

cobas[®] **Cdiff**

Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem cobas[®] Liat[®] System



In-vitro-Diagnostikum

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

INHALTSVERZEICHNIS

Verwendungszweck	4
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	4
Hintergrund: Nachweis von <i>C. difficile</i>	4
Erklärung des Tests	5
Testprinzipien	5
Probenvorbereitung	5
PCR-Amplifikation und TaqMan®-Detektion	5
Selektive Amplifikation	6
Reagenzien und Materialien	7
cobas® Cdiff-Reagenzien und Kontrollen	7
Lagerung und Handhabung der Reagenzien	10
Zusätzlich benötigtes Material	10
Zusätzlich erhältliches Material	11
Zusätzlich benötigte Geräte und Software	11
Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung	11
Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen	11
Gute Laborpraxis	12
Kontamination	12
Handhabung	12
Entsorgung	13
Verschüttetes Material und Reinigung	13
Entnahme, Transport und Lagerung von Proben	13
Probenentnahme	13
Lagerung und Stabilität von Proben während des Transports	13
Testverfahren	14
Hinzufügen einer Charge – Arbeitsablauf	14
Transfer der Probe – Arbeitsablauf	14
cobas® Cdiff – Arbeitsablauf	14
Gebrauchsanweisung	15
Verfahren zum Hinzufügen einer Charge	15
Überführen von Proben in cobas® PCR Media	17
Durchführen des cobas® Cdiff Tests an klinischen Proben	18
Durchführen zusätzlicher Kontrollläufe	19

Ergebnisse	20
Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse	20
Positivkontrolle	20
Negativkontrolle	20
Interne Kontrolle	20
Interpretation der Ergebnisse	21
Mögliche Vorgehensweise zur Testwiederholung	22
Verfahrenseinschränkungen	22
Bewertung der Leistungsmerkmale	23
Analytische Sensitivität	23
Detektion von <i>C. difficile</i> -Genotypen	23
Präzision	24
Analytische Spezifität	25
Störeinflüsse	27
Klinische Leistung bei Verwendung klinischer Proben	29
Korrelation von cobas® Cdiff mit Kultur	29
Korrelation von cobas® Cdiff mit einem Vergleichs-NAT	30
Rate ungültiger Ergebnisse	30
Fehlercodes	31
Weitere Informationen	32
Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests	32
Symbole	33
Technischer Support	34
Hersteller und Importeur	34
Marken und Patente	34
Copyright	34
Literatur	35
Dokumentversion	37

Der **cobas**® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas**® Liat® System ist zur Verwendung durch medizinisches Fachpersonal oder geschulte Benutzer vorgesehen, die im Umgang mit dem **cobas**® Liat® System bei patientennahen Tests, am Point-of-Care (POC) oder in einer klinischen Laborumgebung vertraut sind.

Verwendungszweck

Der **cobas**® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas**® Liat® System ist ein automatisierter, qualitativer *in-vitro*-diagnostischer Test zur Detektion des Toxin-B-Gens (*tcdB*) des toxischen *Clostridioides difficile* (*C. difficile*). Der Nachweis erfolgt mittels Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion (PCR) in ungeformten (flüssigen oder weichen) Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf *C. difficile*-Infektion (CDI). Der **cobas**® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas**® Liat® System ist als Hilfsmittel zur Diagnose von CDI bei Menschen unter Berücksichtigung klinischer und epidemiologischer Risikofaktoren vorgesehen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Hintergrund: Nachweis von *C. difficile*

Clostridioides difficile (*C. difficile*) ist ein gram-positives, anaerobes, sporenbildendes Stäbchenbakterium, das Ende der 1970er Jahre als Erreger der Antibiotika-assoziierten pseudomembranösen Kolitis identifiziert wurde.^{1,2} *C. difficile* ist der häufigste nosokomiale Krankheitserreger³ und ist Schätzungen zufolge für 15–20 % der Fälle von Antibiotika-assoziierte Diarrhoe sowie für fast alle Fälle der Antibiotika-assoziierten pseudomembranösen Kolitis verantwortlich.⁴ Die Inzidenz von *C. difficile*-Infektionen (CDI) hat sich in den letzten zwei Jahrzehnten auf das Vierfache erhöht⁵ und ist für schwere Krankheitsverläufe und Todesfälle verantwortlich³. Die steigende Inzidenz wird zum Teil der Entstehung hochvirulenter Stämme zugeschrieben, wie dem Ribotyp BI/027, PFGE-Muster NAP1 (North American Pulsed Field Type 1). Für ältere oder hospitalisierte Patienten, die kürzlich mit Antibiotika behandelt wurden, besteht das höchste CDI-Risiko, wobei die Zahl der CDI-Fälle außerhalb der Krankenhausumgebung ebenso zunimmt.^{3,6}

Infektionen werden durch Sporen übertragen, und nach der Besiedelung mit toxischem *C. difficile* können die Betroffenen zu asymptomatischen Trägern werden oder eine Darmerkrankung entwickeln. Die klinischen Zeichen der CDI reichen von leichter Diarrhoe bis hin zur lebensgefährlichen pseudomembranösen Kolitis, die mit Bauchschmerzen, starker Diarrhoe sowie systemischen Symptomen wie Fieber, Appetitlosigkeit, Übelkeit und Unwohlsein einhergeht. Trotz der dramatischen Zunahme der Inzidenz und des Schweregrads der CDI sind weiterhin Metronidazol und Vancomycin die Arzneimittel der Wahl zur Behandlung von akuten Episoden und Rezidiven.⁷

Die Diagnose der CDI stützt sich in der Regel auf den Nachweis von Toxinen in Stuhlproben. Die meisten toxischen Stämme von *C. difficile* produzieren in der Regel zwei Exotoxine: Toxin A und Toxin B, die beide Proteine sind.⁸ Ein geringer Teil der toxischen Stämme produziert ggf. nur Toxin B.⁹ Der Nachweis des zytopathischen Effekts von Toxin B auf eine Monolage von Zellen gilt traditionell als „Goldstandard“.^{10,11} Der Stuhlüberstand kann direkt auf der Zellen-Monolage inkubiert werden; alternativ können *C. difficile*-Isolate aus dem Stuhl vor der Inkubation auf die Zellen-Monolage (toxigene Kultur) in einer Anreicherungsbouillon kultiviert werden. Bei beiden Verfahren liegt das Endergebnis frühestens nach 48 bis 72 Stunden vor.

Stuhlkulturen werden aufgrund der Komplexität der Prozedur und der zuvor beschriebenen längeren Zeit bis zur Ergebnisausgabe selten durchgeführt. Die Diagnose erfolgt häufig mit Enzym-Immunoassays (EIA) oder DNA-basierten Tests.^{3,12} Immunoassays zum Nachweis von Toxinen werden häufig angewendet, da sie in weniger als 4 Stunden positive Ergebnisse liefern; ihre Sensitivität ist jedoch geringer als die der Gewebekultur.^{12,13} Im Gegensatz dazu besitzt der

Nachweis von *C. difficile*-Toxigenen mittels Polymerase-Kettenreaktion (PCR) laut Literatur eine höhere Sensitivität und eine kürzere Zeit bis zur Ergebnisausgabe als Kulturen und Immunassays.^{3,14-17}

Maßnahmen zur Infektionsbekämpfung umfassen den vorsichtigen Einsatz antimikrobieller Medikamente, die Vorbeugung von Kreuzinfektionen sowie die aktive Fallüberwachung.¹⁸ Aus diesen Gründen besteht ein großer Bedarf an einem hochsensitiven und schnellen, automatisierten Nachweis von *C. difficile*. Molekularbiologische Methoden besitzen das größte Potenzial, die Detektionsdauer erheblich zu verkürzen, so dass die antibiotische Therapie frühzeitig eingeleitet und schnell Maßnahmen zur Infektionskontrolle ergriffen werden können.¹⁴⁻¹⁶ Der **cobas® Cdiff** Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas® Liat®** System wurde als molekularer Schnelltest zum Nachweis von *C. difficile*-Toxin B in ungeformten Stuhlproben von Patienten mit Verdacht auf CDI entwickelt.

Erklärung des Tests

Der **cobas® Cdiff** Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas® Liat®** System (im Weiteren „**cobas® Cdiff**“) ist ein Schnelltest mit vollautomatischer Probenvorbereitung, PCR-Amplifikation und Echtzeitdetektion von DNA-Zielsequenzen auf dem **cobas® Liat®** Analyzer. **cobas® Cdiff** besteht aus einem **cobas® Cdiff** Assay Tube für den Einmalgebrauch, das Reagenzien für die Nukleinsäureaufreinigung und PCR sowie eine interne Kontrolle (*Bacillus thuringiensis israelensis*, Bti) enthält. Die Probenvorbereitungs- und PCR-Vorgänge laufen im **cobas® Cdiff** Assay Tube ab. Da das **cobas® Cdiff** Assay Tube ein in sich geschlossenes System darstellt, ist die Gefahr einer Kreuzkontamination zwischen Proben reduziert.

Testprinzipien

Probenvorbereitung

Die Organismen in der Stuhlprobe werden mit einer chaotropen Substanz und Proteinase K lysiert. Die freigesetzten Nukleinsäuren, einschließlich der DNA der internen Kontrolle Bti, werden an magnetische Glaspartikel gebunden. Die Partikel werden gewaschen und die gebundenen Nukleinsäuren werden in einem kleinem Volumen von Puffer eluiert und anschließend mit Master-Mix und dem aktivierenden Kofaktor für die PCR gemischt.

PCR-Amplifikation und TaqMan®-Detektion

Das Master-Mix-Reagenz enthält Primerpaare und Sonden für *C. difficile*-Toxin B und die interne Kontrolle. Wenn die Ziel-Nukleinsäuresequenzen vorhanden sind, erfolgt die Amplifikation mit den entsprechenden Primern durch eine thermostabile DNA-Polymerase, wobei PCR-Produkte (Amplifikate) entstehen. Diese Produkte werden von den spezifischen TaqMan®-Sonden detektiert, die einen fluoreszierenden Reporter-Farbstoff sowie einen Quencher enthalten. Normalerweise unterdrückt der Quencher die Fluoreszenz des Reporter-Farbstoffs. Wenn jedoch das PCR-Produkt vorliegt, hybridisiert die Sonde mit dem Produkt und wird durch die 5'-3'-Nukleaseaktivität der Polymerase gespalten, wodurch Reporter-Farbstoff und Quencher voneinander getrennt werden. Bei dieser Reaktion kann der Reporter-Farbstoff Fluoreszenz emittieren, und dieses Signal wird während jedes PCR-Zyklus in Echtzeit vom **cobas® Liat®** Analyzer aufgezeichnet. Dieses Signal wird von der Software des **cobas® Liat®** Systems interpretiert und als eindeutiges Endergebnis ausgegeben.

Selektive Amplifikation

Die selektive Amplifikation der Ziel-Nukleinsäure aus der Probe wird bei **cobas® Cdiff** durch die Verwendung des Enzyms AmpErase (Uracil-N-Glykosylase) und von Desoxyuridintriphosphat (dUTP) erreicht. Das Enzym AmpErase erkennt desoxyuridinhaltige¹⁹ – nicht aber desoxythymidinhaltige – DNA-Stränge und katalysiert deren Zerstörung. Desoxyuridin ist in natürlich vorkommender DNA nicht enthalten, in den Amplifikaten jedoch immer, da Desoxyuridintriphosphat anstelle von Thymidintriphosphat als eines der dNTPs im Master-Mix-Reagenz verwendet wird. Deshalb enthalten nur die Amplifikate Desoxyuridin. Vor der Amplifikation der Ziel-DNA werden kontaminierende Amplifikate durch das Desoxyuridin anfällig für die Zerstörung durch das Enzym AmpErase. Das im Master-Mix-Reagenz enthaltene Enzym AmpErase katalysiert die Spaltung desoxyuridinhaltiger DNA an den Desoxyuridin-Resten durch Öffnen der Desoxyribosekette an der C1-Position. Während der Erwärmung im ersten thermozyklischen Schritt (bei alkalischem pH-Wert des Master-Mixes) tritt ein Bruch des DNA-Strangs des Amplifikats an der Desoxyuridin-Position auf, so dass die DNA nicht weiter amplifiziert werden kann. Das Enzym AmpErase ist bei Temperaturen über 55 °C, d. h. während aller thermozyklischen Schritte, inaktiv und zerstört deshalb keine Zielamplifikate. Es konnte gezeigt werden, dass mit **cobas® Cdiff** pro PCR mindestens 1000 Kopien des desoxyuridinhaltigen *C. difficile*-Amplifikats inaktiviert werden.

Reagenzien und Materialien

cobas® Cdiff-Reagenzien und Kontrollen

Tabelle 1: cobas® Cdiff

cobas® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System		
Bei 2–8 °C lagern. 20 Tests (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® Transferpipettenpackungen (P/N 09329676001)		
Reagenzien im cobas® Cdiff Assay Tube	Reagenzienbestandteile	Sicherheitssymbole und -warnungen ^a
cobas® Liat® Cdiff Internal Control (interne Kontrolle)	PBS Tween-80 0,01 % ProClin® 300 als Konservierungsmittel Glycerin EDTA < 1 % Bti-Stammlösung (inaktiviert) EUH210: Sicherheitsdatenblatt auf Anfrage erhältlich. EUH208: Enthält ein Gemisch von: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Kann allergische Reaktionen hervorrufen.	n. z.
cobas® Liat® Proteinase K	Tris-Puffer EDTA Calciumchlorid Calciumacetat < 2,0 % Proteinase K ^b Glycerin	 <p>GEFAHR</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen.</p> <p>H334: Kann bei Einatmen Allergie, asthmaartige Symptome oder Atembeschwerden verursachen.</p> <p>P261: Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden.</p> <p>P280: Schutzhandschuhe tragen.</p> <p>P284: Atemschutz tragen.</p> <p>P304 + P340: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen.</p> <p>P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen.</p> <p>P342 + P311: Bei Symptomen der Atemwege: GIFT-INFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen.</p> <p>39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-Serin</p>
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (magnetische Glaspartikel)	Magnetische Glaspartikel Wasser	n. z.

cobas® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System

Bei 2–8 °C lagern.

20 Tests (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat® Transferpipettenpackungen (P/N 09329676001)

Reagenzien im cobas® Cdiff Assay Tube	Reagenzienbestandteile	Sicherheitssymbole und -warnungen^a
cobas® Liat® Lysis Buffer (Lysepuffer)	Natriumcitrat 3 % Polidocanol ^b 42,6 % Guanidinthiocyanat ^b Dithiothreitol	 <p>GEFAHR</p> <p>H302: Gesundheitsschädlich bei Verschlucken. H314: Verursacht schwere Verätzungen der Haut und schwere Augenschäden. H412: Schädlich für Wasserorganismen, mit langfristiger Wirkung. EUH032: Entwickelt bei Berührung mit Säure sehr giftige Gase. EUH071: Wirkt ätzend auf die Atemwege. P273: Freisetzung in die Umwelt vermeiden. P280: Schutzhandschuhe/Schutzkleidung/Augenschutz/Gesichtsschutz/Gehörschutz tragen. P301 + P330 + P331: BEI VERSCHLUCKEN: Mund ausspülen. KEIN Erbrechen herbeiführen. P303 + P361 + P353: BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen. Haut mit Wasser abwaschen. P304 + P340 + P310: BEI EINATMEN: Die Person an die frische Luft bringen und für ungehinderte Atmung sorgen. Sofort GIFT-INFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. P305 + P351 + P338 + P310: BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Sofort GIFTINFORMATIONSZENTRUM/Arzt anrufen. 593-84-0 Guanidinthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol</p>
cobas® Liat® Waschpuffer	Natriumcitratdihydrat 0,05 % N-Methylisothiazolon-HCl	 <p>WARNUNG</p> <p>H317: Kann allergische Hautreaktionen verursachen. P261: Einatmen von Nebel oder Dampf vermeiden. P272: Kontaminierte Arbeitskleidung nicht außerhalb des Arbeitsplatzes tragen. P280: Schutzhandschuhe tragen. P333 + P313: Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen / ärztliche Hilfe hinzuziehen. P362 + P364: Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. P501: Inhalt/Behälter einer zugelassenen Abfallbeseitigungsanlage zuführen. 26172-54-3 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on-Hydrochlorid</p>

cobas® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System		
Bei 2–8 °C lagern. 20 Tests (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® Transferpipettenpackungen (P/N 09329676001)		
Reagenzien im cobas® Cdiff Assay Tube	Reagenzienbestandteile	Sicherheitssymbole und -warnungen^a
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (Elutionspuffer)	Rekombinantes humanes Serumalbumin Tris-HCl-Puffer 0,09 % Natriumazid	n. z.
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Tricinpuffer EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroxid 0,01 % Upstream- und Downstream-Primer für <i>C. difficile</i> sowie Primer für interne Kontrolle < 0,01 % fluoreszenzmarkierte Sonden für <i>C. difficile</i> und die interne Kontrolle 0,09 % Natriumazid	n. z.
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % Oligonukleotid-Aptamer < 0,01 % Z05-DNA-Polymerase (mikrobiell) < 0,02 % AmpErase-Enzym (Uracil-N-Glykosylase) (mikrobiell) 0,09 % Natriumazid	n. z.
cobas® Liat® Cdiff Cofactor (Kofaktor)	Manganacetat Magnesiumacetat Rinderserumalbumin aus Rinderplasma aus den USA 0,09 % Natriumazid	n. z.

Tabelle 2: cobas® Cdiff Kit mit Positiv- und Negativkontrolle zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System

cobas® Cdiff Kit mit Positiv- und Negativkontrolle zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System			
Bei 15-30 °C lagern. 5 Sets (P/N 07454970190)			
Kitkomponenten	Reagenzienbestandteile	Menge je Kit	Sicherheitssymbole und -warnungen
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff Positivkontrolle)	Tris-Puffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (synthetisch) 0,05 % Natriumazid < 0,01 % nicht-infektiöse Plasmid-DNA (mikrobiell) mit <i>C. difficile</i> -Sequenz	5 Röhrchen	n. z.
BUF (-) C (cobas® Liat® Negativkontrolle)	Tris-Puffer EDTA 0,05 % Natriumazid < 0,01 % Poly rA RNA (synthetisch)	5 Röhrchen	n. z.

Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Tabelle 3: Lagerung und Handhabung der Reagenzien

Reagenz	Lagertemperatur	Lagerdauer
cobas® Cdiff Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System	2–8 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil
cobas® Cdiff Kit mit Positiv- und Negativkontrolle zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System	15–30 °C	Bis zum angegebenen Verfallsdatum stabil

Hinweis: Reagenzien nicht einfrieren.

Öffnen Sie die Einzelverpackung der Assay Tubes erst unmittelbar vor Beginn des Testvorgangs.

Die **cobas® Liat®** Transferpipettenpackung kann nach der Entnahme aus dem **cobas® Cdiff Assay Tube Kit** bei Raumtemperatur separat gelagert werden. Es ist darauf zu achten, dass zur Entnahme von Transferpipetten aus der **cobas® Liat®** Transferpipettenpackung saubere Handschuhe getragen werden. Die **cobas® Liat®** Transferpipettenpackung ist sofort nach der Entnahme der benötigten Pipette(n) wieder zu verschließen.

Für das angegebene Verfallsdatum der Reagenzien ist die koordinierte Weltzeit (Coordinated Universal Time, UTC) maßgeblich. Das lokale Verfallsdatum der Reagenzien kann je nach Zeitzone bis zu 12 Stunden vor oder nach dem angegebenen Zeitpunkt (UTC) liegen.

Zusätzlich benötigtes Material

Tabelle 4: Zusätzlich benötigtes Material

Materialien	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Laborhandschuhe, puderfrei	Es ist jede Art von puderfreien Laborhandschuhen geeignet.

Weitere Informationen zu diesen separat erhältlichen Materialien erhalten Sie von Ihrem Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.

Zusätzlich erhältlich Material

Tabelle 5: Zusätzlich erhältlich Material

Material	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit	07958056190

Weitere Informationen zu diesen zusätzlich erhältlichen Materialien erhalten Sie von Ihrem Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.

Zusätzlich benötigte Geräte und Software

Tabelle 6: Zusätzlich benötigte Geräte und Software

Zusätzlich benötigte Geräte und Software
cobas® Liat® Analyzer (P/N 07341920190) <ul style="list-style-type: none"> Mit cobas® Liat® Systemsoftware (Core) Version 3.3.0 oder höher
cobas® Cdiff Script v1.1 oder höher

Weitere Informationen zu den erforderlichen Geräten und der Software erhalten Sie von Ihrem Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.

Vorsichtsmaßnahmen und ordnungsgemäße Handhabung

Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Wie bei allen Testverfahren ist gute Laborpraxis eine unerlässliche Voraussetzung für die uneingeschränkte Leistung dieses Tests. Aufgrund der hohen analytischen Sensitivität dieses Tests ist Vorsicht geboten, um eine Verunreinigung der Reagenzien, Proben und Amplifikationsansätze zu verhindern.

- Nur zur Verwendung als *In-vitro*-Diagnostikum bestimmt.
- Der **cobas® Cdiff** Nukleinsäuretest zur Verwendung auf dem **cobas® Liat® System** ist zur Verwendung durch medizinisches Fachpersonal oder geschulte Benutzer vorgesehen, die im Umgang mit dem **cobas® Liat® System** am Point-of-Care (POC) oder in einer klinischen Laborumgebung vertraut sind.
- Kontamination der Reagenzien und Proben durch Mikroorganismen und DNA vermeiden.
- Vor der Entnahme einer Transferpipette aus der **cobas® Liat® Transferpipettenpackung** sowie nach der Handhabung jeder Probe oder Kontrolle die Handschuhe wechseln, um eine Kontamination von Reagenzien und Pipetten zu vermeiden.
- Sicherheitsdatenblätter (Safety Data Sheets, SDS) erhalten Sie auf Anfrage von Ihrem Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.
- cobas® Liat® Lysis Buffer** (LYS-Reagenz) enthält Guanidinthiocyanat. Guanidinthiocyanat darf nicht mit Natriumhypochlorit (Bleiche) oder anderen hochreaktiven Reagenzien wie Säuren oder Basen in direkten Kontakt kommen. Beim Mischen dieser Stoffe können giftige Gase entstehen.
- 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** (Kofaktor), BUF (-) C und Cdiff (+) C enthalten Natriumazid.
- Weitere Warnhinweise, Vorsichtsmaßnahmen und Verfahren zur Verringerung der Kontaminationsgefahr für den **cobas® Liat® Analyzer** sind dem aktuellen Benutzerhandbuch des **cobas® Liat® Systems** zu entnehmen.
- In der EU: Schwerwiegende Vorkommnisse, die bei Verwendung dieses Tests auftreten, müssen den zuständigen Behörden und dem Hersteller gemeldet werden.

Gute Laborpraxis

- Nicht mit dem Mund pipettieren.
- In den Arbeitsbereichen nicht essen, trinken oder rauchen.
- Nach dem Umgang mit Proben und Kitreagenzien gründlich die Hände waschen.
- Beim Umgang mit Reagenzien Schutzbrille, Laborkittel und Laborhandschuhe gemäß den Richtlinien des Labors tragen. Haut, Augen und Schleimhäute vor Kontakt mit diesen Materialien schützen. Bei Kontakt sofort mit reichlich Wasser abspülen. Unbehandelt können Verätzungen entstehen. Verschüttete Flüssigkeiten vor dem Aufwischen zunächst mit Wasser verdünnen.
- Die Zugabe des Enzyms AmpErase zum **cobas® Liat® Cdiff Master-Mix** ermöglicht eine selektive Amplifikation der Ziel-DNA; es ist jedoch eine gute Laborpraxis sowie die genaue Einhaltung der in dieser Gebrauchsanweisung beschriebenen Verfahren erforderlich, um eine Kontamination der Reagenzien und Amplifikationsansätze zu vermeiden.
- Alle Arbeitsflächen im Labor gründlich mit einer frisch hergestellten Lösung aus 0,5%igem Natriumhypochlorit in destilliertem oder entionisiertem Wasser reinigen und desinfizieren (Haushaltsbleiche im Verhältnis 1:10 verdünnen). Anschließend die Arbeitsflächen mit 70%igem Ethanol abwischen.

Kontamination

- Um Kontaminationen zu vermeiden, müssen Handschuhe getragen und vor der Entnahme einer **cobas® Liat®** Transferpipette aus der **cobas® Liat®** Transferpipettenpackung sowie zwischen der Handhabung von Proben und von **cobas® Cdiff Assay Tubes** oder Kontrollen gewechselt werden. Es ist darauf zu achten, dass die Handschuhe beim Umgang mit den Proben und Kontrollen nicht kontaminiert werden. Beim Umgang mit Proben und Kitreagenzien Laborhandschuhe, Laborkittel und Schutzbrille tragen.
- Kontamination der Reagenzien und Proben durch Mikroorganismen und Ribonuklease vermeiden.
- Wird während der Handhabung und Bearbeitung der Proben eine Verschleppung der Proben nicht vermieden, kann es zu falsch-positiven Ergebnissen kommen.
- Proben sind als potenziell infektiös und gemäß den Vorschriften für sicheres Arbeiten im Labor, wie in „Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories“²⁰ und dem CLSI-Dokument M29-A4²¹ beschrieben zu behandeln.

Handhabung

- Kits nach Ablauf des Verfallsdatums nicht mehr verwenden.
- Reagenzien nicht vermischen.
- **cobas® Cdiff Assay Tubes**, die beschädigt sind oder nach der Entnahme aus der Folienverpackung fallen gelassen wurden, dürfen nicht verwendet werden.
- Gebrauchte **cobas® Cdiff Assay Tubes** dürfen nicht wiederverwendet werden. Befindet sich ein **cobas® Cdiff Assay Tube** nicht in einer Hülse oder ist in der Probenkammer des Tubes bereits Flüssigkeit vorhanden, darf das Tube NICHT verwendet werden.
- Alle Geräte müssen gemäß den Anweisungen des Herstellers gewartet werden.
- Alle Reagenzkits müssen ordnungsgemäß gelagert werden. Siehe Tabelle 3.

Entsorgung

- **cobas® Cdiff** Assay Tubes müssen gemäß den Umwelt- und Arbeitsschutzvorschriften des Labors in einem Behälter für infektiöse Abfälle entsorgt werden.
- Die **cobas® Cdiff** Reagenzien und Kontrollen enthalten Natriumazid (siehe Abschnitt „Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen“). Natriumazid kann bei der Reaktion mit Blei- und Kupferleitungen hochexplosive Metallazide bilden. Beim Ausgießen natriumazidhaltiger Lösungen in Laborwaschbecken mit reichlich kaltem Wasser nachspülen, um Azidansammlung zu vermeiden.
- Nicht gebrauchte Assay Tubes und Abfall gemäß den geltenden regionalen und überregionalen Vorschriften entsorgen.

Verschüttetes Material und Reinigung

- Wenn im **cobas® Liat®** Analyzer Flüssigkeit verschüttet wurde, die entsprechenden Reinigungsanweisungen im Benutzerhandbuch des **cobas® Liat®** Systems befolgen.

Entnahme, Transport und Lagerung von Proben

Alle Proben müssen wie potenzielle Überträger von Infektionserregern behandelt werden.

Probenentnahme

cobas® Cdiff darf nur mit **teilweise geformten oder ungeformten Stuhlproben** verwendet werden. Diese sind definiert als Stuhlproben, die die Form des jeweiligen Behälters annehmen. Stuhlproben gemäß den Standardarbeitsanweisungen der Einrichtung in einen sauberen, trockenen und unbenutzten Behälter entnehmen.

Lagerung und Stabilität von Proben während des Transports

Vor dem Transfer in **cobas® PCR Media** und der Analyse auf dem **cobas® Liat®** System sind ungeformte Stuhlproben bei Raumtemperatur (2–30 °C) 2 Tage lang und bei 2–8 °C 9 Tage lang stabil (dies wurde durch Tests von Proben nach 2 Tagen Lagerung bei 30±1 °C gefolgt von 7 Tagen Lagerung bei 2–8 °C belegt).

In **cobas® PCR Media** resuspendierte Stuhlproben sind vor der Analyse auf dem **cobas® Liat®** System bei 2–30 °C 7 Tage stabil.

Beim Transport von *C. difficile*-Proben sind die geltenden Vorschriften für den Transport von Krankheitserregern zu beachten.

Testverfahren

Hinzufügen einer Charge – Arbeitsablauf

Abbildung 1: Hinzufügen einer Charge – Arbeitsablauf

1	System starten und anmelden.
2	Kontrollen, Assay Tubes und Transferpipetten aus der Lagerung nehmen.
3	Im Testmenü die Option „Neue Charge“ wählen.
4	Barcode von der ID-Barcodekarte der Packungsbeilage einlesen.
5	Negativkontrolle scannen und analysieren.
6	Positivkontrolle scannen und analysieren.

Transfer der Probe – Arbeitsablauf

Abbildung 2: Transfer der Probe – Arbeitsablauf

1	Abstrichtupfer in die Stuhlprobe tauchen.
2	Benetzten Abstrichtupfer in ein Röhrchen mit cobas ® PCR Media überführen.
3	Stiel des Abstrichtupfers an der grauen Einkerbung abbrechen.
4	Röhrchen verschließen und mindestens 5-mal schwenken.

cobas® Cdiff – Arbeitsablauf

Abbildung 3: **cobas**® Cdiff – Arbeitsablauf

1	System starten und anmelden.
2	Proben, Assay Tubes und Transferpipetten aus der Lagerung nehmen.
3	Im Startmenü „Test starten“ wählen.
4	Barcode des cobas ® Cdiff Assay Tubes scannen.
5	Proben-ID scannen oder manuell eingeben.
6	Probe mit einer Transferpipette in das cobas ® Cdiff Assay Tube überführen und dieses wieder verschließen.
7	Barcode des cobas ® Cdiff Assay Tubes erneut scannen.
8	Den Lauf starten, indem Sie das cobas ® Cdiff Assay Tube einsetzen.
9	Ergebnisse überprüfen.*
10	cobas ® Cdiff Assay Tube entnehmen und entsorgen.

* Ausführliche Informationen zum Hochladen von Ergebnissen in ein DMS oder LIS sind dem Benutzerhandbuch des **cobas**® Liat® Systems zu entnehmen.

Gebrauchsanweisung

Verfahren zum Hinzufügen einer Charge

Bevor eine neue Charge von cobas® Cdiff Assay Tubes verwendet wird, muss diese Charge auf dem cobas® Liat® Analyzer hinzugefügt und für Ihren Standort validiert werden. Für diesen Vorgang werden eine Negativkontrolle und eine Cdiff-Positivkontrolle mitgeführt.

Zum Hinzufügen einer Charge benötigte Materialien

- Neue Charge des cobas® Cdiff Nukleinsäuretests zur Verwendung auf dem cobas® Liat® System (zwei Assay Tubes)
- 2 Transferpipetten aus der cobas® Liat® Transferpipettenpackung
- ID-Barcodekarte der Packungsbeilage für die neue Charge von cobas® Cdiff Assay Tubes
- cobas® Liat® Cdiff Positivkontrolle
- cobas® Liat® Negativkontrolle
- Barcodekarten der cobas® Liat® Cdiff Positivkontrolle und der cobas® Liat® Negativkontrolle

Hinweis: *Detaillierte Anweisungen sind dem Benutzerhandbuch des cobas® Liat® Systems zu entnehmen.*

Verfahren

1. Drücken Sie die Ein/Aus-Taste, um den cobas® Liat® Analyzer zu starten.
2. Wählen Sie auf dem Bildschirm des cobas® Liat® Analyzers die Option **Anmelden**.
3. Wenn die entsprechende Aufforderung erscheint, geben Sie Ihren Benutzernamen ein und wählen Sie **Eingeben**.
4. Wenn die entsprechende Aufforderung erscheint, geben Sie Ihr Benutzerkennwort ein und wählen Sie **Eingeben**.

Hinweis: *Möglicherweise werden Sie aufgefordert zu bestätigen, dass Sie das Benutzerhandbuch zum cobas® Liat® System gelesen haben.*

5. Wählen Sie im Hauptmenü des cobas® Liat® Analyzers die Option **Testmenü**.
6. Wählen Sie unten in der Liste den Eintrag **Neue Charge**.
7. Wenn die Aufforderung **ID der Beilage scannen** erscheint, wählen Sie **Scannen** und lesen Sie die ID von der Barcodekarte der cobas® Cdiff Packungsbeilage ein. Stellen Sie sicher, dass der rote Lichtstrahl den ganzen Barcode erfasst.

Hinweis: *Möglicherweise werden Sie aufgefordert zu bestätigen, dass Sie die Packungsbeilage bzw. Gebrauchsanweisung gelesen haben.*

8. Wenn die Aufforderung **ID Negativkontr. scannen** erscheint, wählen Sie **Scannen** und lesen Sie die ID von der Barcodekarte der Negativkontrolle aus dem Kontrollmaterial-Kit ein. Stellen Sie sicher, dass der rote Lichtstrahl den ganzen Barcode erfasst. Danach zeigt der cobas® Liat® Analyzer die Aufforderung **Negativkontr. einsetz. & Tube-ID scannen** an.
9. Halten Sie ein Röhrchen mit cobas® Liat® Negativkontrolle aufrecht und klopfen Sie es leicht auf einer ebenen Fläche auf, damit sich die Flüssigkeit am Boden des Röhrchens sammelt.
10. Öffnen Sie die Folienverpackung eines cobas® Cdiff Assay Tubes (aus der hinzuzufügenden Charge) und nehmen Sie das Assay Tube aus der Verpackung.

11. Verwenden Sie eine Transferpipette aus der **cobas® Liat®** Transferpipettenpackung, um die **cobas® Liat®** Negativkontrolle in das **cobas® Cdiff Assay Tube** zu überführen. Drücken Sie den Pipettenballon ganz flach, tauchen Sie die Pipettenspitze in die Flüssigkeit und ziehen Sie die Probe auf, indem Sie den Ballon langsam loslassen.

Hinweis: Verwenden Sie zum Überführen von Kontrollen und Proben in das cobas® Cdiff Assay Tube ausschließlich die Transferpipette aus der cobas® Liat® Transferpipettenpackung.

12. Nehmen Sie vorsichtig den Verschluss des **cobas® Cdiff Assay Tubes** ab und führen Sie die Pipette in die Öffnung ein. Die Pipettenspitze muss sich kurz vor dem Boden der Probenkammer befinden.
13. Drücken Sie den Ballon langsam zusammen, um den Inhalt der Pipette in das **cobas® Cdiff Assay Tube** abzugeben. Vermeiden Sie die Bildung von Luftblasen in der Probe. Lassen Sie den Pipettenballon nicht los, solange sich die Pipette noch im **cobas® Cdiff Assay Tube** befindet.

Hinweis: Das cobas® Cdiff Assay Tube und die Versiegelung am Boden der Probenkammer dürfen nicht durchstochen werden. Wird eines von beiden beschädigt, entsorgen Sie sowohl das cobas® Cdiff Assay Tube als auch die Transferpipette und beginnen Sie das Testverfahren mit einem neuen cobas® Cdiff Assay Tube von vorne.

14. Schrauben Sie den Verschluss wieder auf das **cobas® Cdiff Assay Tube**. Entsorgen Sie die Transferpipette.
15. Wählen Sie **Scannen** und legen Sie das **cobas® Cdiff Assay Tube** unter dem Barcodeleser waagrecht auf den Tisch, so dass der rote Lichtstrahl den ganzen Barcode erfasst. Die Röhrcheneinfüllklappe für das Assay Tube an der Oberseite des **cobas® Liat®** Analyzers öffnet sich nach dem Einlesen des Barcodes automatisch.
16. Entfernen Sie die **cobas® Cdiff Assay-Tube-Hülse** und setzen Sie das **cobas® Cdiff Assay Tube** sofort in den **cobas® Liat®** Analyzer ein, bis es einrastet.

Hinweis: Es gibt nur eine mögliche Ausrichtung des cobas® Cdiff Assay Tubes: Die Rille an der Seite des cobas® Cdiff Assay Tubes muss nach links und der Verschluss nach oben zeigen.

17. Wenn das Assay Tube nicht eingesetzt wird, bis sich die Klappe wieder schließt, muss der Barcode des **cobas® Cdiff Assay Tubes** erneut eingelesen und das **cobas® Cdiff Assay Tube** anschließend eingesetzt werden. Wenn das **cobas® Cdiff Assay Tube** richtig eingesetzt wurde, schließt sich die Klappe des **cobas® Liat®** Analyzers automatisch und der Test wird gestartet.
18. Während des Tests zeigt der **cobas® Liat®** Analyzer den aktuellen Status und die ungefähr verbleibende Zeit an. Nach Abschluss des Tests, wenn **Ergebnis der Negativkontrolle akzeptiert** angezeigt wird, wählen Sie **Bestätigen**. Wenn das Ergebnis zurückgewiesen wird, wiederholen Sie den Lauf der Negativkontrolle (Schritte 8–18). Wenn der wiederholte Kontrolllauf nicht zu den erwarteten Ergebnissen führt, wenden Sie sich an Ihren Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.
19. Nach Abschluss des Tests zeigt der **cobas® Liat®** Analyzer die Meldung **Entnehmen Sie das Assay Tube langsam und vorsichtig** an und öffnet die Röhrcheneinfüllklappe automatisch. Nehmen Sie das **cobas® Cdiff Assay Tube** aus dem **cobas® Liat®** Analyzer. Entsorgen Sie das gebrauchte **cobas® Cdiff Assay Tube** in einem Behälter für infektiöse Abfälle.
20. Wählen Sie **Zurück**, um den Test der **cobas® Liat® Cdiff** Positivkontrolle auf diesem Gerät durchzuführen.
21. Wiederholen Sie die Schritte 8 bis 17 mit der **cobas® Liat® Cdiff** Positivkontrolle anstelle der **cobas® Liat®** Negativkontrolle.
22. Wenn nach Abschluss des Laufs die Meldung „**Ergebnis der Positivkontrolle akzeptiert. Charge ... hinzugefügt**“ angezeigt wird, wählen Sie **Bestätigen** und anschließend **Zurück**, um zum Hauptmenü zurückzukehren. Wenn das

Ergebnis zurückgewiesen wurde, wiederholen Sie den Test der **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle. Wenn der wiederholte Kontrolllauf nicht zu den erwarteten Ergebnissen führt, wenden Sie sich an Ihren Kundendienstmitarbeiter von Roche Diagnostics.

23. Wiederholen Sie Schritt 19.

24. Wählen Sie **Testmenü**, um das Hinzufügen der neuen Charge zu überprüfen.

Nachdem auf einem Analyzer eine Charge hinzugefügt wurde, übertragen Sie mithilfe des Menüs „Tools“ des **cobas**® Liat Analyzers und eines USB-Sticks die Chargendaten auf die anderen Analyzer an Ihrem Standort. Auf diese Weise kann diese Charge von **cobas**® Cdiff Assay Tubes auf anderen Analyzern verwendet werden, ohne dass die Charge auf jedem einzelnen Analyzer hinzugefügt werden muss. Gehen Sie gemäß den Anweisungen im Benutzerhandbuch zum **cobas**® Liat® System vor und exportieren Sie die Testchargen (Option „Testchargen exportieren“) auf dem Analyzer, auf dem die Charge hinzugefügt wurde. Importieren Sie anschließend die Testchargen (Option „Testchargen importieren“) auf allen anderen Analyzern an Ihrem Standort.

Überführen von Proben in **cobas**® PCR Media

1. Stuhlproben müssen innerhalb des Zeitraums, der im Abschnitt „Entnahme, Transport und Lagerung von Proben“ angegeben ist, in ein Röhrchen mit **cobas**® PCR Media überführt und getestet werden. Die ursprüngliche Stuhlprobe wird in diesem Dokument auch als „Primärprobe“, die in **cobas**® PCR Media suspendierte Stuhlprobe (siehe nachstehende Schritte) auch als „Sekundärprobe“ bezeichnet.
2. Verwenden Sie zum Überführen der Stuhlprobe den Abstrichtupfer aus dem **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Tauchen Sie die Spitze des Abstrichtupfers vollständig, d. h. bis zum Ende des abgeschrägten Teils, in die Stuhlprobe ein, ohne die Wände des Stuhlbehälters zu berühren.
3. Ziehen Sie den benetzten Tupfer sofort heraus und geben Sie ihn in das Röhrchen mit **cobas**® PCR Media. Probe nicht testen, wenn nicht genügend Stuhl vorhanden ist, um die Spitze des Tupfers vollständig einzutauchen.
4. Brechen Sie den Stiel des Abstrichtupfers durch Druck gegen die Seite des **cobas**® PCR Media-Röhrchens an der grauen Einkerbung ab.
5. Verschließen Sie das Röhrchen und schwenken Sie es mindestens 5-mal.

Hinweis: *cobas*® Cdiff wurde für die Verwendung mit dem **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit validiert. Andere Hilfsmittel oder Medienarten wurden nicht für die Verwendung mit dem **cobas**® Cdiff-Test validiert.

Hinweis: *Um eine Kreuzkontamination von in **cobas**® PCR Media suspendierten Stuhlproben zu verhindern, sollten die **cobas**® PCR Media-Röhrchen, die Probensuspension enthalten, nach der Verarbeitung mit Verschlüssen in einer anderen Farbe (neutral, siehe „Zusätzlich erhältliches Material“) verschlossen werden.*

Hinweis: *Das Volumen von **cobas**® PCR Media für Stuhlsuspensionen in den **cobas**® PCR Media-Röhrchen reicht für mehrfaches Testen auf dem **cobas**® Liat® System aus. Das erforderliche Stuhlsuspension-Mindestvolumen für einen **cobas**® Cdiff-Lauf beträgt 0,2 ml.*

Durchführen des cobas® Cdiff Tests an klinischen Proben

Zur Durchführung des cobas® Cdiff Tests benötigtes Material

- cobas® Cdiff Assay Tube aus der Folienverpackung des cobas® Cdiff Tests
- Transferpipette aus der cobas® Liat® Transferpipettenpackung
- Stuhlproben, in cobas® PCR Media suspendiert (siehe „Überführen von Proben in cobas® PCR Media“)

Verfahren

1. Stellen Sie sicher, dass der cobas® Liat® Analyzer eingeschaltet ist.
2. Wählen Sie auf dem Bildschirm des cobas® Liat® Analyzers die Option **Anmelden**.
3. Wenn die entsprechende Aufforderung erscheint, geben Sie Ihren Benutzernamen ein und wählen Sie **Eingeben**.
4. Wenn die entsprechende Aufforderung erscheint, geben Sie Ihr Benutzerkennwort ein und wählen Sie **Eingeben**.

Hinweis: Möglicherweise werden Sie aufgefordert zu bestätigen, dass Sie das Benutzerhandbuch zum cobas® Liat® System gelesen haben.

5. Wählen Sie im Startmenü die Option **Test starten**.
6. Öffnen Sie einen cobas® Cdiff Assay-Tube-Beutel und nehmen Sie das Assay Tube heraus. Wenn die Aufforderung zum Scannen der Liat Assay Tube-ID erscheint, wählen Sie **Scannen** und legen Sie das cobas® Cdiff Assay Tube unter dem Barcodeleser waagrecht auf den Tisch, so dass der rote Lichtstrahl den ganzen Barcode erfasst.
7. Wenn die Aufforderung **Proben-ID scannen** erscheint, wählen Sie **Scannen**, um den Probenbarcode einzulesen. Wenn die Probe nicht eingelesen werden kann, wählen Sie **Eingeben**, um die Proben-ID manuell einzugeben.

Hinweis: Je nach Analyzerkonfiguration müssen die angegebenen Patienteninformation eventuell bestätigt werden; wählen Sie dazu die Taste „Bestätigen“.

8. Überführen Sie bei entsprechender Aufforderung die Probe in das cobas® Cdiff Assay Tube.
9. Überführen Sie die Sekundärprobe mithilfe einer Transferpipette aus der cobas® Liat® Transferpipettenpackung. Drücken Sie den Pipettenballon ganz flach, tauchen Sie die Pipettenspitze in die Flüssigkeit und ziehen Sie die Probe auf, indem Sie den Ballon langsam loslassen.

Hinweis: Um eine Kontamination der Pipettenpackung zu vermeiden, sind vor der Entnahme einer Transferpipette aus der cobas® Liat® Transferpipettenpackung die Handschuhe zu wechseln.

10. Nehmen Sie vorsichtig den Verschluss des cobas® Cdiff Assay Tubes ab und führen Sie die Pipette in die Öffnung ein. Die Pipettenspitze muss sich kurz vor dem Boden der Probenkammer befinden.
11. Drücken Sie den Ballon langsam zusammen, um den Inhalt der Pipette in das cobas® Cdiff Assay Tube abzugeben. Lassen Sie den Pipettenballon nicht los, solange sich die Pipette noch im cobas® Cdiff Assay Tube befindet.
12. Verschließen Sie das cobas® Cdiff Assay Tube wieder und entsorgen Sie die Transferpipette.

Hinweis: Achten Sie darauf, dass die Handschuhe, die Ausrüstung und die Arbeitsflächen nicht mit dem Restinhalt der Pipette kontaminiert werden.

13. Wählen Sie **Scannen** und lesen Sie den Barcode desselben cobas® Cdiff Assay Tubes erneut ein. Die Röhreneinfallklappe für das Assay Tube an der Oberseite des cobas® Liat® Analyzers öffnet sich automatisch.

14. Entfernen Sie die **cobas**® Cdiff Assay-Tube-Hülse und setzen Sie das **cobas**® Cdiff Assay Tube sofort in den **cobas**® Liat® Analyzer ein, bis es einrastet.

Hinweis: Es gibt nur eine mögliche Ausrichtung des cobas® Cdiff Assay Tubes: Die Rille an der Seite des cobas® Cdiff Assay Tubes muss nach links und der Verschluss nach oben zeigen.

15. Wenn das Assay Tube nicht eingesetzt wird, bis sich die Klappe wieder schließt, muss der Barcode des **cobas**® Cdiff Assay Tubes erneut eingelesen und das **cobas**® Cdiff Assay Tube anschließend eingesetzt werden. Wenn das **cobas**® Cdiff Assay Tube richtig eingesetzt wurde, schließt sich die Klappe des **cobas**® Liat® Analyzers automatisch und der Test wird gestartet.
16. Während des Tests zeigt der **cobas**® Liat® Analyzer den aktuellen Status und die ungefähr verbleibende Zeit an. Nach Abschluss des Tests zeigt der **cobas**® Liat® Analyzer die Meldung **Entnehmen Sie das Assay Tube langsam und vorsichtig** an und öffnet die Röhreneinfüllklappe automatisch. Nehmen Sie das **cobas**® Cdiff Assay Tube aus dem **cobas**® Liat® Analyzer. Entsorgen Sie das gebrauchte **cobas**® Cdiff Assay Tube in einem Behälter für infektiöse Abfälle.
17. Wählen Sie **Bericht**, um einen Ergebnisbericht anzuzeigen. Wählen Sie ggf. **Drucken**, um den Bericht zu drucken.
18. Wählen Sie **Zurück** und anschließend **Start**, um zum Hauptmenü zurückzukehren und den nächsten Test durchzuführen.

Durchführen zusätzlicher Kontrollläufe

Mit einer Charge von **cobas**® Cdiff Assay Tubes, die bereits wie beschrieben auf dem Analyzer hinzugefügt wurde, können zusätzliche Kontrollläufe durchgeführt werden, die aufgrund von örtlichen, regionalen oder überregionalen Vorschriften erforderlich sein können. Verwenden Sie für diese Läufe das **cobas**® Cdiff Kit mit Positiv- und Negativkontrolle zur Verwendung auf dem **cobas**® Liat® System.

Für zusätzliche Kontrollläufe benötigtes Material

- **cobas**® Cdiff Assay Tubes und Transferpipetten
- **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle und/oder **cobas**® Liat® Negativkontrolle.
- Barcodes der **cobas**® Liat Cdiff Positivkontrolle und/oder der **cobas**® Liat® Negativkontrolle.

Verfahren

Gehen Sie zum Durchführen zusätzlicher Kontrollläufe vor wie im Abschnitt „Durchführen des **cobas**® Cdiff Tests an klinischen Proben“ beschrieben. Achten Sie in Schritt 7 darauf, dass Sie als Proben-ID-Barcodes die Barcodes einlesen, die dem **cobas**® Cdiff Kit mit Positiv- und Negativkontrolle beigelegt sind. Die Interpretation der Ergebnisse von **cobas**® Cdiff bei der Analyse zusätzlicher Cdiff Positivkontrollen oder Negativkontrollen sind in Tabelle 9 und Tabelle 10 im Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse“ aufgeführt. Wenn anstelle der beigelegten Kontrollbarcodes andere Barcodes eingelesen werden, kann es zu falschen Kontrollergebnissen kommen.

Ergebnisse

Qualitätskontrolle und Gültigkeit der Ergebnisse

Während des oben beschriebenen Vorgangs zum Hinzufügen einer Charge werden jeweils eine **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle und eine **cobas**® Liat® Negativkontrolle analysiert. Damit die neue Charge von **cobas**® Cdiff Assay Tubes auf dem Gerät validiert wird, muss sowohl die Positiv- als auch die Negativkontrolle ein gültiges Ergebnis liefern. Nach dem Hinzufügen einer Charge können zusätzliche Kontrollläufe durchgeführt werden. Weitere Informationen hierzu sind dem Abschnitt „Durchführen zusätzlicher Kontrollläufe“ unter „Gebrauchsanweisung“ zu entnehmen.

Die **cobas**® Liat® Cdiff interne Kontrolle ist in jedem **cobas**® Cdiff Assay Tube enthalten und wird während des gesamten Test-Arbeitsablaufs mit der Probe mitgeführt.

Positivkontrolle

Die **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle enthält nicht-infektiöse DNA-Plasmide mit der *C. difficile*-Zielsequenz. Die **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle überprüft die Integrität der Reagenzien im **cobas**® Cdiff Assay Tube sowie die ordnungsgemäße Funktion des **cobas**® Liat Analyzers. Wenn die **cobas**® Liat® Cdiff Positivkontrolle häufig ungültige Ergebnisse liefert, ist der technische Kundendienst von Roche Diagnostics zuständig.

Negativkontrolle

Die **cobas**® Liat® Negativkontrolle enthält keine Zielsequenz und überwacht Arbeitsablauf und Umgebung auf eine mögliche Kontamination mit der Zielsequenz. Wenn die **cobas**® Liat® Negativkontrolle häufig ungültige Ergebnisse liefert, ist der technische Kundendienst von Roche Diagnostics zu verständigen.

Interne Kontrolle

Das Assay Tube enthält eine interne Kontrolle mit vollständigen Organismen (Bti), die automatisch allen Proben zu Beginn der Probenvorbereitung zugegeben wird. Bei der **cobas**® Liat® Cdiff internen Kontrolle handelt es sich um ein chemisch inaktiviertes Bakterium, das in jedem **cobas**® Cdiff Assay Tube enthalten ist und zusammen mit jeder Probe verarbeitet wird. Die interne Kontrolle stellt sicher, dass das gesuchte Bakterium über alle Schritte des Tests korrekt verarbeitet wurde und bei der Probenvorbereitung und PCR-Reaktion keine Inhibitoren vorhanden sind. Die **cobas**® Liat® Cdiff interne Kontrolle muss bei negativen Proben positiv ausfallen und kann bei Cdiff-positiven Proben negativ oder positiv sein.

Interpretation der Ergebnisse

Hinweis: Die gesamte Validierung von Proben- und Kontrollläufen erfolgt durch das cobas® Liat® System.

Die Ergebnisse beim Hinzufügen einer Charge sind wie in Tabelle 7 dargestellt zu interpretieren.

Tabelle 7: Interpretation der Ergebnisse des cobas® Cdiff Tests beim Hinzufügen von Chargen

Anzeige auf dem cobas® Liat® Analyzer	Angabe im Bericht und Interpretation der Ergebnisse
Negativkontrolle gültig	Negativkontrolle gültig Kontrolle ist negativ auf <i>C. difficile</i> -DNA.
Negativkontrolle ungültig. Lauf wiederholen.	Negativkontrolle ungültig Ergebnis ist ungültig. Die Negativkontrolle muss erneut getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Lauf wiederholen.
Positivkontrolle gültig	Positivkontrolle gültig Kontrolle ist positiv auf <i>C. difficile</i> -DNA.
Positivkontrolle ungültig. Lauf wiederholen.	Positivkontrolle ungültig Ergebnis ist ungültig. Die Positivkontrolle muss erneut getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Lauf wiederholen.

Probenergebnisse sind wie in Tabelle 8 dargestellt zu interpretieren.

Tabelle 8: Interpretation der Ergebnisse des cobas® Cdiff Tests beim Testen von klinischen Proben

Anzeige auf dem cobas® Liat® Analyzer	Angabe im Bericht und Interpretation der Ergebnisse
Cdiff Erkannt	Cdiff Erkannt Probe ist positiv für <i>C. difficile</i> -DNA.
Cdiff Nicht erkannt	Cdiff Nicht erkannt* Probe ist negativ auf <i>C. difficile</i> -DNA oder vorhandene <i>C. difficile</i> -DNA konnte nicht nachgewiesen werden.
Test ungültig	Test ungültig** Ergebnis ist ungültig. Die Originalprobe muss neu getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Siehe „Mögliche Vorgehensweise zur Testwiederholung“.
Test durch Benutzer abgebrochen	Test durch Benutzer abgebrochen Lauf wurde vom Benutzer abgebrochen. Die Originalprobe muss neu getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Siehe „Mögliche Vorgehensweise zur Testwiederholung“.
Test durch System abgebrochen	Test durch System abgebrochen Lauf wurde vom System abgebrochen. Die Originalprobe muss neu getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Siehe „Mögliche Vorgehensweise zur Testwiederholung“.

* Ein negatives Ergebnis schließt das Vorliegen von *C. difficile*-DNA nicht aus, da die Ergebnisse von einer korrekten Probengewinnung, dem Fehlen von Inhibitoren sowie einer ausreichenden Menge zu detektierender DNA abhängen.

** Es kann zu ungültigen Ergebnissen kommen, wenn die Probe zu viel Stuhl oder Störsubstanzen enthält, die die Isolierung und/oder Amplifikation und Detektion der Ziel-Nukleinsäuren verhindern. Informationen zu bekannten Störsubstanzen sind dem Abschnitt „Verfahrenseinschränkungen“ zu entnehmen. Ein unzureichendes Probenvolumen kann ebenfalls zu ungültigen Ergebnissen führen. Für cobas® Cdiff ist ein Mindestvolumen von 0,2 ml Stuhlsuspension in cobas® PCR Media erforderlich.

Die Ergebnisse beim Testen zusätzlicher Kontrollen nach dem Hinzufügen einer Charge sind wie in Tabelle 9 und Tabelle 10 dargestellt zu interpretieren.

Tabelle 9: Interpretation der Ergebnisse des cobas® Cdiff Tests beim Testen der Positivkontrolle

Anzeige auf dem cobas® Liat® Analyzer	Angabe im Bericht und Interpretation der Ergebnisse
Positivkontrolle gültig	Positivkontrolle gültig Kontrolle ist positiv auf <i>C. difficile</i> -DNA.
Positivkontrolle ungültig	Positivkontrolle ungültig Ergebnis ist ungültig. Die Positivkontrolle muss erneut getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Lauf wiederholen.

Tabelle 10: Interpretation der Ergebnisse des cobas® Cdiff Tests beim Testen der Negativkontrolle

Anzeige auf dem cobas® Liat® Analyzer	Angabe im Bericht und Interpretation der Ergebnisse
Negativkontrolle gültig	Negativkontrolle gültig Kontrolle ist negativ auf <i>C. difficile</i> -DNA.
Negativkontrolle ungültig	Negativkontrolle ungültig Ergebnis ist ungültig. Die Negativkontrolle muss erneut getestet werden, damit ein gültiges Ergebnis erzielt wird. Lauf wiederholen.

Mögliche Vorgehensweise zur Testwiederholung

Ungültige und fehlgeschlagene/abgebrochene Läufe können einmal mit derselben Sekundärprobe wiederholt werden. Wenn auch der Wiederholungslauf ungültig ist, kann eine neue Sekundärprobe aus derselben Primärprobe hergestellt werden. Alternativ kann, falls realisierbar, eine neue Primärprobe gewonnen werden, um den cobas® Cdiff Test zu wiederholen.

Verfahrenseinschränkungen

1. cobas® Cdiff wurde nur zur Verwendung mit ungeformten oder teilweise geformten Stuhlproben validiert, die entsprechend der Gebrauchsanweisung (Packungsbeilage) in cobas® PCR Media-Röhrchen überführt wurden.
2. Zuverlässige Ergebnisse sind nur bei Anwendung sachgemäßer Verfahren für Entnahme, Transport, Lagerung und Bearbeitung der Proben gewährleistet. Die in der vorliegenden Gebrauchsanweisung für cobas® Cdiff und im Benutzerhandbuch des cobas® Liat® Systems beschriebenen Vorgehensweisen sind zu befolgen.
3. Die Detektion von *C. difficile*-DNA hängt von der in der Probe vorhandenen Anzahl von Organismen ab und kann durch die Methoden zur Entnahme/Verarbeitung der Probe, frühere Krankenhausaufenthalte, Anwendung von Antibiotika und die Art der *C. difficile*-Stämme beeinflusst werden.
4. Verschiedene Störsubstanzen können zu falsch-negativen oder ungültigen Ergebnissen führen. cobas® Cdiff enthält eine interne Kontrolle zur Erkennung von Substanzen in den Proben, die bei der Isolierung von Nukleinsäuren und der PCR-Amplifikation störend wirken könnten. Zu Störungen kann es unter anderem in den folgenden Situationen kommen:
 - Proben mit einem Schleimanteil von mehr als 50 % (Massenvolumen-%) können zu falsch-negativen Ergebnissen führen.

5. Ein positives Ergebnis zeigt das Vorliegen von *C. difficile*-DNA und nicht zwingend das Vorliegen lebensfähiger Organismen an. Daher wird dieser Test nicht zur Therapieüberwachung oder Heilungskontrolle empfohlen.
6. Mutationen oder Polymorphismen in Primer- und Sonden-Bindungsregionen können die Detektion neuer oder unbekannter Varianten beeinträchtigen, so dass cobas® Cdiff ein falsch-negatives Ergebnis liefert.
7. Der prädiktive Wert eines Tests hängt von der Prävalenz der Erkrankung in einer bestimmten Population ab.
8. Dieses Produkt darf nur von Personal verwendet werden, das in der Verwendung des cobas® Liat® Systems geschult ist.

Bewertung der Leistungsmerkmale

Analytische Sensitivität

Die analytische Sensitivität (Nachweisgrenze oder LoD, Limit of Detection) von cobas® Cdiff wurde durch die Analyse quantifizierter *C. difficile*-Kulturen bestimmt, die auf verschiedene Konzentrationen einer negativen Stuhlsuspension in cobas® PCR Media verdünnt wurden. Alle Konzentrationen wurden in drei Replikaten unter Verwendung von zwei verschiedenen Chargen von cobas® Cdiff Assay Tubes getestet. Die geringste Konzentration mit einer Trefferquote von 100 % wurde in weiteren Replikaten getestet, um die Nachweisgrenze zu bestätigen. Wenn die Gesamttrefferquote dieser Konzentration unter 95 % lag, wurde die darüber liegende Panel-Konzentration in weiteren Replikaten getestet. Die endgültige Nachweisgrenze wurde mit mindestens 21 weiteren Replikaten bestätigt. Die Nachweisgrenze dieses Tests ist als diejenige Zielkonzentration definiert, die bei ≥ 95 % der getesteten Replikate als positiv nachgewiesen werden kann, bezogen auf die Ergebnisse der Reagenzcharge mit der schlechtesten Leistung.

Die Ergebnisse der Studie zur analytischen Sensitivität sind in Tabelle 11 dargestellt.

Tabelle 11: Nachweisgrenze (LoD) von cobas® Cdiff

Stamm-ID	Toxinotyp	REA*- Typ	PFG†- Typ	Ribotyp	Phänotyp	LoD (CFU/Abstrich)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	n. z.	n. z.	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Restriktionsendonuklease-Analyse. † Pulsfeldgel.

Detektion von *C. difficile*-Genotypen

Die Nachweisgrenze von cobas® Cdiff bei 37 toxischen Stämmen, die weitere Toxinotypen darstellen, wurde durch Testen von drei Replikaten je Stamm in einer dem Dreifachen der Nachweisgrenze entsprechenden Konzentration (270 CFU/Abstrich) von ATCC 43255 überprüft. Die Verdünnungen und Analyseproben wurden in ähnlicher Weise wie bei der oben beschriebenen Studie zur Nachweisgrenze hergestellt.

Alle 37 toxischen Stämme (Tabelle 12) wurden in dieser Studie als 100 % positiv detektiert, womit bestätigt wurde, dass cobas® Cdiff diese *C. difficile*-Toxinotypen nachweisen kann.

Tabelle 12: Zusammenfassung der Überprüfungsergebnisse für toxische *C. difficile*-Stämme

	Cdiff-Stamm	Toxinotyp	Ribotyp	Trefferquote
1	ATCC# BAA-1382, 630	0	12	100,00 %
2	EX 623	I	102	100,00 %
3	AC 008	II	103	100,00 %

	Cdiff-Stamm	Toxinotyp	Ribotyp	Trefferquote
4	2004118, CDC-204118 (NAP-1)	III	27	100,00 %
5	SE 844	IIIa	80	100,00 %
6	CH6230	IIIc	n. z.	100,00 %
7	P43	IV	n. z.	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. z.	100,00 %
17	IS 25	XII	56	100,00 %
18	R 9367	XIII	70	100,00 %
19	R 10870	XIV (neu XIVa)	111	100,00 %
20	R 9385	XV (neu 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. z.	100,00 %
25	TR14	XX	n. z.	100,00 %
26	CH6223	XXI	n. z.	100,00 %
27	CD07-468	XXII	n. z.	100,00 %
28	8785	XXIII (neu IXc)	n. z.	100,00 %
29	597B	XXIV	131	100,00 %
30	7325	XXV	27	100,00 %
31	7459	XXVI	n. z.	100,00 %
32	KK2443/2006	XXVII	n. z.	100,00 %
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00 %
34	CD07-140	XXIX	56	100,00 %
35	ES 130	XXX	n. z.	100,00 %
36	WA 151	XXXI	n. z.	100,00 %
37	173070	XXXII	n. z.	100,00 %

Präzision

Die interne Präzision wurde mit einem Panel aus der *C. difficile*-Kultur ATCC 43255 bestimmt, die zu einer negativen Stuhlsuspension in cobas® PCR Media auf Konzentrationen unterhalb der Nachweisgrenze (LoD), nahe der Nachweisgrenze und über der Nachweisgrenze des cobas® Cdiff Tests verdünnt wurde. Eine negative Konzentrationsstufe, die nur aus der negativen Stuhlsuspension in cobas® PCR Media bestand, wurde ebenfalls analysiert. Die Tests wurden über 12 Tage in insgesamt 192 Läufen auf drei Geräten mit sechs verschiedenen Chargen von cobas® Cdiff Testreagenzien durchgeführt. Tabelle 13 enthält eine Beschreibung der Panels zur Bestimmung der Präzision und eine Zusammenfassung der Studie.

Die Analyse der Varianzkomponenten (Tabelle 14) ergab, dass die Variabilität der Ct-Zielwerte bei Konzentrationen gleich oder nahe der Nachweisgrenze größtenteils auf zufällige Faktoren und Gerätefaktoren zurückzuführen ist (67 % bzw. 32 %). Bei Konzentrationen über der Nachweisgrenze ist die Variabilität der Ct-Werte größtenteils auf zufällige Faktoren und Charge-zu-Charge-Faktoren zurückzuführen (58 % bzw. 20 %). Die Ergebnisse (Tabelle 15) zeigen, dass die Ct-Zielwerte einen Gesamt-Variationskoeffizienten (VK) (%) von 2,4 % bei Konzentrationen an der Nachweisgrenze und 2,3 % bei Konzentrationen über der Nachweisgrenze aufwiesen.

Tabelle 13: Analyse der Positivraten aus der Studie zur internen Präzision

Panelprobe	Anz. getestet	Anz. Positive	Positivrate	95% KI	
				Untere Grenze	Obere Grenze
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 = Nachweisgrenze

Tabelle 14: Analyse der Ct-Varianzkomponenten für die Panelproben in der Präzisionsstudie

Stufe	Mittlerer Ct	Varianzkomponenten/prozentualer Einfluss zum Gesamtwert				Gesamt
		Charge	Gerät	Tag	Zufall	
~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 = Nachweisgrenze

Tabelle 15: Analyse der Standardabweichungen und Variationskoeffizienten (%) der Ct-Werte für die Panelproben in der Präzisionsstudie

Stufe	Mittlerer Ct	SD-Komponenten/Prozent VK				Gesamt
		Charge	Gerät	Tag	Zufall	
~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 = Nachweisgrenze

Analytische Spezifität

Zur Bestimmung der analytischen Spezifität von cobas® Cdiff wurden die folgenden Organismenpanels getestet:

- 1) 118 Bakterien, Fungi und Viren, die in Stuhlproben vorkommen können, sowie eine humane Zellart (Tabelle 16)
- 2) 32 Organismen der Gattung *Clostridium*, einschließlich nicht-toxischem *C. difficile* (Tabelle 17)

Die analytische Spezifität für *Clostridium botulinum* wurde durch einen Abgleich mit der GenBank-Sequenzdatenbank mit Hilfe des BLAST-Programms ermittelt, mit dem der Schritt zur Erzeugung des PCR-Amplifikats nachgeahmt wurde.

Alle Bakterien und Humanzellen wurden auf eine Konzentration von 1×10^6 Einheiten*/ml und alle Viren auf eine Konzentration von 1×10^5 Einheiten*/ml in der Stuhlmatrix gebracht. Getestet wurden die Organismen alleine oder mit zwei toxischen *C. difficile*-Isolaten, die einzeln in einer der 3fachen Nachweisgrenze (LoD) von cobas® Cdiff entsprechenden Konzentration vorlagen. Die Ergebnisse zeigten an, dass keiner der Organismen die Detektion der vorgesehenen Cdiff-Zielsequenzen störte. In keinem Fall kam es zu falsch-positiven Ergebnissen, wenn keine vorgesehene *C. difficile*-Zielsequenz vorhanden war.

* Bakterien wurden in CFU/ml (Colony Forming Units, koloniebildende Einheiten), Humanzellen in Zellen/ml und Viren in TCID₅₀/ml quantifiziert – mit Ausnahme von *Chlamydia trachomatis*, das in IFU/ml quantifiziert wurde.

Tabelle 16: Getestete Mikroorganismen und Humanzellen

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter Iwoffii</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 Humanzellen	<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 (früher <i>Salmonella 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. Stamm 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>	Cytomegalievirus (HHV5)
Humanes Adenovirus Typ 41	Humanes Coxsackie-Virus A4	Humanes Coxsackie-Virus B4
Humanes Echovirus 11	Humanes Enterovirus 71	Humanes Rotavirus
Norovirus GII	-	-

Tabelle 17: Organismen der Gattung *Clostridium*, einschließlich nicht-toxischem *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 (nicht-toxisch)	<i>Clostridioides difficile</i> Serogruppe I (nicht-toxisch)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (nicht-toxischer Typ XIa)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (nicht-toxischer Typ XIa)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (nicht-toxischer Typ 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> (umbenannt in <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>	-

* Basierend auf Analysen des BLAST Programms.

** Drei bei der Subtypenerfassung getestete, nicht-toxische Cdiff-Stämme (Toxinotyp XI), die vom **cobas®** Cdiff Test nicht nachgewiesen wurden, sind in dieser Tabelle enthalten.

Störeinflüsse

Es wurden die potentiellen Störeinflüsse von 38 gängigen Medikamenten sowie von Stuhlfett, Vollblut und Schleim auf den **cobas®** Cdiff Test untersucht. Alle Substanzen wurden in Konzentrationen getestet, die über den bei Abstrichen aus Stuhlproben zu erwartenden Werten lagen. Die Menge der Störsubstanz wird als Konzentration in der Primärstuhlprobe angegeben. Zwei *C. difficile*-Isolate wurden auf eine Konzentration der 3fachen Nachweisgrenze (LoD) von **cobas®** Cdiff gebracht und in den Tests als Zielorganismen verwendet. Bei den exogenen Substanzen wurden keine Störeinflüsse beobachtet. Bei Stuhlfett wurden bis zu einer Konzentration von 39 % keine Störeinflüsse festgestellt, bei Vollblut bis zu einer Konzentration von 100 % und bei Schleim bis zu einer Konzentration von 50 % (jeweils Massenvol.-%). Diese Ergebnisse sind in Tabelle 18 zusammengefasst.

Tabelle 18: Ergebnisse der Tests von Störsubstanzen

Substanz	Konzentration
Stuhlfett	0,22–39 % (Massenvol.-%)
Vollblut	100 % (Massenvol.-%)
Schleim	50 % (Massenvol.-%)
Aleve	100 % (Massenvol.-%)
Mylanta	100 % (Massenvol.-%)
Anusol	100 % (Massenvol.-%)
Dulcolax	23 %* (Massenvol.-%)
Equate Laxative (Abführmittel)	50 %* (Massenvol.-%)
Equate Hydrocortison	100 % (Massenvol.-%)
E-Z-HD Bariumsulfat	100 % (Massenvol.-%)
Fleet	100 % (Massenvol.-%)
Glycerinzäpfchen	100 % (Massenvol.-%)
Gravol Zäpfchen	100 % (Massenvol.-%)
Gynol II (Verhütungsmittel)	10 %* (Massenvol.-%)
Imodium	100 % (Massenvol.-%)
Kaopectate (Mittel gegen Durchfall)	100 % (Massenvol.-%)
K-Y Jelly (Gleitmittel)	100 % (Massenvol.-%)
Metronidazol	100 % (Massenvol.-%)
Miconazol	100 % (Massenvol.-%)
Mineralöl	100 % (Massenvol.-%)
Monistat Cream (Hydrocortison)	100 % (Massenvol.-%)
Monistat Complete Care (Antimykotikum)	100 % (Massenvol.-%)
Nystatin-Salbe	100 % (Massenvol.-%)
Palmitinsäure	100 % (Massenvol.-%)
Pedia Lax (Abführmittel für Kinder)	100 % (Massenvol.-%)
Pepto-Bismol	25 %* (Massenvol.-%)
Hamamelis virginiana	50 %* (Massenvol.-%)
Preparation H Hemorrhoidal Cream (Hämorrhoidencreme)	100 % (Massenvol.-%)
Preparation H Hemorrhoidal Ointment (Hämorrhoidensalbe)	100 % (Massenvol.-%)
Dramamine (Dimenhydrinat)	12,5 %* (Massenvol.-%)
Stearinsäure	100 % (Massenvol.-%)
Docusat-Natrium	100 % (Massenvol.-%)
Tums (Antazidum)	50 %* (Massenvol.-%)
Mesalazin-Suspension zur rektalen Anwendung	100 % (Massenvol.-%)
Vagisil Creme gegen Juckreiz	12,5 %* (Massenvol.-%)
Vancomycin	100 % (Massenvol.-%)
Vaseline	100 % (Massenvol.-%)
Sonnenschutzcreme	100 % (Massenvol.-%)
Monistat Vaginal Insert (Antimykotikum)	100 % (Massenvol.-%)
Vaginal Contraceptive Film (Verhütungsmittel)	100 %
Spermizid-Kondome	100 %

Klinische Leistung bei Verwendung klinischer Proben

Die Leistung von **cobas**® Cdiff wurde mit der Leistung eines kommerziell erhältlichen Nukleinsäuretests (NAT) auf dem neuesten Stand der Technik verglichen. Dabei wurde ein Zytotoxizitätstest mit *C. difficile*-Isolaten aus direkter und angereicherter Kultur als Referenzmethode herangezogen. Es wurden 442 prospektiv genommene Stuhlproben von zwei Standorten sowie 284 gefrorene archivierte Stuhlproben von fünf Standorten mit **cobas**® Cdiff und dem Vergleichs-NAT getestet. Ein zweites Aliquot der Proben wurden für den Zytotoxizitätstest an ein Referenzlabor gesendet.

cobas® Cdiff und der Vergleichs-NAT wurden jeweils gemäß den Anweisungen des Herstellers durchgeführt. Der Gewebekultur-Zytotoxizitätstest wurde mittels direkter und angereicherter Kultur durchgeführt. Jede Stuhlprobe wurde zunächst auf vorreduzierten Cycloserin-Cefoxitin-Fruktose-Agar (CCFA-HT) und CCMB-TAL-Bouillon geimpft. Die CCMB-TAL-Bouillon wurde 48–72 Stunden inkubiert und 5 Tage bei 35 °C auf Brucella-Agar subkultiviert. Wenn die *C. difficile*-Kolonien schwer zu isolieren waren, erfolgte eine Subkultur der Organismen auf CCFA-VA-Agar. Verdächtige Kolonien wurden mittels Gram-Färbung, Aerobie-Unverträglichkeit sowie Pro-Disk-Test als *C. difficile* identifiziert und in anaerobe Nährbouillon geimpft. Die Überstände der anaeroben Nährbouillon wurden dann zur Detektion des *C. difficile*-Toxins B mit dem Gewebekultur-Zytotoxizitätstest (C. DIFFICILE TOX-B Test, Techlab) aufbereitet.

Durch direkte und angereicherte Kultur wurden insgesamt 155 *C. difficile*-positive Proben ermittelt (Prävalenz: 21,3 %). Die Leistung von **cobas**® Cdiff und des Vergleichs-NAT im Vergleich zur Kultur sind in Tabelle 19 bis Tabelle 21 dargestellt. Dargestellt wird die Korrelation mit den Ergebnissen der direkten Kultur und mit den kombinierten Ergebnissen der direkten und der angereicherten Kultur. „Kombinierte Ergebnisse“ bedeutet, dass das kombinierte Kulturergebnis einer Probe als positiv gilt, wenn entweder das Ergebnis der direkten oder das der angereicherten Kultur positiv ist oder beide Ergebnisse positiv sind. Nur wenn sowohl das Ergebnis der direkten als auch das Ergebnis der angereicherten Kultur negativ ist, gilt das kombinierte Kulturergebnis der Probe als negativ.

Korrelation von **cobas**® Cdiff mit Kultur

Die Leistung von **cobas**® Cdiff im Vergleich zur direkten Kultur und zur kombinierten direkten und angereicherten Kultur ist in Tabelle 19 bzw. Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 19: **cobas**® Cdiff und Direktkultur im Vergleich

		Direktkultur		
		Positiv	Negativ	Gesamt
cobas ® Cdiff	Positiv	129	21	150
	Negativ	9	567	576
	Gesamt	138	588	726
Sensitivität	93,5 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 88,1–96,5 %)			
Spezifität	96,4 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 94,6–97,7 %)			
Negativer prädiktiver Wert	98,4 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 97,1–99,3 %)			
Positiver prädiktiver Wert	86,0 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 79,5–90,7 %)			

Tabelle 20: cobas® Cdiff und kombinierte direkte und angereicherte Kultur im Vergleich

		Direkte und angereicherte Kultur		
		Positiv	Negativ	Gesamt
cobas® Cdiff	Positiv	139	11	150
	Negativ	14	562	576
	Gesamt	153	573	726
Sensitivität	90,8 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 85,2–94,5 %)			
Spezifität	98,1 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 96,6–98,9 %)			
Negativer prädiktiver Wert	97,6 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 96,0–98,5 %)			
Positiver prädiktiver Wert	92,7 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 87,3–95,9 %)			

Korrelation von cobas® Cdiff mit einem Vergleichs-NAT

Die Leistung von cobas® Cdiff im direkten Vergleich mit einem kommerziell erhältlichen Vergleichs-NAT auf dem neuesten Stand der Technik ist in Tabelle 21 dargestellt.

Tabelle 21: cobas® Cdiff im Vergleich zu einem Vergleichs-Nukleinsäuretest (NAT)

		Vergleichs-NAT		
		Positiv	Negativ	Gesamt
cobas® Cdiff	Positiv	145	5	150
	Negativ	6	570	576
	Gesamt	151	575	726
Positive Übereinstimmung	96,0 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 91,6–98,2 %)			
Negative Übereinstimmung	99,1 % (exaktes zweiseitiges 95%-Konfidenzintervall: 98,0–99,6 %)			

Rate ungültiger Ergebnisse

Die Rate ungültiger Ergebnisse für cobas® Cdiff wurde anhand der Testergebnisse von 978 klinischen Proben errechnet, darunter auch die 726 Proben aus der Korrelationsstudie. Von den 978 getesteten Proben hatten 2 Proben ungültige Ergebnisse für cobas® Cdiff. Bei einer Testwiederholung wurde für 1 der 2 Proben ein gültiges Ergebnis erzielt, die andere blieb ungültig. Die anfängliche Rate ungültiger Ergebnisse für cobas® Cdiff in dieser Probengruppe betrug daher 0,2 %, bei der Testwiederholung betrug die Rate 0,1 %.

Fehlercodes

Abhängig von der Interpretation und Berechnung des Testergebnisses können die in Tabelle 22 aufgeführten Fehlercodes im Ergebnisbericht erscheinen.

Tabelle 22: Fehlercodes und Definitionen

Fehlercode	Probe	Negativkontrolle (Charge hinzufügen)	Positivkontrolle (Charge hinzufügen)
r0	Interne Kontrolle negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.	Interne Kontrolle negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.	Interne Kontrolle negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff-Test positiv, aber interne Kontrolle negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.	n. z.	Cdiff-Test und/oder interne Kontrolle negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.
FP	n. z.	Cdiff-Test positiv oder ungültig. Lauf wiederholen.	n. z.
g0	n. z.	n. z.	Cdiff-Test negativ oder ungültig. Lauf wiederholen.
g1			
g3			
g4			
x5	Zu geringes Probenvolumen	Zu geringes Probenvolumen	Zu geringes Probenvolumen

Hinweis*: Der Fehlercode r3 wird für Positiv- und Negativkontrollen nicht angezeigt.

Hinweis**: Der Fehlercode x4 wird für Positivkontrollen (bei Hinzufügen einer Charge) nicht angezeigt. Bei Positivkontrollen kann der Fehlercode x4 nur ausgelöst werden, wenn der Fehler während eines zusätzlichen Positivkontrolllaufs nach dem Hinzufügen einer Charge auftritt (siehe „Durchführen zusätzlicher Kontrollläufe“).

Weitere Informationen zu Fehlercodes sind dem aktuellen Benutzerhandbuch des **cobas® Liat®** Systems zu entnehmen.

Weitere Informationen

Wichtigste Leistungsmerkmale des Tests

Probenart	Ungeformter Stuhl
Erforderliche Probenmenge	In jedem cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit sind 4,3 ml cobas ® PCR Media enthalten; für cobas ® Cdiff werden mindestens 0,2 ml benötigt.
Testdauer	Die Ergebnisse liegen ca. 20 Minuten nach dem Laden der Proben in das System vor.
Analytische Sensitivität	Von 45 bis 90 CFU/Abstrich, je nach Isolat
Spezifität	Keine Kreuzreaktivität mit 149 eng verwandten Organismen und Organismen, die üblicherweise in Stuhlproben vorhanden sind
Inklusivität	Alle bekannten <i>C. difficile</i> -Stämme (Toxinotypen 0–XXXI, außer nicht-toxigene Toxinotypen XI) einschließlich des hypervirulenten epidemischen Stamms BI/NAP1/027

Symbole

Die folgenden Symbole werden bei der Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten verwendet.

Tabelle 23: Symbole zur Kennzeichnung von Roche PCR-Diagnostikprodukten

 Alter oder Geburtsdatum	 Produkt nicht für eine patientennahe Testung geeignet	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Internationalen Einheiten pro PCR-Reaktion
 Zusatz-Software	 Produkt nicht für Selbsttests geeignet	 Seriennummer
 Sollbereich (Kopien/ml)	 Vertrieb <i>(Hinweis: ggf. Angabe von Land/Region unter dem Symbol)</i>	 Zentrum, Labor
 Sollbereich (IE/ml)	 Nicht wiederverwenden	 Standardverfahren
 Bevollmächtigter in der Europäischen Gemeinschaft	 Frauen, weiblich	 Mit Ethylenoxid sterilisiert
 Barcode-Datenblatt	 Nur zur Beurteilung der IVD-Leistung	 Im Dunkeln lagern
 Chargenbezeichnung	 Globale Artikelnummer GTIN	 Temperaturbegrenzung
 Biogefährdung	 Import	 Testdefinitionsdatei
 Bestellnummer	 <i>In-vitro</i> -Diagnostikum	 Diese Seite oben
 CE-Kennzeichnung für Konformität; dieses Produkt entspricht den geltenden Vorschriften für die CE-Kennzeichnung für <i>In-vitro</i> -Diagnostika.	 Unterer Grenzwert des Sollbereichs	 Ultrasensitives Verfahren
 Entnahmedatum	 Männer, männlich	 Einmalige Produktkennung
 Gebrauchsanweisung beachten	 Hersteller	 Oberer Grenzwert des Sollbereichs
 Ausreichend für <n> Tests	 Negativkontrolle	 Fülllinie für Urin
 Inhalt des Kits	 Nicht steril	 Nur für die USA: In den USA darf dieses Produkt nach den gesetzlichen Vorschriften nur durch einen Arzt oder auf ärztliche Verschreibung abgegeben werden.
 Kontrolle	 Patientennamen	 Verwendbar bis
 Herstellungsdatum	 Patienten-ID	
 Produkt für patientennahe Tests	 Hier abziehen	
 Produkt zur Eigenanwendung	 Positivkontrolle	
	 Quantifizierungsstandard zur Berechnung der Ergebnisse, in Kopien pro PCR-Reaktion	

Technischer Support

Für technischen Support wenden Sie sich bitte an Ihre Roche-Vertretung vor Ort:

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

Hersteller und Importeur

Tabelle 24: Hersteller und Importeur



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

Hergestellt in den USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Marken und Patente

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Literatur

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.

Dokumentversion

Dokumentversionsübersicht	
Doc Rev. 5.0 04/2024	<p>Es wurden einige Textstellen an die Vorgaben der IVDR angepasst.</p> <p>Es wurden Hinweise und Verfahrensanweisungen in Bezug auf die cobas® Liat® Analyzer Software, Version 3.3 angepasst und aktualisiert.</p> <p>Die Gefahrenhinweise wurden aktualisiert.</p> <p>Der Abschnitt „Verwendungszweck“ wurde hinzugefügt.</p> <p>Tabelle 18 wurde aktualisiert: Hier wurden die Einheiten der Konzentration hinzugefügt sowie redundante Informationen gelöscht.</p> <p>Die Überschrift unter Inklusivität wurde zu „Detektion von <i>C. difficile</i>-Genotypen“ geändert.</p> <p>Es wurden Tippfehler korrigiert und Anweisungen präzisiert.</p> <p>Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert.</p> <p>Der Abschnitt Marken und Patente einschließlich des darin enthaltenen Links wurde aktualisiert.</p> <p>Es wurden Informationen zu den cobas® Liat® Transferpipettenpackungen und ihrer Verwendung hinzugefügt (12 Pipetten/Packung, Kat.-Nr. 09329676001).</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort.</p>
Doc Rev. 6.0 07/2024	<p>Die Gefahrenhinweise für den cobas® Cdiff-Test wurden aktualisiert.</p> <p>Die Marke cobas® wurde aktualisiert.</p> <p>Die Symbolbezeichnungen auf der Symbolseite wurden im Zuge der Harmonisierung aktualisiert.</p> <p>Die Angabe zur Meldung schwerwiegender Vorkommnissen an die zuständigen Behörden wurde aktualisiert.</p> <p>Das Symbol „Rx Only“ wurde von der Titelseite entfernt.</p> <p>Bei Fragen wenden Sie sich bitte an den Kundendienst von Roche Diagnostics vor Ort.</p>