)	Tris-buffer EDTA 0,05 % natriumazid < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk)	5 hetteglass	N/A

Oppbevaring og håndtering av reagenser

Tabell 3: Oppbevaring og håndtering av reagenser

Reagens	Oppbevaringstemperatur	Oppbevaringstid
cobas® Cdiff Nucleic acid test for use on the cobas® Liat® System	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit for use on the cobas® Liat® System	15–30 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato

Merk: Ikke frys reagenser.

Ikke åpne individuelle testrørpakninger før operatøren er klar til å utføre testen.

cobas® Liat®-overføringspipettepakken kan oppbevares ved romtemperatur etter at den første pipetten er tatt ut av cobas® Cdiff-testrørsettet. Bruk rene hansker når du tar overføringspipetten ut av cobas® Liat®-overføringspipettepakken. Forsegle cobas® Liat®-overføringspipettepakken igjen umiddelbart etter at du har tatt ut pipetten(e) du trenger.

Reagensenes utløpsdato er basert på UTC (Coordinated Universal Time). Lokaltid for reagensenes utløpstid kan forskyves med pluss eller minus 12 timer, avhengig av hva den lokale tidssonen er i forhold til UTC.

Ytterligere materiell som kreves

Tabell 4: Ytterligere materiell som kreves

Materiell	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Engangshansker, uten pudder	Alle engangshansker uten pudder kan brukes.

Hvis du ønsker mer informasjon om materiell som selges separat, kan du ta kontakt med den lokale representanten fra Roche.

Valgfritt tilleggsutstyr

Tabell 5: Valgfritt tilleggsutstyr

Materiale	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit (ekstralokk)	07958056190

Hvis du ønsker mer informasjon om tilleggsutstyr, kan du ta kontakt med den lokale representanten fra Roche.

Instrumentering og programvare som kreves, men som ikke medfølger

Tabell 6: Instrumentering og programvare som kreves, men som ikke medfølger

Nødvendig instrumentering og programvare som ikke medfølger
cobas® Liat® Analyser (P/N 07341920190) <ul style="list-style-type: none"> Inkludert cobas® Liat® System-programvaren (Core) versjon 3.3.0 eller nyere
cobas® Cdiff Script v1.1 eller nyere

Hvis du ønsker mer informasjon om instrumentering og programvare som kreves, kan du ta kontakt med den lokale representanten fra Roche.

Krav til oppbevaring og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som med alle laboratorieprosedyrer er god laboratoriepraksis essensielt for å sikre optimal ytelse for denne analysen. På grunn av testens høye analytiske sensitivitet, må det utvises varsomhet for å sikre at reagenser, prøver og amplifikasjonsblandinger ikke kontamineres.

- Kun for bruk til *in vitro*-diagnostikk.
- **cobas**® Cdiff-nukleinsyretesten for bruk på **cobas**® Liat® System skal brukes av helsepersonell eller kvalifiserte operatører som har fått opplæring i bruken av **cobas**® Liat® System, som pasientnær testing, Point of Care (POC) eller på et klinisk laboratorium.
- Unngå mikrobiell kontaminering og DNA-kontaminering av reagenser og prøver.
- Bytt hansker før du tar overføringspipetten ut av **cobas**® Liat®-overføringspipettepakken og etter håndtering av hver prøve eller kontroll, for å unngå kontaminering av reagenser og pipetter.
- Sikkerhetsdatablad (SDS) er tilgjengelig fra den lokale representanten fra Roche på forespørsel.
- **cobas**® Liat® Lysis Buffer (LYS-reagens) inneholder guanidintiocyanat. Guanidintiocyanat må ikke komme i direkte kontakt med natriumhypokloritt (blekemiddel) eller andre svært reaktive reagenser som syrer eller baser. Slike blandinger kan produsere en skadelig gass.
- **cobas**® Liat® Elution Buffer-1 (EB), **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix-1 (Cdiff MMX-1), **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix-2 (Cdiff MMX-2), **cobas**® Liat® Cdiff Cofactor (Cofactor), BUF (-) C og Cdiff (+) C inneholder natriumazid.
- Flere advarsler, forholdsregler og prosedyrer for å redusere risikoen for kontaminering av **cobas**® Liat® Analyser finnes i brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System.
- I EU: Informer lokale kompetente myndigheter om eventuelle alvorlige hendelser som kan oppstå når du bruker denne analysen.

God laboratoriepraksis

- Ikke pipetter med munnen.
- Ikke spis, drikk eller røyk i arbeidsområder.
- Vask hendene nøye etter håndtering av prøver og reagenser.
- Bruk vernebriller, laboratoriefrakk og engangshansker ved håndtering av reagenser i henhold til institusjonens retningslinjer. Unngå kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med store mengder vann hvis slik kontakt oppstår. Hvis kontaktstedet ikke blir behandlet, kan det oppstå brannskade. Fortynn med vann før du tørker opp eventuelt søl.
- Tilsetning av AmpErase-enzym i **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix muliggjør selektiv amplifikasjon av mål-DNA. Kontaminering av reagensene og amplifikasjonsblandinger kan imidlertid bare unngås gjennom gode laboratorierutiner og ved å følge prosedyrene spesifisert i denne bruksanvisningen nøye.
- Rengjør og desinfiser alle arbeidsoverflater nøye med en nylaget løsning av 0,5 % natriumhypokloritt i destillert eller de-ionisert vann (fortynn blekemiddel til husholdningsbruk i forholdet 1:10). Tørk deretter av overflaten med 70 % etanol.

Kontaminering

- Hansker må brukes, og de må byttes før du fjerner en **cobas**® Liat®-overføringspipette fra **cobas**® Liat®-overføringspipettepakken, mellom håndtering av prøver og **cobas**® Cdiff-testrør eller -kontrollflasker for å unngå kontaminering. Unngå kontaminering av hanskene når prøver og kontroller håndteres. Bruk laboratoriehansker, laboratoriefrakk og vernebriller når du håndterer prøver og reagenser.

- Unngå mikrobiell kontaminering og ribonukleasekontaminering av reagenser.
- Falske positive resultater kan oppstå hvis kontaminering av prøver ikke forhindres under prøvehåndtering.
- Prøver må håndteres som potensielt infeksjøs, og sikre laboratorierutiner må følges. Disse er beskrevet i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁰ og i CLSI-dokumentet M29-A4.²¹

Integritet

- Kit må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Ikke bland reagenser fra ulike kilder.
- Ikke bruk et skadet **cobas**® Cdiff-testrør eller et **cobas**® Cdiff-testrør som er mistet etter at det er tatt ut av folieposen.
- Ikke bruk et **cobas**® Cdiff-testrør om igjen. Hvis et **cobas**® Cdiff-testrør ikke ligger i en hylse, eller hvis testrørets prøverom allerede inneholder væske, må IKKE røret brukes.
- Alt utstyr må vedlikeholdes i samsvar med produsentens instruksjoner.
- Alle reagenssett må oppbevares på riktig måte. Se Tabell 3.

Kassering

- **cobas**® Cdiff-testrør må kastes i den egnede beholderen for biologisk farlig avfall som spesifisert av de lokale HMS-standardene.
- **cobas**® Cdiff-reagenser og -kontroller inneholder natriumazid (se “Advarsler og forholdsregler”). Natriumazid kan reagere med bly- og kobber og danne svært eksplosive metallazider. Hvis løsninger som inneholder natriumazid helles ned i avløp i laboratoriet, må de skylles ned med store mengder kaldt vann for å unngå azidoppbygging.
- Kast ubrukt testrør og avfall i henhold til nasjonalt, regionalt og lokalt regelverk.

Søl og rengjøring

- Hvis det søles på **cobas**® Liat® Analyser, må den rengjøres i samsvar med de relevante instruksjonene i brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System.

Taking, transport og oppbevaring av prøver

Alle prøver må behandles som om de er potensielt smittebærende.

Prøvetaking

cobas® Cdiff skal kun brukes til **prøver med halvløs eller løs avføring**. Dette er definert som en avføringsprøve som tar samme form som sin beholder. Overfør avføringsprøve til en ren, tørr og ubrukt beholder ved å følge institusjonens standardiserte prosedyrer.

Prøvestabilitet under transport og oppbevaring

Løse avføringsprøver er stabile ved romtemperatur (2–30 °C) i 2 dager, eller 2–8 °C i 9 dager før de overføres til **cobas**® PCR Media og testes på **cobas**® Liat® System (dette ble demonstrert ved å teste prøver etter sammenhengende oppbevaring ved 30±1 °C i 2 dager, etterfulgt av 2–8 °C i 7 dager).

Avføringsprøve resuspendert i **cobas**® PCR Media er stabil i 2–30 °C i 7 dager før testing på **cobas**® Liat® System.

C. difficile-prøver må transporteres i samsvar med nasjonale, regionale, statlige og lokale forskrifter for transport av biologisk materiale.

Testprosedyre

Arbeidsflyten Legg til lot

Figur 1: Arbeidsflyten Legg til lot

1	Start opp systemet og logg på.
2	Fjern kontrollør, testrør og overføringspipetter fra oppbevaringen.
3	Velg "Ny lot" fra Testmeny.
4	Skann strekkoden på ID-kortet med strekkode for pakningsvedlegg.
5	Skann og kjør den negative kontrollen.
6	Skann og kjør den positive kontrollen.

Arbeidsflyt for prøveoverføring

Figur 2: Arbeidsflyt for prøveoverføring

1	Senk prøvempenselen ned i avføringsprøven.
2	Plasser den inokulerte prøvempenselen i cobas ® PCR Media-rør.
3	Knekk av prøvempenselskaftet ved det grå hakket.
4	Sett lokk på røret og virvle rundt væsken i røret minst 5 ganger.

cobas® Cdiff-arbeidsflyt

Figur 3: Arbeidsflyt for **cobas**® Cdiff

1	Start opp systemet og logg på.
2	Fjern prøver, testrør og overføringspipetter fra oppbevaringen.
3	Velg "Kjør test" fra menyen "Hoved".
4	Skann cobas ® Cdiff-testrørets strekkode.
5	Skann eller angi prøve-ID-en.
6	Tilsett prøven i cobas ® Cdiff-testrøret ved å bruke overføringspipetten og lokk røret igjen.
7	Skann cobas ® Cdiff-testrørets strekkode på nytt.
8	Start kjøringen ved å sette inn cobas ® Cdiff-testrøret.
9	Gjennomgå resultater.*
10	Ta ut og kast det brukte cobas ® Cdiff-testrøret.

* Se gjeldende brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System for informasjon om resultatopplasting til DMS og LIS.

Bruksanvisning

Prosedyren Legg til lot

Før du bruker en ny lot med **cobas**® Cdiff-testrør, må prosedyren Legg til lot utføres på **cobas**® Liat® Analyser for å validere **cobas**® Cdiff-testrørloten på arbeidsstedet. Prosedyren går ut på å analysere en negativ kontrollprøve og en Cdiff positiv kontrollprøve.

Nødvendige materialer for prosedyren Legg til lot

- Ny lot med **cobas**® Cdiff-nukleinsyretest for bruk på **cobas**® Liat® System (to testrør)
- 2 overføringspipetter fra **cobas**® Liat®-overføringspipettepakken
- ID-strekkodekort i pakningsvedlegg for den nye loten med **cobas**® Cdiff-testrør
- **cobas**® Liat® Cdiff positiv kontroll
- **cobas**® Liat® negativ kontroll
- Strekkodekort for **cobas**® Liat® Cdiff positiv kontroll og **cobas**® Liat® negativ kontroll

*Merk: Se brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System for detaljert bruksanvisning.*

Prosedyre

1. Trykk på strømknappen for å starte **cobas**® Liat® Analyser.
2. Velg **Logg på** på skjermen til **cobas**® Liat® Analyser.
3. Angi brukernavn når du blir bedt om det, og velg **Angi**.
4. Angi passordet ditt når du blir bedt om det, og velg **Angi**.

*Merk: Du kan bli bedt om å bekrefte at du har lest brukerhåndboken (dvs. brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System).*

5. Velg **Testmeny** på hovedmenyen til en **cobas**® Liat® Analyser.
6. Velg **Ny lot** nederst i listen.
7. Når du blir bedt om å **Skann insert-ID**, velg **Skann**, og skann strekkodekortet med pakningsvedlegg-ID for **cobas**® Cdiff. Sørg for at det røde skannelyset dekker hele strekkoden.

Merk: Det kan hende du blir bedt om å bekrefte at du har lest pakningsvedlegget eller bruksanvisningen.

8. Når du blir bedt om å **Skann ID til neg. kontroll**, velg **Skann** og skann strekkodekortet for den negative kontrollen som fulgte med kontrollkitet. Sørg for at det røde skannelyset dekker hele strekkoden. Deretter vil **cobas**® Liat® Analyser vise meldingen **Tilsett negativ kontroll og skann rør-ID**.
9. Hold et rør med **cobas**® Liat® negativ kontroll loddrett, og bank det lett mot et flatt underlag for å samle væsken nederst i røret.
10. Åpne en foliepose med **cobas**® Cdiff-testrør (fra loten som skal tilsettes), og ta ut testrøret.
11. Bruk en overføringspipette fra **cobas**® Liat®-overføringspipettepakken til å tilsette **cobas**® Liat® negativ kontroll i **cobas**® Cdiff-testrøret. Klem hardt på pipetteballongen til ballongen er helt flat, senk så pipettespissen ned i væsken og slipp ballongen for å trekke opp prøven.

Merk: *Bruk kun overføringspipetten som følger med i cobas® Liat®-overføringspipettepakken, for å overføre kontroller og prøve til cobas® Cdiff-testrøret.*

12. Ta forsiktig av lokket på **cobas® Cdiff**-testrøret og sett pipetten inn i åpningen. Plasser pipettespissen nær bunnen av det åpne segmentet.
13. Klem langsomt på ballongen for å tømme innholdet i pipetten over i **cobas® Cdiff**-testrøret. Unngå at det dannes bobler i prøven. Ikke slipp pipetteballongen mens pipetten fortsatt er i **cobas® Cdiff**-testrøret.

Merk: *Ikke stikk hull på cobas® Cdiff-testrøret eller forseglingen i bunnen av delen av testrøret der prøven tilsettes. Hvis en av disse er skadet, må du kaste både cobas® Cdiff-testrøret og overføringspipetten og starte testprosedyren igjen med et nytt cobas® Cdiff-testrør og en ny pipette.*

14. Skru fast lokket på **cobas® Cdiff**-testrøret. Kast overføringspipetten.
15. Velg **Skann** og plasser **cobas® Cdiff**-testrøret vannrett på bordet under strekkodeleseren, slik at det røde lyset dekker hele strekkoden. Luken for innsetting av testrør øverst på **cobas® Liat® Analyzer** åpnes automatisk når strekkoden er avlest.
16. Fjern hylsen fra **cobas® Cdiff**-testrøret, og sett straks **cobas® Cdiff**-testrøret inn i **cobas® Liat® Analyzer** til testrøret klikkes på plass.

Merk: *cobas® Cdiff-testrøret kan kun plasseres én vei. Siden med sporet på cobas® Cdiff-testrøret må vende mot venstre når lokket vender opp.*

17. Hvis testrøret ikke er satt inn når luken lukkes, må du skanne strekkoden på **cobas® Cdiff**-testrøret på nytt og sette inn **cobas® Cdiff**-testrøret igjen. Når **cobas® Cdiff**-testrøret er satt inn riktig, vil **cobas® Liat® Analyzer** lukke luken automatisk og starte testen.
18. Under testen viser **cobas® Liat® Analyzer** analyseringsstatus og estimert tid som gjenstår. Når testen er fullført, og hvis **Resultat for negativ kontroll godtatt** vises, velger du **Bekreft**. Hvis resultatet blir forkastet, gjentar du analyseringen av den negative kontrollen (trinn 8–18). Hvis gjentatt kontrollkjøring ikke gir de forventede resultatene, må du kontakte den lokale representanten fra Roche.
19. Når testen er fullført, viser **cobas® Liat® Analyzer** meldingen **Ta ut testrøret langsomt og forsiktig** og åpner luken for innsetting av testrør automatisk. Løft **cobas® Cdiff**-testrøret langsomt ut av **cobas® Liat® Analyzer**. Kast det brukte **cobas® Cdiff**-testrøret i en beholder for biologisk farlig avfall.
20. Velg **Tilbake** for å fortsette med testingen av **cobas® Liat® Cdiff** positiv kontroll på samme instrument.
21. Følg likeledes trinn 8 til 17 med en **cobas® Liat® Cdiff** positiv kontroll i stedet for **cobas® Liat®** negativ kontroll.
22. Hvis meldingen “**Resultat av positiv kontroll godkjent. Lot ... lagt til.**” vises etter endt analysering, velger du **Bekreft** og deretter **Tilbake** for å gå tilbake til hovedmenyen. Hvis resultatet blir avvist, gjenta testen av **cobas® Liat® Cdiff** positiv kontroll. Hvis gjentatt kontrollkjøring ikke gir de forventede resultatene, må du kontakte den lokale representanten fra Roche.
23. Gjenta trinn 19.
24. Velg **Testmeny** for å bekrefte at den nye loten er lagt til.

Etter at Legg til lot er fullført på én analysator, må du bruke verktøymenyen på **cobas**® Liat Analyser med en USB-nøkkel for å overføre lotinformasjonen til de andre analysatorene ved institusjonen. Dette gjør det mulig for andre analysatorer å bruke denne **cobas**® Cdiff-testrørloten uten å måtte utføre prosedyren for å legge til lot på hver analysator. Følg instruksjonene i brukerhåndboken for **cobas**® Liat® System, og utfør en Eksporter testloter på analysatoren som Legg til lot ble utført på. Utfør deretter prosedyren Importer testloter på hver av de andre analysatorene ved institusjonen.

Prøveoverføring i **cobas**® PCR Media

1. Avføringsprøve må overføres til **cobas**® PCR Media-rør og testes innen tidsrammen beskrevet i avsnittet Prøvetaking, -transport og -oppbevaring. Den opprinnelige avføringsprøven kalles også primær prøve, og avføringssuspensjonen i **cobas**® PCR Media (se trinn nedenfor) kalles også sekundær prøve i dette dokumentet.
2. Bruk prøvepenselen i **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit til å overføre avføringsprøven. Før penselspissen helt inn i avføringsprøven, opp til enden av den smale delen, uten å berøre sidene på avføringsbeholderen.
3. Fjern og plasser inokulert prøvepensel i **cobas**® PCR Media-røret snarest. Ikke test prøven hvis det ikke er tilstrekkelig med avføring til at penselspissen kan senkes helt ned.
4. Brekk skaftet på penselen ved det grå merket ved å legge trykk mot siden av **cobas**® PCR Media-røret.
5. Sett lokk på røret og virvle rundt væsken i røret minst 5 ganger.

Merk: *cobas*® Cdiff-testen er godkjent for bruk sammen med kitet *cobas*® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Andre enheter eller medietyper er ikke validert for bruk med *cobas*® Cdiff.

Merk: *Unngå krysskontaminering av prøver med avføringssuspensjoner i cobas*® PCR Media ved å bruke lokk for *cobas*® PCR Media-rør i en annen farge (naturlig, se Valgfritt tilleggsutstyr) når prøvesuspensjonene skal settes lokk på etter behandling.

Merk: *cobas*® PCR Media-rør inneholder tilstrekkelig volum *cobas*® PCR Media til at avføringssuspensjoner kan analyseres flere ganger på *cobas*® Liat® System. Minste avføringssuspensjonsvolum for å utføre en *cobas*® Cdiff-kjøring er 0,2 ml.

Utføre **cobas**® Cdiff på kliniske prøver

Nødvendig materiale for å kjøre **cobas**® Cdiff

- **cobas**® Cdiff-testrør fra folieposen med **cobas**® Cdiff-test
- Overføringspipette fra **cobas**® Liat®-overføringspipettepakken
- Avføringsprøver som overføres og resuspenderes i **cobas**® PCR Media (se "Prøveoverføring i **cobas**® PCR Media")

Prosedyre

1. Kontroller at **cobas**® Liat® Analyser er slått på.
2. Velg **Logg på** på skjermen til **cobas**® Liat® Analyser.
3. Angi brukernavn når du blir bedt om det, og velg **Angi**.
4. Angi passordet ditt når du blir bedt om det, og velg **Angi**.

Merk: *Du kan bli bedt om å bekrefte at du har lest brukerhåndboken (dvs. brukerhåndboken for cobas*® Liat® System).

5. Velg **Kjør test** fra hovedmenyen.
6. Åpne en pose med **cobas® Cdiff**-testrør og ta ut testrøret. Når du blir bedt om å **Skann røret-ID**, velger du **Skann** og plasserer **cobas® Cdiff**-testrøret vannrett på bordet under strekkodeleseren, slik at det røde lyset dekker hele strekkoden.
7. Når du blir bedt om å **Skann prøve-ID**, velger du **Skann** for å skanne prøvestrekkoden. Hvis prøven ikke kan skannes, velg **Angi** for å angi prøve-ID-en manuelt.

Merk: Avhengig av den valgte analysatorkonfigurasjonen, velger du Bekreft-knappen hvis du må bekrefte den mottatte pasientinformasjonen.

8. Tilsett prøve i **cobas® Cdiff**-testrøret når du bes om det.
9. Bruk en overføringspipette fra **cobas® Liat®**-overføringspipettepakken til å overføre sekundærprøven. Klem hardt på pipetteballongen til ballongen er helt flat, senk så pipettespissen ned i væsken og slipp ballongen for å trekke opp prøven.

Merk: Bytt hansker før du tar en overføringspipette ut av cobas® Liat®-overføringspipettepakken for å unngå kontaminering av pipettepakken.

10. Ta forsiktig av lokket på **cobas® Cdiff**-testrøret og sett pipetten inn i åpningen. Plasser pipettespissen nær bunnen av det åpne segmentet.
11. Klem langsomt på ballongen for å tømme innholdet i pipetten over i **cobas® Cdiff**-testrøret. Ikke slipp pipetteballongen mens pipetten fortsatt er i **cobas® Cdiff**-testrøret.
12. Sett lokk på **cobas® Cdiff**-testrøret igjen, og kast overføringspipetten.

Merk: Pass på at ikke hansker, utstyr eller arbeidsflater blir krysskontaminert med restinnholdet i pipetten.

13. Velg **Skann** og skann den samme strekkoden på **cobas® Cdiff**-testrøret på nytt. Luken for innsetting av testrør på toppen av **cobas® Liat® Analyser** åpnes automatisk.
14. Fjern hylsen fra **cobas® Cdiff**-testrøret, og sett straks **cobas® Cdiff**-testrøret inn i **cobas® Liat® Analyser** til testrøret klikkes på plass.

Merk: cobas® Cdiff-testrøret kan kun plasseres én vei. Siden med sporet på cobas® Cdiff-testrøret må vende mot venstre når lokket vender opp.

15. Hvis testrøret ikke er satt inn når luken lukkes, må du skanne strekkoden på **cobas® Cdiff**-testrøret på nytt og sette inn **cobas® Cdiff**-testrøret igjen. Når **cobas® Cdiff**-testrøret er satt inn riktig, vil **cobas® Liat® Analyser** lukke luken automatisk og starte testen.
16. Under testen viser **cobas® Liat® Analyser** analyseringsstatus og estimert tid som gjenstår. Når testen er fullført, viser **cobas® Liat® Analyser** meldingen **Ta ut testrøret langsomt og forsiktig** og åpner luken for innsetting av testrør automatisk. Løft **cobas® Cdiff**-testrøret langsomt ut av **cobas® Liat® Analyser**. Kast det brukte **cobas® Cdiff**-testrøret i en beholder for biologisk farlig avfall.
17. Velg **Rapport** for å se resultatrapporten. Velg **Skriv ut** for å skrive ut rapporten om nødvendig.
18. Velg **Tilbake** og deretter **Hoved** for å gå tilbake til hovedmenyen for å kjøre neste test.

Utføre ytterligere kontrollkjøringer

I samsvar med krav fra lokale, regionale og/eller nasjonale akkrediteringsorganisasjoner kan ytterligere kontrollkjøringer utføres med en lot med **cobas**® Cdiff-testrør som allerede er lagt til med arbeidsflyten Legg til lot. Bruk **cobas**® Cdiff Positive and Negative Control Kit for bruk på **cobas**® Liat® System til å gjennomføre disse kjøringene.

Materialer som trengs for ytterligere kontrollkjøringer

- **cobas**® Cdiff-testrør og -overføringspipetter
- **cobas**® Liat® Cdiff positiv kontroll og/eller **cobas**® Liat® negativ kontroll
- Tilsvarende strekkoder for **cobas**® Liat Cdiff positiv kontroll og/eller **cobas**® Liat® negativ kontroll.

Prosedyre

Bruk prosedyren i avsnittet Utføre **cobas**® Cdiff på kliniske prøver til å utføre ytterligere kontrollkjøringer. I trinn 7 må du sørge for å bruke de medfølgende kontrollstrekкодene i **cobas**® Cdiff Positive and Negative Control Kit til å skanne som prøve-ID-strekkode. Tolkning av resultatene for **cobas**® Cdiff ved kjøring av ytterligere Cdiff positive kontroller eller negative kontroller vises i Tabell 9 og Tabell 10 i avsnittet Tolkning av resultater. Hvis det brukes andre strekkoder enn de medfølgende kontrollstrekкодene, kan det føre til feilaktige kontrollresultater.

Resultater

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater

Én cobas® Liat® Cdiff positiv kontroll og én cobas® Liat® negativ kontroll kjøres under prosedyren Legg til lot beskrevet tidligere. Gyldige resultater må oppnås for både den positive og negative kontrollen for den nye loten med cobas® Cdiff-testrør som skal valideres på instrumentet. Flere kontrollkjøringer kan utføres etter prosedyren Legg til lot. Se “Utføre ytterligere kontrollkjøringer” under Bruksanvisning for mer informasjon.

cobas® Liat® Cdiff internkontroll pakkes i hvert cobas® Cdiff-testrør og vil bli kjørt sammen med hver prøve under hele arbeidsflyten for testen.

Positiv kontroll

cobas® Liat® Cdiff positiv kontroll inneholder ikke-infeksiøse DNA-plasmider med *C. difficile*-målsekvens. cobas® Liat® Cdiff positiv kontroll verifiserer integriteten til reagenser i cobas® Cdiff-testrøret og at cobas® Liat Analyser fungerer som den skal. Hvis resultatene av cobas® Liat® Cdiff positiv kontroll ofte er ugyldige, må du kontakte den lokale representanten fra Roche for teknisk brukerstøtte.

Negativ kontroll

cobas® Liat® negativ kontroll inneholder ingen mål agens og overvåker potensiell målkontaminering i arbeidsflyten eller miljøet. Hvis resultatene av cobas® Liat® negativ kontroll ofte er ugyldige, må du kontakte den lokale representanten fra Roche for teknisk brukerstøtte.

Internkontroll

En internkontroll (Bti) for en hel organisme inngår i testrøret og tilsettes automatisk i alle prøver ved starten av prøveprepareringen. cobas® Liat® Cdiff-internkontroll er en kjemisk inaktivert bakterie som inngår i hvert cobas® Cdiff-testrør og behandles sammen med hver prøve. Internkontrollen kontrollerer for tilstrekkelig behandling av målbakteriene gjennom alle trinn av testen og overvåker forekomsten av hemmere i prøveprepareringen og PCR. cobas® Liat® Cdiff internkontroll bør være positiv i en negativ prøve og kan være negativ eller positiv i en Cdiff-positiv prøve.

Tolkning av resultater

Merk: All validering av prøve- og kontrollkjøringer er bestemt av cobas® Liat® System.

Resultater ved kjøring av prosedyren Legg til lot tolkes slik Tabell 7 viser.

Tabell 7: Tolkning av resultatene fra cobas® Cdiff ved kjøring av prosedyren Legg til lot

Vises på skjermen til cobas® Liat®-analysatoren	Utskrift og tolkning av rapport
Gyldig negativ kontroll	Gyldig negativ kontroll Kontrollen er negativ for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
Ugyldig negativ kontroll. Gjenta kjøring	Ugyldig negativ kontroll Resultatet er ugyldig. Den negative kontrollen bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Gjenta kjøring.
Gyldig positiv kontroll	Gyldig positiv kontroll Kontrollen er positiv for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
Ugyldig positiv kontroll. Gjenta kjøring	Ugyldig positiv kontroll Resultatet er ugyldig. Den positive kontrollen bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Gjenta kjøring.

Prøveresultater tolkes slik Tabell 8 viser.

Tabell 8: Tolkning av resultatene fra cobas® Cdiff ved kjøring av en klinisk prøve

Vises på skjermen til cobas® Liat®-analysatoren	Utskrift og tolkning av rapport
Cdiff Påvist	Cdiff Påvist Prøven er positiv for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
Cdiff Ikke påvist	Cdiff Ikke påvist* Prøven er negativ for <i>C. difficile</i> -DNA eller, hvis slikt er til stede, kunne ikke detekteres.
Ugyldig test	Ugyldig test** Resultatet er ugyldig. Den originale prøven bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Se "Forslag til prosedyre for re-testing".
Test avbrutt av bruker	Test avbrutt av bruker Kjøring avbrutt av brukeren. Den originale prøven bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Se "Forslag til prosedyre for re-testing".
Test avbrutt av system	Test avbrutt av system Kjøring avbrutt av systemet. Den originale prøven bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Se "Forslag til prosedyre for re-testing".

* Et negativt resultat utelukker ikke tilstedeværelsen av *C. difficile*-DNA ettersom resultatene er avhengig av korrekt prøvetaking, fravær av hemmere og tilstrekkelig DNA til at det kan påvises.

** Ugyldige resultater kan forekomme hvis prøven inneholder for mye avføring eller hemmende stoffer som hindrer ekstraksjon av nukleinsyremål og/eller amplifikasjon og deteksjon. Se "Testens begrensninger" for kjente interfererende substanser. Utilstrekkelig prøvevolum kan også føre til ugyldige resultater. Det minste volumet avføring / cobas® PCR Media-suspensjon som kreves for cobas® Cdiff, er 0,2 ml.

Resultater ved kjøring av flere kontroller etter å ha fulgt prosedyren Legg til lot tolkes slik Tabell 9 og Tabell 10 viser.

Tabell 9: Tolkning av resultatene fra **cobas® Cdiff** ved kjøring av positiv kontroll

Vises på skjermen til cobas® Liat® -analysatoren	Utskrift og tolkning av resultatrapport
Gyldig positiv kontroll	Gyldig positiv kontroll Kontrollen er positiv for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
Ugyldig positiv kontroll	Ugyldig positiv kontroll Resultatet er ugyldig. Den positive kontrollen bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Gjenta kjøring.

Tabell 10: Tolkning av resultatene fra **cobas® Cdiff** ved kjøring av negativ kontroll

Vises på skjermen til cobas® Liat® -analysatoren	Utskrift og tolkning av resultatrapport
Gyldig negativ kontroll	Gyldig negativ kontroll Kontrollen er negativ for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
Ugyldig negativ kontroll	Ugyldig negativ kontroll Resultatet er ugyldig. Den negative kontrollen bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Gjenta kjøring.

Forslag til prosedyre for re-testing

Ugyldige og mislykkede/avbrutte kjøring kan gjentas én gang med samme sekundære prøve. Hvis den gjentatte kjøringen fortsatt er ugyldig, kan en ny sekundær prøve prepareres fra den primære avføringsprøven. Ta alternativt en ny primær prøve, hvis det er mulig, for å utføre **cobas® Cdiff** igjen.

Testens begrensninger

- cobas® Cdiff** er bare validert for bruk med løse eller halvfaste avføringsprøver som er overført til **cobas® PCR Media**-røret i samsvar med denne bruksanvisningen (også kalt pakningsvedlegg).
- Pålitelige resultater er avhengig av adekvat prøvetaking, transport, oppbevaring og håndtering. Følg prosedyrene i denne bruksanvisningen for **cobas® Cdiff** og brukerhåndboken for **cobas® Liat® System**.
- Deteksjon av *C. difficile*-DNA avhenger av antall organismer som er til stede i prøven og kan påvirkes av prøvetaking/ behandlingsmetoder, tidligere sykehistorie, antibiotikabehandling og *C. difficile*-stammer.
- Falske negative eller ugyldige resultater kan oppstå pga. interferens fra ulike substanser. Internkontrollen er inkludert i **cobas® Cdiff**-testen for å bidra til å identifisere prøver som inneholder substanser som kan interferere med nukleinsyreisolasjon og PCR-amplifikasjon. Kjente interfererende substanser inkluderer, men er ikke begrenset til, følgende:
 - Prøver som inneholder mer enn 50 % (vekt/volum) slim, kan gi falske negative resultater.
- Et positivt resultat indikerer tilstedeværelse av *C. difficile*-DNA og ikke nødvendigvis levedyktige organismer. Denne testen anbefales derfor ikke til bruk ved behandlingsovervåking eller som en tilhelingstest.
- Mutasjoner eller polymorfismer i primer- eller probe-bindende regioner kan påvirke deteksjon av nye eller ukjente varianter, noe som fører til et falskt negativt resultat med **cobas® Cdiff**-testen.
- Den prediktive verdien av en analyse avhenger av prevalensen av sykdommen i en bestemt populasjon.
- Bruk av dette produktet må begrenses til personell som har fått opplæring i bruken av **cobas® Liat® System**.

Evaluering av ytelse

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitiviteten (deteksjonsgrensen eller LoD) for **cobas**® Cdiff-testen ble bestemt ved å analysere kvantifiserte *C. difficile*-kulturer fortynnet til flere konsentrasjonsnivåer i negativ bakgrunn med avføringssuspensjon i **cobas**® PCR Media. Alle nivåer ble testet i tre replikater hver med to unike loter **cobas**® Cdiff-testrør. Det laveste nivået med 100 % treffprosent ble testet med ytterligere replikater for å bekrefte LoD-nivået. Hvis den samlede treffraten for det nivået var mindre enn 95 %, ble panelnivået over testet med ytterligere replikater. Endelig LoD-nivå ble bekreftet med minst 21 ytterligere replikater. LoD for denne testen defineres som målkonsentrasjonen som kan detekteres som positiv i ≥ 95 % av replikatene som ble testet, basert på resultater generert av reagensloten med dårligst ytelse.

Resultatene fra studien av analytisk sensitivitet vises i Tabell 11.

Tabell 11: Deteksjonsgrense (LoD) for **cobas**® Cdiff-testen

Stamme-ID	Toksintype	REA*-type	PFG [†] -type	Ribotype	Fenotype	LoD (CFU/pensel)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N/A	N/A	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Restriksjonsendonukleaseanalyse. † Pulse Field Gel.

Deteksjon av *C. difficile*-genotyper

Deteksjonsgrensen for **cobas**® Cdiff på 37 toksigene stammer som representerer ytterligere toksintyper, ble verifisert ved å teste tre replikater per stamme ved tre ganger LoD-nivået (270 CFU/pensel) med ATCC 43255. Fortynninger og testprøver ble preparert på lignende måte som i deteksjonsgrensestudien (LoD-studien) beskrevet over.

Alle 37 toksigene stammer (Tabell 12) ble detektert som 100 % positive i denne studien, noe som bekrefter at **cobas**® Cdiff kan detektere disse *C. difficile*-toksintypene.

Tabell 12: Sammendrag av resultater for verifisering av toksigen *C. difficile*

	Cdiff-stamme	Toksintype	Ribotype	Treffrate
1	ATCC# BAA-1382, 630	0	12	100,00 %
2	EX 623	I	102	100,00 %
3	AC 008	II	103	100,00 %
4	2004118, CDC-204118 (NAP-1)	III	27	100,00 %
5	SE 844	IIIa	80	100,00 %
6	CH6230	IIIc	N/A	100,00 %
7	P43	IV	N/A	100,00 %
8	55767	IV	23	100,00 %
9	2748-06	V	78	100,00 %
10	SE 881	V	45	100,00 %
11	SE 1203	VI	33	100,00 %
12	57267	VII	63	100,00 %
13	ATCC# 43598, 1470	VIII	17	100,00 %
14	51680	IX	19	100,00 %
15	CCUG 8864/STCC20309	X	36	100,00 %
16	F15	XII	N/A	100,00 %
17	IS 25	XII	56	100,00 %
18	R 9367	XIII	70	100,00 %

	Cdiff-stamme	Toksintype	Ribotype	Treffrate
19	R 10870	XIV (ny XIVa)	111	100,00 %
20	R 9385	XV (ny XIVb)	122	100,00 %
21	SUC36	XVI	78	100,00 %
22	No 1313	XVII	232	100,00 %
23	K095	XVIII	14	100,00 %
24	TR13	XIX	N/A	100,00 %
25	TR14	XX	N/A	100,00 %
26	CH6223	XXI	N/A	100,00 %
27	CD07-468	XXII	N/A	100,00 %
28	8785	XXIII (ny IXc)	N/A	100,00 %
29	597B	XXIV	131	100,00 %
30	7325	XXV	27	100,00 %
31	7459	XXVI	N/A	100,00 %
32	KK2443/2006	XXVII	N/A	100,00 %
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00 %
34	CD07-140	XXIX	56	100,00 %
35	ES 130	XXX	N/A	100,00 %
36	WA 151	XXXI	N/A	100,00 %
37	173070	XXXII	N/A	100,00 %

Presisjon

En intern presisjonsstudie ble utført ved hjelp av et panel sammensatt av *C. difficile*-dyrkning ATCC 43255 fortyntet i negativ avføringsuspensjon i cobas® PCR Media til konsentrasjonsnivåer under deteksjonsgrensen (LoD), nær LoD og over LoD for cobas® Cdiff. Et negativt nivå sammensatt av kun suspensjonen med negativ avføring i cobas® PCR Media ble også testet. Studien brukte tre unike loter med cobas® Cdiff-testreagenser og seks instrumenter for i alt 192 kjøringar over 12 dager. En beskrivelse av presisjonspanelene og studiesammendraget er angitt i Tabell 13.

Analyse av varianskomponenter (Tabell 14) tydet på at det meste av variabiliteten for mål-Ct-verdier kan tilskrives tilfeldige faktorer og instrumentfaktorer (henholdsvis 67 % og 32 %) for konsentrasjonsnivåer på eller rundt LoD. For konsentrasjonsnivåer over LoD tilskrives det meste av Ct-verdivariabiliteten tilfeldige faktorer og faktorer fra lot til lot (henholdsvis 58 % og 20 %). Resultatene (Tabell 15) viste at mål-Ct-verdiene hadde samlet CV (%) på 2,4 % for konsentrasjonsnivåer på LoD og 2,3 % for konsentrasjonsnivåer over LoD.

Tabell 13: Intern presisjonsstudie med analyse av positivitetsrate

Panelprøve	N testet	N positiv	Positivitetsrate	95 % CL	
				Nedre	Øvre
Negativ	48	0	0,0 %	0,0 %	7,4 %
< 1 × LoD	48	33	68,8 %	54,7 %	80,1 %
~1 × LoD	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %
~3 × LoD	48	48	100,0 %	92,6 %	100,0 %

LoD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Tabell 14: Ct-variansanalyse av komponenter for presisjonspanelmedlemmer

Nivå	Gjennomsnitt Ct	Varianskomponenter/prosentvis bidrag for total				Totalt
		Lot	Instrument	Dag	Tilfeldig	
~1 × LoD	31,8	0,008	0,189	0	0,398	0,595
		1 %	32 %	0 %	67 %	100,00 %
~3 × LoD	30,3	0,097	0,049	0,055	0,274	0,476
		20 %	10 %	12 %	58 %	100,00 %

LoD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Tabell 15: Ct-standardavvik og variasjonskoeffisienter (%) – analyse for presisjonspanelprøver

Nivå	Gjennomsnitt Ct	SD-komponenter/prosent-CV				Totalt
		Lot	Instrument	Dag	Tilfeldig	
~1 × LoD	31,8	0,089	0,434	0	0,631	0,771
		0,30 %	1,40 %	0 %	2,00 %	2,40 %
~3 × LoD	30,3	0,312	0,222	0,234	0,524	0,69
		1,00 %	0,70 %	0,80 %	1,70 %	2,30 %

LoD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Analytisk spesifisitet

For å vurdere den analytiske spesifisiteten til **cobas**® Cdiff-testen ble følgende organismepaneller testet:

- 1) 118 bakterier, sopp og virus som finnes i avføringsprøver, og én type human celle (Tabell 16)
- 2) 32 *Clostridium* genus/organismer, inkludert ikke-toksigen *C. difficile* (Tabell 17)

Analytisk spesifisitet for *Clostridium botulinum* ble predikert ved hjelp av BLAST-programmet opp mot GenBank-nukleotidsekvensdatabasen for å imitere generering av PCR-amplikon.

Alle bakterier og humane celler ble tilsatt til 1×10^6 enheter*/ml, og alle virus ble tilsatt til 1×10^5 enheter*/ml ekvivalent i avføringsmatrise. Testing ble utført med kun organismene eller med to toksigene *C. difficile*-isolater individuelt til stede ved $3 \times$ deteksjonsgrensen (LoD) for **cobas**® Cdiff. Resultatene indikerte at ingen av disse organismene interfererte med deteksjonen av tiltenkte Cdiff-mål. Ingen ga falske positive resultater når det tiltenkte *C. difficile*-målet ikke var til stede.

* Bakterier ble kvantifisert i kolonidannende enheter (CFU)/ml, human celle ble kvantifisert i celler/ml, og virus ble kvantifisert i TCID₅₀/ml, bortsett fra *Chlamydia trachomatis*, som ble kvantifisert i IFU/ml.

Tabell 16: Testede mikroorganismer og humane celler

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> ATCC 35655	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i> ATCC 8750	<i>Anaerococcus tetradius</i>	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i> ATCC 33559	<i>Campylobacter jejuni</i> ATCC 43479
<i>Campylobacter jejuni</i> subsp. <i>jejuni</i> ATCC 33292	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i> serovar L2 LGVII454	<i>Citrobacter amalonaticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter sedlakii</i>
<i>Collinsella aerofaciens</i>	<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>
<i>Edwardsiella tarda</i>	<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus cecorum</i>
<i>Enterococcus dispar</i>	<i>Enterococcus faecium</i> van A	<i>Enterococcus faecalis</i> van B
<i>Enterococcus gallinarum</i> van C	<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>
<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i> O157:H7 ATCC 700927
<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>	<i>Fusobacterium varium</i>
<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>	<i>Hafnia alvei</i>
HCT-15 humane celler	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC BAA-839	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 33584	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Salmonella enterica</i> serovar <i>Choleraesuis</i> ATCC 7001	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> ATCC 13314 (tidligere kjent som <i>Salmonella</i> <i>choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Typhimurium</i> ATCC 14028	<i>Serratia liquefaciens</i> CMCC 169
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 27592	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus</i> sp. stamme V8 ATCC 12973	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia rohdei</i>	Cytomegalovirus (HHV5)
Humant adenovirus type 41	Humant coxsackievirus A4	Humant coxsackievirus B4
Humant echovirus 11	Humant enterovirus 71	Humant rotavirus
Norovirus GII	-	-

Tabell 17: *Clostridium* genus/organismer, inkludert ikke-toksigen *C. difficile*

<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bolteae</i>
<i>Clostridium botulinum</i> *	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Clostridioides difficile</i> serogruppe B (ikke-toksigen)	<i>Clostridioides difficile</i> serogruppe I (ikke-toksigen)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (ikke-toksigen type XIa)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (ikke-toksigen type XIa)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (ikke-toksigen type XIb)**	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (også kalt <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 15579	<i>Clostridium sporogenes</i> CCRI 11128	<i>Clostridium symbiosum</i>
<i>Clostridium tertium</i>	<i>Clostridium tetani</i>	-

* Basert på BLAST-programanalyse.

** Tre ikke-toksigen Cdiff-stammer (toksintype XI) som ble testet under inklusivetsstudie, ble ikke påvist av **cobas**® Cdiff-testen og er inkludert i denne tabellen.

Interferens

Trettiåtte vanlig brukte legemidler, i tillegg til fett i avføring, fullblod og mucin, ble testet for mulige interferenseffekter med **cobas**® Cdiff. Alle substanser ble testet ved nivåer over det som var rimelig å forvente ved prøvetaking med en pensel i en avføringsprøve. Mengden interferenssubstans uttrykkes som konsentrasjon i primær avføringsprøve. To *C. difficile*-isolater ble spiket med $3 \times$ deteksjonsgrense (LoD) for **cobas**® Cdiff-testen og brukt som mål i testene. Ingen interferens ble observert for eksogene substanser. Opptil 39 % (vekt/volum) fett i avføring viste ingen interferens, opptil 100 % (vekt/volum) fullblod viste ingen interferens og opptil 50 % (vekt/volum) slim viste ingen interferens. Disse resultatene er oppsummert i Tabell 18.

Tabell 18: Resultater fra testing av interferenssubstanser

Substans	Konsentrasjon
Fekalt fett	0,22–39 % (vekt/volum)
Fullblod	100 % (vekt/volum)
Slim	50 % (vekt/volum)
Aleve	100 % (vekt/volum)
Mylanta	100 % (vekt/volum)
Anusol	100 % (vekt/volum)
Dulcolax	23 %* (vekt/volum)
Equate lakserende middel	50 %* (vekt/volum)
Equate hydrokortison	100 % (vekt/volum)
E-Z-HD bariumsulfat	100 % (vekt/volum)
Fleet	100 % (vekt/volum)
Glyserinstikkpiller	100 % (vekt/volum)
Gravol stikkpiller	100 % (vekt/volum)
Gynol II prevensjonsmiddel	10 %* (vekt/volum)
Imodium	100 % (vekt/volum)
Kaopectate	100 % (vekt/volum)
K-Y Jelly	100 % (vekt/volum)
Metronidazol	100 % (vekt/volum)
Mikonazol	100 % (vekt/volum)
Mineralolje	100 % (vekt/volum)
Monistat krem	100 % (vekt/volum)
Monistat Complete Care	100 % (vekt/volum)
Nystatin salve	100 % (vekt/volum)
Palmitinsyre	100 % (vekt/volum)
Pedia Lax	100 % (vekt/volum)
Pepto Bismol	25 %* (vekt/volum)
Trollhassel	50 %* (vekt/volum)
Preparation H hemorroidekrem	100 % (vekt/volum)
Preparation H hemorroidesalve	100 % (vekt/volum)
Dramamin	12,5 %* (vekt/volum)
Stearinsyre	100 % (vekt/volum)
Dokusatnatrium	100 % (vekt/volum)
Tums	50 %* (vekt/volum)
Mesalamin rektalvæske, suspensjon	100 % (vekt/volum)
Vagisil krem mot kløe	12,5 %* (vekt/volum)
Vancomycin	100 % (vekt/volum)
Vaselin	100 % (vekt/volum)
Solkrem	100 % (vekt/volum)
Monistat vaginalinnsats	100 % (vekt/volum)
Vaginal prevensjonsfilm	100 %
Spermdrepende kondomer	100 %

Klinisk ytelse ved bruk av kliniske prøver

Ytelsen til cobas® Cdiff ble sammenlignet med en kommersielt tilgjengelig moderne komparatornukleinsyretest (NAT) ved hjelp av cytotoksisitetstesting av vevskultur på *C. difficile*-isolatene fra direkte og anrikt dyrkning som referansemetode. Fire hundre og førtito prospektivt innsamlede avføringsprøver fra to institusjoner og 284 fryste arkiverte avføringsprøver fra fem institusjoner ble testet med cobas® Cdiff og komparator-NAT. En ny alikvot av prøvene ble sendt til et referanselaboratorium for cytotoksisitetstesting av vevskultur.

cobas® Cdiff-testen og den avanserte komparator-NAT-testen ble utført i henhold til produsentens instruksjoner. Cytotoksisitetstesting av vevskulturen ble utført ved hjelp av direkte og anrikede kulturprosedyrer. Hver avføringsprøve ble altså inokulert på forhåndsreduert cykloserin-cefoksitin-fruktose-agar (CCFA-HT) og CCMB TAL-buljong først. CCMB Tal-buljongen ble inkubert i 48–72 timer og subdyrket på Brucella-agar i 5 dager ved 35 °C. Hvis *C. difficile*-koloniene var vanskelige å isolere, ble organismene subdyrket på CCFA-VA-agar. Mistenkte kolonier ble identifisert som *C. difficile* ved gramfarging, aerob intoleranse og med Pro-Disk-testen, og ble inokulert i anaerob buljong med hakket kjøtt. Supernatantanter fra anaerob buljong med hakket kjøtt behandles deretter for deteksjon av *C. difficile*-toksin B ved hjelp av cytotoksisitetstest for vevskultur (*C. DIFFICILE* TOX-B-test, Techlab).

Det var 155 *C. difficile*-positive prøver ved kombinert direkte og anrikt dyrkning (prevalens: 21,3 %). Ytelsen til cobas® Cdiff og komparator-NAT mot dyrkning vises i Tabell 19 til Tabell 21. Korrelasjonen med direkte kulturresultater og med kombinerte direkte og anrikede kulturresultater vises. Kombinerte resultater vil si at hvis enten det direkte eller det anrikede kulturresultatet, eller begge, er positive, vurderes prøven som positiv for kombinert kulturresultat. Først når både direkte og anrikede kulturresultater er negative, vurderes prøven som negativ for kombinert kulturresultat.

Korrelasjon mellom cobas® Cdiff og dyrkning

Ytelsen til cobas® Cdiff sammenlignet med direkte dyrkning, og kombinert direkte og anrikt dyrkning, vises i henholdsvis Tabell 19 og Tabell 20.

Tabell 19: cobas® Cdiff-testen sammenlignet med direkte dyrkning

		Direkte dyrkning		
		Positiv	Negativ	Totalt
cobas® Cdiff	Positiv	129	21	150
	Negativ	9	567	576
	Totalt	138	588	726
Sensitivitet	93,5 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 88,1–96,5 %)			
Spesifisitet	96,4 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 94,6–97,7 %)			
Negativ prediktiv verdi	98,4 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 97,1–99,3 %)			
Positiv prediktiv verdi	86,0 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 79,5–90,7 %)			

Tabell 20: cobas® Cdiff-testen sammenlignet med direkte og anriket dyrkning

		Direkte og anriket dyrkning		
		Positiv	Negativ	Totalt
cobas® Cdiff	Positiv	139	11	150
	Negativ	14	562	576
	Totalt	153	573	726
Sensitivitet	90,8 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 85,2–94,5 %)			
Spesifisitet	98,1 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 96,6–98,9 %)			
Negativ prediktiv verdi	97,6 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 96,0–98,5 %)			
Positiv prediktiv verdi	92,7 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 87,3–95,9 %)			

Korrelasjon mellom cobas® Cdiff og komparator-NAT

Ytelsen til cobas® Cdiff i direkte sammenligning med en kommersielt tilgjengelig moderne komparator-NAT vises i Tabell 21.

Tabell 21: cobas® Cdiff-testen sammenlignet med komparator-NAT (nukleinsyrestest)

		Komparator-NAT		
		Positiv	Negativ	Totalt
cobas® Cdiff	Positiv	145	5	150
	Negativ	6	570	576
	Totalt	151	575	726
Positivt samsvar	96,0 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 91,6–98,2 %)			
Negativt samsvar	99,1 % (nøyaktig 95 % 2-sidig konfidensintervall 98,0–99,6 %)			

Ugyldig rate

Ugyldig rate for cobas® Cdiff ble beregnet fra 978 testresultater av individuelle kliniske prøver, som omfatter de 726 prøvene i korrelasjonsstudien. 2 av 978 testede prøver hadde ugyldige cobas® Cdiff-resultater. Ved ny testing genererte 1 av de 2 prøvene gyldig resultat, og den andre forble ugyldig. Den initielle prøvens ugyldige rate for cobas® Cdiff i denne gruppen av prøver var 0,2 %, og den ugyldige raten ved ny testing var 0,1 %.

Feilkoder

Følgende feilkoder som er beskrevet på Tabell 22, kan vises på resultatrapporten basert på testresultatets tolknings- og beregningsprosess.

Tabell 22: Feilkoder og definisjoner

Feilkode	Prøve	Negativ kontroll (Legg til lot)	Positiv kontroll (Legg til lot)
r0	IC negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring	IC negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring	IC negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff positiv mens IC negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring	N/A	Cdiff og/eller IC negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring
FP	N/A	Cdiff positiv eller ugyldig. Gjenta kjøring	N/A
g0	N/A	N/A	Cdiff negativ eller ugyldig. Gjenta kjøring
g1			
g3			
g4			
x5	For lavt prøvevolum	For lavt prøvevolum	For lavt prøvevolum

Merk*: Feilkode r3 vises ikke for positive og negative kontroller.

Merk**: Feilkode x4 vises ikke for positiv kontroll (Legg til lot). For positiv kontroll kan x4-feilkoden utløses bare når feilen skjer under ytterligere positive kontrollkjøringer etter prosedyren Legg til lot (se "Utføre flere kontrollkjøringer").

Mer informasjon om feilkoder finnes i gjeldende brukerhåndbok for cobas® Liat® System.

Tilleggsinformasjon





















































Viktige analysefunksjoner

Prøvetype	Løse avføringsprøver
Mengde nødvendig prøve	4,3 ml cobas ® PCR Media leveres med hvert cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit, minst 0,2 ml er nødvendig for en cobas ® Cdiff.
Testvarighet	Resultater er tilgjengelige innen ~20 minutter etter innlasting av prøven på systemet.
Analytisk sensitivitet	Fra 45 til 90 CFU/pensel avhengig av isolat.
Spesifisitet	Ingen kryssreaktivitet med 149 nært beslektede organismer eller organismer som normalt finnes i avføringsprøver.
Inklusivitet	Alle kjente <i>C. difficile</i> (toksintyper 0~XXXI, unntatt ikke-toksigene toksintyper XI) inkludert BI/NAP1/027 hypervirulent epidemisk stamme.

Symboler

Følgende symboler brukes ved merking for Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabell 23: Symboler brukt ved merking av Roche PCR-diagnostiske produkter

 Alder eller fødselsdato	 Utstyr ikke for pasientnær testing	 QS IU per PCR-reaksjon, bruk QS internasjonale enheter (IU) per PCR-reaksjon ved beregning av resultatene.
 Tilleggsprogramvare	 Utstyr ikke for selvtesting	 Serienummer
 Angitt område (kopier/ml)	 Distributør (Merk: Gjeldende land/region kan være angitt under symbolet.)	 Sted
 Angitt område (IU/ml)	 Skal ikke brukes om igjen	 Standardprosedyre
 Autorisert representant i EU	 Kvinne	 Sterilisert med etylenoksid
 Strekkodedataark	 Kun for evaluering av IVD-ytelse	 Oppbevares på et mørkt sted
 Partikode	 Globalt handelsnummer	 Temperaturbegrensning
 Biologisk risiko	 Importør	 Testdefinisjonsfil
 Katalognummer	 <i>In vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr	 Denne siden opp
 CE-samsvarsmerking; dette utstyret er i samsvar med gjeldende krav til CE-merking av <i>in vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr	 Nedre grense for akseptområdet	 UltraSensitive-prosedyre
 Prøvetakingsdato	 Mann	 Unik utstys-ID
 Vennligst se brukerhjelpen	 Produsent	 Øvre grense for akseptområdet
 Inneholder tilstrekkelig til <n> tester	 Negativ kontroll	 Fyllestrek for urin
 Innhold i kitet	 Ikke-steril	 Kun USA: Føderal lov begrenser salg eller bestilling av dette utstyret til leger.
 Kontroll	 Pasientnavn	 Utløpsdato
 Produksjonsdato	 Pasientnummer	
 Utstyr til pasientnær testing	 Riv av her	
 Utstyr for selvtesting	 Positiv kontroll	
	 QS-kopier per PCR-reaksjon, bruk QS-kopier per PCR-reaksjon ved beregning av resultater.	

Teknisk støtte

For teknisk brukerstøtte (hjelp), kontakt din lokale Roche-representant:

https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Produsent og importør

Tabell 24: Produsent og importør



Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Laget i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varemerker og patenter

Se <https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents>

Opphavsrett

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referanser

1. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing Clostridia. *Am J Vet Res.* 1978;39(9):1525-1530.
2. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet.* 1978;1(8073):1063-1066.
3. Leffler D.A., Lamont J.T. Clostridium difficile Infection. *N Engl J Med* 2015; 372:1539-1548.
4. Bartlett J. G. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med.* 2002;346(5):334-9.
5. Vindigni S. M, Surawicz C. M. C. difficile Infection: Changing Epidemiology and Management Paradigms. *Clinical and Translational Gastroenterology.* 2015; 6, e99; doi:10.1038/ctg.2015.24.
6. Hensgens M. P., Keessen E. C., Squire M. M., Riley T. V., Koene M. G., de Boer E. Clostridium difficile infection in the community: a zoonotic disease? *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(7):635-45.
7. Kelly C. P., LaMont J. T. Clostridium difficile--more difficult than ever. *N Engl J Med.* 2008;359(18):1932-40.
8. Wolfhagen M. J., Torensma R., Fluit A. C., J Verhoef. Toxins A and B of Clostridium difficile. *FEMS Microbiol Rev.* 1994;13(1):59-64.
9. Johnson S., Sambol S. P., Brazier J. S., Delmee M., Avesani V., Merrigan M. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive Clostridium difficile variants. *J Clin Microbiol.* 2003;41(4):1543-7.
10. Brecher S. M., Novak-Weekley S. M., E Nagy. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infections: there is light at the end of the colon. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America.* 2013;57(8):1175-81.
11. Surawicz C. M., Brandt L. J., Binion D. G., Ananthakrishnan A. N., Curry S. R., H Gilligan P. Guidelines for diagnosis, treatment, and prevention of Clostridium difficile infections. *The American journal of gastroenterology.* 2013;108(4):478-98; quiz 99.
12. Curry SR. Clostridium difficile. *Clinics in Laboratory Medicine.* June 2017; 37(2):341-6.
13. Sloan L. M., Duresko B. J., Gustafson D. R., Rosenblatt J. E. Comparison of real-time PCR for detection of the tcdC gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of Clostridium difficile infection. *J Clin Microbiol.* 2008;46(6):1996-2001.
14. Deshpande A., Pasupuleti V., Rolston D. D., Jain A., Deshpande N., Pant C. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of Clostridium difficile in the stool samples of patients with suspected Clostridium difficile Infection: a meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2011;53(7):e81-90.
15. Kufelnicka A. M., J Kirn T. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection. *Clin Infect Dis.* 2011;52(12):1451-7.
16. Tenover F. C., Baron E. J., Peterson L. R., H Persing D. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? *J Mol Diagn.* 2011;13(6):573-82.
17. Peterson L. R., Mehta M. S., Patel P. A., Hacek D. M., Harazin M., Nagwekar P. Laboratory testing for Clostridium difficile infection: light at the end of the tunnel. *Am J Clin Pathol.* 2011;136(3):372-80.

18. Monaghan T., Boswell T., Mahida Y. Recent advances in Clostridium difficile-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-60.
19. Longo MC, Berninger MS, Hartley JL. Use of uracil DNA glycosylase to control carry-over contamination in polymerase chain reactions. Gene. 1990;93:125-128.
20. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
21. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevisjon

Informasjon om dokumentrevisjon	
Doc Rev. 5.0 04/2024	<p>Revidert for å overholde IVDR-krav.</p> <p>Justert og oppdatert referanser og prosedyrer til støtte for cobas® Liat® Analyzer Software 3.3.</p> <p>Fareinformasjonen er oppdatert.</p> <p>Tekst om tiltenkt bruker er lagt til.</p> <p>Tabell 18 er oppdatert for å inkludere konsentrasjonsenheter og fjerne overflødig informasjon.</p> <p>Overskriften på avsnittet Inklusivitet er oppdatert til overskriften Deteksjon av <i>C. difficile</i>-genotyper.</p> <p>Skrivefeil og generelle presiseringer er korrigert.</p> <p>Oppdaterte den harmoniserte symbolsiden.</p> <p>Oppdatert avsnitt Varemerker og patenter, inkludert koblingen.</p> <p>Informasjon om beskrivelse og bruk av cobas® Liat®-overføringspipettepakker (12 pipetter/pakke, kat.nr. 09329676001) er lagt til.</p> <p>Kontakt den lokale representanten fra Roche hvis du har noen spørsmål.</p>