



Rx Only

cobas[®] Cdiff

Nukleinsyratest för användning på cobas[®] Liat[®] System

För *in vitro*-diagnostisk användning

**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

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Avsedd användning	4
Sammanfattning och förklaring av testet	4
Bakgrund: Detektion av <i>C. difficile</i>	4
Förklaring av testet.....	5
Användningsprinciper.....	5
Provberedning	5
PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®	5
Selektiv amplifiering	5
Reagens och material	6
cobas® Cdiff-reagens och -kontroller	6
Förvaring och hantering av reagens	8
Extramaterial som behövs.....	8
Tillval.....	9
Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer.....	9
Försiktighetsåtgärder och information om hantering	9
Varningar och säkerhetsåtgärder.....	9
God laboratoriesed.....	9
Kontamination.....	10
Integritet	10
Avfallshantering	10
Spill och rengöring.....	10
Provtagning, transport och förvaring av prover	11
Provtagning	11
Transport, förvaring och hållbarhet för prover	11
Testprocedur	11
Arbetsflödet ”Lägg till lot”.....	11
Arbetsflöde för provöverföring	11
Arbetsflöde för cobas® Cdiff	12
Bruksanvisning	13
Proceduren ”Lägg till lot”	13
Överföring av prover till cobas® PCR Media.....	14
Utföra cobas® Cdiff på kliniska prover.....	15
Utföra ytterligare kontrollkörningar	16

Resultat	17
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten.....	17
Positiv kontroll	17
Negativ kontroll.....	17
Internkontroll	17
Tolkning av resultat	18
Rekommenderad procedur för omtestning.....	19
Testets begränsningar	19
Icke-kliniska prestandaegenskaper	20
Analytisk sensitivitet	20
Detektion av <i>C. difficile</i> -genotyper	20
Precision	22
Analytisk specificitet	23
Interferens	25
Korrelation	27
Korrelation för cobas® Cdiff med odling	27
Korrelation för cobas® Cdiff med jämförande NAT-test.....	28
Andel ogiltiga resultat.....	28
Felkoder	29
Ytterligare information.....	30
Viktiga testegenskaper	30
Symboler.....	31
Teknisk support.....	32
Tillverkare och importör	32
Varumärken och patent.....	32
Copyright.....	32
Referenser	33
Revidering av dokumentet	35

Avsedd användning

Nukleinsyratestet **cobas® Cdiff** för användning på **cobas® Liat® System** är ett automatiskt, kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test som använder PCR (Polymerase Chain Reaction) i realtid för detektion av toxin B-genen (*tcdB*) i toxikogena *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) i flytande eller icke-fasta faecesprover erhållna från patienter med misstänkt *C. difficile*-infektion (CDI). Nukleinsyratestet **cobas® Cdiff** för användning på **cobas® Liat® System** är avsett som hjälp vid diagnos av CDI hos människor i samband med kliniska och epidemiologiska riskfaktorer.

Sammanfattning och förklaring av testet

Bakgrund: Detektion av *C. difficile*

Clostridioides difficile (*C. difficile*) är en grampositiv, anaerob, sporbildande bacill som identifierades som ett etiologiskt agens för antibiotika-associerad diarré och pseudomembranös kolit under den senare delen av 1970-talet.^{1,2} *C. difficile* är den mest frekvent rapporterade nosokomiala patogenen³ och tros vara orsaken till 15–20 % av de antibiotikarelaterade fallen av diarré och nästan alla fall av antibiotika-associerad pseudomembranös kolit.⁴ Incidensen av *C. difficile*-infektion (CDI) har ökat fyrfaldigt på mindre än två decennier⁵ och är associerat med allvarlig sjukdom och dödlighet³. Ökningar av incidensen har delvis förklarats med uppkomsten av hypervirulenta stammar som ribotyp BI/O27/nordamerikansk pulsotyp 1 (NAP1). Gamla patienter och patienter inlagda på sjukhus som har använt antibiotika nyligen är de populationer som löper störst risk att drabbas av CDI, men CDI-frekvensen ökar även utanför sjukhusmiljön.^{3,6}

Infektioner överförs genom sporer, och personer som har smittats med toxikogena *C. difficile* kan bli asymptomatiska bärare eller utveckla sjukdom i tjocktarmen. De kliniska symptomen för *C. difficile*-infektion (CDI) varierar från lätt diarré till livshotande pseudomembranös kolit som kännetecknas av buksmärtor, kraftig diarré och systemiska symptom som feber, aptitlöshet, illamående och sjukdomskänsla. Trots den dramatiska ökningen av incidensen och de allvarliga följderna av CDI är metronidazol eller vankomycin fortfarande den vanligaste behandlingsmetoden för akuta och återkommande infektioner.⁷

CDI-diagnos fastställs vanligen genom att påvisa förekomst av toxin i faecesprover. De flesta toxikogena stammar av *C. difficile* producerar vanligen två proteinexotoxiner: toxin A och toxin B.⁸ En liten procentandel av de toxikogena stammarna producerar endast toxin B.⁹ Påvisande av cytopatisk effekt på celler i monolager genom toxin B har traditionellt ansetts vara "guldstandarden" för diagnos.^{10,11} Faeces-supernatant kan inkuberas direkt på cellmonolagret. Alternativt kan *C. difficile*-isolat från faeces odlas i buljongodling och supernatanten som erhålls kan därefter inkuberas på cellmonolagret (toxikogen kultur). För båda teknikerna krävs minst 48 till 72 timmar innan ett slutgiltigt testresultat kan erhållas.

Faeces-odling utförs inte i bred omfattning på grund av att det är en komplex procedur och att det tar lång tid att erhålla resultat (se beskrivning ovan), så diagnosen ställs ofta med hjälp av antingen enzymimmunoanalyser (EIA) eller DNA-baserade tester.^{3,12} Immunoanalyser för detektion av toxin används ofta eftersom de kan leverera positiva resultat på mindre än 4 timmar; dock har de lägre sensitivitet än odlingar.^{12,13} Detektion av gener för *C. difficile*-toxin med hjälp av polymeraskedjereaktion (PCR) har däremot rapporterats ha högre sensitivitet och kortare tid för att få fram resultat jämfört med både odlingar och immunoanalyser.^{3,14-17}

Exempel på åtgärder för att kontrollera infektionen är försiktig användning av antimikrobikum, förhindrande av korsinfektion och aktiv övervakning av patienterna.¹⁸ Det finns sålunda ett stort behov av en metod för högsensitiv och snabb automatisk detektion av *C. difficile*. Med molekylära metoder finns potential att minska detektionstiden avsevärt, och därigenom göra det möjligt att snabbt påbörja antimikrobiell behandling och att snabbt sätta in åtgärder för infektionskontroll.¹⁴⁻¹⁶ Nukleinsyratestet **cobas® Cdiff** för användning på **cobas® Liat® System** är utformat för att vara ett snabbt molekylärt test för detektion av genen för *C. difficile*-toxin B i icke-formade faecesprover erhållna från patienter med misstänkt CDI.

Förklaring av testet

Nukleinsyratestet **cobas® Cdiff** för användning på **cobas® Liat® System** (nedan benämnt ”**cobas® Cdiff**”) är ett snabbt test som helt automatiserar provberedning, PCR-amplifiering och realtidsdetektion av target DNA-sekvenser i **cobas® Liat® Analyser**. **cobas® Cdiff** består av ett **cobas® Cdiff-rör** för engångsbruk som innehåller nukleinsyrarenings- och PCR-reagens samt en internkontroll (*Bacillus thuringiensis israelensis* eller Bti). I **cobas® Cdiff-röret** utförs provberedningen och PCR-processerna. Eftersom **cobas® Cdiff-röret** utgör en sluten enhet minskar risken för korskontamination mellan prover.

Användningsprinciper

Provberedning

Organismer i faecesprovet lyseras med kaotropiskt ämne och proteinas K. Frigjorda nukleinsyror, inklusive Bti-internkontroll-DNA, binds av magnetiska glaspartiklar. Partiklarna tvättas och bundna nukleinsyror elueras till en liten volym buffert och blandas sedan med mastermix och aktiverande kofaktor för PCR-reaktionen.

PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®

Mastermix-reagenset innehåller primerpar och prober för *C. difficile* toxin B och internkontroll. Om target nukleinsyra-sekvenserna är närvarande kommer amplifiering med motsvarande primers att uppstå med hjälp av ett värmebeständigt DNA-polymeras som genererar PCR-produkter (ampliconer). De här produkterna detekteras med hjälp av specifika TaqMan®-prober som innehåller en fluorescerande reporterfluorokrom och en quencher. Normalt hämmar quenchern fluorescensen i reporterfluorokromen. Men om PCR-produkten är närvarande hybridiserar proben till produkten och klyvs via 5' till 3'-nukleasaktiviteten hos polymeraset, och därvid separeras reporterfluorokrom och quencher. Den här reaktionen gör att fluorescensen kan sändas ut från reporterfluorokromen, och signalen registreras i realtid under varje PCR-cykel av **cobas® Liat® Analyser**. Signalen tolkas av programvaran i **cobas® Liat® System** och rapporteras som ett slutligt resultat.

Selektiv amplifiering

Selektiv amplifiering av target-nukleinsyra från provet kan göras med **cobas® Cdiff** genom användning av AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) och deoxiuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet identifierar och katalyserar nedbrytning av DNA-strängar som innehåller deoxiuridin¹⁹, men inte DNA som innehåller deoxitymidin. Deoxiuridin finns inte i naturligt förekommande DNA, men finns alltid i amplicon på grund av användningen av deoxiuridintrifosfat i stället för tymidintrifosfater som en av deoxinukleosidtrifosfaterna i mastermix-reagenset. Följaktligen innehåller endast amplicon deoxiuridin. Deoxiuridin gör kontaminerande amplicon känsligt för nedbrytning av AmpErase-enzym före DNA-amplifieringen. AmpErase-enzym, som ingår i Master mix-reagenset, katalyserar klyvning av DNA innehållande deoxiuridin vid deoxiuridinresterna genom att öppna deoxiriboskedjan vid C1-positionen. Vid uppvärmning i det första termocykelsteget vid alkaliskt pH för mastermix bryts amplicon-DNA-kedjan vid deoxiuridinets position vilket ger icke amplifierbart DNA. AmpErase-enzym är inaktivt vid temperaturer över 55 °C, dvs. genom alla termocykelsteg. Därför förstörs inte target amplicon. Testet **cobas® Cdiff** har visat sig inaktivera minst 1 000 kopior av *C. difficile*-amplicon innehållande deoxiuridin per PCR.

Reagens och material

cobas® Cdiff-reagens och -kontroller

Tabell 1: cobas® Cdiff

cobas® Cdiff nukleinsyratest för användning på cobas® Liat® System		
Förvaras i 2–8 °C 20 tester (P/N 07454945190)		
Reagens i cobas® Cdiff-rör	Reagensingredienser	Säkerhetssymbol och varning ^a
cobas® Liat® Cdiff Internal Control (internkontroll)	PBS Tween-80 0,01 % ProClin® 300 konserveringsmedel Glycerol EDTA < 1 % Bti-stamlösning (inaktiverad)	 FARA H302 + H332 Skadligt vid förtäring eller vid inandning. H314 Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H317 Kan orsaka allergisk hudreaktion. H334 Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. H412 Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. EUH032 Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. P261 Undvik att inandas damm/rök/gaser/dimma/ångor/sprej. P280 Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353 VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310 VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310 VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P342 + P311 Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. EUH210 Säkerhetsdatablad finns att rekvidrera. EUH208 Innehåller blandning av: 5-klor-2-metyl-4-isothiazolin-3-on och 2-metyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kan orsaka allergisk reaktion. 39450-01-6 Proteinase, tritirachium album serin 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol
cobas® Liat® Proteinase K (proteinase K)	Trisbuffert EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glycerin	
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (magnetiska glaspartiklar)	Magnetiska glaspartiklar Vatten	
cobas® Liat® Lysis Buffer (lyseringsbuffert)	Natriumcitrat 3 % polydokanol ^b 42,6 % guanidintiocyanat ^b Ditiotreitol	
cobas® Liat® Wash Buffer (tvättbuffert)	Natriumcitrat-dihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl	
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (elueringsbuffert-1)	Rekombinant humant serumalbumin Tris-HCl-buffert 0,09 % natriumazid	

cobas® Cdiff nukleinsyratest för användning på cobas® Liat® System

Förvaras i 2–8 °C

20 tester (P/N 07454945190)

Reagens i cobas® Cdiff-rör	Reagensingredienser	Säkerhetssymbol och varning ^a
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Tricinbuffert EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroxid < 0,01 % uppströms- och nedströms- <i>C. difficile</i> - och internkontroll-primers < 0,01 % fluorokrommärkta <i>C. difficile</i> - och internkontrollprober 0,09 % natriumazid	
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % oligonukleotid-aptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymeras (mikrobiellt) < 0,02 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt) 0,09 % natriumazid	
cobas® Liat® Cdiff kofaktor	Manganacetat Magnesiumacetat Bovint serumalbumin från bovin plasma, ursprung USA 0,09 % natriumazid	

^a Produktsäkerhetsmärkningen följer huvudsakligen EU:s GHS-system^b Farlig substans eller blandning

Tabell 2: cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit för användning på cobas® Liat® System

cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit för användning på cobas® Liat® System			
Förvaras i 15–30 °C 5 set (P/N 07454970190)			
Kitkomponenter	Reagensingredienser	Kvantitet per kit	Säkerhetssymbol och varning
Cdiff (+) C (positiv cobas® Liat® Cdiff-kontroll)	Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid < 0,01 % icke smittbärande plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande <i>C. difficile</i> -sekvenser	5 flaskor	N/A
BUF (–) C (negativ cobas® Liat®- kontroll)	Trisbuffert EDTA 0,05 % natriumazid < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt)	5 flaskor	N/A

Förvaring och hantering av reagens

Tabell 3: Förvaring och hantering av reagens

Reagens	Förvaringstemperatur	Förvaringstid
cobas® Cdiff nukleinsyratest för användning på cobas® Liat® System	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit för användning på cobas® Liat® System	15–30 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.

Obs! Frys inte reagens.

Utgångsdatum för reagens baseras på koordinerad universell tid (UTC). Den lokala tiden för reagensens utgångsdatum kan ändras med plus eller minus 12 timmar beroende på hur den lokala tidszonen förhåller sig till UTC.

Extramaterial som behövs

Tabell 4: Extramaterial som behövs

Material	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Engångshandskar, puderfria	Alla puderfria engångshandskar är godkända.

Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information om material som säljs separat.

Tillval

Tabell 5: Tillval

Material	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit	07958056190

Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information om tillval.

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer

Tabell 6: Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer
cobas® Liat® Analyzer (P/N 07341920190) Innefattar cobas® Liat® System Software (Core) version 3.3.0 eller högre
cobas® Cdiff Script v1.1 eller högre

Kontakta Roche kundsupport om du vill ha mer information om instrument och programvara som behövs.

Försiktighetsåtgärder och information om hantering

Varningar och säkerhetsåtgärder

Liksom för alla testmetoder är det mycket viktigt att använda god laboratorieled för att denna analys ska fungera korrekt. Med hänsyn till testets höga analytiska sensitivitet är noggrannhet nödvändig så att reagens-, prov- och amplifieringsblandningarna hålls rena.

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Undvik mikrobiell kontamination och DNA-kontamination av reagens och prover.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran från Roche kundsupport.
- cobas® Liat® lyseringsbuffert** (LYS-reagens) innehåller guanidintiocyanat. Guanidintiocyanat får inte komma i direkt kontakt med natriumhypoklorit (blekmedel) eller några andra högreaktiva reagens som syror eller baser. Dessa blandningar kan bilda en skadlig gas.
- cobas® Liat® elueringsbuffert-1** (EB), **cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1** (Cdiff MMX-1), **cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2** (Cdiff MMX-2), **cobas® Liat® Cdiff kofaktor** (Cofactor), BUF (-) C och Cdiff (+) C innehåller natriumazid.
- Ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer för att minska kontaminationsrisken för **cobas® Liat® Analyzer** finns i den aktuella användarhandboken till **cobas® Liat® System**.

God laboratorieled

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i arbetsområdena.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens.

- Använd engångshandskar, laboratorierock och skyddsglasögon vid hantering av reagens enligt god laboratoriesed. Undvik att dessa material kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med stora mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Om spill förekommer, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Tillsats av AmpErase-enzym i **cobas® Liat® Cdiff** mastermix möjliggör selektiv amplifiering av target DNA. Kontamination av reagens och av amplifieringsblandningarna kan dock endast undvikas om god laboratoriesed tillämpas och om de procedurer som beskrivs i den här bruksanvisningen följs noga.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.

Kontamination

- Handskar ska användas och ska bytas mellan hantering av prover och **cobas® Cdiff**-rör eller kontrollflaskor för att undvika kontamination. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller. Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och kitets reagens.
- Undvik mikrobiell kontamination och ribonukleaskontamination av reagens.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om carryover mellan prover inte förhindras vid provhantering.
- Prover ska behandlas som smittbärande i enlighet med säkra laboratorierutiner, exempelvis de rutiner som beskrivs i Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁰ och i CLSI-dokumentet M29-A4.²¹

Integritet

- Använd inte kit efter utgångsdatum.
- Blanda inte reagens.
- Använd inte ett skadat **cobas® Cdiff**-rör eller ett **cobas® Cdiff**-rör som har tappats efter att det tagits ut ur folieförpackningen.
- Återanvänd inte **cobas® Cdiff**-rör. Om ett **cobas® Cdiff**-rör inte förvarats i en rörhylsa eller om provutrymmet redan innehåller vätska får röret INTE användas.
- All utrustning ska hanteras enligt tillverkarens instruktioner.
- Alla reagenskit ska förvaras korrekt. Se Tabell 3.

Avfallshantering

- **cobas® Cdiff**-rör ska kasseras i korrekt behållare för biologiskt farligt avfall enligt specifikationerna i lokala bestämmelser och riktlinjer för miljö och hälsa.
- **cobas® Cdiff**-reagens och -kontroller innehåller natriumazid (se ”Varningar och säkerhetsåtgärder”). Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda mycket explosiva metallazider. Förhindra aziduppbyggnad genom att spola med mycket kallt vatten om lösningar som innehåller natriumazid hålls ut i avloppet.
- Kassera oanvända rör och avfall enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

Spill och rengöring

- Om spill förekommer på **cobas® Liat® Analyzer** ska anvisningarna i användarhandboken till **cobas® Liat® System** följas vid rengöringen.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Hantera alla prover som potentiellt smittbärande.

Provtagning

cobas® Cdiff ska endast användas med **delvis formade eller icke-formade faecesprover**. Detta definieras som ett faecesprov som formas efter sin behållare. Samla in faecesprov i en ren, torr och oanvänd behållare enligt standardrutinerna på din arbetsplats.

Transport, förvaring och hållbarhet för prover

Icke-formade faecesprover är hållbara i 2 dagar i rumstemperatur (2–30 °C), eller i 9 dagar i 2–8 °C innan de överförs till **cobas® PCR Media** och testas på **cobas® Liat® System** (detta har påvisats genom att testa prover efter förvaring i 30 °C ± 1 °C i 2 dagar, följt av 2–8 °C i 7 dagar).

Faecesprover som resuspenderats i **cobas® PCR Media** är hållbara i 7 dagar i 2–30 °C innan testning på **cobas® Liat® System**.

Vid transport av *C. difficile*-prover ska gällande bestämmelser för transport av etiologiska agens följas.

Testprocedur

Arbetsflödet ”Lägg till lot”

Bild 1: Arbetsflödet ”Lägg till lot”

1	Starta upp systemet och logga in
2	Ta ut kontroller och rör från förvaringen
3	I analysmeny väljer du ”Ny lot”
4	Läs in streckkoden på streckkodskortet för bipacksedel-ID
5	Läs in och kör negativ kontroll
6	Läs in och kör positiv kontroll

Arbetsflöde för provöverföring

Bild 2: Arbetsflöde för provöverföring

1	Sänk ned pinnen i faecesprovet
2	Placera den inokulerade pinnen cobas® PCR Media -röret
3	Bryt av pinnskaftet vid den grå markeringen
4	Förslut röret och snurra det minst 5 gånger

Arbetsflöde för cobas® Cdiff

Bild 3: Arbetsflöde för cobas® Cdiff

1	Starta upp systemet och logga in
2	Ta ut prover och rör från förvaringen
3	I huvudmenyn väljer du "Kör analys"
4	Läs in cobas ® Cdiff-rörets streckkod
5	Läs in eller ange prov-ID.
6	Tillsätt provet i cobas ® Cdiff-röret med en transferpipett och sätt tillbaka korken på röret.
7	Läs in cobas ® Cdiff-rörets streckkod på nytt.
8	Starta körningen
9	Granska resultat*
10	Mata ut och kassera det använda cobas ® Cdiff-röret

* Mer information om resultat som laddas upp till LIS finns i den aktuella användarhandboken till **cobas**® Liat® System.

Bruksanvisning

Proceduren ”Lägg till lot”

Innan du använder en ny lot av **cobas**® Cdiff-rör måste proceduren ”Lägg till lot” utföras på **cobas**® Liat® Analyzer för att validera loten av **cobas**® Cdiff-rör på din arbetsplats. Proceduren innefattar körning av ett prov med negativ kontroll och ett prov med positiv Cdiff-kontroll.

Material som krävs för proceduren ”Lägg till lot”

- Ny lot av **cobas**® Cdiff nukleinsyratest för användning på **cobas**® Liat® System (två rör och pipetter)
- Streckkodskort för bipacksedel-ID för den nya loten av **cobas**® Cdiff-rör
- Positiv **cobas**® Liat® Cdiff-kontroll
- Negativ **cobas**® Liat®-kontroll
- Streckkodskort för den positiva **cobas**® Liat® Cdiff-kontrollen och den negativa **cobas**® Liat®-kontrollen

Obs! Mer information om användning finns användarhandboken till **cobas**® Liat® System.

Procedur

1. Tryck på strömbrytaren för att starta **cobas**® Liat® Analyzer.
2. Välj **Logga in** på skärmen på **cobas**® Liat® Analyzer.
3. Ange användarnamn vid uppmaning och välj **Enter**.
4. Ange lösenord vid uppmaning och välj **Enter**.

Obs! Du kan få en uppmaning om att bekräfta att du har läst användarhandboken (dvs. användarhandboken till **cobas**® Liat® System).

5. Välj **Analysmeny** i huvudmenyn på **cobas**® Liat® Analyzer.
6. Välj **Ny lot** längst ned i listan.
7. När du får uppmaningen **Skanna inmatnings-id** väljer du **Skanna** och läser in streckkodskortet för bipacksedel-ID för **cobas**® Cdiff. Kontrollera att den röda avläsningslampan täcker hela streckkoden.

Obs! Du kan få en uppmaning om att bekräfta att du läst bipacksedeln eller bruksanvisningen.

8. När du får uppmaningen **Skanna id för neg. kontr.** väljer du **Skanna** och läser in streckkodskortet för den negativa kontrollen som medföljer kontrollkitet. Kontrollera att den röda avläsningslampan täcker hela streckkoden. Därefter kommer **cobas**® Liat® Analyzer med uppmaningen **Lägg till negativ kontroll och skanna rör-id**.
9. Håll ett rör med negativ **cobas**® Liat®-kontroll upprätt och knacka det lätt mot en plan yta för att samla vätskan i botten av röret.
10. Öppna en folieförpackning med **cobas**® Cdiff-rör (från den lot som ska tillsättas) och ta ut innehållet.
11. Använd transferpipetten som medföljer i förpackningen för att tillsätta den negativa **cobas**® Liat®-kontrollen i **cobas**® Cdiff-röret. Tryck ordentligt på pipettbollen tills bollen är helt platt, sätt sedan ned pipettspetsen i vätskan och dra upp provet genom att släppa upp bollen långsamt.

Obs! Använd endast transferpipetten som medföljer i förpackningen med **cobas**® Cdiff-rör för att överföra kontroller och prover till **cobas**® Cdiff-rör.

12. Ta försiktigt av korken från **cobas**® Cdiff-röret och sätt in pipetten i öppningen. Placera pipettspetsen nära botten av det öppna segmentet.

13. Kläm långsamt på bollen för att tömma ut innehållet i pipetten i **cobas® Cdiff-röret**. Se till att det inte bildas bubblor i provet. Släpp inte upp pipettbollen medan pipetten fortfarande är kvar i **cobas® Cdiff-röret**.

Obs! *Gör inte hål i **cobas® Cdiff-röret** eller i förslutningen i botten av provutrymmet. Om någon del är skadad ska du kassera både **cobas® Cdiff-röret** och transferpipetten, och därefter starta om testproceduren med ett nytt **cobas® Cdiff-rör** och en ny pipett.*

14. Skruva på korken på **cobas® Cdiff-röret**. Kassera transferpipetten.

15. Välj **Skanna** och placera **cobas® Cdiff-röret** horisontellt på bordet under streckkodsläsaren så att den röda avläsningslampan täcker hela streckkoden. Insättningsluckan för rör längst upp på **cobas® Liat® Analyzer** öppnas automatiskt när streckkoden har lästs in.

16. Ta bort hylsan till **cobas® Cdiff-röret** och sätt omedelbart in **cobas® Cdiff-röret** i **cobas® Liat® Analyzer** så att du hör ett klickljud som indikerar att röret har hamnat rätt.

Obs! ***cobas® Cdiff-röret** passar endast in på ett sätt – sidan med spåret på **cobas® Cdiff-röret** måste vara till vänster och korken ska vara uppåt.*

17. Om röret inte har satts in när luckan stängs läser du in streckkoden till **cobas® Cdiff-röret** på nytt och sätter in **cobas® Cdiff-röret** igen. När **cobas® Cdiff-röret** har satts in korrekt stänger **cobas® Liat® Analyzer** luckan automatiskt och påbörjar testet.

18. Under testet visas körningens status och uppskattad återstående tid på **cobas® Liat® Analyzer**. Om **Resultatet för den negativa kontrollen godkändes** visas när testet är slutfört väljer du **Bekräfta**. Om resultatet avvisas upprepar du körningen med negativ kontroll (steg 8–18). Om upprepade kontrollkörningar inte ger de förväntade resultaten kontaktar du Roche kundsupport.

19. När testet är slutfört visas meddelandet "Ta bort analysröret långsamt..." på **cobas® Liat® Analyzer** och insättningsluckan för rör öppnas automatiskt. Lyft försiktigt ut **cobas® Cdiff-röret** från **cobas® Liat® Analyzer**. Kassera det använda **cobas® Cdiff-röret** i en behållare för biologiskt farligt avfall.

20. Välj **Tillbaka** för att fortsätta med testet med positiv **cobas® Liat® Cdiff-kontroll** på samma instrument.

21. Följ på samma sätt steg 8 till 17 med en positiv **cobas® Liat® Cdiff-kontroll** istället för en negativ **cobas® Liat®-kontroll**.

22. Om **Resultatet för den positiva kontrollen godkändes. Loten ... tillsattes** visas i slutet av körningen väljer du **Bekräfta** och sedan **Tillbaka** för att återgå till huvudmenyn. Om resultatet avvisas upprepar du testet med positiv **cobas® Liat® Cdiff-kontroll**. Om upprepade kontrollkörningar inte ger de förväntade resultaten kontaktar du Roche kundsupport.

23. Välj **Analysmeny** för att bekräfta att den nya loten har tillsatts.

När proceduren "Lägg till lot" har slutförts på ett analysinstrument använder du menyn Verktyg på **cobas® Liat Analyzer** och ett USB-minne för att överföra lotinformationen till de andra analysinstrumenten på din arbetsplats. Det gör att de andra analysinstrumenten kan använda den här loten av **cobas® Cdiff-rör** utan att proceduren "Lägg till lot" behöver utföras på varje analysinstrument. Följ anvisningarna i användarhandboken till **cobas® Liat® System** och utför proceduren "Exportera analysloter" på det analysinstrument där "Lägg till lot" utfördes. Utför sedan proceduren "Importera analysloter" på vart och ett av de andra analysinstrumenten på din arbetsplats.

Överföring av prover till **cobas® PCR Media**

1. Faecesprovet ska överföras till **cobas® PCR Media-röret** och testas inom den tidsperiod som anges i avsnittet "Provtagning, transport och förvaring av prover". Det ursprungliga faecesprovet kallas även för "primärprov", och faeces-suspensionen i **cobas® PCR Media** (se stegen nedan) kallas även för "sekundärprov" i det här dokumentet.
2. Använd provpinnen som medföljer i **cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit** och överför faecesprovet. Undvik att vidröra insidan av faecesbehållaren och sänk ned spetsen på pinnen fullständigt i faecesprovet, upp till slutet av den avsmalnande delen.

3. Ta sedan snabbt upp den inokulerade pinnen och placera den i **cobas®** PCR Media-röret. Testa inte provet om det inte finns tillräckligt med faeces så att spetsen på pinnen kan täckas fullständigt.
4. Bryt av pinnskaftet vid den grå skårade markeringen genom att trycka det mot kanten av **cobas®** PCR Media-röret.
5. Förslut röret och snurra det minst 5 gånger.

Obs! *cobas® Cdiff har validerats för användning med cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Andra enheter eller medietyper har inte validerats för användning med cobas® Cdiff.*

Obs! *För att undvika korskontamination från prover med faeces-suspension i cobas® PCR Media ska extra korkar för cobas® PCR Media-rör med en annan färg (naturlig; se "Tillval") användas för att försluta provsuspensionerna efter bearbetning.*

Obs! *cobas® PCR Media-rören innehåller tillräcklig volym cobas® PCR Media för att faeces-suspensioner ska kunna analyseras flera gånger på cobas® Liat® System. Den minsta volym med faeces-suspension som behövs för att kunna genomföra en cobas® Cdiff-körning är 0,2 ml.*

Utföra cobas® Cdiff på kliniska prover

Material som behövs för körning av cobas® Cdiff

- **cobas®** Cdiff-folieförpackning som innehåller **cobas®** Cdiff-rör och transferpipett.
- Faecesprover som har överförts och resuspenderats i **cobas®** PCR Media (se "Överföring av prover till **cobas®** PCR Media").

Procedur

1. Kontrollera att **cobas®** Liat® Analyzer är påslaget.
2. Välj **Logga in** på skärmen på **cobas®** Liat® Analyzer.
3. Ange användarnamn vid uppmaning och välj **Enter**.
4. Ange lösenord vid uppmaning och välj **Enter**.

Obs! *Du kan få en uppmaning om att bekräfta att du har läst användarhandboken (dvs. användarhandboken till cobas® Liat® System).*

5. I huvudmenyn väljer du **Kör analys**.
6. Öppna en förpackning med **cobas®** Cdiff-rör och ta ut röret. När du får uppmaningen **Skanna Liat-rör-id** väljer du **Skanna** och placerar **cobas®** Cdiff-röret horisontellt på bordet under streckodsläsaren så att den röda avläsningslampan täcker hela streckkoden.
7. När du får uppmaningen **Skanna prov-id** väljer du **Skanna** för att läsa in provstreckkoden. Om det inte går att läsa in provet väljer du **Enter** för att ange prov-ID manuellt.

Obs! *Välj knappen "Bekräfta" om analysinstrumentets konfiguration kräver att du bekräftar den mottagna patientinformationen.*

8. Tillsätt provet i **cobas®** Cdiff-röret när du får en uppmaning om detta.
9. Använd transferpipetten som medföljer i rörförpackningen för att överföra sekundärprovet. Tryck ordentligt på pipettbollen tills bollen är helt platt, sätt sedan ned pipettspetsen i vätskan och dra upp provet genom att släppa upp bollen långsamt.
10. Ta försiktigt av korken från **cobas®** Cdiff-röret och sätt in pipetten i öppningen. Placera pipettspetsen nära botten av det öppna segmentet.

11. Kläm långsamt på bollen för att tömma ut innehållet i pipetten i **cobas®** Cdiff-röret. Släpp inte upp pipettbollen medan pipetten fortfarande är kvar i **cobas®** Cdiff-röret.
12. Återförslut **cobas®** Cdiff-röret och kassera transferpipetten.

Obs! *Undvik korskontamination av handskarna, utrustningen och arbetsytorna med det kvarvarande innehållet i pipetten.*

13. Välj **Skanna** och läs in samma streckkod till **cobas®** Cdiff-röret på nytt. Insättningsluckan för rör längst upp på **cobas®** Liat® Analyser öppnas automatiskt.
14. Ta bort hylsan till **cobas®** Cdiff-röret och sätt omedelbart in **cobas®** Cdiff-röret i **cobas®** Liat® Analyser så att du hör ett klickljud som indikerar att röret har hamnat rätt.

Obs! ***cobas®** Cdiff-röret passar endast in på ett sätt – sidan med spåret på **cobas®** Cdiff-röret måste vara till vänster och korken ska vara uppåt.*

15. Om röret inte har satts in när luckan stängs läser du in streckkoden till **cobas®** Cdiff-röret på nytt och sätter in **cobas®** Cdiff-röret igen. När **cobas®** Cdiff-röret har satts in korrekt stänger **cobas®** Liat® Analyser luckan automatiskt och påbörjar testet.
16. Under testet visas körningens status och uppskattad återstående tid på **cobas®** Liat® Analyser. När testet är slutfört visas meddelandet "Ta bort analysröret långsamt..." på **cobas®** Liat® Analyser och insättningsluckan för rör öppnas automatiskt. Lyft försiktigt ut **cobas®** Cdiff-röret från **cobas®** Liat® Analyser. Kassera det använda **cobas®** Cdiff-röret i en behållare för biologiskt farligt avfall.
17. Välj **Rapport** för att visa resultatrapporten. Välj **Skriv ut** för att skriva ut rapporten (om en sådan finns).
18. Välj **Tillbaka** och därefter **Huvudmeny** för att återgå till huvudmenyn och utföra nästa test.

Utföra ytterligare kontrollkörningar

Ytterligare kontrollkörningar kan utföras enligt lokala och statliga krav och/eller krav från ackrediteringsorganisationer med en lot av **cobas®** Cdiff-rör som redan har tillsatts med hjälp av proceduren "Lägg till lot". Använd **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit för användning på **cobas®** Liat® System för att utföra de här körningarna.

Material som behövs för ytterligare kontrollkörningar

- **cobas®** Cdiff-rör och transferpipetter
- Positiv kontroll för **cobas®** Liat® Cdiff och/eller negativ kontroll för **cobas®** Liat®
- Motsvarande streckkoder för den positiva **cobas®** Liat Cdiff-kontrollen och/eller den negativa **cobas®** Liat®-kontrollen.

Procedur

Använd proceduren som beskrivs i avsnittet "Utföra **cobas®** Cdiff på kliniska prover" för att utföra ytterligare kontrollkörningar. I steg 7 ska du vara noga med att använda kontrollstreckkoderna som medföljer **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit för att läsa in som streckkoder för prov-ID. Information om tolkning av resultat för **cobas®** Cdiff vid körning av ytterligare positiva eller negativa Cdiff-kontroller visas i Tabell 9 och Tabell 10 i avsnittet "Tolkning av resultat". Användning av andra streckkoder än de medföljande kontrollstreckkoderna kan leda till felaktiga kontrollresultat.

Resultat

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten

En positiv kontroll för **cobas**® Liat® Cdiff och en negativ kontroll för **cobas**® Liat® körs under proceduren ”Lägg till lot” som beskrevs tidigare. Giltiga resultat måste erhållas för både den positiva och negativa kontrollen för den nya loten av **cobas**® Cdiff-rör som ska valideras på instrumentet. Ytterligare kontrollkörningar kan utföras efter proceduren ”Lägg till lot”. Mer information finns i ”Utföra ytterligare kontrollkörningar” i avsnittet ”Bruksanvisning”.

cobas® Liat® Cdiff-internkontrollen är förpackad inuti varje **cobas**® Cdiff-rör och kommer att köras tillsammans med varje prov under analysens hela arbetsflöde.

Positiv kontroll

Den positiva **cobas**® Liat® Cdiff-kontrollen innehåller icke smittbärande DNA-plasmider med *C. difficile*-target-sekvensen. Den positiva **cobas**® Liat® Cdiff-kontrollen verifierar integriteten för reagensen i **cobas**® Cdiff-rören samt korrekt funktion för **cobas**® Liat Analyzer. Kontakta Roche kundsupport och begär teknisk hjälp om resultaten för den positiva **cobas**® Liat® Cdiff-kontrollen ofta är ogiltiga.

Negativ kontroll

Den negativa **cobas**® Liat®-kontrollen innehåller ingen target och övervakar potentiell target-kontamination i arbetsflödet eller omgivningen. Kontakta Roche kundsupport och begär teknisk hjälp om resultaten för den negativa **cobas**® Liat®-kontrollen ofta är ogiltiga.

Internkontroll

En internkontroll (Bti) för hela organismer ingår i röret och läggs automatiskt till i alla prover i början av provberedningen. **cobas**® Liat® Cdiff-internkontrollen är en kemiskt inaktiverad bakterie som ingår i varje **cobas**® Cdiff-rör och bearbetas med varje prov. Internkontrollen kontrollerar att target-bakterien bearbetas korrekt i alla steg av analysen och övervakar förekomsten av hämmare i provberedningen och PCR-reaktionen. **cobas**® Liat® Cdiff-internkontrollen ska vara positiv i ett negativt prov och kan vara negativ eller positiv i ett positivt Cdiff-prov.

Tolkning av resultat

Obs! All validering av prov- och kontrollkörningar fastställs av cobas® Liat® System.

Resultat vid körning av proceduren "Lägg till lot" tolkas enligt Tabell 7.

Tabell 7: Tolkning av resultat för cobas® Cdiff vid körning av proceduren "Lägg till lot"

Indikering på cobas® Liat® Analyser	Resultatrapporttext samt tolkning
Neg. kontr. är giltig	Neg. kontr. är giltig Kontrollen är negativ för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
Negativ kontroll ogiltig. Upprepa körn.	Neg. kontr. är ogiltig Resultatet är ogiltigt. Den negativa kontrollen ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Upprepa körningen.
Pos. kontr. är giltig	Pos. kontr. är giltig Kontrollen är positiv för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
Positiv kontroll ogiltig. Upprepa körn.	Pos. kontr. är ogiltig Resultatet är ogiltigt. Den positiva kontrollen ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Upprepa körningen.

Provresultaten tolkas enligt Tabell 8.

Tabell 8: Tolkning av resultat för cobas® Cdiff vid körning av ett kliniskt prov

Indikering på cobas® Liat® Analyser	Resultatrapporttext samt tolkning
Cdiff Detekterad	Cdiff Detekterad Provet är positivt för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
Cdiff Ej detekterad	Cdiff Ej detekterad* Provet är negativt för <i>C. difficile</i> -DNA, eller, om förekommande, kunde inte detekteras.
Cdiff Ogiltig	Cdiff Ogiltig** Resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Se "Rekommenderad procedur för omtestning".
Analysen avbröts av användaren	Analysen avbröts av användaren Körningen avbröts av användaren. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Se "Rekommenderad procedur för omtestning".
Analysen avbröts av systemet	Analysen avbröts av systemet Körningen avbröts av systemet. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Se "Rekommenderad procedur för omtestning".

* Ett negativt resultat utesluter inte förekomst av *C. difficile*-DNA eftersom resultaten är beroende av rätt provtagning, avsaknad av hämmare och tillräckligt med DNA.

** Ogiltiga resultat kan erhållas om provet innehåller för mycket faeces eller interfererande ämnen som förhindrar extraktion av nukleinsyratarget och/eller amplifiering och detektion. I avsnittet "Testets begränsningar" finns information om kända interfererande ämnen. Otillräcklig provvolym kan också leda till ogiltiga resultat. Den minsta volym med faeces-/cobas® PCR Media-suspension som behövs för cobas® Cdiff är 0,2 ml.

Resultat vid körning av ytterligare kontroller efter proceduren ”Lägg till lot” tolkas enligt Tabell 9 och Tabell 10.

Tabell 9: Tolkning av resultat för cobas® Cdiff vid körning av positiv kontroll

Indikering på cobas® Liat® Analyzer	Resultatrapporttext samt tolkning
Pos. kontr. är giltig	Pos. kontr. är giltig Kontrollen är positiv för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
Pos. kontr. är ogiltig	Pos. kontr. är ogiltig Resultatet är ogiltigt. Den positiva kontrollen ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Upprepa körningen.

Tabell 10: Tolkning av resultat för cobas® Cdiff vid körning av negativ kontroll

Indikering på cobas® Liat® Analyzer	Resultatrapporttext samt tolkning
Neg. kontr. är giltig	Neg. kontr. är giltig Kontrollen är negativ för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
Neg. kontr. är ogiltig	Neg. kontr. är ogiltig Resultatet är ogiltigt. Den negativa kontrollen ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Upprepa körningen.

Rekommenderad procedur för omtestning

Ogiltiga och misslyckade/avbrutna körningar kan upprepas en gång med samma sekundärprov. Om den nya körningen fortfarande är ogiltig kan du bereda ett nytt sekundärprov av samma primära faecesprov. Alternativt kan du ta ett nytt primärprov (om det är möjligt) för att genomföra cobas® Cdiff igen.

Testets begränsningar

1. cobas® Cdiff har endast validerats för att användas med icke-formade eller delvis formade faecesprover som har överförs till cobas® PCR Media-rör enligt denna bruksanvisning (kallas även bipacksedel).
2. Resultatens tillförlitlighet förutsätter rätt provtagning, transport, förvaring och behandling av prover. Följ procedurerna i bruksanvisningen för cobas® Cdiff och i användarhandboken till cobas® Liat® System.
3. Detektion av *C. difficile*-DNA är beroende av antalet organismer i provet och kan påverkas av metoderna för provtagning/bearbetning, historiken för sjukhusvistelser, vilken antibiotikabehandling som har använts och de aktuella *C. difficile*-stammarna.
4. Falskt negativa eller ogiltiga resultat kan uppstå på grund av interferens från olika ämnen. Internkontrollen ingår i cobas® Cdiff för att bidra till att prover som innehåller ämnen som kan störa nukleinsyra-isoleringen och PCR-amplifieringen kan identifieras. Kända interferenser inkluderar, men är inte begränsat till följande:
 - Prover som innehåller mer än 50 % (vikt/volym) mucin kan ge falskt negativa resultat.
5. Ett positivt resultat indikerar förekomst av *C. difficile*-DNA och inte nödvändigtvis av livsdugliga organismer. Därför rekommenderas inte det här testet för kontroll under behandling eller som ett behandlingstest.
6. Mutationer eller polymorfismer i primer- eller prob-bindande regioner kan påverka detektionen av nya eller okända varianter, vilket resulterar i ett falskt negativt resultat med cobas® Cdiff.
7. Det prediktiva värdet för en analys beror på sjukdomens prevalens i en viss population.
8. Produkten får endast användas av personal med utbildning i användning av cobas® Liat® System.

Icke-kliniska prestandaegenskaper

Analytisk sensitivitet

Den analytiska sensitiviteten (detektionsgräns eller LOD) för **cobas® Cdiff** fastställdes genom analys av kvantifierade *C. difficile*-odlingar utspädda till flera koncentrationer i en bakgrundssuspension med negativa faecesprover i **cobas® PCR Media**. Alla nivåer testades i tre replikat vardera med två unika loter av **cobas® Cdiff**-rör. Den lägsta nivån med 100 % träffsannolikhet testades med ytterligare replikat för att bekräfta LOD-nivån. Om den totala träffsannolikheten för den nivån var mindre än 95 % testades panelnivån ovanför med ytterligare replikat. Den slutliga LOD-nivån bekräftades med minst 21 ytterligare replikat. LOD för det här testet definieras som den koncentration av target som kan detekteras som positiv i ≥ 95 % av de testade replikaten, baserat på de resultat som genererades av reagensloten med den sämsta prestandan.

Resultaten från studien av analytisk sensitivitet visas i Tabell 11.

Tabell 11: Detektionsgräns (LOD) för cobas® Cdiff

Stam-id	Toxintyp	REA*-typ	PFG†-typ	Ribotyp	Fenotyp	LOD (CFU/pinne)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N/A	N/A	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Restriktionsendonukleasanalys. † Pulse Field Gel.

Detektion av *C. difficile*-genotyper

Detektionsgränsen för **cobas® Cdiff** på 37 toxikogena stammar som representerar ytterligare toxintyper verifierades genom att testa tre replikat per stam vid tre gånger LOD-nivån (270 CFU/pinne) för ATCC 43255. Spädningarna och testproverna preparerades på ett liknande sätt som i studien av detektionsgräns (LOD) som beskrivs ovan.

Alla de 37 toxikogena stammarna (Tabell 12) detekterades som 100 % positiva i den här studien, vilket bekräftade att **cobas® Cdiff** kan detektera de här *C. difficile*-toxintyperna.

Tabell 12: Sammanfattning av resultat för verifiering av toxikogena *C. difficile*

	Cdiff-stam	Toxintyp	Ribotyp	Träffs-annolikhet
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 %
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 %

Precision

En studie av intern precision som utfördes med hjälp av en panel som bestod av *C. difficile* ATCC 43255-odlingar spädda i negativ faeces-suspension i **cobas®** PCR Media till koncentrationsnivåer under detektionsgränsen (LOD), nära LOD och över LOD för **cobas®** Cdiff. En negativ nivå framställd av endast den negativa faeces-suspensionen i **cobas®** PCR Media testades också. I studien användes tre unika loter av reagens för testet **cobas®** Cdiff och sex instrument i totalt 192 körningar under 12 dagar. En beskrivning av precisionsproverna och sammanfattningen av studien visas i Tabell 13.

Analys av varianskomponenterna (Tabell 14) pekade på att den mesta variabiliteten för target Ct-värden kan tillskrivas slumpmässiga faktorer och instrumentfaktorer (67 % respektive 32 %) för koncentrationsnivåer på eller runt LOD. För koncentrationsnivåer över LOD kan den mesta variabiliteten för Ct-värden tillskrivas slumpmässiga faktorer och lot till lot-faktorer (58 % respektive 20 %). Resultaten (Tabell 15) visar att target Ct-värdena hade en total CV (%) på 2,4 % för koncentrationsnivåer vid LOD och 2,3 % för koncentrationsnivåer över LOD.

Tabell 13: Analys av andel positiva enligt studie av intern precision

Panelprov	Antal testade	Antal positiva	Andel positiva	95 % CI	
				Nedre	Övre
Negativa	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 = detektionsgräns

Tabell 14: Analys av Ct-varianskomponenter för precisionspanelprover

Nivå	Medel Ct	Varianskomponenter/bidrag till den totala variansen i procent				Totalt
		Lot	Instrument	Dag	Slumpmässigt	
~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 = detektionsgräns

Tabell 15: Analys av Ct-standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för precisionspanelprover

Nivå	Medel Ct	SD-komponenter/procent CV				Totalt
		Lot	Instrument	Dag	Slumpmässigt	
~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 = detektionsgräns

Analytisk specificitet

För att bedöma den analytiska specificiteten för **cobas**® Cdiff testades följande organismpaneler:

- 1) 118 bakterier, svampar och virus som kan påträffas i faecesprover, och en typ av human cell (Tabell 16)
- 2) 32 *Clostridium*-genusorganismer, inklusive icke-toxikogena *C. difficile* (Tabell 17)

Den analytiska sensitiviteten för *Clostridium botulinum* bekräftades med programmet BLAST mot databasen GenBank med nukleotidsekvenser för att imitera steget för generering av PCR-amplicon.

Alla bakterier och humana celler spikades till 1×10^6 enheter*/ml, och alla virus spikades till motsvarande 1×10^5 enheter*/ml i faecesmatris. Testerna utfördes med antingen enbart organismerna eller med två toxikogena *C. difficile*-isolat närvarande vid $3 \times$ detektionsgränsen (LOD) för **cobas**® Cdiff. Resultaten indikerade att inga av de här organismerna interfererade med detektion av avsedda Cdiff-targets. Inga av dem producerade falskt positiva resultat utan avsedd förekomst av *C. difficile*-target.

* Bakterierna kvantifierades i kolonibildande enheter (CFU)/ml, humana celler kvantifierades i celler/ml och virus kvantifierades i TCID₅₀/ml, utom *Chlamydia trachomatis* som kvantifierades i IFU/ml.

Tabell 16: Testade mikroorganismer och humana 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> underart <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> underart <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> underart <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-celler, humana	<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> underart <i>Arizonae</i> ATCC 13314 (tidigare <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> underart <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> underart <i>enterica</i> serovar <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> underart <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 sp. stam V8</i> 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 typ 41	Humant coxsackievirus A4	Humant coxsackievirus B4
Humant echovirus 11	Humant enterovirus 71	Humant rotavirus
Norovirus GII	-	-

Tabell 17: *Clostridium*-genusorganismer, inklusive icke-toxikogena *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> serogrupp B (icke-toxikogen)	<i>Clostridioides difficile</i> serogrupp I (icke-toxikogen)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (icke-toxikogen typ Xla)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (icke-toxikogen typ Xla)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (icke-toxikogen typ Xlb)**	<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> (nytt namn <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>	-

* Baserat på analys med programmet BLAST.

** Tre icke-toxikogena Cdiff-stammar (toxinotyp XI) som testades under inklusivitetsstudien och som inte detekterades av testet **cobas**® Cdiff är inkluderade i den här tabellen.

Interferens

Trettioåtta vanliga mediciner samt faecesfett, helblod och mucin testades för möjliga interferenseffekter med **cobas**® Cdiff. Alla ämnen testades vid nivåer som ligger över vad som rimligen kan förväntas vid insamling med en pinne i ett faecesprov. Mängden interfererande ämnen uttrycks som koncentrationen i ett primärt faecesprov. Två *C. difficile*-isolat spikades till 3 × detektionsgränsen (LOD) för **cobas**® Cdiff och användes som targets i testerna. Ingen interferens observerades för exogena ämnen. För faecesfett observerades ingen interferens upp till 39 %, för helblod observerades ingen interferens upp till 100 % och för mucin observerades ingen interferens upp till 50 %. De här resultaten sammanfattas i Tabell 18.

Tabell 18: Resultat från tester av interfererande ämnen

Ämne	Koncentration	Resultat
Faecesfett	0,22–39 % (vikt/volym)	Ingen interferens
Helblod	100 % (volymprocent)	Ingen interferens
Mucin	50 % (vikt/volym)	Ingen interferens
Aleve	100 %	Ingen interferens
Mylanta	100 %	Ingen interferens
Anusol	100 %	Ingen interferens
Dulcolax	23 %*	Ingen interferens
Equate, laxermedel	50 %*	Ingen interferens
Equate, hydrokortison	100 %	Ingen interferens
E-Z-HD, bariumsulfat	100 %	Ingen interferens
Fleet	100 %	Ingen interferens
Glycerinsuppositorier	100 %	Ingen interferens
Gravolsuppositorier	100 %	Ingen interferens
Gynol II, p-gel	10 %*	Ingen interferens
Imodium	100 %	Ingen interferens
Kaopectate	100 %	Ingen interferens
K-Y Jelly	100 %	Ingen interferens
Metronidazol	100 %	Ingen interferens
Miconazole	100 %	Ingen interferens
Mineralolja	100 %	Ingen interferens
Monistat, kräm	100 %	Ingen interferens
Monistat Complete Care	100 %	Ingen interferens
Nystatinsalva	100 %	Ingen interferens
Palmitinsyra	100 %	Ingen interferens
Pedia-Lax	100 %	Ingen interferens
Vismutsubsalicylat	25 %*	Ingen interferens
Trollhassel	50 %*	Ingen interferens
Preparation H, hemorrojdräm	100 %	Ingen interferens
Preparation H, hemorrojdsalva	100 %	Ingen interferens
Dimenhydrinat	12,5 %*	Ingen interferens
Stearinsyra	100 %	Ingen interferens
Dokusatnatrium	100 %	Ingen interferens
Tums	50 %*	Ingen interferens
Mesalazin, rektalsuspension	100 %	Ingen interferens
Vagisil, kräm mot klåda	12,5 %*	Ingen interferens
Vankomycin	100 %	Ingen interferens
Vaselin	100 %	Ingen interferens
Solskyddsmedel	100 %	Ingen interferens
Monistat, slidkapsel	100 %	Ingen interferens
VCF, vaginal spermiedödande film	100 %	Ingen interferens
Spermiedödande kondomer	100 %	Ingen interferens

* De här koncentrationerna är högre än vad som rimligen kan förväntas vid användning och efterföljande carry-over till faecesprover för de motsvarande produkterna.

Korrelation

Prestandan hos **cobas**® Cdiff jämfördes med ett i handeln tillgängligt högklassigt jämförande nukleinsyratest (NAT), där testning av cytotoxicitet i vävnadskultur på *C. difficile*-isolat från direkt och anrikad odling användes som referensmetod. Fyrahundrafyrtiotvå prospektivt insamlade faecesprover från två platser och 284 frusna arkiverade faecesprover från fem platser testades med **cobas**® Cdiff och jämförande NAT-test. En andra alikvot av proverna skickades till ett referenslaboratorium för testning av cytotoxicitet i vävnadskultur.

cobas® Cdiff och det jämförande högklassiga NAT-testet utfördes enligt tillverkarens instruktioner. Testet av cytotoxicitet i vävnadskultur utfördes med hjälp av procedurer för direkta och anrikade odlingar. Varje faecesprov inokulerades först på prereducerad cykloserin-cefoxitin-fruktos-agar (CCFA-HT) och CCMB TAL-buljong. CCMB TAL-buljongen inkuberas 48–72 timmar och subkulturen i Brucella-agar i 5 dagar i 35 °C. Om *C. difficile*-kolonierna var svåra att isolera subodlades organismerna i CCFA-VA-agar. Misstänkta kolonier identifierades som *C. difficile* genom gramfärgning, aero-intolerans samt genom Pro-Disk-testet och inokulering i anaerob CM-buljong (chopped meat). Supernatanter som erhöles från anaerob CM-buljong bearbetades sedan för detektion av *C. difficile*-toxin B genom testning av cytotoxicitet i vävnadskultur (testet C. DIFFICILE TOX-B, Techlab).

Det påträffades 155 *C. difficile*-positiva prover genom kombinerad direkt och anrikad odling (prevalens: 21,3 %). Prestandan hos **cobas**® Cdiff och det jämförande NAT-testet mot odling visas i Tabell 19 till Tabell 21. Korrelation med resultat från direktodling och med resultat från kombinerad direkt och anrikad odling visas. ”Kombinerade resultat” innebär att resultatet från antingen den direkta eller den anrikade odlingen, eller båda, är positiva. Provet kommer att betraktas som positivt för resultatet från kombinerad odling. Endast när resultat från både direkt och anrikad odling är negativa kommer provet att betraktas som negativt för resultatet från kombinerad odling.

Korrelation för cobas® Cdiff med odling

Prestandan för **cobas**® Cdiff jämfört med direktodling, och kombinerad direkt och anrikad odling visas i Tabell 19 respektive Tabell 20.

Tabell 19: cobas® Cdiff mot direktodling

		Direktodling		
		Positiva	Negativa	Totalt
cobas® Cdiff	Positiva	129	21	150
	Negativa	9	567	576
	Totalt	138	588	726
Sensitivitet	93,5 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 88,1–96,5 %)			
Specifitet	96,4 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 94,6–97,7 %)			
Negativt prediktivt värde	98,4 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 97,1–99,3 %)			
Positivt prediktivt värde	86,0 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 79,5–90,7 %)			

Tabell 20: cobas® Cdiff mot direkt och anrikad odling

		Direkt och anrikad odling		
		Positiva	Negativa	Totalt
cobas® Cdiff	Positiva	139	11	150
	Negativa	14	562	576
	Totalt	153	573	726
Sensitivitet		90,8 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 85,2–94,5 %)		
Specifitet		98,1 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 96,6–98,9 %)		
Negativt prediktivt värde		97,6 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 96,0–98,5 %)		
Positivt prediktivt värde		92,7 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 87,3–95,9 %)		

Korrelation för cobas® Cdiff med jämförande NAT-test

Prestandan för cobas® Cdiff i direkt jämförelse med ett i handeln tillgängligt högklassigt jämförande NAT-test visas i Tabell 21.

Tabell 21: cobas® Cdiff mot jämförande nukleinsyratest (NAT)

		Jämförande NAT-test		
		Positiva	Negativa	Totalt
cobas® Cdiff	Positiva	145	5	150
	Negativa	6	570	576
	Totalt	151	575	726
Positiv överensstämmelse		96,0 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 91,6–98,2 %)		
Negativ överensstämmelse		99,1 % (exakt 95-procentigt 2-sidigt konfidensintervall 98,0–99,6 %)		

Andel ogiltiga resultat

Andelen ogiltiga resultat för cobas® Cdiff beräknades utifrån 978 enskilda testresultat från kliniska prover, inklusive de 726 proverna i korrelationsstudien. Av 978 testade prover hade 2 prover ogiltiga cobas® Cdiff-resultat. Vid omtestning genererade 1 av de 2 proverna giltigt resultat och det andra provet var fortfarande ogiltigt. Därför var den första andelen ogiltiga resultat för cobas® Cdiff i den här gruppen av prover 0,2 %, och andelen ogiltiga resultat vid omtestning var 0,1 %.

Felkoder

Felkoderna som beskrivs i Tabell 22 kan visas i resultatrapporten baserat på tolknings- och beräkningsprocessen för testresultatet.

Tabell 22: Felkoder och definitioner

Felkod	Prov	Negativ kontroll (Lägg till lot)	Positiv kontroll (Lägg till lot)
r0	IC negativ eller ogiltig. Upprepa körningen.	IC negativ eller ogiltig. Upprepa körningen.	IC negativ eller ogiltig. Upprepa körningen.
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff positivt medan IC är negativt eller ogiltigt. Upprepa körningen.	N/A	Cdiff och/eller IC är negativt eller ogiltigt. Upprepa körningen.
FP	N/A	Cdiff är positivt eller ogiltigt. Upprepa körningen.	N/A
g0	N/A	N/A	Cdiff är negativt eller ogiltigt. Upprepa körningen.
g1			
g3			
g4			
x5	För låg provvolym	För låg provvolym	För låg provvolym

Obs*: Felkoden r3 visas inte för de positiva och negativa kontrollerna.

Obs**: Felkoden x4 visas inte för den positiva kontrollen (Lägg till lot). För den positiva kontrollen kan felkoden x4 endast aktiveras om felet uppstår under ytterligare körningar med positiv kontroll efter "Lägg till lot"-proceduren (se "Utföra ytterligare kontrollkörningar").

Mer information om felkoder finns i användarhandboken till **cobas® Liat® System**.

Ytterligare information

Viktiga testegenskaper

Provtyp	Icke-formade faecesprover
Mängd prov som krävs	4,3 ml cobas ® PCR Media ingår i varje cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit, och det krävs minst 0,2 ml för ett cobas ® Cdiff-test.
Tidsåtgång	Resultat finns tillgängliga inom 20 minuter efter det att proverna laddats på systemet.
Analytisk sensitivitet	Från 45 till 90 CFU/pinne beroende på isolat.
Specificitet	Ingen korsreaktivitet med 149 närbesläktade organismer eller organismer som är vanligt förekommande i faecesprover.
Inklusivitet	Alla kända <i>C. difficile</i> (toxintyperna 0~XXXI, utom de icke-toxikogena toxintyperna XI) inklusive den hypervirulenta epidemiska stammen BI/NAP1/027.

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 23: Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

Age/DOB	Ålder eller födelsedatum		Produkt ej avsedd för patientnära testning	QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaktion, använd antalet internationella enheter (IU) för QS per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.
	Stödprogramvara		Produkt ej avsedd för självtestning	SN	Serienummer
Assigned Range [copies/mL]	Tilldelat intervall (kopior/mL)		Distributör (Obs! Det tillämpliga landet/regionen kan vara betecknat nedanför symbolen.)	Site	Plats
Assigned Range [IU/mL]	Tilldelat intervall (IU/mL)		Får ej återanvändas	Procedure Standard	Standardprocedur
EC REP	Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen		Kvinna	STERILE EO	Steriliserad med etylenoxid
BARCODE	Streckodsdatablad		Endast för IVD-egenskapsutvärdering		Förvaras mörkt
LOT	Lotnummer	GTIN	GTIN-nummer		Temperaturgräns
	Biologisk risk		Importör	TDF	Testdefinitionsfil
REF	Katalognummer	IVD	Medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik		Denna sida upp
	CE-märkning om överensstämmelse: den här enheten uppfyller alla tillämpliga krav för CE-märkning av en medicinteknisk produkt för <i>in vitro</i> -diagnostik	LLR	Lägre gräns för tilldelat intervall	Procedure UltraSensitive	Ultrasensitiv procedur
Collect Date	Provtagningsdatum		Man	UDI	Unikt enhets-ID
	Se bruksanvisningen		Tillverkare	ULR	Övre gräns för tilldelat intervall
	Innehåller tillräckligt med reagens för <n> analyser	CONTROL -	Negativ kontroll	Urine Fill Line	Urinfyllnadsnivå
CONTENT	Utrustningen innehåller		Icke-steril	Rx Only	Endast USA: Särskilda nationella regler kan gälla för försäljning av den här enheten.
CONTROL	Kontroll		Patientens namn		Utgångsdatum
	Tillverkningsdatum		Patientnummer		
	Produkt för patientnära testning		Öppna här		
	Produkt för självtestning	CONTROL +	Positiv kontroll		
		QS copies / PCR	QS-kopior per PCR-reaktion, använd antalet QS-kopior per PCR-reaktion vid beräkning av resultaten.		

Teknisk support

Om du behöver teknisk support kontaktar du Roche kundsupport via:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Tillverkare och importör

Tabell 24: Tillverkare och importör



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

Made in USA (FTC-standard)



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Varumärken och patent

Se <http://www.roche-diagnostics.us/patents>

Copyright

©2022 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenser

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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev. 4.0 01/2022	Symbolen för Rx Only har lagts till på första sidan. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. En adress till importören har lagts till och adresser till distributörer har tagits bort. Avsnittet Teknisk support har lagts till. Kontakta Roche kundsupport vid eventuella frågor.