



cobas[®] Cdiff-test

for bruk på cobas[®] 4800-systemet

For bruk til *in vitro*-diagnostikk



cobas[®] 4800 System Sample Preparation Kit	240 Tests	P/N: 05235782190
	960 Tests	P/N: 05235804190
cobas[®] 4800 System Lysis Kit 1	240 Tests	P/N: 06768253190
	960 Tests	P/N: 06768270190
cobas[®] 4800 System Wash Buffer Kit	240 Tests	P/N: 05235863190
	960 Tests	P/N: 05235871190
cobas[®] 4800 System Internal Control Kit 1	20 Runs	P/N: 06768318190
cobas[®] 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit	80 Tests	P/N: 06768237190
cobas[®] 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit	10 Runs	P/N: 06768300190

INNHOLDSFORTEGNELSE

Tiltenkt bruk	4
Sammendrag og beskrivelse av testen / Testprinsipper	4
Bakgrunn: Screening av <i>C. difficile</i>	4
Forklaring av testen.....	5
Testprinsipper.....	5
Prøvepreparering.....	5
PCR-amplifikasjon og TaqMan®-deteksjon.....	5
Selektiv amplifikasjon	6
Materiell, reagenser og prøver	7
Materiell og reagenser som medfølger	7
Oppbevaring og håndtering av reagenser	7
Ytterligere materiell som kreves.....	14
Valgfritt tilleggsutstyr	15
Instrumentering og programvare som kreves, men som ikke medfølger	15
Krav til oppbevaring og håndtering.....	15
Advarsler og forholdsregler	15
God laboratoriepraksis	16
Kontaminering.....	16
Integritet	16
Kassering	16
Søl og rengjøring	17
Prøvetaking, -transport og -oppbevaring	17
Prøvetaking	17
Stabilitet og oppbevaring av prøver under transport	17
Testprosedyre	18
Testkjøring	18
Arbeidsflyt	18
Bruksanvisning	18

Resultater	21
Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater	21
Positiv kontroll	21
Negativ kontroll.....	21
Internkontroll	21
Tolkning av resultater	22
Liste over resultatflagg	23
Testens begrensninger	23
Vurdering av analytisk ytelse	24
Analytisk sensitivitet	24
Deteksjon av <i>C. difficile</i> -genotyper	25
Presisjon.....	27
Analytisk spesifisitet.....	28
Interferens	30
Klinisk ytelse ved bruk av kliniske prøver	32
Tilleggsinformasjon	34
Viktigste analysefunksjoner	34
Symboler	35
Teknisk support.....	36
Produsent og importør	36
Varemerker og patenter	36
Copyright.....	36
Bibliografi.....	37
Dokumentrevisjon	39

Tiltenkt bruk

cobas® Cdiff-testen på **cobas®** 4800-systemet er en automatisk, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test som bruker polymerasekjedereaksjon (PCR) i sanntid til direkte deteksjon av toksin B (*tcdB*)-genet av toksigen *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) i løse (flytende eller bløte) avføringsprøver fra pasienter der det er mistanke om *C. difficile*-infeksjon (CDI). **cobas®** Cdiff-testen skal brukes som et hjelpemiddel ved diagnostisering av CDI hos mennesker sett i sammenheng med kliniske og epidemiologiske risikofaktorer.

Sammendrag og beskrivelse av testen / Testprinsipper

Bakgrunn: Screening av *C. difficile*

C. difficile er en gram-positiv, anaerob, sporedannende bakterie som ble identifisert som et etiologisk agens for antibiotikarelatert pseudomembranøs kolitt sent på 1970-tallet.^{1,2} Man mener bakterien er ansvarlig for 15–20 % av antibiotikarelaterte diarétilfeller, og nesten alle tilfeller av antibiotikarelatert pseudomembranøs kolitt.³ De siste ti årene har forekomsten av *C. difficile*-relatert infeksjon (CDI) økt i stor grad, og er nå et betydelig problem i industriland. Mens forekomsten tidligere har vært på 30–40 tilfeller per 100 000 innbyggere på akuttmottak i sykehus i USA, økte forekomsten til mer enn 80 per 100 000 innbyggere i 2005.⁴ CDI-utbrudd har vært beskrevet.⁵ De direkte kostnadene knyttet til CDI var 6 326 USD per tilfelle i USA.⁶

En økt forekomst har delvis vært tilskrevet at det er kommet frem en angivelig hypervirulent stamme, klassifisert som ribotype 027 / nordamerikansk pulsotype 1 (NAP1) og toksintype III. Toksigen stammer av *C. difficile* produserer normalt to toksiner: toksin A (et enterotoksin) og toksin B (et cytotoksin).⁷ En liten prosentandel av stammene produserer bare toksin B.⁸

Økt virulens ble nylig beskrevet i stammer som produserer et annet toksin, et binært toksin, og har en delesjon i det negative regulatorgenet *tcdC*.^{9,10} Det ble rapportert at disse stammene var mer virulente *in vitro* og så ut til å forårsake større morbiditet og mortalitet hos mennesker.^{11,12}

Etter kolonisering med toksigen *C. difficile* kan mennesker bli asymptomatiske bærere eller utvikle sykdom i tykktarmen. De kliniske aspektene av CDI kan variere fra lett diaré til livstruende pseudomembranøs kolitt, karakterisert av magesmerter, kraftig diaré og systemiske symptomer som feber, anoreksi, kvalme og generell sykdomsfølelse.

Diagnostisering av CDI blir normalt gjort ved å påvise toksin A og/eller B i avføringsprøver. Påvisning av den cytopatiske effekten fra aktivt toksin B på et enkeltlag med celler, anses av de fleste å være "gullstandarden".^{13,14} Påvisning av den cytopatiske effekten kan oppnås med direkte inkubasjon av avføringssupernatanten på enkeltlaget med celler; alternativt kan *C. difficile*-isolater dyrkes i selektiv buljong og supernatanten benyttes til etterfølgende inkubasjon på enkeltlaget med celler (toksigen kultur).¹⁵ Begge teknikkene krever minst 48 til 72 timer for å gi et endelig resultat. Immunanalyser til deteksjon av toksin A og B brukes i utstrakt grad fordi de gir positive resultater på mindre enn 4 timer. Sensitiviteten er imidlertid signifikant lavere sammenlignet med vevskultur.¹⁶ Sammenlignet med kliniske kriterier som støtter CDI, ble PCR rapportert å ha en sensitivitet, spesifisitet og positiv- og negativ prediktiv verdi på henholdsvis 93,3 %, 97,4 %, 75,5 % og 99,4 %, med en normal resultattid på <4 timer.¹⁵ PCR vurderes som den beste raske enkelttesten for å påvise *C. difficile*-toksin.^{17–20} Til tross for en dramatisk økning i forekomst og alvorlighetsgrad av CDI, er metronidazol eller vancomycin fortsatt den vanligste medisinske behandlingen som blir brukt ved akutte tilfeller og tilbakevendende infeksjoner.²¹

Infeksjonsbegrensende tiltak omfatter forsiktig bruk av antimikrobielle midler, forebygging av kryss-infeksjon og aktiv overvåking av sykdomstilfeller.²² Gjentatt testing for "friskmelding" anbefales ikke, siden toksiner kan være til stede i lengre tid uten at pasienten har kliniske symptomer.

Det er derfor et stort behov for svært sensitiv og rask automatisk deteksjon av *C. difficile*. Molekylære metoder gir muligheten til å redusere deteksjonstiden signifikant og dermed gjøre det mulig med umiddelbar oppstart av antimikrobiell behandling og umiddelbar implementering av infeksjonsbegrensende tiltak.¹⁷⁻²⁰

Forklaring av testen

cobas® Cdiff-testen omfatter to hovedprosesser: (1) automatisk prøvepreparering for å ekstrahere nukleinsyrer fra løse avføringsprøver; (2) PCR-amplifikasjon av mål-DNA-sekvenser ved bruk av både *C. difficile*-spesifikke primere og sanntidsdeteksjon av splittede fluoroscensmerkede *C. difficile*-spesifikke oligonukleotiddeteksjonsprober. En internkontroll som inneholder en urelatert, randomisert DNA-sekvens, tilføres alle prøver før automatisk prøvepreparering og amplifiseres og detekteres samtidig for hver prøve for å overvåke hele prosessen.

Testprinsipper

Prøvepreparering

Prøveprepareringen for **cobas®** Cdiff-testen er automatisk og skjer med bruk av **cobas®** x 480-instrumentet. Organismer lyseres med kaotropisk agens, proteinase K og SDS-reagenser. Frigjorte nukleinsyrer, sammen med tilsatt internkontroll-DNA, bindes av magnetiske glasspartikler. De vaskes og elures deretter i et lite buffervolum. Instrumentet tar deretter en avpipettering av det eluerte materialet og klargjør PCR-reaksjonen med en aktivert Master Mix.

PCR-amplifikasjon og TaqMan®-deteksjon

PCR-syklustrinnene og deteksjon av målsignal utføres i **cobas®** z 480-analysatoren. Master Mix-reagenset inneholder primerpar og prober for to mål: toksin B og internkontroll. Hvis målnukleinsyresekvensene er til stede, vil det skje en amplifikasjon med de tilhørende primerne ved en termostabil DNA-polymerase der PCR-produkter (amplikon) blir generert. Disse produktene detekteres av spesifikke TaqMan-prober som inneholder en fluorescensfarge og en slukker. Normalt vil slukkeren undertrykke fluoroscensen i fargestoffet. Hvis PCR-produktet imidlertid er til stede, vil proben hybridiseres til produktet og bli splittet av 5' til 3'-nukleaseaktiviteten til polymerasen. Denne reaksjonen gjør det mulig å fjerne fluorescensen fra fargestoffet, og signalet registreres i sanntid under hver PCR-syklus av **cobas®** z 480-analysatoren. Signalet tolkes av **cobas®** 4800-systemets programvare og rapporteres som endelige resultater.

Selektiv amplifikasjon

Selektiv amplifikasjon av målnukleinsyre fra prøven oppnås i **cobas**® Cdiff-testen ved å bruke AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylase) og deoksyuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet gjenkjenner og katalyserer destruksjon av DNA-tråder som inneholder deoksyuridin²³, men ikke DNA som inneholder deoksytymidin. Deoksyuridin finnes ikke i naturlig forekommende DNA, men finnes alltid i amplikon som følge av bruken av deoksyuridintrifosfat i stedet for tymidintrifosfat som en av dNTP-ene i Master Mix-reagenset. Derfor er det kun amplikon som inneholder deoksyuridin. Deoksyuridin gjør kontaminerende amplikon mottakelig for destruksjon ved hjelp av AmpErase-enzymet forut for amplifikasjon av mål-DNA. AmpErase-enzymet, som inngår i Master Mix-reagenset, katalyserer nedbrytning av DNA som inneholder deoksyuridin, ved å bryte deoksyuridingruppens deoksyribosekjede i C1-posisjonen. Ved temperaturøkningen i det første varmetrinnet, ved alkalisk pH i Master Mix, brytes amplikon-DNA-kjeden der deoksyuridinet finnes. Dette fører til at DNA ikke lenger er amplifiserbart. AmpErase-enzymet er inaktivt ved temperaturer over 55 °C, dvs. gjennom alle termosykliske trinn, og derfor blir ikke mål-amplikon ødelagt. **cobas**® Cdiff-testen har vist seg å kunne deaktivere minst 1000 kopier av deoksyuridinholdig *C. difficile*-amplikon per PCR.

Materiell, reagenser og prøver

Materiell og reagenser som medfølger

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveprepareringskit for cobas® 4800-systemet) 240 tester (P/N: 05235782190)	MGP (Magnetiske glasspartikler for cobas® 4800-systemet) Magnetiske glasspartikler 93 % isopropanol ^b	10 × 4,5 ml	 FARE H225: Meget brannfarlig væske og damp. H319: Gir alvorlig øyeirritasjon. H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet. P210: Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt. P233: Hold beholderen tett lukket. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselvern. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P370 + P378: Ved brann: Slukk med tørr sand, tørrkjemisk eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffer for cobas® 4800-systemet) Tris-buffer 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	I/R

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveprepareringskit for cobas® 4800-systemet) 960 tester (P/N: 05235804190)	MGP (Magnetiske glasspartikler for cobas® 4800-systemet) Magnetiske glasspartikler 93 % isopropanol ^b	10 × 13,5 ml	 FARE H225: Meget brannfarlig væske og damp. H319: Gir alvorlig øyeirritasjon. H336: Kan forårsake døsighet eller svimmelhet. P210: Holdes borte fra varme, varme overflater, gnister, åpen flamme og andre antenningskilder. Røyking forbudt. P233: Hold beholderen tett lukket. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P280: Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P370 + P378: Ved brann: Slukk med tørr sand, tørrkjemisk eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffer for cobas® 4800-systemet) Tris-buffer 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	I/R

* Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

** Farlig stoff.

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Menge per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 tester (P/N: 06768253190)	LYS-1 (lyseringsbuffer 1 for cobas® 4800-systemet) Natriumsitrat 5 % polidokanol ^b 42,6 % guanidiniumthiocyanat ^b Ditiotreitol ^b	10 × 10 ml	 FARE H302: Farlig ved svelging. H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. H411: Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann. EUH032: Ved kontakt med syre utvikles meget giftig gass. EUH071: Etsende for luftveiene. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørselvern. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P391: Samle opp spill. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol
	PK (proteinase K for cobas® 4800-systemet) Tris-buffer EDTA Kalsiumklorid Kalsiumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glyserin	10 × 0,9 ml	 FARE H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H334: Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P280: Bruk vernehansker. P284: Åndedrettsvern skal benyttes. P304 + P340: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P342 + P311: Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
	SDS (SDS-reagens for cobas® 4800-systemet) Tris-buffer Natriumdodesylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 3 ml	I/R
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 tester (P/N: 06768270190)	LYS-1 (lyseringsbuffer 1 for cobas® 4800-systemet) Natriumsitrat 5 % polidokanol ^b 42,6 % guanidiniumthiocyanat ^b Ditiotreitol ^b	10 × 36 ml	 FARE H302: Farlig ved svelging. H314: Gir alvorlige etseskader på hud og øyne. H411: Giftig, med langtidsvirkning, for liv i vann. EUH032: Ved kontakt med syre utvikles meget giftig gass. EUH071: Etsende for luftveiene. P273: Unngå utslipp til miljøet. P280: Benytt vernehansker/verneklær/øyevern/ansiktsvern/hørsevern. P303 + P361 + P353: VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll huden med vann. P304 + P340 + P310: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. P391: Samle opp spill. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
	PK (proteinase K for cobas ® 4800-systemet) Tris-buffer EDTA Kalsiumklorid Kalsiumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glyserin	20 × 1,2 ml	 FARE H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. H334: Kan gi allergi eller astmasymptomer eller pustevansker ved innånding. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P280: Bruk vernehansker. P284: Åndedrettsvern skal benyttes. P304 + P340: VED INNÅNDING: Flytt personen til frisk luft og sørg for at vedkommende har en stilling som letter åndedrettet. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P342 + P311: Ved symptomer i luftveiene: Kontakt et GIFTINFORMASJONSSENTER/en lege. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin
	SDS (SDS-reagens for cobas ® 4800-systemet) Tris-buffer Natriumdodesylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 9 ml	I/R

* Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

** Farlig stoff.

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 tester (P/N: 05235863190)	WB (vaskebuffer for cobas® 4800 -systemet) Natriumsitratdihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl**	10 × 55 ml	 ADVARSEL H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P272: Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen. P280: Bruk vernehansker. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P362 + P364: Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. P501: Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on-hydroklorid
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 tester (P/N: 05235871190)	WB (vaskebuffer for cobas® 4800 -systemet) Natriumsitratdihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl**	10 × 200 ml	 ADVARSEL H317: Kan utløse en allergisk hudreaksjon. P261: Unngå innånding av tåke eller damp. P272: Tilsølte arbeidsklær må ikke fjernes fra arbeidsplassen. P280: Bruk vernehansker. P333 + P313: Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. P362 + P364: Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. P501: Innhold/holder leveres til et godkjent avfallsanlegg. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on-hydroklorid
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 analyser (P/N: 06768318190)	IC-1 (IC-1 for cobas® 4800 -systemet) Tris-buffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk) 0,05 % natriumazid < 0,01 % ikke-infeksiøs, syntetisk internkontroll-DNA innkapslet i Lambda-bakteriofag kappe protein	20 × 0,5 ml	I/R

Kit/kassetter	Komponenter og reagensingredienser	Mengde per test	Sikkerhetssymbol og advarsel*
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (Cdiff-amplifikasjons- /deteksjonskit for cobas® 4800) 80 tester (P/N: 06768237190)	Cdiff MMX (cobas® Cdiff Master Mix) Trisinbuffer EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroksid Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % oppstrøms- og nedstrøms <i>C. difficile</i> - og internkontrollprimere < 0,01 % fluorescensmerkede <i>C. difficile</i> - og internkontrollprober < 0,01 % oligonukleotidaptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymerase (mikrobiell) < 0,02 % AmpErase (uracil-N- glykosylase) enzym (mikrobiell) 0,09 % natriumazid	10 × 0,3 ml	I/R
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (Cdiff-kontroll- og kofaktorkit for cobas® 4800) 10 analyseserier (P/N: 06768300190)	Cdiff (+) C (cobas® Cdiff positiv kontroll) Tris-buffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk) 0,05 % natriumazid < 0,01 % ikke-infeksiøst plasmid-DNA (mikrobielt) som inneholder <i>C. difficile</i> - sekvens	10 × 0,5 ml	I/R
	(-) C (negativ kontroll for cobas® 4800- systemet) Tris-buffer EDTA 0,05 % natriumazid < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk)	10 × 0,5 ml	I/R
	Cofactor-3 (kofaktor-3 for cobas® 4800-systemet) Manganacetat Magnesiumacetat Bovint serumalbumin fra bovint plasma fra USA 0,09 % natriumazid	10 × 1,7 ml	I/R

* Produktsikkerhetsmerking følger primært EUs GHS-retningslinjer.

** Farlig stoff.

Oppbevaring og håndtering av reagenser

Reagens	Oppbevarings-temperatur	Oppbevaringstid
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveprepareringskit for cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Lyseringskit 1 for cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Internkontrollkit 1 for cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (Cdiff-amplifikasjons-/deteksjonskit for cobas® 4800)	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (Cdiff-kontroll- og kofaktorkit for cobas® 4800)	2–8 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Vaskebufferkit for cobas® 4800-systemet)	15–25 °C	Stabil frem til angitt utløpsdato

Merk: Ikke frys reagenser.

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

Ytterligere materiell som kreves

Materiell	P/N
CORE-spisser, 1000 µl, stativ med 96	04639642001
50 ml reagensreservoar	05232732001
200 ml reagensreservoar	05232759001
Ekstraksjonsplate for cobas® 4800-systemet (dypbrønnsplate)	05232716001
AD-plate (mikrobrønnplate) 0,3 ml og forseglingsfilm for cobas® 4800-systemet	05232724001
Forseglingsfilmapplikator	04900383001
Holder med 24 posisjoner	04639502001
Pose for fastavfall	05530873001 (liten) eller 04691989001 (stor)
Hamilton STAR plastsjakt	04639669001
cobas® PCR Media and Swab Sample Kit	07051891190
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Engangshansker, uten pudder	Alle engangshansker uten pudder kan brukes.
Vortexmikser (enkeltrør)	Alle vortexmikserne kan brukes.
Sentrifuge med svingrotor med minimum RCF av 1500	Alle egnede sentrifuger kan brukes.

Hvis du ønsker mer informasjon om materiell som selges separat, kan du ta kontakt med din lokale Roche-representant.

Valgfritt tilleggsutstyr

Materiell	P/N
Forseglingsmatte eller forseglingsfilm til dypbrønnsplate	Roche 04789288001 eller Hamilton 6474-01
Korker, nøytral farge (for å sette kork på prøver etter analysering)	Roche P/N 07958056190, for å sette hetter på prøver etter analysering i 13 ml rundbunnede rør

Hvis du ønsker mer informasjon om tilleggsutstyr, kan du ta kontakt med din lokale Roche-representant.

Instrumentering og programvare som kreves, men som ikke medfølger

Nødvendig instrumentering og programvare som ikke medfølger
cobas® 4800-system cobas® x 480-instrumentet cobas® z 480-analysatoren kontrollenhet
cobas® 4800-system, cobas® Cdiff AP-programvareversjon 1.0.1 eller nyere
cobas® 4800-system, applikasjonsprogramvare (Core) versjon 2.2.0 eller nyere

Hvis du ønsker mer informasjon om materiell som selges separat, kan du ta kontakt med din lokale Roche-representant.

Krav til oppbevaring og håndtering

Advarsler og forholdsregler

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

- Kun for bruk til *in vitro*-diagnostikk.
- Unngå mikrobiell kontaminering og DNA-kontaminering av reagenser og prøver.
- Dataark om sikkerhet (SDS) kan på forespørsel sendes fra ditt lokale Roche-kontor.
- LYS-1-reagens inneholder guanidintiocyanat. Guanidintiocyanat må ikke komme i direkte kontakt med natriumhypokloritt (blekemiddel) eller andre svært reaktive reagenser som syrer eller baser. Slike blandinger kan produsere en skadelig gass.
- MGP inneholder isopropanol og er svært brennbart. Hold det unna åpen ild og omgivelser der det kan produseres gnister.
- Unngå at MGP eksponeres for magnetiske felter.
- EB, Cdiff MMX, SDS, Cofactor-3, (–)C, Cdiff (+)C og IC-1 inneholder natriumazid.
- For ytterligere advarsler, forholdsregler og prosedyrer for å redusere risikoen for kontaminering av **cobas®** x 480-instrumentet eller **cobas®** z 480-analysatoren, se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet. Hvis det er mistanke om kontaminering, må rengjøring og ukentlig vedlikehold utføres i henhold til beskrivelsene i brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet.
- Informer lokale kompetente myndigheter og produsenten om eventuelle alvorlige hendelser som kan oppstå når du bruker denne analysen.

Merk: Hvis du ønsker nærmere instruksjoner, kan du se under "Prøvetaking, -transport og -oppbevaring".

God laboratoriepraksis

- Ikke pipetter med munnen.
- Ikke spis, drikk eller røyk i laboratoriets arbeidsområder.
- Vask hendene nøye etter håndtering av prøver og reagenser.
- Bruk vernebriller, laboratoriefrakk og engangshansker ved håndtering av reagenser. Unngå kontakt med hud, øyne eller slimhinner. Skyll umiddelbart med store mengder vann hvis slik kontakt oppstår. Hvis kontaktstedet ikke blir behandlet, kan det oppstå brannskade. Fortynn med vann før du tørker opp eventuelt søl.
- Rengjør og desinfiser alle arbeidsoverflater nøye med en nylaget løsning av 0,5 % natriumhypokloritt i destillert eller de-ionisert vann (fortynn blekemiddel til husholdningsbruk i forholdet 1:10). Tørk deretter av overflaten med 70 % etanol.

Kontaminering

- Hansker må brukes, og de må byttes mellom håndtering av prøver og cobas® Cdiff-reagenser for å unngå kontaminering. Unngå kontaminering av hanskene når prøver og kontroller håndteres. Bruk laboratoriehansker, laboratoriefrakk og vernebriller når du håndterer prøver og reagenser.
- Unngå mikrobiell kontaminering og ribonukleasekontaminering av reagenser.
- Falske positive resultater kan oppstå hvis kontaminering av prøver ikke forhindres under prøvehåndtering.
- Prøver må håndteres som smittebærende, og sikre laboratorierutiner må følges. Disse er beskrevet i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*²⁴ og CLSI-dokumentet M29-A4.²⁵

Integritet

- Kit må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Ikke bland reagenser fra ulike kilder.
- Engangsutstyr må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Ikke bruk reagenser eller beholdere som er synlig skadet eller viser tegn på lekkasje.
- Alt forbruksmateriell er laget for bare å brukes én gang. Skal ikke gjenbrukes.
- Alt utstyr må vedlikeholdes i samsvar med produsentens instruksjoner.

Kassering

- cobas® 4800-systemreagenser og cobas® Cdiff-testspesifikke reagenser inneholder natriumazid (se "Advarsler og forholdsregler"). Natriumazid kan reagere med bly- og kobberør og danne svært eksplosive metallazider. Hvis løsninger som inneholder natriumazid helles ned i avløp i laboratoriet, må de skylles ned med store mengder kaldt vann for å unngå azidoppbygging.
- Kast ubrukte reagenser og avfall i henhold til nasjonalt, regionalt og lokalt regelverk.

Merk: Se brukerhjelpen for cobas® 4800-systemet for informasjon om kassering av væskeavfall.

Søl og rengjøring

- LYS-1-reagens inneholder guanidintiocyanat. Hvis det søles væske som inneholder guanidintiocyanat, må du rengjøre med passende laboratorierengjøringsmiddel og vann. Hvis den utsølte væsken inneholder potensielt infeksiose agens, skal det berørte området FØRST rengjøres med laboratorierengjøringsmiddel og vann, og deretter med 0,5 % natriumhypokloritt.
- Hvis det søles på **cobas**® 4800-instrumentet, må det rengjøres i samsvar med instruksjonene i brukerhjelpen for **cobas**® 4800-systemet.
- Bruk ikke natriumhypoklorittløsning (klormiddel) til å rengjøre **cobas**® x 480-instrumentet eller **cobas**® z 480-analysatoren. Rengjør **cobas**® x 480-instrumentet eller **cobas**® z 480-analysatoren i samsvar med prosedyrene i den relevante brukerhjelpen for **cobas**® 4800-systemet.

Prøvetaking, -transport og -oppbevaring

Merk: Alle prøver må behandles som om de er potensielt smittebærende.

Prøvetaking

En løs avføringsprøve tas i en steril beholder. Prøver bør tas i henhold til prosedyren som er angitt for institusjonens standardprosedyrer.

Stabilitet og oppbevaring av prøver under transport

Løse avføringsprøver er stabile ved 2-30°C i 2 dager, eller ved 2-8°C i 7 dager, og ved -20°C i 60 dager før testing på **cobas**® 4800-systemet. (Dette ble vist ved å teste prøver etter fortløpende oppbevaring ved 30°C $\pm$ 1°C i 2 dager, etterfulgt av 2-8°C i 5 dager, etterfulgt av -20°C i 60 dager.)

Avføringsprøve blandet med **cobas**® PCR Media er stabil ved 2-8°C i 60 dager eller ved 30°C i 7 dager før testing på **cobas**® 4800-systemet.

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

Testprosedyre

Testkjøring

Arbeidsflyt

Figur 1: cobas® Cdiff-arbeidsflyt

1	Start systemet.
2	Utfør instrumentvedlikehold.
3	Ta ut prøver og reagenser fra lagring.
4	Start analysering: • Sett inn holdere med prøver.
5	Med LIS: utfør arbeidsbestilling. Uten LIS: opprett arbeidsbestilling.
6	Last inn forbruksmateriell (dypbrønnsplate, mikrobrønnplate, spiss-stativer) og reagenser.
7	Start prøveprepareringen.
8	Ta ut og forsegl mikrobrønnplaten.
9	Fjern prøver, brukte reagenser og dypbrønnsplaten.
10	Sett mikrobrønnplaten inn i analysatoren.
11	Gjennomgå resultater.
12	Med LIS: send resultater til LIS-systemet.
13	Last ut av analysatoren.

Bruksanvisning

Alle reagenser unntatt Cdiff MMX og Cofactor-3 må ha romtemperatur før innlasting i **cobas®** x 480-instrumentet. Cdiff MMX og Cofactor-3-reagenser kan tas direkte fra kjølelagringen på 2–8 °C, da de vil bli temperert til romtemperatur på **cobas®** x 480-instrumentet innen de brukes i prosessen.

Merk: Se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet for detaljert bruksanvisning.

Størrelse på analyseserier

cobas® 4800-systemet er utformet for å støtte blandede analyseserier for **cobas®** MRSA-/SA-, **cobas®** Cdiff- og **cobas®** HSV 1- og 2-tester. Det generiske **cobas®** 4800-systemets prøveprepareringskitet, det generiske **cobas®** 4800-systemets lyseringskit 1 og det generiske **cobas®** 4800-systemets vaskebufferkitet er tilgjengelige i to kitstørrelser, hver av dem tilstrekkelig til 10 analyser med opptil enten 24 eller 96 prøver, som inkluderer kontroller og prøver for alle analyser som skal kjøres. **cobas®** 4800 Cdiff-amplifikasjons-/deteksjonskit er tilstrekkelig til å teste opptil 80 prøver, og inkluderer analysering av Cdiff-kontroller og prøver. Flere rør med **cobas®** 4800 Cdiff Master Mix-reagens kan brukes etter behov i en analyse, så lenge de har samme kitstørrelse. Det generiske **cobas®** 4800-systemets internkontrollkit 1 og **cobas®** 4800 Cdiff-kontroll- og kofaktorkitet er tilgjengelige i et enkelt kit og støtter alle analysekonfigurasjoner. For hver analyse som inneholder *C. difficile*-prøver, må én **cobas®** 4800 Cdiff positiv kontroll og én **cobas®** 4800-system negativ kontroll brukes (se "Kvalitetskontroll"). For en enkelt analyseserie er det tillatt et maksimalt antall på 94 prøver og 2 kontroller.

Merk: Et generisk 96-testreagens kan brukes i en analyseserie som inneholder totalt 1–22 prøver, selv om dette ikke er optimal bruk av reagenser. Ulike størrelser på cobas® 4800-systemets vaskebufferkit (WB), cobas® 4800-systemets prøveprepareringskit og cobas® 4800-systemets lyseringskit 1 må imidlertid ikke blandes. Hvis for eksempel en 96-test WB-reagensflaske skannes ved starten av analysen, må reagenser av 96-teststørrelsen fra de andre to kitene også brukes.

Arbeidsflyt

cobas® Cdiff-test utføres med "full arbeidsflyt" i **cobas®** 4800-programvaren. Den består av prøvepreparering i **cobas®** x 480-instrumentet etterfulgt av amplifikasjon/deteksjon i **cobas®** z 480-analysatoren. Analysen kan være Cdiff alene eller blandet serie med **cobas®** MRSA/SA og/eller **cobas®** HSV 1- og 2-tester. Se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet for detaljer.

Prøveoverføring i cobas® PCR Media-rør

1. Bruk én polyesterpensel til å overføre avføring til **cobas®** PCR Media-røret. Kast den andre penselen som lå i pakken (hvis relevant). Før penselspissen helt inn i avføringsprøven, opp til enden av den smale delen, uten å berøre sidene på avføringsbeholderen. Fjern den inokulerte penselen og overfør raskt til **cobas®** PCR Media-røret. Ikke test prøven hvis det ikke er tilstrekkelig med avføring til at penselspissen kan senkes helt ned.

2. Brekk skaftet på penselen ved det grå merket ved å legge trykk mot siden av røret. Sett kork på røret og vortex i minst 5 sekunder. Ta av korken og sett rør(ene) i prøveholder(ene) med 24 posisjoner for å prosessere dem. Kast korkene.

Merk: **cobas®** Cdiff-testen er godkjent for bruk sammen med **cobas®** PCR Media Kit, **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit og **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit. Ikke bruk annet utstyr eller medietyper.

Merk: Bare én polyesterpensel skal brukes til å overføre avføringen. Overflødig avføring som overføres til **cobas®** PCR Media-røret, kan forårsake klumper og/eller ugyldige resultater.

Merk: Avføringsprøver må overføres til **cobas®** PCR Media-rør som er merket med en godkjent strekkode for behandling i **cobas®** x 480-instrumentet. Se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet for informasjon om riktige strekkodeprosedyrer og en liste over godkjente strekkoder for **cobas®** 4800-systemet.

Merk: Unngå krysskontaminering av prøver med avføringssuspensjoner i **cobas®** PCR Media ved å bruke korker for **cobas®** PCR Media-rør i en annen farge (nøytral; se "Valgfritt tilleggsutstyr") når prøvene skal korkes etter behandling.

Merk: **cobas®** PCR Media inneholder tilstrekkelig volum til at avføringssuspensjonen kan analyseres flere ganger på **cobas®** 4800-systemet. Minste volum av avføringssuspensjon som kreves for en **cobas®** Cdiff-analyse, er 3 ml i **cobas®** PCR Media-rør.

Utføre en cobas® Cdiff-test

Merk: Blandede analyseserier med **cobas®** MRSA/SA- og **cobas®** Cdiff- og/eller **cobas®** HSV 1- og 2-tester kan utføres. Se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet for mer informasjon.

1. Utfør prosedyrene for systemoppstart og vedlikehold i samsvar med instruksjonene i brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet.
2. Finn frem nødvendige reagenser og forbruksmateriell. Reagenser må holde romtemperatur når analysen starter, med unntak av **cobas®** Cdiff MMX- og Cofactor-3-reagenser.

Merk: Alle reagenser og reagensreservoarer er strekkodet og utformet for å brukes én gang. cobas® 4800-programvaren sporer bruken av reagenser og reagensreservoarer og avviser tidligere brukte reagenser eller reagensreservoarer.

3. Start en ny analyse, og angi arbeidsbestillingen for analysen. Du kan angi en arbeidsbestilling på tre ulike måter:

- Ved å bruke prøveredigereren før prøvestativet er satt inn i **cobas®** x 480-instrumentet (knappen Editor til høyre i hovedmenyen). Arbeidsbestillinger kan lagres, redigeres og lastes inn på nytt om nødvendig.
- Ved å starte den nye analyseserien i samsvar med programvareveiviseren, og sette inn prøvene i **cobas®** x 480-instrumentet når du blir bedt om det. Prøvenes strekkoder blir automatisk skannet, og forespurte resultater for hver prøve må angis.
- Ved å bruke institusjonens LIS-system.

Se brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet for flere detaljer. Merk av for "Cdiff" når du velger forespurte resultater.

4. Sett inn prøvene og angi/velg arbeidsbestillingen, eller bruk LIS-systemet. Valget "Unload sample carriers after transferring to deep well plate" merkes av som standard. Dette gir operatøren tilgang på prøvenes resterende avføringssuspensjon så snart **cobas®** x 480-instrumentet er ferdig med avpipettering til videre behandling. Rør med avføringssuspensjon skal påsettes ny kork (se "**Valgfritt tilleggsutstyr**") hvis det er behov for oppbevaring.
5. Følg programveiviseren og last inn alt forbruksmateriell. Ikke sett inn eller ta ut enkeltspisser i et delvis brukt spiss-stativ, ettersom programvaren sporer antall spisser som er igjen. Hvis det ikke er nok spisser til at analyseserien kan utføres, vil brukeren bli varslet av programvaren.
6. Last inn prøveprepareringsreagensene i de strekkodede reagensreservoarene. Reagensreservoarene leveres i to størrelser: 200 ml og 50 ml. Følg programveiviseren for å velge riktig reagensreservoarstørrelse. Strekkodene for reagensreservoarene må vende mot høyre i holderen. Bruk "skann-skann-hell-plasser"-metoden for å sette inn prøveprepareringsreagenser:
- Skann strekkoden på reagensflasken.
 - Skann strekkoden på reagensreservoaret.
 - Hell reagens i reservoaret.
 - Plasser det fylte reagensreservoaret i angitt posisjon på reagensholderen.

Merk: cobas® 4800-systemet har en intern klokke som overvåker hvor lenge reagensene er i systemet. Når WB er skannet, tillates 1 time til å fullføre skanneprosessen og klikke på "Start"-knappen. En nedtellingstidtaker vises i fliken "Workplace". Systemet starter ikke analyseserien hvis tiden er utgått.

Merk: Sikre nøyaktig overføring av MGP ved å vortexe eller riste MGP-røret kraftig umiddelbart før dispensering i reagensreservoaret.

7. Last inn amplifikasjons-/deteksjonsreagenser (Cdiff MMX og Cofactor-3), proteinase K (PK) og kontroller [Cdiff (+) C, IC og (-) C] direkte på reagensholderen. Bytt hansker etter håndtering av positive kontroller for å forhindre kontaminering.

Merk: Programvareveiviseren vil beregne det optimale antallet og størrelsen på cobas® Cdiff MMX-reagenset som skal brukes. Dette vil bli vist i kolonnen "Kit size" i skjermbildet for innlasting av MMX og kofaktor. Hvis du vil bruke en annen størrelse av cobas® Cdiff MMX-reagenset, klikker du på knappen "Change kit size".

8. Start prøveprepareringen ved å klikke på "Start Run".

9. Etter en vellykket prøvepreparering blir knappen "Sample Preparation results" og knappen "Unload" tilgjengelig. Om ønskelig kan du velge knappen "Sample Preparation results" for å gjennomgå resultatene. Velg deretter "Unload" for å ta ut plateholderen. Velg alternativet "Unload" for å ta ut plateholderen uten å gå igjennom resultatene. Se brukerhjelpen for **cobas**® 4800-systemet.
10. Følg instruksjonene i brukerhjelpen for **cobas**® 4800-systemet for å forsegle mikrobrønnplaten, transportere platen til **cobas**® z 480-analysatoren og starte amplifikasjons- og deteksjonskjøringen.

Merk: **cobas**® 4800-systemet har en intern klokke som overvåker hvor lang tid det går mellom tilsetning av de preparerte prøvene til aktivert Master Mix. Amplifikasjon og deteksjon bør startes så snart som mulig, men senest 90 minutter etter at kjøringen i **cobas**® x 480-instrumentet er ferdig. En nedtellingstidtaker vises i fliken "Workplace". Systemet avbryter kjøringen hvis tiden er utgått.

11. Når amplifikasjons- og deteksjonskjøringen er fullført, last ut mikrobrønnplaten fra **cobas**® z 480-analysatoren.
12. Følg instruksjonene i brukerhjelpen for **cobas**® 4800-systemet for å gjennomgå og godta resultatene.

Resultater

Kvalitetskontroll og gyldighet av resultater

Ett sett med **cobas**® Cdiff-testens positive og negative kontroller er inkludert i hver analyseserie. For alle analyseserier må det innhentes gyldige resultater for både den positive og den negative kontrollen for at **cobas**® 4800-programvaren skal kunne vise de rapporterbare resultatene for aktuell analyseserie med **cobas**® Cdiff-testen.

Positiv kontroll

Cdiff (+)-kontrollen inneholder ikke-infeksiøse DNA-plasmider av *C. difficile*. Cdiff (+)-kontrollen overvåker nukleinsyreekstraksjon, amplifikasjon og deteksjonstrinn i en gitt analyseserie av testen. Resultatet av Cdiff (+)-kontroll må være gyldig ("Valid"). Hvis resultatene for Cdiff (+)-kontroll konsekvent er ugyldige, må du kontakte det lokale Roche-kontoret for teknisk assistanse.

Negativ kontroll

Resultatet av (–)-kontroll må være gyldig ("Valid"). Hvis resultatene for (–)-kontroll konsekvent er ugyldige, må du kontakte det lokale Roche-kontoret for teknisk assistanse.

Internkontroll

Internkontrollen er en rekombinant bakteriofag-lambda som inneholder randomiserte sekvenser og mål for internkontrollspesifikke primere og probe. Internkontrollen tilsettes alle prøver og de positive og negative kontrollene under prøvepreparering på **cobas**® x 480-instrumentet. Internkontrollen overvåker nukleinsyreekstraksjon, amplifikasjon og deteksjonstrinn for en gitt prøve. Internkontrollen kreves også for validering av analysekontrollene.

Tolkning av resultater

Merk: All analyse- og analyseserievalidering bestemmes av cobas® 4800-programvaren.

Merk: En gyldig analyseserie kan omfatte både gyldige og ugyldige prøveresultater.

Prøveresultater fra en gyldig analyseserie tolkes som vist i Tabell 1.

Tabell 1 Tolkning av resultater av cobas® Cdiff-test

cobas® Cdiff-test	Resultatrapport og tolkning
POS Cdiff	Cdiff positiv Prøven er positiv for tilstedeværelse av <i>C. difficile</i> -DNA.
NEG Cdiff	Cdiff negativ* <i>C. difficile</i> -DNA, om det er til stede, kunne ikke påvises.
Invalid	Ugyldig Resultatet er ugyldig. Den originale prøven bør testes på nytt for å oppnå et gyldig resultat. Sett på en ny kork på røret som inneholder avføringssuspensjonen som hadde det ugyldige resultatet, og vortex i minst 5 sekunder. Tilsett 0,5 ml av den vortexede avføringssuspensjonen i et nytt cobas® PCR Media-rør som inneholder medium. Sett kork på røret med fortynning, og vortex i minst 5 sekunder. Ta av korken og sett røret med fortynning i prøveholderen med 24 posisjoner for behandling.
Failed	Ingen resultat for prøve Se brukerhjelpen for cobas® 4800-systemet for instruksjoner om gjennomgang av flagg for analyseserier og anbefalte tiltak. I sjeldne tilfeller der det oppstår pipetteringsfeil (f.eks. klumper eller andre blokkeringer) skal det originale prøverøret med avføringssuspensjon påsettes ny kork og plasseres i en sentrifuge. Spinn opp til 1800 RCF (eller 1800 × g) før den stoppes. Kontroller at røret ikke ristes eller blandes etter sentrifugering. Ta av korken og sett røret i prøveholderen med 24 posisjoner for behandling.

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

Ugyldige resultater kan oppstå hvis prøven inneholder for mye avføring eller hemmende substanser som forhindrer ekstraksjon av nukleinsyremål og/eller amplifikasjon og deteksjon. Se "**Testens begrensninger**" for kjente interfererende substanser.

Merk: Minstevolumet for nødvendig avføringssuspensjon for cobas® Cdiff-testen er 3 ml.

Liste over resultatflagg

Følgende tabell inneholder flagg som er relevante for tolkning av resultater.

Tabell 2 Liste over flagg for **cobas®** Cdiff-testen

cobas® Cdiff-test	cobas® Cdiff-test	Resultatrapport og tolkning
R20	Den positive kontrollen er ugyldig.	En ekstern kontroll er ugyldig. 1. Gjenta hele serien med ferske reagenser. 2. Kontakt Roche Service hvis problemet vedvarer.
R21	Den negative kontrollen er ugyldig.	En ekstern kontroll er ugyldig. 1. Gjenta hele serien med ferske reagenser. 2. Kontakt Roche Service hvis problemet vedvarer.
X3	Feil. Klott ble detektert. Prøve ble ikke behandlet.	Kontroller at prøvene ble håndtert i samsvar med arbeidsflytbeskrivelsen. 1. Kontroller prøven for klumper. 2. Analyser prøven på nytt.
X4	Feil. Pipetteringsfeil har oppstått. Prøven ble ikke behandlet.	Utilstrekkelig prøvevolum eller mekanisk feil under pipettering er den mest sannsynlige årsaken. 1. Kontroller at det er nok prøvevolum. 2. Kontroller om spissutløserplaten er riktig plassert. 3. Analyser prøven på nytt.

Testens begrensninger

- cobas®** Cdiff-testen er bare godkjent for bruk med løse avføringsprøver som er blitt overført til **cobas®** PCR Media i henhold til bruksanvisningen i dette dokumentet.
- Pålitelige resultater er avhengig av adekvat prøvetaking, transport, oppbevaring og håndtering. Følg prosedyrene i denne bruksanvisningen (også referert til som pakningsvedlegg) og brukerhjelpen for **cobas®** 4800-systemet.
- Deteksjon av *C. difficile*-DNA avhenger av antall organismer som er til stede i prøven og kan påvirkes av prøvetaking/behandlingsmetoder, tidligere sykehistorie, antibiotikabehandling og *C. difficile*-stammer.
- Falske negative eller ugyldige resultater kan oppstå pga. interferens fra ulike substanser. Internkontrollen er inkludert i **cobas®** Cdiff-testen for å bidra til å identifisere prøver som inneholder substanser som kan interferere med nukleinsyreisolasjon og PCR-amplifikasjon. Kjente interfererende substanser inkluderer, men er ikke begrenset til, følgende:
 - Prøver som inneholder mer enn 25 % (vekt/volum) slim, kan gi falske negative resultater.
- Et positivt resultat indikerer tilstedeværelse av *C. difficile*-DNA og ikke nødvendigvis levedyktige organismer. Derfor indikerer ikke et positivt resultat nødvendigvis svikt ved sykdomsbehandling.
- Mutasjoner eller polymorfismer i primer- eller probe-bindende regioner kan påvirke deteksjon av nye eller ukjente varianter, noe som fører til et falskt negativt resultat med **cobas®** Cdiff-testen.
- Den prediktive verdien av en analyse avhenger av prevalensen av sykdommen i en bestemt populasjon.

8. Tilsetning av AmpErase-enzym i **cobas**® 4800 Cdiff Master Mix muliggjør selektiv amplifikasjon av mål-DNA. Kontaminering av reagensene og amplifikasjonsblandingen kan imidlertid bare unngås gjennom gode laboratorierutiner og ved å følge prosedyrene spesifisert i denne bruksanvisningen nøye.
9. Dette produktet må kun brukes av personell som er opplært i PCR-teknikk og bruken av **cobas**® 4800-systemet.
10. Kun **cobas**® x 480-instrumentet og **cobas**® z 480-analysatoren er validert for bruk med dette produktet. Ingen andre prøveprepareringsinstrumenter eller PCR-systemer kan brukes med dette produktet.
11. På grunn av naturlige forskjeller mellom teknologier anbefales det at brukerne utfører metode-korrelasjonsstudier i laboratoriet for å bestemme de teknologiske forskjellene før en ny teknologi tas i bruk. 100 prosent samsvar mellom resultatene kan ikke forventes, grunnet de tidligere nevnte forskjellene mellom teknologiene.
12. Krysskontaminering kan gi falske positive resultater. **cobas**® 4800-systemet er et automatisk sanntids PCR-instrument som er utformet for å minimere risikoen for krysskontaminering under prøvebehandling, nukleinsyreekstraksjon, amplifikasjon og deteksjon. For å teste systemets soliditet ble det utført en simulert, ikke-klinisk sjakkbrettstudie på et panel med vekslende høyt positive og negative fiktive prøver for å vurdere en teoretisk krysskontamineringsfrekvens for systemet. De høyt positive prøvene hadde Ct-verdier tidligere enn det som ville blitt observert i 95 % av infiserte pasienter i den tiltenkte populasjonen. Krysskontamineringsfrekvensen i denne sjakkbrettstudien ble fastslått å være 0,24 % (1/423). Krysskontamineringsfrekvensene i kliniske miljøer avhenger av andelen høyt positive prøver og sykdomsforekomst. Vanlige kliniske krysskontamineringsfrekvenser forventes å være dramatisk lavere enn det som ble observert i denne studien, og må vurderes i brukerens miljø.

Vurdering av analytisk ytelse

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitiviteten (deteksjonsgrensen eller LOD) for **cobas**® Cdiff-testen ble bestemt ved å analysere kvantifiserte *C. difficile*-kulturer fortynnet til flere konsentrasjonsnivåer i negativ bakgrunn med avføringssuspensjon i **cobas**® PCR Media. Alle nivåer ble testet ved hjelp av **cobas**® Cdiff-testen over 3 unike loter med **cobas**® Cdiff-testreagenser. Minst 21 replikater per reagenslot ble testet ved hvert nivå. LOD for denne testen defineres som målkonsentrasjonen som kan detekteres som positiv i ≥ 95 % av replikatene som ble testet, basert på resultater generert av reagensloten med dårligst ytelse.

De sju *C. difficile*-stammene som ble testet i den analytiske sensitivitetsstudien er angitt i Tabell 3.

Tabell 3 Deteksjonsgrense (LOD) for **cobas**® Cdiff-testen

Stamme-ID	Toksintyp e	REA*- type	PFG†- type	Ribotyp e	Fenotype	LOD (CFU/pensel)	
						Etter posi- tivitetsrate	Etter probit- analyse
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	N/A	N/A	087	A+B+CDT-	113	90
ATCC BAA-1382 (630)	0	R 23	N/A	012	A+B+CDT-	81	83
CDC 204118	III	BI 8	NAP1	027	A+B+CDT +	54	42
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	027	A+B+CDT +	54	54
2748-06	V	N/A	N/A	078	N/A	54	45
ATCC 43598 (1470)	VIII	N/A	N/A	017	A-B+	225	130
F15	XII	N/A	N/A	N/A	N/A	54	59

*Restriksjonsendonukleaseanalyse; †Pulse Field Gel

Deteksjon av *C. difficile*-genotyper

Deteksjonsgrensen (LOD) for **cobas**® Cdiff-testen på 28 toksigene stammer som representerte flere toksintyper, ble verifisert ved testing av 40 replikater per nivå i flere nivåer. Fortynninger og testprøver ble preparert på lignende måte som i deteksjonsgrensestudien beskrevet over. Det laveste nivået som hadde en observert treffrate på minst 95 % er oppsummert i Tabell 4.

Alle de 28 toksigene stammene (Tabell 4) ble påvist positive i ≥ 95 % av replikatene som ble testet ved konsentrasjoner fra 77,9 CFU/pensel til 460 CFU/pensel.

Tabell 4 Sammendrag av resultater for verifisering av toksigen *C. difficile*

Stamme	Toksintype	Ribotype	Kons. (CFU/pensel)	Positivitetsrate
EX 623	I	102	77,9	95,0 %
AC 008	II	103	77,9	95,0 %
SE 844	IIIa	080	234	100,0 %
55767	IV	023	77,9	100,0 %
SE 881	V	045	234	100,0 %
51377	VI	N/A	234	100,0 %
57267	VII	063	77,9	97,5 %
51680	IX	019	77,9	100,0 %
8864	X	036	77,9	97,5 %
R 9367	XIII	070	77,9	97,5 %
R 10870	XIV	111	234	100,0 %
R 9385	XV	122	234	100,0 %
SUC36	XVI	078	234	100,0 %
J9965	XVII	N/A	460	97,5 %
K095	XVIII	014	234	95,0 %
TR13	XIX	N/A	234	97,5 %
TR14	XX	N/A	77,9	100,0 %
CH6223	XXI	N/A	234	100,0 %
CD07-468	XXII	N/A	234	100,0 %
8785	XXIII	N/A	234	95,0 %
597B	XXIV	131	234	97,5 %
7325	XXV	027	234	100,0 %
7459	XXVI	N/A	234	95,0 %
KK2443-2006	XXVII	N/A	234	100,0 %
CD08-070	XXVIII	126	234	97,5 %
CD07-140	XXIX	056	234	97,5 %
ES 130	XXX	N/A	234	100,0 %
WA 151	XXXI	N/A	460	100,0 %

Presisjon

En intern presisjonsstudie ble utført ved hjelp av et panel sammensatt av *C. difficile*-kulturer fortynnet i negativ avføringssuspensjon i **cobas**® PCR Media til konsentrasjonsnivåer under deteksjonsgrensen (LOD), nær LOD og over LOD for **cobas**® Cdiff-testen. Et negativt nivå sammensatt av kun avførings-suspensjon i **cobas**® PCR Media ble også testet. Studien brukte tre unike loter med **cobas**® Cdiff-testreagenser og tre instrumenter for totalt 36 analyseserier over 12 dager. En beskrivelse av presisjons-panelene og studiesammendraget er angitt i Tabell 5. Analyse av varianskomponenter (Tabell 6) tydet på at det meste av variabiliteten for mål-Ct-verdier kan tilskrives faktorer innen serie (tilfeldige) og fra lot til lot (henholdsvis 60,0 % og 25,3 %) for konsentrasjonsnivåer på eller rundt LOD. For konsentrasjonsnivåer over LOD tilskrives det meste av variabiliteten faktorer innen serie (tilfeldige) og fra instrument til instrument (henholdsvis 72,5 % og 24,7 %). Resultatene (Tabell 7) viste at mål-Ct-verdiene hadde samlet CV (%) på 1,5 % for konsentrasjonsnivåer på LOD og 1,1 % for konsentrasjonsnivåer over LOD.

Tabell 5 Intern presisjonsstudie med analyse av positivitetssrate

Panelprøve	N testet	N positiv	Positivitetsrate	95 % CL	
				Nedre	Øvre
Negative	72	0	0,0 %	0,0 %	5,0 %
< 1 x LOD	72	21	29,2 %	19,0 %	41,1 %
~ 1 x LOD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %
~ 3 x LOD	72	72	100,0 %	95,0 %	100,0 %

LOD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Tabell 6 Variansanalyse av ulike komponenter for presisjonspanelprøver

Nivå	Gjennomsnitt	Varianskomponenter / prosentvis bidrag for total					Totalt
		Lot	Instrument	Kitstørrelse	Dag	Tilfeldig	
~ 1 x LOD	38,5	0,0789	0,0189	0,0001	0,0270	0,1875	0,3123
		25,25 %	6,04 %	0,03 %	8,65 %	60,03 %	100,00 %
~ 3 x LOD	37,5	0,0047	0,0404	0,0000	0,0000	0,1188	0,1638
		2,84 %	24,65 %	0,00 %	0,00 %	72,51 %	100,00 %

LOD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Tabell 7 Standardavvik og variasjonskoeffisient (%) – analyser for presisjonspanelprøver

Nivå	Gjennomsnitt	SD-komponenter/CV (%)					Totalt
		Lot	Instrument	Kitstørrelse	Dag	Tilfeldig	
~ 1 x LOD	38,5	0,28	0,14	0,01	0,16	0,43	0,56
		0,73 %	0,36 %	0,03 %	0,43 %	1,12 %	1,45 %
~ 3 x LOD	37,5	0,07	0,20	0,00	0,00	0,34	0,40
		0,18 %	0,54 %	0,00 %	0,00 %	0,92 %	1,08 %

LOD = Limit of Detection = deteksjonsgrense

Analytisk spesifisitet

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

- 1) 103 bakterier, sopp og virus som finnes i avføringsprøver, og én human celle (Tabell 8);
- 2) 28 *Clostridiaceae* genus-organismer, inkludert ikke-toksogene *C. difficile* (* Cytomegalovirus (HHV5) ble tilsatt med $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, humant adenovirus type 40 med $2,2 \times 10^3$ PFU/ml og humant rotavirus med $9,8 \times 10^3$ PFU/ml for testing – Tabell 9).

Alle bakterier og humane celler ble tilsatt med 1×10^6 enheter*/ml, og alle virus ble tilsatt med 1×10^5 enheter*/ml, unntatt cytomegalovirus (HHV5), humant adenovirus type 40 og humant rotavirus, som ble tilsatt med lavere konsentrasjoner pga. begrensninger i stamkonsentrasjonen. Testing ble utført med organismer alene eller med to *C. difficile*-isolater individuelt til stede ved 3 x deteksjonsgrensen (LOD) for **cobas**® Cdiff-testen. Resultatene indikerte at ingen av disse organismene interfererte med deteksjonen av tiltenkte Cdiff-mål. Ingen ga falske positive resultater når det tiltenkte *C. difficile*-målet ikke var til stede.

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

*Bakterier ble kvantifisert som kolonidannende enheter (CFU)/ml, humane celler ble kvantifisert som celler/ml, og virus ble kvantifisert som plakkdannende enheter (PFU)/ml, med unntak av følgende mikroorganismer. *Chlamydia trachomatis* ble kvantifisert som elementærlegemer (EB)/ml. Cytomegalovirus, humant echovirus og humant enterovirus ble kvantifisert som IU/ml.

Tabell 8 Mikroorganismer og humane celler

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i>	<i>Anaerococcus tetradius</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteroides caccae</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>	<i>Cedecea davisae</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> Serovar L2	<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 faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Enterococcus gallinarum</i> vanC
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>
<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Hafnia alvei</i>	<i>HCT-15 humane celler</i>	<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 grimonii</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<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>
<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Ruminococcus bromii</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (f.k.a. <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Choleraesuis</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<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 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)*	Human adenovirus type 40*
Humant coxsackievirus A10	Humant enterovirus 11	Humant enterovirus 71
Humant rotavirus*	Norovirus GII	-

* Cytomegalovirus (HHV5) ble tilsatt med $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, humant adenovirus type 40 med $2,2 \times 10^3$ PFU/ml og humant rotavirus med $9,8 \times 10^3$ PFU/ml for testing.

Tabell 9 Clostridiaceae -organismer, inkludert ikke-toksigene *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> Serogroup B (ikke-toksigent)	<i>Clostridioides difficile</i> Serogroup I (ikke-toksigent)	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (også kalt <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Clostridium tertium</i>
<i>Clostridium tetani</i>	-	-

* Basert på BLAST-program.

Interferens

Tjueseks vanlig brukte legemidler, i tillegg til fett i avføring, fullblod og slim, ble testet for mulige interferenseffekter med **cobas**® Cdiff-testen. Alle substanser ble testet ved nivåer over det som var rimelig å forvente ved prøvetaking med en pensel i en avføringsprøve. Mengden interferenssubstans uttrykkes som konsentrasjon i primær avføringsprøve. To *C. difficile*-isolater ble spiket med 3 x deteksjonsgrense (LOD) for **cobas**® Cdiff-testen og brukt som mål i testene. Ingen interferens ble observert for eksogene substanser. Opptil 28 % fett i avføring viste ingen interferens, opptil 50 % fullblod viste ingen interferens og opptil 25 % slim viste ingen interferens. Disse resultatene er oppsummert i Tabell 10.

Tabell 10 Resultater fra testing av interferenssubstanser

Substans	Konsentrasjon	Resultater
Fekalt fett	4 ~ 28 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Fullblod	25, 50 % (volum/volum)	Ingen interferens
Slim	25, 50 % (vekt/volum)	Ingen interferens opptil 25 % (vekt/volum)
Tums	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Vancomycin	1 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Metronidazol	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Imodium AD®	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Avføringsmykner	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Pepto-Bismol® (Procter & Gamble)	10 % (volum/volum)	Ingen interferens
Nystatin Ointment USP	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Preparation H® med Bio-Dyne®-krem (Wyeth)	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
GYNOL II	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Vagisil®-krem mot kløe	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Anusol® Plus	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Solkrem	1 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Monistat® 7	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Vaseline™	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
SAB-Dimenhydrinate®-stikkpiller (SABEX®)	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Mineralolje	10 % (volum/volum)	Ingen interferens
Tilsvarende naturlig vegetabilsk avføringsmiddel	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Dulcolax®	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Fleet® (CB Fleet Company)	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
K-Y Jelly/Gelée® (McNeil-PPC)	1 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Afrin original nesenspray	10 % (volum/volum)	Ingen interferens
Trollhassel	Væske fra 1 utstryk/penselprøve	Ingen interferens
E-Z-HD™ bariumsulfat med høy tetthet til suspensjon (E-Z-EM Canada)	20 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Palmitinsyre	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Stearinsyre	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens
Aleve	10 % (vekt/volum)	Ingen interferens

Klinisk ytelse ved bruk av kliniske prøver

Ytelsen til **cobas**® Cdiff-testen ble sammenlignet med en FDA-godkjent og CE-merket avansert komparator-NAT, som benytter seg av cytotoksisitetstesting av vevskultur på *C. difficile*-isolater fra direkte kultur som referansemetode. Avføringsprøver innhentet fra 3 sykehus/legekontorer ble testet med **cobas**® Cdiff-testen og komparator-NAT og sendt til et referanselaboratorium for cytotoksisitetstesting av vevskultur.

cobas® Cdiff-testen og den avanserte komparator-NAT-testen ble utført i henhold til produsentens instruksjoner. Cytotoksisitetstesting av vevskulturen ble utført ved hjelp av direkte kultur. Hver avføringsprøve ble inokulert på forredusert cykloserin-cefoksitin-fruktoseagar (CCFA-HT). Mistenkte kolonier ble identifisert som *C. difficile* ved gramfarging, aerob intoleranse og med Pro-Disk-testen, og ble inokulert i anaerob buljong med hakket kjøtt. Supernatantanter innhentet fra anaerob buljong med hakket kjøtt vil deretter bli prosessert for deteksjon av *C. difficile* toksin B ved hjelp av cytotoksisitetstest for vevskultur (*C. DIFFICILE* TOX-B-test, Techlab).

Totalt 1 434 testpersoner deltok fra fem ulike steder. Ett hundre og femtiseks personer ble ekskludert pga. ufullstendige resultater. Det var 152 *C. difficile* positive prøver med direkte kultur (prevalens: 11,9 %). Ytelsen til **cobas**® Cdiff-testen og komparator-NAT mot direkte kultur er angitt i Tabell 11 og Tabell 12.

Tabell 11 **cobas**® Cdiff-test versus direkte kultur

		Direkte kultur		
		Positiv	Negativ	Totalt
cobas ® Cdiff-test	Positiv	147	30	177
	Negativ	5	1 096	1 101
	Totalt	152	1 126	1 278

Sensitivitet og spesifisitet

Sensitivitet og spesifisitet for **cobas**® Cdiff-testen versus direkte kultur er henholdsvis 96,7 % (95 % tosidig konfidensintervall: 92,5–98,6 %) og 97,3 % (95 % tosidig konfidensintervall: 96,2–98,1 %).

Positiv og negativ prediktiv verdi

Observerte positive og negative prediktive verdier for **cobas**® Cdiff-testen for undersøkte prøver er henholdsvis 83,1 % (95 % tosidig konfidensintervall: 76,7–88,3 %) og 99,5 % (95 % tosidig konfidensintervall: 98,9–99,9 %).

Tabell 12 Nukleinsyretest (NAT)-komparator versus direkte kultur

		Direkte kultur		
		Positiv	Negativ	Totalt
NAT-komparator	Positiv	147	29	176
	Negativ	5	1 097	1 102
	Totalt	152	1 126	1 278

Sensitivitet og spesifisitet

Sensitivitet og spesifisitet for NAT-komparatoren versus direkte kultur er henholdsvis 96,7 % (95 % tosidig konfidensintervall: 92,5–98,6 %) og 97,4 % (95 % tosidig konfidensintervall: 96,3–98,2 %).

Korrelasjon med NAT-komparator

Ytelsen til **cobas**® Cdiff-testen i direkte sammenligning med en FDA-godkjent og CE-merket avansert komparator-NAT er angitt i Tabell 13.

Tabell 13 cobas® Cdiff-test versus komparator-NAT

		Komparator-NAT		
		Positiv	Negativ	Totalt
cobas® Cdiff-test	Positiv	167	10	177
	Negativ	9	1 092	1 101
	Totalt	176	1 102	1 278

Positivt og negativt prosentvis samsvar

Positivt og negativt prosentvis samsvar for **cobas**® Cdiff-testen i forhold til NAT-komparatoren er henholdsvis 94,9 % (95 % tosidig konfidensintervall: 90,6–97,3 %) og 99,1 % (95 % tosidig konfidensintervall: 98,3–99,5 %).

Tilleggsinformasjon

Viktigste analysefunksjoner

Prøvetype	Løse avføringsprøver
Mengde nødvendig prøve	4,3 ml cobas ® PCR Media i primærrør, minimum 3 ml kreves for en cobas ® Cdiff-test.
Testvarighet	Resultater er tilgjengelige innen 2,5 timer etter innlasting av prøven på systemet (1–22 prøver).
Analytisk sensitivitet	Fra 54 til 460 CFU/pensel avhengig av isolat.
Spesifisitet	Ingen kryssreaktivitet med 125 nært beslektede organismer eller organismer som normalt finnes i avføringsprøver.
Inklusivitet	Alle kjente <i>C. difficile</i> (toxintyper 0 ~ XXXI, unntatt ikke-toksigene toksintyper XI) inkludert BI/ NAP1/027 hypervirulent epidemisk stamme.

Symboler

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

Tabell 14 Symboler brukt ved merking av Roche PCR-diagnostiske produkter

Age/DOB	Alder eller fødselsdato		Utstyr ikke for pasientnær testing	QS IU/PCR	QS IU per PCR-reaksjon, bruk QS internasjonale enheter (IU) per PCR-reaksjon ved beregning av resultatene.
	Tilleggsprogramvare		Utstyr ikke for selvtesting	SN	Serienummer
Assigned Range [copies/mL]	Angitt område (kopier/mL)		Distributør (Merk: Gjeldende land/region kan være angitt under symbolet.)	Site	Sted
Assigned Range [IU/mL]	Angitt område (IU/mL)		Skal ikke brukes om igjen	Procedure Standard	Standardprosedyre
EC REP	Autorisert representant i EU		Kvinne	STERILE EO	Sterilisert med etylenoksid
	Strekкодedataark		Kun for evaluering av IVD-ytelse		Oppbevares på et mørkt sted
LOT	Lotnummer	GTIN	Globalt handelsnummer		Temperaturbegrensning
	Biologisk risiko		Importør		Testdefinisjonsfil
REF	Katalognummer	IVD	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr		Denne siden opp
	CE-samsvarsmerking; dette utstyret er i samsvar med gjeldende krav til CE-merking av <i>in vitro</i> -diagnostisk medisinsk utstyr	LLR	Nedre grense for akseptområdet	Procedure UltraSensitive	UltraSensitive-prosedyre
Collect Date	Prøvetakingsdato		Mann	UDI	Unik utstyrs-ID
	Vennligst se brukerhjelpen		Produsent	ULR	Øvre grense for akseptområdet
	Inneholder tilstrekkelig til <n> tester	CONTROL -	Negativ kontroll	Urine Fill Line	Fyllestrek for urin
CONTENT	Innhold i kitet		Ikke-steril	Rx Only	Kun USA: Føderal lov begrenser salg eller bestilling av dette utstyret til leger.
CONTROL	Kontroll		Pasientnavn		Utløpsdato
	Produksjonsdato		Pasientnummer		
	Utstyr for pasientnær testing		Riv av her		
	Utstyr for selvtesting	CONTROL +	Positiv kontroll		
		QS copies / PCR	QS-kopier per PCR-reaksjon, bruk QS-kopier per PCR-reaksjon ved beregning av resultater.		

Teknisk support

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

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

Produsent og importør

Tabell 15: Produsent og importør



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

Laget i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany

Varemerker og patenter

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Bibliografi

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, Borrielo SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet*. 1978;1(8073):1063-1066.
3. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med*. 2002;346(5):334-339.
4. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(3):409-415.
5. Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med*. 2005;353(23):2442-2449.
6. Song X, Bartlett JG, Speck K, Naegeli A, Carroll K, Perl TM. Rising economic impact of *clostridium difficile*-associated disease in adult hospitalized patient population. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(9):823-828.
7. Wolfhagen MJ, Torensma R, Fluit AC, Verhoef J. Toxins A and B of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol Rev*. 1994;13(1):59-64.
8. Johnson S, Sambol SP, Brazier JS, et al. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* variants. *J Clin Microbiol*. 2003;41(4):1543-1547.
9. Barbut F, Decré D, Lalande V, et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains. *J Med Microbiol*. 2005;54(Pt 2):181-185.
10. Geric B, Rupnik M, Gerding DN, Grabnar M, Johnson S. Distribution of *Clostridium difficile* variant toxinotypes and strains with binary toxin genes among clinical isolates in an American hospital. *J Med Microbiol*. 2004;53(Pt 9):887-894.
11. Pépin J, Valiquette L, Alary ME, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2004;171(5):466-472.
12. Warny M, Pepin J, Fang A, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet*. 2005;366(9491):1079-1084.
13. Bartlett JG. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. *Ann Intern Med*. 2006;145(10):758-764.
14. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(5):739-750.
15. Peterson LR, Manson RU, Paule SM, et al. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* in stool samples by real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of *C. difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1152-1160.
16. Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. 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.

17. Deshpande A, Pasupuleti V, Rolston DD, et al. 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. Epub 2011/09/06.
18. Kufelnicka AM, Kirn TJ. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. 2011;52(12):1451-1457. Epub 2011/06/02.
19. Tenover FC, Baron EJ, Peterson LR, Pershing DH. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? J Mol Diagn. 2011;13(6):573-582. Epub 2011/08/23.
20. Peterson LR, Mehta MS, Patel PA, Hacek DM, Harazin M, Nagwekar PP, et al. Laboratory testing for *Clostridium difficile* infection: light at the end of the tunnel. Am J Clin Pathol. 2011;136(3):372-380.
21. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*--more difficult than ever. N Engl J Med. 2008;359(18):1932-1940.
22. Monaghan T, Boswell T, Mahida YR. Recent advances in *Clostridium difficile*-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-860.
23. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. Clin Microbiol Infect. 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
24. 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.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevisjon

Informasjon om dokumentrevisjon	
Doc Rev 8.0 02/2024	Lysis Kit 1 fareinformasjonen er oppdatert. Oppdatert cobas ®-merkenavn. Kontakt den lokale representanten fra Roche hvis du har noen spørsmål.
Doc Rev 9.0 06/2024	Oppdatert fareinformasjon om prøveprepareringskits. Fjernet "Rx Only" fra forsiden. Oppdaterte den harmoniserte symbolsiden. Kontakt den lokale representanten fra Roche hvis du har noen spørsmål.
Doc Rev 10.0 07/2024	Oppdatert fareinformasjon om Wash Buffer Kits. Lagt til fotnote som forklarer at produksikkerhetsmerkingen primært følger EUs GHS-retningslinjer. Kontakt den lokale representanten fra Roche hvis du har noen spørsmål.

Sammendraget av sikkerhets- og ytelsesrapporten finner du på følgende lenke: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>