

cobas[®] Cdiff

Nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas[®] Liat[®]-systeem



Voor gebruik bij *in vitro*-diagnostiek

Rx Only

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

20 Tests

P/N: 07454945190

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

5 Sets

P/N: 07454970190

INHOUDSOPGAVE

Beoogd gebruik	4
Samenvatting en verklaring van de test.....	4
Achtergrond: Detectie van <i>C. difficile</i>	4
Uitleg van de test	5
Principes van de procedure.....	5
Monstervoorbereiding.....	5
PCR-amplificatie en TaqMan®-detectie	5
Selectieve amplificatie.....	6
Reagentia en materialen	7
cobas® Cdiff-reagentia en -controles	7
Opslag en verwerking van reagentia.....	9
Aanvullende vereiste materialen	9
Optionele materialen	9
Vereiste maar niet meegeleverde apparaten en software.....	9
Voorzorgsmaatregelen en vereisten voor verwerking.....	10
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.....	10
Goede laboratoriumpraktijken.....	10
Besmetting.....	11
Integriteit	11
Afvoeren	11
Morsen en reinigen	11
Afname, vervoer en opslag van monsters	11
Afname van monsters.....	11
Vervoer, opslag en stabiliteit van monster	12
Testprocedure.....	13
Werkstroom “Lot toevoegen”	13
Werkstroom overdracht van monster	13
Werkstroom cobas® Cdiff	13
Gebruiksaanwijzing	14
Procedure “Lot toevoegen”	14
Overdracht van monster naar cobas® PCR Media.....	16
cobas® Cdiff op klinische monsters uitvoeren.....	16
Aanvullende controleruns uitvoeren.....	18

Resultaten.....	19
Kwaliteitscontrole en geldigheid van resultaten	19
Positieve controle	19
Negatieve controle.....	19
Interne controle	19
Interpretatie van resultaten.....	20
Aanbevolen procedure voor opnieuw testen.....	21
Procedurele beperkingen.....	21
Evaluatie van de prestaties	22
Analytische gevoeligheid	22
Detectie van <i>C. difficile</i> -genotypen	22
Precisie	23
Analytische specificiteit	24
Interferentie	26
Klinische prestaties aan de hand van klinische monsters.....	28
Correlatie van cobas® Cdiff met kweek	28
Correlatie van cobas® Cdiff met vergelijkende nucleïnezuurtest	29
Ongeldigheidspercentage	29
Foutcodes	30
Aanvullende informatie.....	31
Belangrijke testfuncties.....	31
Symbolen	32
Technische ondersteuning	33
Fabrikant en importeur	33
Handelsmerken en patenten.....	33
Auteursrecht	33
Referenties	34
Documentrevisie	36

De cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik op het cobas® Liat®-systeem is bedoeld voor gebruik door professionele zorgverleners of opgeleide gebruikers die bekwaam zijn in het gebruik van het cobas® Liat®-systeem bij near patient testing, op de plaats van de zorgverlening (POC) of in een klinisch laboratorium.

Beoogd gebruik

De cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem, is een geautomatiseerde, kwalitatieve *in-vitro*-diagnostische test waarbij gebruik wordt gemaakt van de real-time polymerase kettingreactie (PCR) voor de detectie van het toxine B-gen (*tcdB*) van toxigene *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) in ongevormde (vloeibare of zachte) ontlasting, afgenomen bij patiënten die verdacht worden van een *C. difficile*-infectie (CDI). De cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem, is bedoeld voor gebruik als een hulpmiddel bij de diagnose van humane CDI in combinatie met klinische en epidemiologische risicofactoren.

Samenvatting en verklaring van de test

Achtergrond: Detectie van *C. difficile*

Clostridioides difficile (*C. difficile*) is een gram-positieve, anaerobe, sporenvormende bacterie die aan het einde van de jaren zeventig is geïdentificeerd als etiologische agentia van antibiotica-gerelateerde diarree en pseudomembraneuze colitis.^{1,2} *C. difficile* is het meest gerapporteerde nosocomiale pathogeen³ en wordt verantwoordelijk gehouden voor 15% tot 20% van de gevallen van antibiotica-gerelateerde diarree en bijna alle gevallen van antibiotica-gerelateerde pseudomembraneuze colitis.⁴ Het aantal gevallen van *C. difficile*-infectie (CDI) is in minder dan twintig jaar verviervoudigd⁵ en wordt met ernstige ziekte en sterfte in verband gebracht³. De toename van de gevallen wordt gedeeltelijk toegeschreven aan de opkomst van hypervirulente stammen, als ribotype BI/027/Noord-Amerikaans pulsotype 1 (NAP1). De groepen die het meeste risico lopen op CDI, zijn ouderen en in het ziekenhuis opgenomen patiënten die onlangs antibiotica hebben gebruikt. De frequentie van CDI-gevallen buiten de ziekenhuisomgeving neemt echter eveneens toe.^{3,6}

Infecties worden door sporen overgedragen en na kolonisatie met toxigene *C. difficile* kunnen personen asymptomatische dragers worden of darmziekten ontwikkelen. Klinische kenmerken van CDI kunnen variëren van milde diarree tot levensbedreigende pseudomembraneuze colitis gekenmerkt door buikpijn, ernstige diarree en systemische symptomen als koorts, verminderde eetlust, misselijkheid en malaise. Ondanks de drastische toename en de ernst van CDI, blijven metronidazol en vancomycine de meest gebruikte medische behandelingen voor acute gevallen en terugkerende infecties.⁷

De diagnose CDI wordt doorgaans door de aanwezigheid van toxine A en/of toxine B in ontlastingsmonsters gesteld. De meeste toxigene *C. difficile*-stammen produceren normaliter twee eiwitexotoxinen: toxine A en toxine B.⁸ Een klein percentage toxigene stammen produceert alleen toxine B.⁹ Het aantonen van het cytopathogene effect op een monolaag van cellen door de werking van toxine B wordt door velen als de "gouden standaard" voor diagnose beschouwd.^{10,11} Het supernatant van de ontlasting kan direct op de monolaag van de cell worden geïncubeerd. Als alternatief kunnen *C. difficile*-isolaten ook in verrijkingsbouillon worden gekweekt voordat het supernatant op de monolaag van de cel wordt geïncubeerd (toxigene kweek). Voor beiden technieken geldt dat er voor het verkrijgen van een eindresultaat minimaal 48 tot 72 uur is vereist.

Door de complexiteit van de procedure en de langere wachttijd op resultaten wordt de kweek van ontlasting niet vaak uitgevoerd en de diagnose wordt doorgaans met behulp van enzyme-immunoassays (EIA) of op DNA-gebaseerde testen gesteld.^{3,12} Immunoassays voor toxinedetectie worden vaak gebruikt omdat deze in minder dan 4 uur positieve resultaten

kunnen opleveren. De gevoeligheid is echter aanzienlijk lager in vergelijking met kweken.^{12, 13} Detectie van het *C. difficile* toxinegen met polymerasekettingreactie (PCR) heeft een hogere gevoeligheid en er hoeft minder lang op het resultaat worden gewacht dan bij zowel kweken als immunoassays.^{3,14-17}

Maatregelen voor infectiebestrijding omvatten het passende gebruik van antimicrobiële middelen, de preventie van kruis-infectie en actief toezicht op gevallen.¹⁸ Er is derhalve een grote behoefte aan zeer gevoelige en snelle geautomatiseerde detectie van *C. difficile*. Met moleculaire methoden kan de detectietijd aanzienlijk worden verkort, waardoor een snelle start van de antimicrobiële behandeling en de snelle uitvoering van maatregelen voor infectiebestrijding mogelijk worden.¹⁴⁻¹⁶ De Cdiff-nucleïnezuurtest van cobas® voor gebruik op het cobas® Liat®-systeem is bedoeld als snelle moleculaire test voor de detectie van het *C. difficile* toxine B-gen in monsters van ongevormde ontlasting van patiënten waarbij CDI wordt vermoed.

Uitleg van de test

De cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem (hierna “cobas® Cdiff” genoemd) is een snelle test waarmee monstervoorbereiding, PCR-amplificatie en real-time detectie van target-DNA-sequenties op de cobas® Liat® Analyzer worden geautomatiseerd. De cobas® Cdiff bestaat uit een wegwerpbaar cobas® Cdiff-testbuisje voor eenmalig gebruik dat reagentia voor de purificatie van nucleïnezuur en reagentia voor de PCR bevat, evenals een interne controle (*Bacillus thuringiensis israelensis* of Bti). In de cobas® Cdiff-testbuisjes worden monstervoorbereiding en PCR-processen geregeld. De cobas® Cdiff-testbuisjes zijn elk individueel afsluitbaar, waardoor het risico op kruisbesmetting tussen monsters wordt verminderd.

Principes van de procedure

Monstervoorbereiding

Organismen in ontlastingsmonster worden gelyseerd met een chaotropisch middel en proteïnase K. Losgelaten nucleïne-zuren, waaronder Bti-DNA voor interne controle, zijn gebonden aan magnetische glasdeeltjes. De deeltjes worden gewassen, en gebonden nucleïne-zuren worden uitgewassen tot een klein volume buffer en vervolgens gemengd met Master Mix en activerende co-factor voor de PCR-reactie.

PCR-amplificatie en TaqMan®-detectie

De Master Mix-reagentia bevat primerparen en probes voor *C. difficile*-toxine B en de interne controle. Als de target-sequenties van nucleïnezuur aanwezig zijn, vindt amplificatie met de overeenkomstige primers door een thermostabiele DNA-polymerase plaats waardoor PCR-producten worden gegenereerd (amplicons). Deze producten worden gedetecteerd door specifieke TaqMan®-probes die fluorescerende rapportagekleurstof en een quencher bevatten. Normaal gesproken onderdrukt deze quencher de fluorescentie van de rapportagekleurstof. Als het PCR-product echter aanwezig is, bindt de probe aan het PCR-product en wordt deze gesplitst door de 5'- tot 3'-nucleaseactiviteit van het polymerase, waardoor de rapportagekleurstof en de quencher van elkaar worden gescheiden. Door deze reactie kan de fluorescentie van de rapportagekleurstof worden uitgestraald, en het signaal wordt in real-time vastgelegd tijdens elke PCR-cyclus door de cobas® Liat® Analyzer. Dit signaal wordt geïnterpreteerd door de cobas® Liat®-systeemsoftware en gerapporteerd als eindresultaat.

Selectieve amplificatie

Selectieve amplificatie van targetnucleïnezuur van het monster wordt bereikt in **cobas**® Cdiff door het gebruik van het AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) en deoxyuridine trifosfaat (dUTP). Het AmpErase-enzym herkent en katalyseert de deconstructie van DNA-strengen die deoxyuridine bevatten¹⁹, maar niet van DNA dat deoxythymidine bevat.

Deoxyuridine is niet aanwezig in natuurlijk DNA, maar is altijd aanwezig in amplicon als gevolg van het gebruik van deoxyuridine trifosfaat in plaats van thymidine trifosfaat als een van de dNTP's in de Master Mix-reagentia; alleen amplicon bevat derhalve deoxyuridine. Deoxyuridine maakt verontreinigend amplicon gevoelig voor vernietiging door het AmpErase-enzym voorafgaand aan amplificatie van het target-DNA. Het AmpErase-enzym, dat is inbegrepen in de Master Mix-reagentia, katalyseert de splitsing van deoxyuridine-bevattend DNA bij de deoxyuridineresten door de desoxyriboseketen te openen bij de C1-positie. Wanneer deze is verwarmd in de eerste stap voor temperatuurcycli bij het alkalische pH van Master Mix, breekt de DNA-keten van amplicon op de plaats van deoxyuridine, waardoor het DNA niet-amplificeerbaar wordt. Het AmpErase-enzym is inactief bij temperaturen boven 55 °C, bijvoorbeeld in de stappen voor temperatuurcycli, en vernietigt daardoor niet het targetamplicon. Voor **cobas**® Cdiff is aangetoond dat het ten minste 1000 kopieën van deoxyuridinebevattende *C. difficile*-amplicon inactief maakt per PCR.

Reagentia en materialen

cobas® Cdiff-reagentia en -controles

Tabel 1: cobas® Cdiff

cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem		
Bij 2–8 °C bewaren 20 tests (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat®-transferpipetverpakkingen (P/N 09329676001)		
Reagentia in cobas® Cdiff-testbuisje	Ingrediënten reagentia	Veiligheidssymbool en waarschuwing ^a
cobas® Liat® Cdiff Internal Control (interne controle)	PBS Tween-80 0,01% ProClin® 300 bewaarmiddel Glycerol EDTA < 1% Bti stock (inactief)	 GEVAAR H302 + H332: Schadelijk bij inslikken en bij inademing. H314: Veroorzaakt ernstige brandwonden en oogletsel. H317: Kan een allergische huidreactie veroorzaken. H334: Kan bij inademing allergie- of astmasymptomen of ademhalingsmoeilijkheden veroorzaken. H411: Giftig voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. P261: Inademing van stof/rook/gas/nevel/damp/spuitnevel vermijden. P273: Voorkom lozing in het milieu. P280: Draag beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming/ gehoorbescherming. P303 + P361 + P353: BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen. P304 + P340 + P310: NA INADEMING: De persoon in de frisse lucht brengen en ervoor zorgen dat deze gemakkelijk kan ademen. Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts raadplegen. P305 + P351 + P338 + P310: BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig afspoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk; blijven spoelen. Onmiddellijk een ANTIGIFCENTRUM/arts raadplegen. P342 + P311: Bij ademhalings symptomen: Een ANTIGIFCENTRUM/arts raadplegen. P391: Gelekte/gemorste stof opruimen. EUH032: Vormt zeer giftig gas in contact met zuren. EUH210: Veiligheidsinformatieblad op verzoek verkrijgbaar. EUH208: Bevat een mengsel van: 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one en 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Kan een allergische reactie veroorzaken. 26172-54-3 2-methyl-2H-isothiazool-3-on hydrochloride 593-84-0 Guanidiniumthiocynaat 9002-92-0 Polidocanol 39450-01-6 Proteïnase, tritirachium album serine
cobas® Liat® Proteinase K (proteïnase K)	Trisbuffer EDTA Calciumchloride Calciumacetaat < 2,0% proteïnase K ^b Glycerine	
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles (magnetische glasdeeltjes)	Magnetische glasdeeltjes Water	
cobas® Liat® Lysis Buffer (lysisbuffer)	Natriumcitraat 3% polidocanol ^b 42,6% guanidiniumthiocynaat ^b Dithiothreitol	
cobas® Liat® Wash Buffer (wasbuffer)	Natriumcitraat-dihydraat 0,05% N-Methylisothiazolinon HCl	
cobas® Liat® Elution Buffer-1 (elutiebuffer)	Recombinant menselijk serumalbumine Tris-HCl-buffer 0,09% natriumazide	

cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem

Bij 2–8 °C bewaren

20 tests (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat®-transferpipetverpakkingen (P/N 09329676001)

Reagentia in cobas® Cdiff-testbuisje	Ingrediënten reagentia	Veiligheidssymbool en waarschuwing ^a
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Tricinebuffer EDTA DMSO Kaliumacetaat Kaliumhydroxide < 0,01% upstream en downstream primers voor <i>C. difficile</i> en de interne controle < 0,01% fluorescerend gelabelde probes voor <i>C. difficile</i> en de interne controle 0,09% natriumazide	
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < 0,19% dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01% oligonucleotide aptameer < 0,01% Z05 DNA polymerase (microbieel) < 0,02% AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) (microbieel) 0,09% natriumazide	
cobas® Liat® Cdiff-cofactor	Mangaanacetaat Magnesiumacetaat Runder serumalbumine van runder plasma afkomstig uit de Verenigde Staten 0,09% natriumazide	

^a Productveiligheidslabels volgen hoofdzakelijk EU GHS-richtlijnen.^b Gevaarlijke stof of gevaarlijk mengsel.**Tabel 2: cobas® Cdiff-kit voor positieve en negatieve controles voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem**

cobas® Cdiff-kit voor positieve en negatieve controles voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem			
Bij 15–30 °C bewaren 5 sets (P/N 07454970190)			
Onderdelen kit	Ingrediënten reagentia	Hoeveelheid per kit	Veiligheidssymbool en waarschuwing
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff-positieve controle)	Trisbuffer EDTA < 0,01% Poly rA RNA (synthetisch) 0,05% natriumazide < 0,01% niet-infectieus plasmide DNA (microbieel) bevat <i>C. difficile</i> -sequentie	5 buisjes	N.v.t.
BUF (–) C (cobas® Liat®-negatieve controle)	Trisbuffer EDTA 0,05% natriumazide < 0,01% Poly rA RNA (synthetisch)	5 buisjes	N.v.t.

Opslag en verwerking van reagentia

Tabel 3: Opslag en verwerking van reagentia

Reagentia	Opslagtemperatuur	Opslagtermijn
cobas® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem	2–8 °C	Stabiel tot de aangegeven houdbaarheidsdatum
cobas® Cdiff-kit voor positieve en negatieve controles voor gebruik met het cobas® Liat®-systeem	15–30 °C	Stabiel tot de aangegeven houdbaarheidsdatum

Opmerking: Vries reagentia niet in.

Open de verpakking van afzonderlijke testbuisjes niet totdat de gebruiker gereed is om de test uit te voeren.

De **cobas®** Liat® transferpipetverpakking kan op kamertemperatuur worden bewaard nadat deze uit de **cobas®** Cdiff-testbuisenset is gehaald. Zorg ervoor dat u schone handschoenen gebruikt als u pasteurpipetten uit de **cobas®** Liat® pasteurpipetverpakking haalt. Sluit de **cobas®** Liat® pasteurpipetverpakking direct weer af nadat u de benodigde pipet(ten) uit de verpakking hebt gehaald.

Vervaldatum van reagentia is gebaseerd op de gecoördineerde wereldtijd (UTC). Lokale tijd voor het vervallen van reagentia kan met 12 uur meer of minder verschuiven, afhankelijk van de lokale tijdzone ten opzichte van UTC.

Aanvullende vereiste materialen

Tabel 4: Aanvullende vereiste materialen

Materialen	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Wegwerphandschoenen, zonder poeder	Alle wegwerphandschoenen zonder poeder zijn acceptabel.

Neem contact op met uw lokale Roche-vertegenwoordiger voor meer informatie over de afzonderlijk verkochte materialen.

Optionele materialen

Tabel 5: Optionele materialen

Materiaal	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit	07958056190

Neem contact op met uw lokale Roche-vertegenwoordiger voor meer informatie over de optionele materialen.

Vereiste maar niet meegeleverde apparaten en software

Tabel 6: Vereiste maar niet meegeleverde apparaten en software

Vereiste apparaten en software, niet meegeleverd
cobas® Liat® Analyzer (P/N 07341920190) Inclusief cobas® Liat®-systeem (elementaire) software versie 3.3.0 of hoger
cobas® Cdiff-script v1.1 of hoger

Neem contact op met uw lokale Roche-vertegenwoordiger voor meer informatie over de vereiste apparaten en software.

Voorzorgsmaatregelen en vereisten voor verwerking

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Zoals voor elke testprocedure geldt zijn goede laboratoriumpraktijken essentieel voor goede prestaties van deze test. Vanwege de hoge analytische gevoeligheid van deze test moet ervoor worden gezorgd dat reagentia, monsters en amplificatiemengsels vrij zijn van besmetting.

- Uitsluitend voor gebruik bij *in-vitro*-diagnostiek.
- De **cobas**® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik op het **cobas**® Liat®-systeem is bedoeld voor gebruik door professionele zorgverleners of opgeleide gebruikers die bekwaam zijn in het gebruik van het **cobas**® Liat®-systeem op de plaats van de zorgverlening (POC) of in een klinische laboratoriumopstelling.
- Voorkom microbiële besmetting en DNA-besmetting van reagentia en monsters.
- Trek andere wegwerphandschoenen aan voordat u de transferpipet uit de **cobas**® Liat®-transferpipetverpakking haalt en na het hanteren van elk monster of elke controle om besmetting van reagens en pipetten te voorkomen.
- Veiligheidsinformatiebladen (SDS, *Safety Data Sheets*) zijn op verzoek verkrijgbaar bij uw lokale Roche-vertegenwoordiger.
- **cobas**® Liat®-lysisbuffer (LYS-reagentia) bevat guanidinetiocyanaat. Zorg ervoor dat guanidinetiocyanaat en natriumhypochloriet (bleek) of andere uiterst reactieve reagentia zoals zuren of bases niet met elkaar in contact komen. Deze mengsels kunnen schadelijke gasen veroorzaken.
- **cobas**® Liat®-elutiebuffer-1 (EB), **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix-1 (Cdiff MMX-1), **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix-2 (Cdiff MMX-2), **cobas**® Liat® Cdiff-cofactor (Cofactor), BUF (-) C, en Cdiff (+) C bevatten natriumazide.
- Raadpleeg de meest recente gebruikersgids van het **cobas**® Liat®-systeem voor aanvullende waarschuwingen, voorzorgsmaatregelen en procedures voor het verkleinen van het risico op besmetting voor de **cobas**® Liat® Analyzer.
- In de EU: Informeer uw plaatselijke bevoegde instantie over ernstige incidenten die zich kunnen voordoen bij gebruik van deze test.

Goede laboratoriumpraktijken

- Pipetteer niet met de mond.
- Eet, drink en rook niet in de werkomgeving.
- Was grondig de handen na het verwerken van monsters en reagentia.
- Draag volgens het beleid van uw instelling oogbescherming, laboratoriumjassen en wegwerphandschoenen wanneer u reagentia hanteert. Voorkom dat deze materialen in contact komen met de huid, ogen of slijmvliezen. Als een dergelijk contact toch optreedt, dient onmiddellijk te worden gewassen met grote hoeveelheden water. Indien onbehandeld, kunnen brandwonden optreden. Indien wordt gemorst, dient de vloeistof eerst te worden verdund met water voordat het oppervlak wordt drooggeveegd.
- De toevoeging van AmpErase-enzym aan de **cobas**® Liat® Cdiff Master Mix maakt selectieve amplificatie van target-DNA mogelijk; goede laboratoriumpraktijken en zorgvuldige naleving van de procedures vastgesteld in deze gebruiksaanwijzing zijn echter noodzakelijk om besmetting van reagentia en amplificatiemengsels te voorkomen.
- Desinfecteer en reinig alle werkoppervlakken in het laboratorium grondig met een vers bereide oplossing van 0,5% natriumhypochloriet in gedestilleerd of gedeïoniseerd water (verdun huishoudelijk bleekmiddel in het water tot een verhouding van 1:10). Neem het oppervlak vervolgens af met 70% ethanol.

Besmetting

- Er moeten wegwerphandschoenen worden gedragen en deze moeten worden verwisseld voordat een **cobas**® Liat®-transferpipet uit de **cobas**® Liat®-transferpipetverpakking wordt gehaald, tussen het omgaan met monsters en **cobas**® Cdiff-testbuizen of controleflesjes om besmetting te voorkomen. Voorkom het besmetten van handschoenen bij verwerking van monsters en controles. Draag laboratoriumhandschoenen, laboratoriumjassen en oogbescherming wanneer monsters en reagentia worden verwerkt.
- Voorkom microbiële en ribonuclease besmetting van reagentia.
- Onjuist positieve resultaten kunnen optreden wanneer overdracht van monsters niet wordt voorkomen tijdens de verwerking van monsters.
- Monsters moeten als infectieus worden gehanteerd en laboratoriumprocedures moeten worden gebruikt, zoals de procedures beschreven in Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories²⁰ en in het CLSI-document M29-A4.²¹

Integriteit

- Gebruik kits niet als de uiterste gebruiksdatum is verstreken.
- Voeg reagentia niet samen.
- Gebruik geen **cobas**® Cdiff-testbuisje dat is beschadigd of is gevallen nadat het foliezakje is verwijderd.
- Gebruik een **cobas**® Cdiff-testbuisje niet opnieuw. Als er geen koker om het **cobas**® Cdiff-testbuisje zit of als het monstercompartiment reeds vloeistof bevat, is het buisje gebruikt. Gebruik dergelijke buisjes NIET.
- Alle apparatuur moet juist worden onderhouden volgens de instructies van de fabrikant.
- Alle reagentiakitsets moeten juist worden opgeslagen. Zie Tabel 3.

Afvoeren

- **cobas**® Cdiff-testbuisjes moeten worden afgevoerd in de juiste container voor biologisch gevaarlijk afval zoals vastgesteld door uw locatiespecifieke Gezondheids- en veiligheidsnormen.
- **cobas**® Cdiff-reagentia en controles bevatten natriumazide (zie “Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen”). Natriumazide kan reageren met loden en koperen leidingen en uiterst explosieve metaalazides produceren. Wanneer natriumazide bevattende mengsels worden afgevoerd in laboratoriumgootstenen, moet de afvoer met een grote hoeveelheid koud water worden doorgespoeld om de ophoping van azide te voorkomen.
- Voer ongebruikte testbuisjes en afval af volgens landelijke, regionale en plaatselijke voorschriften.

Morsen en reinigen

- Indien op de **cobas**® Liat® Analyzer wordt gemorst, volgt u de desbetreffende instructies voor reiniging in de gebruikersgids van het **cobas**® Liat®-systeem.

Afname, vervoer en opslag van monsters

Behandel alle monsters tijdens de verwerking alsof overdracht van infectieuze stoffen door de monsters mogelijk is.

Afname van monsters

cobas® Cdiff dient alleen gebruikt te worden met een **monster van gedeeltelijk gevormde of ongevormde ontlasting**.

Dit wordt gedefinieerd als een ontlastingsmonster dat de vorm aanneemt van de container. Verzamel ontlastingsmonsters in een schone, droge en ongebruikte container en volg daarbij de standaardbedrijfsprocedures van uw instelling op.

Vervoer, opslag en stabiliteit van monster

Monsters van ongevormde ontlasting blijven 2 dagen stabiel bij kamertemperatuur (2–30 °C), of 9 dagen bij 2–8 °C, voorafgaande aan overdracht naar de **cobas**® PCR Media en het testen in het **cobas**® Liat®-systeem (dit is aangetoond door het testen van monsters na opeenvolgende opslag van 2 dagen bij 30±1 °C, gevolg door opslag van 7 dagen bij 2–8 °C).

Een ontlastingsmonster geresuspendeerd in **cobas**® PCR Media is 7 dagen stabiel bij 2–30 °C voorafgaand aan het testen in het **cobas**® Liat®-systeem.

Vervoer van *C. difficile*-monsters moet voldoen aan landelijke, regionale en plaatselijke voorschriften voor het vervoer van etiologische agentia.

Testprocedure

Werkstroom “Lot toevoegen”

Afbeelding 1: Werkstroom “Lot toevoegen”

1	Start het systeem op en meld u aan
2	Verwijder de controles, testbuizen en transferpipetten uit de opslag
3	Kies “Nieuwe lot” in het Testmenu
4	Scan de streepjescode op de streepjescodekaart voor ID van de bijsluiters
5	Scan Negatieve controle en voer deze uit
6	Scan Positieve controle en voer deze uit

Werkstroom overdracht van monster

Afbeelding 2: Werkstroom overdracht van monster

1	Dompel een wattenstaafje onder in het ontlastingsmonster
2	Plaats het geïnoculeerde wattenstaafje in het cobas ® PCR Media-buisje
3	Breek het wattenstaafje af bij de grijze inkeping
4	Draai de dop op de buis en draai het buisje ten minste 5 keer

Werkstroom cobas® Cdiff

Afbeelding 3: Werkstroom **cobas**® Cdiff

1	Start het systeem op en meld u aan
2	Verwijder monsters, testbuizen en transferpipetten uit de opslag
3	Selecteer in het hoofdmenu de optie “Test uitvoeren”
4	Scan de streepjescode van het cobas ® Cdiff-testbuisje
5	Scan monster-ID of voer deze in
6	Voeg monster met behulp van een pasteurpipet aan een cobas ® Cdiff-testbuisje toe en plaats de dop weer op het buisje
7	Scan de streepjescode van het cobas ® Cdiff-testbuisje opnieuw
8	Start de run door de cobas ® Cdiff-testbuis in te plaatsen
9	Controleer de resultaten*
10	Laad gebruikte cobas ® Cdiff-testbuisjes uit en voer deze af

* Raadpleeg de meest recente gebruikersgids van het **cobas**® Liat®-systeem voor details over het uploaden van resultaten naar DMS en LIS.

Gebruiksaanwijzing

Procedure “Lot toevoegen”

Voordat u een nieuw lotnummer **cobas**® Cdiff-testbuisjes gaat gebruiken, moet de procedure “Lot toevoegen” worden uitgevoerd op de **cobas**® Liat® Analyzer om het lotnummer van de **cobas**® Cdiff-testbuisjes op uw locatie te valideren. De procedure omvat het testen van een negatieve controle monster en een Cdiff-positieve controle monster.

Vereiste materialen voor “Lot toevoegen”

- Nieuw lot **cobas**® Cdiff-nucleïnezuurtest voor gebruik met het **cobas**® Liat®-systeem (twee testbuisjes).
- 2 transferpipetten uit de **cobas**® Liat®-transferpipetverpakking
- Streepjescodekaart ID van de bijsluiters voor het nieuw lot **cobas**® Cdiff-testbuisjes
- **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controle
- **cobas**® Liat®-negatieve controle
- Streepjescodekaart voor de **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controle en de **cobas**® Liat®-negatieve controle

Opmerking: Raadpleeg de gebruikersgids van het **cobas**® Liat®-systeem voor gedetailleerde gebruiksinstructies.

Procedure

1. Druk op de aan/uit-knop om de **cobas**® Liat® Analyzer in te schakelen.
2. Selecteer **Aanmelden** op het scherm van de **cobas**® Liat® Analyzer.
3. Voer uw gebruikersnaam in wanneer dit wordt gevraagd en selecteer **Invoeren**.
4. Voer uw wachtwoord in wanneer dit wordt gevraagd en selecteer **Invoeren**.

Opmerking: U wordt mogelijk gevraagd te bevestigen dat u de gebruikersgids (d.w.z. de gebruikersgids van het **cobas**® Liat®-systeem) hebt gelezen.

5. Selecteer **Testmenu** in het hoofdmenu van de **cobas**® Liat® Analyzer.
6. Selecteer **Nieuwe lot** onder aan de lijst.
7. Wanneer **Scan inlegblad ID** wordt weergegeven, selecteert u **Scan** en scant u de streepjescodekaart ID van de bijsluiters van **cobas**® Cdiff. Zorg ervoor dat het rode scanlicht de volledige streepjescode beslaat.

Opmerking: U wordt mogelijk gevraagd te bevestigen dat u de bijsluiters of gebruiksaanwijzing hebt gelezen.

8. Wanneer **ID neg. controle scannen** wordt weergegeven, selecteert u **Scan** en scant u de streepjescodekaart van de negatieve controle die is meegeleverd in de Control Kit. Zorg ervoor dat het rode scanlicht de volledige streepjescode beslaat. De **cobas**® Liat® Analyzer geeft u vervolgens de volgende opdracht: **Voeg negatieve contr. toe en scan buis-ID**.
9. Houd een buisje **cobas**® Liat®-negatieve controle rechtop en tik licht met het buisje op een vlakke ondergrond om vloeistof te verzamelen op de bodem van het buisje.
10. Open het foliezakje van een **cobas**® Cdiff-testbuisje (uit het lot dat wordt toegevoegd) en verwijder de testbuis.
11. Gebruik een transferpipet uit de **cobas**® Liat®-transferpipetverpakking om de **cobas**® Liat® negatieve controle toe te voegen aan het **cobas**® Cdiff-testbuisje. Knijp stevig in het ballonnetje van de pipet totdat het ballonnetje volledig plat is, plaats het uiteinde van de pipet in de vloeistof en zuig het monster op door het ballonnetje langzaam los te laten.

Opmerking: *Gebruik alleen de transferpipet die is meegeleverd in de cobas® Liat®-transferpipetverpakking om controles en monsters over te brengen naar het cobas® Cdiff-testbuisje.*

12. Verwijder voorzichtig de dop van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaats de pipet in de opening. Plaats het uiteinde van de pipet dichtbij de bodem van het open segment.
13. Knijp langzaam in het ballonnetje om de inhoud van de pipet in het cobas® Cdiff-testbuisje te legen. Voorkom dat er luchtbelletjes in het monster ontstaan. Laat het ballonnetje van het pipet niet los wanneer de pipet zich nog in het cobas® Cdiff-testbuisje bevindt.

Opmerking: *Prik het cobas® Cdiff-testbuisje of de afdichting onder aan het monstercompartiment niet door. Als een van beide beschadigd raakt, werp dan zowel het cobas® Cdiff-testbuisje als de pasteurpipet weg en start de testprocedure opnieuw met een nieuw cobas® Cdiff-testbuisje en een nieuwe pasteurpipet.*

14. Draai de dop weer op het cobas® Cdiff-testbuisje. Voer de pasteurpipet af.
15. Selecteer **Scan**, plaats het cobas® Cdiff-testbuisje horizontaal op tafel onder de streepjescodelezer en zorg ervoor dat het rode scanlicht de volledige streepjescode beslaat. De klep boven op de cobas® Liat® Analyzer waar u het testbuisje moet inbrengen, wordt automatisch geopend nadat de streepjescode is gelezen.
16. Verwijder de beschermhoes van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaats het cobas® Cdiff-testbuisje correct in de cobas® Liat® Analyzer zodat het testbuisje op zijn plaats vastklikt.

Opmerking: *Het cobas® Cdiff-testbuisje kan slechts op één manier worden geplaatst — de zijde met groef van het cobas® Cdiff-testbuisje moet zich aan de linkerzijde bevinden wanneer de dop op het busje is geplaatst.*

17. Als het testbuisje niet tijdig is ingebracht voordat de klep sluit, scant u opnieuw de streepjescode van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaatst u het cobas® Cdiff-testbuisje opnieuw. Zodra het cobas® Cdiff-testbuisje correct is geplaatst, sluit de klep van de cobas® Liat® Analyzer automatisch en wordt de test gestart.
18. Tijdens de test geeft de cobas® Liat® Analyzer de status en de resterende testtijd weer. Nadat de test voltooid is en als **Resultaat negatieve controle goedgekeurd** wordt weergegeven, selecteert u **Bevestig**. Als het resultaat wordt verworpen, herhaalt u de run met de negatieve controle (stap 8–18). Neem contact op met de plaatselijke Roche-vertegenwoordiger als de herhaalde controlerun niet de verwachte resultaten oplevert.
19. Zodra de test is voltooid, geeft de cobas® Liat® Analyzer het volgende bericht weer: **Verwijder de testbuis langzaam en zorgvuldig** en wordt de klep voor het inbrengen van het testbuisje automatisch geopend. Til het cobas® Cdiff-testbuisje langzaam uit de cobas® Liat® Analyzer. Voer het gebruikte cobas® Cdiff-testbuisje af in een voor biologisch gevaarlijk materiaal bestemde container.
20. Selecteer **Terug** om op hetzelfde apparaat verder te gaan met de cobas® Liat® Cdiff-test voor positieve controle.
21. Volg op eenzelfde manier stappen 8 tot 17 met een cobas® Liat® Cdiff-positieve controle in plaats van de cobas® Liat®-negatieve controle.
22. Als **“Resultaat positieve controle geaccepteerd. Lot ... toegevoegd”** wordt weergegeven aan het einde van een run, selecteert u **Bevestig**. en vervolgens **Terug** om terug te keren naar het hoofdmenu. Als het resultaat wordt verworpen, herhaalt u de cobas® Liat® Cdiff-test voor positieve controle. Neem contact op met de plaatselijke Roche-vertegenwoordiger als de herhaalde controlerun niet de verwachte resultaten oplevert.
23. Herhaal stap 19.
24. Selecteer **Testmenu** om te controleren of het nieuw lot is toegevoegd.

Nadat “Lot toevoegen” op een Analyzer voltooid is, kunt u met het menu Hulpmiddelen op the **cobas**® Liat Analyzer en met behulp van een USB-sleutel de lotinformatie naar de andere Analyzers op uw locatie overbrengen. Zo kunnen de andere Analyzers dit lotnummer van **cobas**® Cdiff-testbuisjes gebruiken zonder dat het lotnummer op elke Analyzer moet worden toegevoegd. Volg de instructies in de gebruikersgids van het **cobas**® Liat*-systeem op en voer een “Testlots exporteren” uit op de Analyzer waarop “Lot toevoegen” is uitgevoerd. Voer vervolgens de procedure “Testlots importeren” op alle andere Analyzers op uw locatie uit.

Overdracht van monster naar **cobas**® PCR Media

1. Ontlastingsmonsters moeten worden toegevoegd aan een **cobas**® PCR Media-buisje en worden getest binnen het tijds kader beschreven in het gedeelte “Afname, vervoer en opslag van monsters”. Het oorspronkelijke ontlastingsmonster wordt ook “primair monster” genoemd, en naar de suspensie van de ontlasting in **cobas**® PCR Media (zie onderstaande stappen) wordt in dit document ook verwezen met “secundair monster”.
2. Gebruik het in de **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit meegeleverde wattenstaafje om het ontlastingsmonster over te dragen. Dompel zonder de rand van de container van het ontlastingsmonster te raken het uiteinde van het wattenstaafje volledig onder in het monster, tot aan het einde van het taps toelopende uiteinde.
3. Verwijder het geïnoculeerde wattenstaafjes onmiddellijk en plaats het in het **cobas**® PCR Media-buisje. Test het monster niet als er niet voldoende ontlasting is om het uiteinde van het wattenstaafje volledig onder te dompelen.
4. Breek het wattenstaafje af bij de grijze inkeping door druk uit te oefenen tegen de zijkant van het **cobas**® PCR Media-buisje.
5. Plaats de dop op het buisje en draai het buisje tenminste 5 keer.

Opmerking: *cobas*® Cdiff is gevalideerd voor gebruik met de **cobas**® PCR Media Uni Swab Sample Kit. Andere apparaten of mediatypen zijn niet gevalideerd voor gebruik met **cobas**® Cdiff.

Opmerking: *Aanvullende doppen voor cobas*® PCR Media-buisjes in een andere kleur (neutraal; zie “Optionele materialen”) moeten worden gebruikt voor afsluiting van monstersuspensies na verwerking om kruisbesmetting van suspensies van ontlastingsmonsters in **cobas**® PCR Media te voorkomen.

Opmerking: *cobas*® PCR Media-buisjes bevatten een toereikend volume **cobas**® PCR Media voor suspensie van ontlasting die meerdere malen moet worden getest in het **cobas**® Liat*-systeem. Minimaal volume suspensie van ontlasting voor uitvoering van een **cobas**® Cdiff-run is 0,2 ml.

cobas® Cdiff op klinische monsters uitvoeren

Materialen noodzakelijk voor uitvoeren van **cobas**® Cdiff

- **cobas**® Cdiff-testbuis uit het **cobas**® Cdiff-testfoliepakje
- Transferpipet uit de **cobas**® Liat*-transferpipetverpakking
- Ontlastingsmonsters oovergebracht in en opnieuw gesuspenderd in **cobas**® PCR Media (zie “Overdracht van monster naar **cobas**® PCR Media”)

Procedure

1. Zorg ervoor dat de **cobas**® Liat* Analyzer is ingeschakeld.
2. Selecteer **Aanmelden** op het scherm van de **cobas**® Liat* Analyzer.

3. Voer uw gebruikersnaam in wanneer dit wordt gevraagd en selecteer **Invoeren**.
4. Voer uw wachtwoord in wanneer dit wordt gevraagd en selecteer **Invoeren**.

Opmerking: *U wordt mogelijk gevraagd te bevestigen dat u de gebruikersgids (d.w.z. de gebruikersgids van het cobas® Liat®-systeem) hebt gelezen.*

5. Selecteer in het hoofdmenu de optie **Test uitvoeren**.
6. Open het zakje van een cobas® Cdiff-testbuisje en neem er het testbuisje uit. Selecteer **Scan** wanneer **Scan buis-ID** wordt weergegeven, plaats het cobas® Cdiff-testbuisje horizontaal op tafel onder de streepjescodelezer en zorg ervoor het rode scanlicht de volledige streepjescode beslaat.
7. Wanneer wordt gevraagd **Scan monster-ID**, selecteert u **Scan** om de streepjescode van het monster te scannen. In het geval dat het monster niet kan worden gescand, selecteert u **Invoeren** om het monster-ID handmatig in te voeren.

Opmerking: *Afhankelijk van de Analyzer-configuratie kan het noodzakelijk zijn de ontvangen patiëntgegevens te bevestigen. Indien dit het geval is, selecteert u de knop "Bevestig."*

8. Als u hierom wordt gevraagd, voegt u het monster aan een cobas® Cdiff-testbuisje toe.
9. Gebruik een transferpipet uit de cobas® Liat®-transferpipetverpakking om het secundaire monster over te brengen. Knijp stevig in het ballonnetje van de pipet totdat het ballonnetje volledig plat is, plaats het uiteinde van de pipet in de vloeistof en zuig het monster op door het ballonnetje langzaam los te laten.

Opmerking: *Trek andere wegwerphandschoenen aan voordat u een transferpipet uit de cobas® Liat®-transferpipetverpakking haalt om besmetting van de pipetverpakking te voorkomen.*

10. Verwijder voorzichtig de dop van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaats de pipet in de opening. Plaats het uiteinde van de pipet dichtbij de bodem van het open segment.
11. Knijp langzaam in het ballonnetje om de inhoud van de pipet in het cobas® Cdiff-testbuisje te legen. Laat het ballonnetje van het pipet niet los wanneer de pipet zich nog in het cobas® Cdiff-testbuisje bevindt.
12. Plaats de dop weer op het cobas® Cdiff-testbuisje en voer de pasteurpipet af.

Opmerking: *Zorg ervoor dat er met de resterende inhoud van de pipet geen kruisbesmetting tussen handschoenen, apparatuur en werkoppervlakken ontstaat.*

13. Selecteer **Scan** en scan de streepjescode van hetzelfde cobas® Cdiff-testbuisje opnieuw. De klep boven op de cobas® Liat® Analyzer waar u het buisje moet inbrengen, wordt automatisch geopend.
14. Verwijder de beschermhoes van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaats het cobas® Cdiff-testbuisje correct in de cobas® Liat® Analyzer zodat het testbuisje op zijn plaats vastklikt.

Opmerking: *Het cobas® Cdiff-testbuisje kan slechts op één manier worden geplaatst — de zijde met groef van het cobas® Cdiff-testbuisje moet zich aan de linkerkzijde bevinden wanneer de dop op het buisje is geplaatst.*

15. Als het testbuisje niet tijdig is ingebracht voordat de klep sluit, scant u opnieuw de streepjescode van het cobas® Cdiff-testbuisje en plaatst u het cobas® Cdiff-testbuisje opnieuw. Zodra het cobas® Cdiff-testbuisje correct is geplaatst, sluit de klep van de cobas® Liat® Analyzer automatisch en wordt de test gestart.

16. Tijdens de test geeft de **cobas® Liat® Analyzer** de status en de resterende testtijd weer. Zodra de test is voltooid, geeft de **cobas® Liat® Analyzer** het volgende bericht weer: **Verwijder de testbuis langzaam en zorgvuldig** en wordt de klep voor het inbrengen van het testbuisje automatisch geopend. Til het **cobas® Cdiff-testbuisje** langzaam uit de **cobas® Liat® Analyzer**. Voer het gebruikte **cobas® Cdiff-testbuisje** af in een voor biologisch gevaarlijk materiaal bestemde container.
17. Selecteer **Rapport** om het resultatenrapport te bekijken. Selecteer, indien van toepassing, **Afdrukken** om het rapport af te drukken.
18. Selecteer **Terug** en vervolgens **Menu** om terug te keren naar het hoofdmenu en de volgende test uit te voeren.

Aanvullende controleruns uitvoeren

Aanvullende controleruns kunnen overeenkomstig lokale, federale en landelijke vereisten en/of vereisten van organisaties voor accreditatie worden uitgevoerd voor een lotnummer **cobas® Cdiff-testbuisjes** dat al is toegevoegd met behulp van de procedure “Lot toevoegen”. Gebruik voor de uitvoering van deze runs de **cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit** voor gebruik met het **cobas® Liat®**-systeem.

Vereiste materialen voor aanvullende controleruns

- **cobas® Cdiff-testbuisjes** en pasteurpipetten
- **cobas® Liat® Cdiff-positieve controle** en/of **cobas® Liat®-negatieve controle**
- Overeenkomstige streepjescodes voor de **cobas® Liat Cdiff-positieve controle** en/of de **cobas® Liat®-negatieve controle**

Procedure

Gebruik de procedure beschreven in het gedeelte **cobas® Cdiff op klinische monsters uitvoeren** om aanvullende controle-runs uit te voeren. Zorg er in stap 7 voor dat de in de **cobas® Cdiff Positive and Negative Control Kit** meegeleverde controlestreepjescodes worden gebruikt voor het scannen van een ID-streepjescode van een monster. Interpretatie van resultaten voor **cobas® Cdiff** wanneer aanvullende Cdiff-positieve controles of -negatieve controles worden uitgevoerd, zijn weergegeven in Tabel 9 en Tabel 10 in het gedeelte Interpretatie van resultaten. Het gebruik van andere streepjescodes dan de controlestreepjescodes kan leiden tot onjuiste controleresultaten.

Resultaten

Kwaliteitscontrole en geldigheid van resultaten

Een **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controle en een **cobas**® Liat®-negatieve controle worden uitgevoerd tijdens de hierboven beschreven procedure “Lot toevoegen”. Voor validatie op het apparaat moeten geldige resultaten worden verkregen voor zowel de positieve als de negatieve controle van het nieuw lot **cobas**® Cdiff-testbuisjes. Aanvullende controleruns kunnen worden uitgevoerd na de procedure “Lot toevoegen”. Zie “Aanvullende controleruns uitvoeren” in het gedeelte “Gebruiksaanwijzing” voor meer details.

De **cobas**® Liat® Cdiff-interne controle is aanwezig in elk **cobas**® Cdiff-testbuisje en wordt samen met elk monster uitgevoerd tijdens de volledige testwerkstroom.

Positieve controle

De **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controle bevat niet-infectieuze DNA-plasmiden met *C. difficile*-targetsequentie. Met de **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controle wordt de integriteit van reagentia in het **cobas**® Cdiff-testbuisje en goede werking van de **cobas**® Liat Analyzer gecontroleerd. Neem voor technische ondersteuning contact op met uw lokale Roche-vertegenwoordiger als de **cobas**® Liat® Cdiff-positieve controles regelmatig ongeldig zijn.

Negatieve controle

De **cobas**® Liat®-negatieve controle omvat geen target en bewaakt potentiële targetbesmetting in de werkstroom of omgeving. Neem voor technische ondersteuning contact op met uw lokale Roche-vertegenwoordiger als de **cobas**® Liat®-negatieve controles regelmatig ongeldig zijn.

Interne controle

Een volledige interne controle voor organismen (Bti) is inbegrepen in elk testbuisje en wordt aan het begin van monster voorbereiding automatisch toegevoegd aan alle monsters. De **cobas**® Liat® Cdiff-interne controle is een chemisch geïnactiveerde bacterie die is inbegrepen in elk **cobas**® Cdiff-testbuisje en samen met elk monster wordt verwerkt. Met de interne controle wordt gecontroleerd of de targetbacteriën afdoende worden verwerkt bij alle stappen van de test en wordt de aanwezigheid van inhibitoren in de monstervoorbereiding en PCR bewaakt. De **cobas**® Liat® Cdiff-interne controle moet positief zijn bij een negatief monster en kan negatief of positief zijn bij een Cdiff-positief monster.

Interpretatie van resultaten

Opmerking: Alle validatie van monsters en controleruns wordt vastgesteld door het cobas® Liat®-systeem.

Resultaten bij uitvoering van procedures voor “Lot toevoegen” worden weergegeven in Tabel 7.

Tabel 7: Interpretatie van resultaten van cobas® Cdiff bij uitvoering van de procedure “Lot toevoegen”

Display van cobas® Liat® Analyzer	Afdruk en interpretatie van resultatenrapport
Neg. controle geldig	Neg. controle geldig Controle is negatief voor de aanwezigheid van <i>C. difficile</i> -DNA.
Neg. contr. ongeldig. Herhaal run	Neg. controle ongeldig Resultaat is ongeldig. De negatieve controle moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Run herhalen.
Pos. controle geldig	Pos. controle geldig Controle is positief voor de aanwezigheid van <i>C. difficile</i> -DNA.
Pos. contr. ongeldig. Herhaal run	Pos. controle ongeldig Resultaat is ongeldig. De positieve controle moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Run herhalen.

Monsterresultaten worden geïnterpreteerd zoals weergegeven in Tabel 8.

Tabel 8: Interpretatie van resultaten van cobas® Cdiff bij uitvoering van een run met een klinisch monster

Display van cobas® Liat® Analyzer	Afdruk en interpretatie van resultatenrapport
Cdiff Gedetecteerd	Cdiff Gedetecteerd Monster is positief voor de aanwezigheid van <i>C. difficile</i> -DNA.
Cdiff Niet gedetecteerd	Cdiff Niet gedetecteerd* Monster is negatief voor <i>C. difficile</i> -DNA, of het kon indien aanwezig niet worden gedetecteerd.
Test ongeldig	Test ongeldig** Resultaat is ongeldig. Het oorspronkelijke monster moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Zie “Aanbevolen procedure voor opnieuw testen”.
Test afgebroken door de gebruiker	Test afgebroken door de gebruiker Run afgebroken door gebruiker. Het oorspronkelijke monster moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Zie “Aanbevolen procedure voor opnieuw testen”.
Test afgebroken door het systeem	Test afgebroken door het systeem Run afgebroken door systeem. Het oorspronkelijke monster moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Zie “Aanbevolen procedure voor opnieuw testen”.

* Een negatief resultaat sluit de aanwezigheid van *C. difficile*-DNA niet uit aangezien resultaten afhankelijk zijn van adequate monsterafname, de afwezigheid van inhibitoren en toereikend DNA voor detectie.

** Ongeldige resultaten kunnen worden verkregen wanneer het monster overtollige ontlasting of interfererende stoffen bevat die targetextractie van nucleïnezuur en/of amplificatie en detectie voorkomen. Zie “Procedurele beperkingen voor bekende interfererende stoffen”. Onvoldoende monstervolume kan ook leiden tot ongeldige resultaten. Het minimale volume ontlasting / cobas® PCR Media-suspensie dat noodzakelijk is voor cobas® Cdiff, is 0,2 ml.

Resultaten bij de uitvoering van aanvullende controles na het opvolgen van de procedure “Lot toevoegen”, worden geïnterpreteerd zoals weergegeven in Tabel 9 en Tabel 10.

Tabel 9: Interpretatie van resultaten van cobas® Cdiff bij uitvoering van een positieve controle

Display van cobas® Liat® Analyzer	Afdruk en interpretatie van resultatenrapport
Pos. controle geldig	Pos. controle geldig Controle is positief voor de aanwezigheid van <i>C. difficile</i> -DNA.
Pos. controle ongeldig	Pos. controle ongeldig Resultaat is ongeldig. De positieve controle moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Run herhalen.

Tabel 10: Interpretatie van resultaten van cobas® Cdiff bij uitvoering van een negatieve controle

Display van cobas® Liat® Analyzer	Afdruk en interpretatie van resultatenrapport
Neg. controle geldig	Neg. controle geldig Controle is negatief voor de aanwezigheid van <i>C. difficile</i> -DNA.
Neg. controle ongeldig	Neg. controle ongeldig Resultaat is ongeldig. De negatieve controle moet opnieuw worden getest om een geldig resultaat te verkrijgen. Run herhalen.

Aanbevolen procedure voor opnieuw testen

Ongeldige en mislukte/afgebroken runs kunnen eenmaal worden herhaald met hetzelfde secundaire monster. Als de herhaalde run nogmaals ongeldig is, kan een nieuw secundair monster worden voorbereid uit het primaire ontlastingsmonster. Verkrijg ook een nieuw primair monster, indien mogelijk, om cobas® Cdiff opnieuw uit te voeren.

Procedurele beperkingen

1. cobas® Cdiff is alleen gevalideerd voor gebruik met monsters van ongevormde of gedeeltelijk gevormde ontlasting die overeenkomstig deze gebruiksaanwijzing (ook Bijsluiter genoemd) zijn overgebracht in het cobas® PCR Media-buisje.
2. Betrouwbare resultaten zijn afhankelijk van adequate afname, vervoer, opslag en verwerking van het monster. Volg de procedures in deze gebruiksaanwijzing voor cobas® Cdiff en de gebruikersgids van het cobas® Liat®-systeem.
3. Detectie van *C. difficile*-DNA is afhankelijk van het aantal organismen dat aanwezig is in het monster en kan worden beïnvloedt door methoden voor afname en verwerking van monsters, geschiedenis van ziekenhuisopnamen, behandeling met antibiotica en *C. difficile*-stammen.
4. Onjuist negatieve of ongeldige resultaten kunnen optreden als gevolg van interferentie van verschillende stoffen. De interne controle is inbegrepen in cobas® Cdiff voor de identificatie van monsters die stoffen bevatten die mogelijke interferentie veroorzaken met nucleïnezuuroplossingen en PCR-amplificatie. Bekende interferentie omvat maar is mogelijk niet beperkt tot het volgende:
 - Monsters met meer dan 50% (w/v) mucine kunnen onjuist negatieve resultaten genereren.
5. Een positief resultaat duidt op de aanwezigheid van *C. difficile*-DNA en niet noodzakelijkerwijs op levensvatbare organismen. Deze test wordt derhalve niet aanbevolen voor gebruik bij het bewaken van behandelingen of als een test voor genezing.

6. Mutaties of polymorfismen in primer- of probe-bindingsplaatsen kunnen van invloed zijn op de detectie van nieuwe of onbekende varianten, wat resulteert in een onjuist negatief resultaat met **cobas® Cdiff**.
7. De voorspellende waarde van een test is afhankelijk van de ziekte in een bepaalde populatie.
8. Gebruik van dit product moet zijn beperkt tot personeel dat is opgeleid in het gebruik van het **cobas® Liat®**-systeem.

Evaluatie van de prestaties

Analytische gevoeligheid

De analytische gevoeligheid (detectielimiet of LoD [*Limit of Detection*]) van **cobas® Cdiff** is bepaald aan de hand van analyse van gekwantificeerde *C. difficile*-kweken die tot meerdere concentratieniveaus zijn verdund in een negatieve achtergrondsuspensie van ontlasting in **cobas® PCR Media**. Alle niveaus zijn getest in drie herhalingen per niveau met behulp van twee unieke lots **cobas® Cdiff**-testbuisjes. Het laagste niveau met 100% slagingspercentage is getest met aanvullende herhalingen ter bevestiging van een LoD-niveau. Als het algehele slagingspercentage voor een niveau lager lag dan 95%, is het bovenliggende panelniveau getest met aanvullende herhalingen. Het definitieve LoD-niveau is bevestigd met ten minste 21 aanvullende herhalingen. De LoD is voor deze test gedefinieerd als de targetconcentratie die als positief kan worden gedetecteerd in $\geq 95\%$ van de geteste herhalingen, op basis van resultaten gegenereerd door het slechtst presterend reagentialot.

De resultaten van het onderzoek naar analytische gevoeligheid zijn weergegeven in Tabel 11.

Tabel 11: **cobas® Cdiff**-test voor LoD (detectielimiet)

Stam-ID	Toxinotype	REA-type*	PFG-type†	Ribotype	Fenotype	LoD (CFU/wattenstaafje)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N.v.t.	N.v.t.	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Beperking endonuclease analyse. † Gel voor pulsveld.

Detectie van *C. difficile*-genotypen

De detectielimiet van **cobas® Cdiff** is in 37 toxigene stammen die aanvullende toxinotypen vertegenwoordigen, geverifieerd door drie herhalingen per stam te testen bij driemaal het LoD-niveau (270 CFU/wattenstaafje) van ATCC 43255. Verdunningen en testmonsters zijn bereid op een vergelijkbare wijze als bij het hierboven beschreven onderzoek naar de detectielimiet (LoD).

Alle 37 toxigene stammen (Tabel 12) zijn bij dit onderzoek als 100% positief gedetecteerd, wat bevestigt dat **cobas® Cdiff** deze *C. difficile*-toxinotypen kan detecteren.

Tabel 12: Samenvatting van verificatieresultaten van toxigene *C. difficile*

	Cdiff-stam	Toxinotype	Ribotype	Slagingspercentage
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.v.t.	100,00%

	Cdiff-stam	Toxinotype	Ribotype	Slagingspercentage
7	P43	IV	N.v.t.	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.v.t.	100,00%
17	IS 25	XII	56	100,00%
18	R 9367	XIII	70	100,00%
19	R 10870	XIV (nieuw XIVa)	111	100,00%
20	R 9385	XV (nieuw 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.v.t.	100,00%
25	TR14	XX	N.v.t.	100,00%
26	CH6223	XXI	N.v.t.	100,00%
27	CD07-468	XXII	N.v.t.	100,00%
28	8785	XXIII (nieuw IXc)	N.v.t.	100,00%
29	597B	XXIV	131	100,00%
30	7325	XXV	27	100,00%
31	7459	XXVI	N.v.t.	100,00%
32	KK2443/2006	XXVII	N.v.t.	100,00%
33	CD08-070	XXVIII	126	100,00%
34	CD07-140	XXIX	56	100,00%
35	ES 130	XXX	N.v.t.	100,00%
36	WA 151	XXXI	N.v.t.	100,00%
37	173070	XXXII	N.v.t.	100,00%

Precisie

Een intern onderzoek naar precisie is uitgevoerd met behulp van een panel bestaande uit *C. difficile*-kweek ATCC 43255 dat in negatieve ontlastingssuspensie in **cobas®** PCR Media is verdund tot concentratieniveaus onder, nabij of boven LoD van **cobas®** Cdiff. Een negatief niveau bestaande uit uitsluitend de negatieve ontlastingssuspensie in **cobas®** PCR Media is ook getest. Bij het onderzoek zijn in 12 dagen drie unieke lots **cobas®** Cdiff-testreagentia en zes apparaten voor een totaal van 192 runs gebruikt. Een beschrijving van de precisiepanels en de samenvatting van het onderzoek is weergegeven in Tabel 13.

Analyse van de variantiecomponenten (Tabel 14) wees uit dat de meeste variabiliteit van Ct-targetwaarden is toe te wijzen aan willekeurige factoren en apparaatfactoren (respectievelijk 67% en 32%) voor concentratieniveaus op of nabij LoD. Voor concentratieniveaus boven LoD, wordt het merendeel van de variabiliteit van Ct-waarde toegewezen aan willekeurige factoren en lot-tot-lot-factoren (respectievelijk 58% en 20%). Resultaten (Tabel 15) tonen voor de Ct-targetwaarden een algemeen CV (%) van 2,4% voor concentratieniveaus op LoD en 2,3% voor concentratieniveaus boven LoD.

Tabel 13: Intern precisie-onderzoek naar analyse percentage positief

Panellid	N-getest	N-positief	Percentage positief	95% CL	
				Onderste	Bovenste
Negatief	48	0	0,0%	0,0%	7,4%
< 1 × LoD	48	33	68,8%	54,7%	80,1%
~1 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%
~3 × LoD	48	48	100,0%	92,6%	100,0%

LoD = Limit of Detection (detectielimiet)

Tabel 14: Analyse Ct-variantiecomponenten voor leden precisiepanel

Niveau	Gemiddelde Ct	Bijdrage variantiecomponenten/-percentage aan totaal				Totaal
		Lot	Apparaat	Dag	Willekeurig	
~1 × LoD	31,8	0,008	0,189	0	0,398	0,595
		1%	32%	0%	67%	100,00%
~3 × LoD	30,3	0,097	0,049	0,055	0,274	0,476
		20%	10%	12%	58%	100,00%

LoD = Limit of Detection (detectielimiet)

Tabel 15: Standaard Ct-afwijkingen en -coëfficiënten van variatieanalyse (%) voor leden precisiepanel

Niveau	Gemiddelde Ct	SD-componenten/CV-percentage				Totaal
		Lot	Apparaat	Dag	Willekeurig	
~1 × LoD	31,8	0,089	0,434	0	0,631	0,771
		0,30%	1,40%	0%	2,00%	2,40%
~3 × LoD	30,3	0,312	0,222	0,234	0,524	0,69
		1,00%	0,70%	0,80%	1,70%	2,30%

LoD = Limit of Detection (detectielimiet)

Analytische specificiteit

De volgende organismepanels zijn getest ter beoordeling van analytische specificiteit van **cobas® Cdiff**:

- 1) 118 bacteriën, schimmels en virussen die kunnen worden aangetroffen in ontlastingsmonsters, en een type menselijke cellen (Tabel 16)
- 2) 32 *Clostridium*-genorganismen, inclusief niet-toxigene *C. difficile* (Tabel 17)

De analytische specificiteit van *Clostridium botulinum* werd voorspeld met behulp van het BLAST-programma versus de GenBank-database voor nucleotidesquenties om de stap voor het genereren van PCR-amplicons na te bootsen.

Alle bacteriën en menselijke cellen zijn aangebracht tot 1×10^6 eenheden*/ml en alle virussen zijn aangebracht tot 1×10^5 eenheden*/ml gelijk aan het ontlastingsmatrix. De tests zijn uitsluitend uitgevoerd met de organismen of met twee *C. difficile*-isolaten die bij $3 \times$ de detectielimiet (LoD) van de **cobas® Cdiff** individueel aanwezig zijn. Resultaten toonden aan dat geen van deze organismen interfereerden met detectie van beoogde Cdiff-targets. Geen van deze organismen leverde onjuist positieve resultaten op wanneer geen beoogd *C. difficile*-target aanwezig was.

* Bacteriën zijn gekwantificeerd in kolonievormende eenheden (colony forming units, CFU)/ml, menselijke cellen zijn gekwantificeerd in cellen/ml, en virussen zijn gekwantificeerd in TCID₅₀/ml, met uitzondering van *Chlamydia trachomatis* wat is gekwantificeerd in IFU/ml.

Tabel 16: Micro-organismen en menselijke cellen getest

<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> , ondersoort <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> , ondersoort <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> , ondersoort <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 Human Cells	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , ondersoort <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimonii</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> , ondersoort <i>arizonae</i> ATCC 13314 (voorheen bekend als <i>Salmonella choleraesuis</i> , ondersoort <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> , ondersoort <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> , ondersoort <i>enterica</i> serovar <i>Typhi</i> ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> , ondersoort <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> , ongespecificeerd soort, stam V8 ATCC 12973	<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>
<i>Veillonella parvula</i>	<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>
<i>Yersinia bercovieri</i>	<i>Yersinia rohdei</i>	Cytomegalovirus (HHV5)
Menselijk adenovirus type 41	Menselijk coxsackievirus A4	Menselijk coxsackievirus B4
Menselijk echovirus 11	Humaan enterovirus 71	Menselijk rotavirus
Norovirus GII	-	-

Tabel 17: *Clostridium*-genorganismen, inclusief niet-toxigene *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> serogroep B (niet-toxigeen)	<i>Clostridioides difficile</i> serogroep I (niet-toxigeen)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (niet-toxigeen type Xla)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (niet-toxigeen type Xla)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (niet-toxigeen type 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> (naam gewijzigd naar <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>	-

* Gebaseerd op analyse BLAST-programma.

** In deze tabel zijn drie niet-toxigene Cdiff-stammen (toxintype XI) opgenomen die tijdens een inclusiviteitsonderzoek niet door de cobas® Cdiff-test werden gedetecteerd.

Interferentie

38 veelgebruikte medicaties, net als fecaal vet, volbloed en mucine, zijn getest op potentiële interferentie-effecten met cobas® Cdiff. Alle stoffen zijn getest op niveaus boven het redelijkerwijs te verwachten niveau in een ontlastingsmonster dat met een wattenstaafje wordt afgenomen. De hoeveelheid interferentiestof wordt uitgedrukt als concentratie in het primaire ontlastingsmonster. Twee *C. difficile*-isolaten zijn gespiked tot $3 \times \text{LoD}$ van cobas® Cdiff en als target gebruikt in de tests. Er is geen interferentie waargenomen voor exogene stoffen. Voor fecaal vet is tot 39% (w/v) geen interferentie waargenomen, voor volbloed is tot 100% (w/v) geen interferentie waargenomen, en voor mucine is tot 50% (w/v) geen interferentie waargenomen. Deze resultaten zijn samengevat in Tabel 18.

Tabel 18: Resultaten van tests voor interferentie van stoffen

Stof	Concentratie
Fecaal vet	0,22–39% (w/v)
Volbloed	100% (w/v)
Mucine	50% (w/v)
Aleve	100% (w/v)
Mylanta	100% (w/v)
Anusol	100% (w/v)
Dulcolax	23%* (w/v)
Equate Laxative	50%* (w/v)
Equate Hydrocortisone	100% (w/v)
E-Z-HD bariumsulfaat	100% (w/v)
Fleet	100% (w/v)
Glycerinezetpillen	100% (w/v)
Gravolzetpillen	100% (w/v)
Gynol II contraceptiemiddel	10%* (w/v)
Imodium	100% (w/v)
Kaopectate	100% (w/v)
K-Y Jelly	100% (w/v)
Metronidazol	100% (w/v)
Miconazol	100% (w/v)
Minerale olie	100% (w/v)
Monistat-crème	100% (w/v)
Monistat Complete Care	100% (w/v)
Nystatin-zalf	100% (w/v)
Palmitinezuur	100% (w/v)
Pedia Lax	100% (w/v)
Pepto Bismol	25%* (w/v)
Witch Hazel	50%* (w/v)
Preparation H aambeien crème	100% (w/v)
Preparation H aambeien zalf	100% (w/v)
Dramamine	12,5%* (w/v)
Stearinezuur	100% (w/v)
Natriumdioctylsulfosuccinaat	100% (w/v)
Tums	50%* (w/v)
Mesalamine rectale suspensie	100% (w/v)
Vagisil Anti-itch Cream	12,5%* (w/v)
Vancomycine	100% (w/v)
Vaseline	100% (w/v)
Zonnebrandcrème	100% (w/v)
Monistat voor vaginaal inbrengen	100% (w/v)
Vaginale anticonceptie-film	100%
Zaaddodende condooms	100%

Klinische prestaties aan de hand van klinische monsters

De prestatie van **cobas® Cdiff** is vergeleken met de nieuwste commercieel beschikbare vergelijkende nucleïnezuurtest waarbij tests voor cytotoxiciteit van weefselkweken wordt gebruik voor de *C. difficile*-isolaten van directe en verrijkte kweken als referentiemethode. 442 prospectief afgenomen ontlastingsmonsters van twee locaties en 284 bevroren bewaarde ontlastingsmonsters van vijf locaties zijn getest met **cobas® Cdiff** en de vergelijkende nucleïnezuurtest. Een tweede aliquot van de monsters is naar een referentielaboratorium verzonden voor tests voor cytotoxiciteit van weefselkweken.

cobas® Cdiff en de nieuwste vergelijkende nucleïnezuurtest zijn uitgevoerd volgens de instructies van de fabrikant. Tests voor cytotoxiciteit van weefselkweken zijn uitgevoerd met behulp van procedures voor directe of verrijkte kweken. Elk ontlastingsmonster is eerst kort geïnoculeerd in vooraf gereduceerde cycloserine-cefoxitin-fructose-agar (CCFA-HT) en CCMB TAL-bouillon. CCMB Tal-bouillon is 48–72 uur geïncubeerd en er is gedurende 5 dagen een subkweek gemaakt met Brucella-agar bij 35 °C. Als *C. difficile*-koloniën lastig te isoleren waren, is een subkweek van de organismen gemaakt met CCFA-VA-agar. Gerapporteerde koloniën zijn geïdentificeerd als *C. difficile* met Gram-kleuring, areo-intolerantie, en met Pro Disk Test en zijn geïnoculeerd in anaerobe chopped-meat-bouillon. Supernatant verkregen van anaerobe chopped-meat-bouillon is vervolgens verwerkt voor de detectie van *C. difficile* toxine B met behulp van tests voor cytotoxiciteit van weefselkweken (*C. DIFFICILE* TOX-B-test, Techlab).

155 monsters waren *C. difficile*-positief in gecombineerde directe en verrijkte kweken (prevalentie: 21,3%). De prestatie van **cobas® Cdiff** en de vergelijkende nucleïnezuurtest in vergelijking met de kweek weergegeven in Tabel 19 tot en met Tabel 21. Correlatie van resultaten van directe kweek met resultaten van gecombineerde directe en verrijkte kweken wordt weergegeven. “Gecombineerde resultaten” geeft aan dat de resultaten van de directe of de verrijkte kweek, of van beide, positief is/zijn, en de resultaten van het monster worden voor gecombineerde kweek als positief beschouwd. Alleen wanneer resultaten van zowel directe als verrijkte kweek negatief zijn, worden de resultaten van het monster voor gecombineerde kweek negatief beschouwd.

Correlatie van **cobas® Cdiff** met kweek

De prestaties van **cobas® Cdiff** in vergelijking met directe kweek, en gecombineerde directe en verrijkte kweek worden respectievelijk weergegeven in Tabel 19 en Tabel 20.

Tabel 19: **cobas® Cdiff** in vergelijking met directe kweek

		Directe kweek		
		Positief	Negatief	Totaal
cobas® Cdiff	Positief	129	21	150
	Negatief	9	567	576
	Totaal	138	588	726
Gevoeligheid		93,5% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 88,1–96,5%)		
Specificiteit		96,4% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 94,6–97,7%)		
Negatieve voorspellende waarde		98,4% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 97,1–99,3%)		
Positieve voorspellende waarde		86,0% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 79,5–90,7%)		

Tabel 20: cobas® Cdiff in vergelijking met directe en verrijkte kweek

		Directe en verrijkte kweek		
		Positief	Negatief	Totaal
cobas® Cdiff	Positief	139	11	150
	Negatief	14	562	576
	Totaal	153	573	726
Gevoeligheid		90,8% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 85,2–94,5%)		
Specificiteit		98,1% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 96,6–98,9%)		
Negatieve voorspellende waarde		97,6% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 96,0–98,5%)		
Positieve voorspellende waarde		92,7% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 87,3–95,9%)		

Correlatie van cobas® Cdiff met vergelijkende nucleïnezuurtest

De prestaties van cobas® Cdiff in directe vergelijking met de nieuwste commercieel beschikbare vergelijkende nucleïnezuurtest worden weergegeven in Tabel 21.

Tabel 21: cobas® Cdiff in vergelijking met vergelijkende nucleïnezuurtest

		Vergelijkings-NAT		
		Positief	Negatief	Totaal
cobas® Cdiff	Positief	145	5	150
	Negatief	6	570	576
	Totaal	151	575	726
Positieve overeenkomst		96,0% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 91,6–98,2%)		
Negatieve overeenkomst		99,1% (Exact 95% tweezijdig betrouwbaarheidsinterval 98,0–99,6%)		

Ongeldigheidspercentage

Het ongeldigheidspercentage voor de cobas® Cdiff is berekend aan de hand van testresultaten van 978 individuele klinische monsters, waaronder 726 monsters uit het correlatieonderzoek. Van de 978 monsters die zijn getest, leverden 2 monsters ongeldige cobas® Cdiff-resultaten op. Bij het opnieuw testen, leverde 1 van de 2 monsters een geldig resultaat op en bleef het andere ongeldig. Het aanvankelijke ongeldigheidspercentage voor cobas® Cdiff in deze groep met monsters is daarom 0,2% en het ongeldigheidspercentage na opnieuw testen is 0,1%.

Foutcodes

De volgende foutcodes beschreven in Tabel 22 kunnen worden weergegeven in de resultaatrapporten op basis van de processen voor interpretatie en berekening van het testresultaat.

Tabel 22: Foutcodes en definities

Foutcode	Monster	Negatieve controle (Lot toevoegen)	Positieve controle (Lot toevoegen)
r0	IC negatief of ongeldig. Herhaal run	IC negatief of ongeldig. Herhaal run	IC negatief of ongeldig. Herhaal run
r1			
r3*			
r4			
x4**	Cdiff is positief terwijl IC negatief of ongeldig is. Herhaal run	N.v.t.	Cdiff en/of IC negatief of ongeldig is. Herhaal run
FP	N.v.t.	Cdiff positief of ongeldig. Herhaal run	N.v.t.
g0	N.v.t.	N.v.t.	Cdiff negatief of ongeldig. Herhaal run
g1			
g3			
g4			
x5	Monstervolume ontoereikend	Monstervolume ontoereikend	Monstervolume ontoereikend

Opmerking*: Foutcode r3 wordt niet weergegeven voor positieve en negatieve controles.

Opmerking**: Foutcode x4 wordt niet weergegeven voor positieve controles (Lot toevoegen). De foutcode x4 kan voor positieve controle wordt uitsluitend geactiveerd wanneer de fout voorkomt tijdens aanvullende runs voor positieve controle na de procedure "Lot toevoegen" (zie "Aanvullende controleruns uitvoeren").

Raadpleeg de meest recente gebruikersgids van het **cobas®** Liat®-systeem voor aanvullende informatie over foutcodes.

Aanvullende informatie

Belangrijke testfuncties

Monstertype	Monster van ongevormde ontlasting
Vereiste hoeveelheid monster	4,3 ml cobas ® PCR Media is meegeleverd bij elke cobas ® PCR Media Uni Swab Sample Kit; een minimum van 0,2 ml is vereist voor cobas ® Cdiff.
Testduur	Resultaten zijn beschikbaar binnen ~20 minuten nadat van het monster in het systeem is geladen.
Analytische gevoeligheid	Van 45 tot 90 CFU/wattenstaafje afhankelijk van isolatie
Specificiteit	Geen kruisreactiviteit met 149 nauw verwante organismen of organismen die gewoonlijk in ontlastingsmonsters worden aangetroffen
Inclusiviteit	Alle bekende <i>C. difficile</i> (toxinotypen 0~XXXI, met uitzondering van niet-toxigene toxinotypen XI) inclusief de BI/NAP1/027 hypervirulente epidemische stammen.

Symbolen

De volgende symbolen worden gebruikt op de etiketten van diagnostische PCR-producten van Roche.

Tabel 23: Symbolen die worden gebruikt op de etiketten van diagnostische PCR-producten van Roche

 Leeftijd of geboortedatum	 Hulpmiddel niet voor patiëntnabije tests	 QS IU per PCR-reactie, gebruik de QS internationale eenheden (IU) per PCR-reactie bij berekening van de resultaten.
 Aanvullende software	 Apparaat niet voor zelftesten	 Serienummer
 Toegewezen bereik (kopieën/ml)	 Distributeur (Opmerking: De/het toepasselijke land/regio kan zijn aangegeven onder het symbool)	 Locatie
 Toegewezen bereik (IU/ml)	 Niet opnieuw gebruiken	 Standaardprocedure
 Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap	 Vrouw	 Gesteriliseerd met ethyleenoxide
 Informatieblad streepjescode	 Uitsluitend voor evaluatie van IVD-prestaties	 Opslaan op een donkere plaats
 Lotnummer	 Global Trade Item Number	 Temperatuurlimiet
 Biologische risico's	 Importeur	 Bestand voor testdefinitie
 Catalogusnummer	 Medisch hulpmiddel voor <i>in-vitro</i> -diagnostiek	 Deze zijde omhoog
 CE-markering van overeenstemming; dit apparaat voldoet aan de toepasselijke eisen voor CE-markering van een <i>in vitro</i> medisch hulpmiddel voor diagnose	 Ondergrens van toegewezen bereik	 Ultragevoelige procedure
 Afnamedatum	 Man	 Unieke apparaatidentificatie
 Raadpleeg de gebruiksaanwijzing	 Fabrikant	 Bovengrens van toegewezen bereik
 Voldoende voor <n> test	 Negatieve controle	 Urine vullijn
 Inhoud van kit	 Niet-steriel	 Alleen voor de VS: Krachtens de Amerikaanse federale wetgeving mag dit hulpmiddel uitsluitend door of op voorschrift van een arts worden verkocht.
 Controle	 Naam patiënt	 Houdbaar tot
 Productiedatum	 Patiëntnummer	
 Hulpmiddel voor patiëntnabije tests	 Hier losmaken	
 Apparaat voor zelftesten	 Positieve controle	
	 QS-kopieën per PCR-reactie, gebruik de QS-kopieën per PCR-reactie bij berekening van de resultaten.	

Technische ondersteuning

Neem voor technische ondersteuning (assistentie) contact op met uw lokale partner:

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

Fabrikant en importeur

Tabel 24: Fabrikant en importeur



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

Geproduceerd in de V.S.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Handelsmerken en patenten

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

Auteursrecht

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referenties

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.

Documentrevisie

Informatie over documentrevisie	
Doc Rev. 5.0 04/2024	Herzien om te voldoen aan IVDR. Verwijzingen en procedures ter ondersteuning van cobas® Liat® Analyzer-software 3.3 op elkaar afgestemd en bijgewerkt. Bijgewerkte informatie over de gevaren. Toevoeging van verklaring betreffende Beoogde gebruikers. Bijgewerkte tabel 18, zodat deze concentratie-eenheden bevat en overbodige informatie is verwijderd. Kop Inclusiviteits-gedeelte bijgewerkt naar Detectie van <i>C. difficile</i>-genotypen. Typfouten gecorrigeerd en algemene verklaringen herzien. Pagina met geharmoniseerde symbolen bijgewerkt. Sectie Handelsmerken en patenten bijgewerkt, inclusief de link. Informatie toegevoegd met betrekking tot de beschrijving en het gebruik van de cobas® Liat®-transferpipetverpakkingen (12 pipetten/verpakking, cat.nr. 09329676001) Neem contact op met uw plaatselijke Roche-vertegenwoordiger als u vragen hebt.