

cobas® Cdiff

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik nükleik asit testi



In vitro diagnostik kullanım içindir

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

İÇİNDEKİLER

Kullanım amacı.....	4
Test özeti ve açıklaması	4
Temel bilgiler: <i>C. difficile</i> 'nin Saptanması.....	4
Testin açıklaması	5
Prosedür prensipleri.....	5
Numunenin hazırlanması	5
PCR amplifikasyonu ve TaqMan® saptaması	5
Selektif amplifikasyon.....	5
Reaktifler ve materyaller	6
cobas® Cdiff reaktifleri ve kontrolleri	6
Reaktif saklama ve kullanma	8
Diğer gerekli materyaller	8
İsteğe bağlı materyal.....	8
Gereken ancak sağlanmayan cihaz ve yazılımlar	8
Önlemler ve taşıma gereklilikleri.....	9
Uyarılar ve önlemler	9
İyi laboratuvar uygulamaları.....	9
Kontaminasyon	9
Bütünlük.....	10
İmha	10
Dökülme ve temizleme	10
Numune alma, taşıma ve saklama.....	10
Numunelerin toplanması.....	10
Numunelerin taşınması, saklanması ve stabilitesi	10
Test prosedürü.....	11
“Add Lot” (Lot Ekleme) iş akışı.....	11
Numune aktarma iş akışı.....	11
cobas® Cdiff iş akışı	11
Kullanım talimatları.....	12
“Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü	12
cobas® PCR Media'ya numune aktarımı	14
Klinik numunelerde cobas® Cdiff uygulama	14
Ek kontrol çalışmaları gerçekleştirme	16

Sonuçlar	17
Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği	17
Pozitif kontrol	17
Negatif kontrol	17
Dahili kontrol	17
Sonuçların yorumlanması	18
Önerilen tekrar test prosedürü	19
Prosedür ile ilgili sınırlamalar	19
Performans değerlendirilmesi	20
Analitik hassasiyet	20
<i>C. difficile</i> genotiplerinin saptanması	20
Kesinlik	21
Analitik özgüllük	22
İnterferans	24
Klinik numuneler kullanılarak klinik performans	26
Kültür ile cobas® Cdiff'in korelasyonu	26
Karşılaştırma yöntemi NAT ile cobas® Cdiff'in korelasyonu	27
Geçersiz oran	27
Hata kodları	28
Ek bilgiler	29
Temel test özellikleri	29
Semboller	30
Teknik destek	31
Üretici ve ithalatçı	31
Ticari markalar ve patentler	31
Telif hakkı	31
Referanslar	32
Belge revizyonu	34

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi, Hasta Yanında Testte, Hastabaşında (POC) ya da klinik laboratuvar ortamında **cobas® Liat®** Sisteminin kullanımı konusunda yetkin sağlık uzmanları veya eğitilmiş kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Kullanım amacı

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi, *Clostridioides difficile*'nin (*C. difficile*) enfeksiyonundan (CDI) şüphelenilen hastalardan alınan şekilsiz (sıvı veya yumuşak) dışkı numunelerinde toksijenik *C. difficile* toksin B (*tcdB*) geninin saptanması için gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonunu (PCR) kullanan otomatik, kalitatif bir *in vitro* tanı testidir. **cobas® Liat®** Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi, klinik ve epidemiyolojik risk faktörleri ile birlikte insanlarda CDI tanısında yardımcı olarak kullanılmak üzere tasarlanmıştır.

Test özeti ve açıklaması

Temel bilgiler: *C. difficile*'nin Saptanması

Clostridioides difficile (*C. difficile*), 1970'lerin sonlarında antibiyotikle ilişkili diyare ve psödomembranöz kolitin etiyolojik ajanı olarak tanımlanan gram pozitif, anaerobik, spor oluşturan bir basildir.^{1,2} *C. difficile*, en yaygın raporlanan nozokomiyal patojendir³ ve antibiyotikle ilişkili diyare vakalarının %15 ila %20'sinden ve antibiyotikle ilişkili psödomembranöz kolit vakalarının neredeyse tamamından sorumlu olduğuna inanılmaktadır.⁴ *C. difficile* enfeksiyonunun (CDI) insidansı, yirmi yıldan kısa sürede dört katına çıkmıştır⁵ ve şiddetli hastalık ve mortalite ile ilişkilidir.³ İnsidanstaki artışlar, kısmen BI/027/Kuzey Amerika pulsotipi 1 (NAP1) ribotipi gibi hipervirülen suşların ortaya çıkması ile ilişkilendirilmiştir. Yakın zamanda antibiyotik kullanan yaşlı ve hastanede yatan hastalar CDI için en büyük risk altında olan popülasyonlardır, ancak CDI sıklığı hastane ortamı dışında da artmaktadır.^{3,6}

Enfeksiyonlar, sporlar yoluyla bulaşır ve toksijenik *C. difficile* ile kolonizasyonu takiben bireyler asemptomatik taşıyıcılar olabilirler veya kolon hastalığı geliştirebilirler. CDI'nin klinik özellikleri hafif diyare ile karın ağrısı, profüz diyare ve ateş, anoreksi, bulantı ve malazi gibi sistemik semptomlarla karakterize edilen hayatı tehdit eden psödomembranöz kolit aralığında değişebilir. CDI insidansı ve şiddetindeki dramatik artışa rağmen, metronidazol veya vankomisin, akut ataklar ve tekrarlayan enfeksiyon için tercih edilen tıbbi tedavi olmaya devam etmektedir.⁷

CDI tanısı genellikle dışkı numunelerinde toksin varlığı ile belirlenir. *C. difficile*'nin çoğu toksijenik suşu tipik olarak iki protein ekzotoksini üretir: toksin A ve toksin B.⁸ Toksik suşların küçük bir oranı yalnızca toksin B üretebilir.⁹ Toksin B'nin bir hücre katmanı üzerindeki gösterdiği sitopatik etkinin ortaua konması, geleneksel "altın standarttır".^{10,11} Dışkının üst fazı, tek bir hücre katmanı üzerinde doğrudan inkübe edilebilir; alternatif olarak, dışkıdan elde edilen *C. difficile* izolatlarının, tek hücre katmanı üzerinde üst fazın inkübe edilmesinden önce zenginleştirme sıvı besiyerinde kültürü yapılabilir (toksik kültür). Her iki teknik de nihai test sonucunun elde edilmesi için en az 48 ila 72 saat gerektirir.

Yukarıda açıklanan prosedürle ilgili karmaşıklık ve sonuç elde etme süresinin daha uzun olması nedeniyle dışkı kültürü büyük ölçüde yapılmaz ve tanı, genellikle enzim immünokimya testleri (EIA) veya DNA bazlı testlerle konur.^{3,12} Toksin saptanması için yapılan immünokimya testleri, 4 saatten daha kısa sürede pozitif sonuç verebildikleri için yaygın olarak kullanılmaktadır, ancak hassasiyetleri kültür yöntemine kıyasla daha düşüktür.^{12,13} Aksine, polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) ile *C. difficile* toksin geni saptanmasının, kültür ve immünokimya testlerden daha yüksek hassasiyete ve daha kısa sonuç elde etme süresine sahip olduğu raporlanmıştır.^{3,14-17}

Enfeksiyon kontrol önlemleri antimikrobiklerin dikkatli kullanımını, çapraz enfeksiyonun önlenmesini ve vakaların aktif gözetimi içerir.¹⁸ Dolayısıyla, *C. difficile*'nin yüksek hassasiyetli ve hızlı bir şekilde otomatik olarak saptanmasına çok

ihtiyaç vardır. Moleküler yöntemler, saptama süresini önemli ölçüde kısaltma potansiyeli sunar, böylece antimikrobik tedavinin hızlı bir şekilde başlatılmasını ve enfeksiyon kontrol önlemlerinin hızlı bir şekilde uygulanmasını sağlar.¹⁴⁻¹⁶

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi, CDI şüphesi olan hastalardan elde edilen şekilsiz dışkı numunelerinde *C. difficile* toksin B geninin saptanması için hızlı bir moleküler test olarak tasarlanmıştır.

Testin açıklaması

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi (bundan sonra “**cobas® Cdiff**” olarak anılacaktır), numunenin hazırlanmasını, PCR amplifikasyonunu ve **cobas® Liat®** Analizöründe hedef DNA sekanslarının gerçek zamanlı olarak saptanmasını tam otomatik hale getiren hızlı bir testtir. **cobas® Cdiff**, nükleik asit saflaştırma ve PCR reaktifleri ile birlikte bir Dahili Kontrol (*Bacillus thuringiensis israelensis* veya Bti) içeren tek kullanımlık **cobas® Cdiff** test tüpünden oluşmaktadır. Numune hazırlama ve PCR prosesi **cobas® Cdiff** test tüpünde gerçekleşir. **cobas® Cdiff** test tüpü bağımsız olduğu için numuneler arasında çapraz kontaminasyon riski daha düşüktür.

Prosedür prensipleri

Numunenin hazırlanması

Dışkı numunesindeki organizmalar, bir kaotropik ajan ve proteinaz K ile parçalanır. Bti Dahili Kontrol DNA'sı dahil olmak üzere serbest kalan nükleik asitler, manyetik cam partiküllere bağlanır. Partiküller yıkanır, bağlı nükleik asitler küçük hacimli bir tampon içinde elüte edilir ve daha sonra PCR reaksiyonu için Ana Karışım ve aktive edici kofaktör ile karıştırılır.

PCR amplifikasyonu ve TaqMan® saptaması

Ana Karışım reaktifi, *C. difficile* toksin B ve Dahili Kontrol için primer çiftleri ve problemler içerir. Hedef nükleik asit sekansları varsa, karşılık gelen primerlerle amplifikasyon, PCR ürünlerinin (amplikonlar) üretilmesiyle sonuçlanacak şekilde termostabil DNA polimeraz yoluyla gerçekleştirilir. Bu ürünler, bir floresan haberci boya ve bir söndürücü içeren spesifik TaqMan® problemleri ile saptanır. Normalde söndürücü, haberci boyanın floresanını baskılar. Bununla birlikte PCR ürünü mevcutsa, prob ürüne hibridize olur ve polimerazın 5' - ila 3' -nükleaz aktivitesi ile klevajlanır, böylece haberci boya ve söndürücü ayrılır. Bu reaksiyon, haberci boyadan floresan yayılmasına izin verir ve sinyal, **cobas® Liat®** Analizörü tarafından her PCR döngüsünde gerçek zamanlı olarak kaydedilir. Bu sinyal, **cobas® Liat®** Sistem Yazılımı tarafından yorumlanır ve nihai sonuçlar olarak raporlanır.

Selektif amplifikasyon

Numuneden gelen hedef nükleik asidin selektif amplifikasyonu **cobas® Cdiff** test'te, AmpErase (urasil-N-glikozilaz) enzimi ve deoksiüridin trifosfat (dUTP) kullanılarak gerçekleştirilir. AmpErase enzimi, deoksitimidin içeren DNA zincirlerini değil deoksiüridin¹⁹ içeren DNA zincirlerini tanır ve bunların yıkımını katalize eder. Deoksiüridin doğal oluşumlu DNA'da yoktur ancak Master Mix reaktifinde dNTP'lerden biri olarak timidin trifosfatın yerine deoksiüridin trifosfat kullanıldığı için amplikon DNA'da her zaman mevcuttur; bu nedenle sadece amplikon, deoksiüridin içerir. Deoksiüridin, kontamine edici amplikonu, hedef DNA'nın amplifiye edilmesi öncesinde AmpErase enzimiyle yıkılmaya maruz bırakır. Master Mix reaktifinde yer alan AmpErase enzimi, C1-konumunda deoksiriboz zincirini açarak deoksiüridin kalıntılarındaki deoksiüridin içeren DNA'nın bölünmesini katalizler. Master Mix'in alkalik pH seviyesinde birinci ısı döngüsü adımında ısıtıldığında, amplikon DNA zinciri deoksiüridin konumunda kırılır, böylece DNA amplifiye edilemez duruma gelir. AmpErase enzimi, 55°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda yani ısı çevrim aşamalarının tümünde inaktiftir ve böylece hedef amplikonu yıkmaz. **cobas® Cdiff**'nin, PCR başına en az 1000 kopya deoksiüridin içeren *C. difficile* amplikonunu inaktive edebildiği gösterilmiştir.

Reaktifler ve materyaller

cobas® Cdiff reaktifleri ve kontrolleri

Tablo 1: cobas® Cdiff

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Nükleik asit testi		
2-8°C'de saklayın 20 test (P/N 07454945190) 2 cobas® Liat® Aktarma Pipeti Paketi (P/N 09329676001)		
cobas® Cdiff Test Tüpündeki Reaktifler	Reaktif içeriği	Güvenlik sembolü ve uyarı ^a
cobas® Liat® Cdiff Dahili Kontrol	PBS Tween-80 %0,01 ProClin® 300 koruyucu Gliserol EDTA < %1 Bti stoku (inaktive)	 TEHLİKE H302 + H332: Yutulduğunda veya solunduğunda zararlıdır. H314: Ciddi cilt yanıklarına ve göz hasarına yol açar. H317: Alerjik cilt reaksiyonlarına yol açar. H334: Solunması halinde nefes alma zorlukları, astım nöbetleri veya alerjiye yol açabilir. H411: Sucul ortamda uzun süre kalıcı, toksik etki. P261: Tozunu/dumanını/gazını/sisini/buharını/spreyini solumaktan kaçının. P273: Çevreye verilmesinden kaçının. P280: Koruyucu eldiven/koruyucu kıyafet/göz koruyucu/yüz koruyucu kullanın. P303 + P361 + P353: DERİ (veya saç) İLE TEMAS HALİNDE İSE: Kirlenmiş tüm giysilerinizi hemen kaldırın/çıkarın. Cildinizi su ile durulayın. P304 + P340 + P310: SOLUNDUĞUNDA: Zarar gören kişiyi temiz havaya çıkartın ve kolay biçimde nefes alması için rahat bir pozisyonda tutun. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P305 + P351 + P338 + P310: GÖZ İLE TEMASI HALİNDE: Su ile birkaç dakika dikkatlice durulayın. Takılı ve yapması kolaysa, kontak lensleri çıkartın. Durulamaya devam edin. Hemen ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P342 + P311: Solunumla bulguları gösterirse: ULUSAL ZEHİR DANIŞMA MERKEZİNİN 114 NOLU TELEFONUNU veya doktoru. P391: Döküntüleri toplayın. EUH032: Asitlerle temasında çok toksik gaz çıkarır. EUH210: Talep halinde güvenlik bilgi formu sağlanabilir. EUH208: Aşağıdakilerin Karışımını içerir: 5-kloro-2-metil-4-izotiyazolin-3-on ve 2-metil-2H-izotiyazol-3-on (3:1). Alerjik reaksiyonlara yol açabilir. 26172-54-3 2-metil-2H-izotiyazol-3-on hidroklorür 593-84-0 Guanidinyum tiyosiyanat 9002-92-0 Polidokanol 39450-01-6 Proteinaz, <i>Tritirachium album</i> serin
cobas® Liat® Proteinaz K	Tris tamponu EDTA Kalsiyum klorür Kalsiyum asetat < %2,0 proteinaz K ^b Gliserin	
cobas® Liat® Magnetic Glass Particles	Manyetik cam partiküller Su	
cobas® Liat® Lysis Buffer	Sodyum sitrat %3 polidokanol ^b %42,6 guanidinyum tiyosiyanat ^b Ditiyotireitol	
cobas® Liat® Wash Buffer	Sodyum sitrat dihidrat %0,05 N-metilizotiyazolon HCl	
cobas® Liat® Elution Buffer-1	Rekombinant İnsan Serum Albümini Tris-HCl tamponu %0,09 sodyum azit	

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Nükleik asit testi

2–8°C'de saklayın

20 test (P/N 07454945190)

2 cobas® Liat® Aktarma Pipeti Paketi (P/N 09329676001)

cobas® Cdiff Test Tüpündeki Reaktifler	Reaktif içeriği	Güvenlik sembolü ve uyarı^a
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-1	Trisin tamponu EDTA DMSO Potasyum asetat Potasyum hidroksit < %0,01 yukarı yönlü ve aşağı yönlü <i>C. difficile</i> ve Dahili Kontrol primerleri < %0,01 floresan etiketli <i>C. difficile</i> ve Dahili Kontrol problemleri %0,09 sodyum azit	
cobas® Liat® Cdiff Master Mix-2	DMSO Tween 20 < %0,19 dATP, dCTP, dGTP, dUTP < %0,01 oligonükleotid aptamer < %0,01 Z05 DNA polimeraz (mikrobik) < %0,02 AmpErase (ürasil-N-glikozilaz) enzimi (mikrobik) %0,09 sodyum azit	
cobas® Liat® Cdiff Cofactor	Manganez asetat Magnezyum asetat Amerika Birleşik Devletleri kaynaklı sığır plazmasından sığır serum albümini %0,09 sodyum azit	

^a Ürün güvenlik etiketi öncelikli olarak AB GHS kılavuzlarına tabidir.^b Tehlikeli madde veya karışım**Tablo 2: cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Pozitif ve Negatif Kontrol Kiti**

cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Pozitif ve Negatif Kontrol Kiti			
15–30°C'de saklayın 5 set (P/N 07454970190)			
Kit bileşenleri	Reaktif içeriği	Kit başına miktar	Güvenlik sembolü ve uyarı
Cdiff (+) C (cobas® Liat® Cdiff Pozitif Kontrol)	Tris tamponu EDTA < %0,01 Poly rA RNA (sentetik) %0,05 sodyum azit < %0,01 <i>C. difficile</i> sekansı içeren bulaşıcı olmayan plazmid DNA (mikrobik)	5 flakon	Yok
BUF (–) C (cobas® Liat® Negatif Kontrol)	Tris tamponu EDTA %0,05 sodyum azit < %0,01 Poly rA RNA (sentetik)	5 flakon	Yok

Reaktif saklama ve kullanma

Tablo 3: Reaktif saklama ve kullanma

Reaktif	Saklama sıcaklığı	Saklama süresi
cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Nükleik asit testi	2–8°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir
cobas® Liat® Sisteminde kullanıma yönelik cobas® Cdiff Pozitif ve Negatif Kontrol Kiti	15–30°C	Belirtilen son kullanma tarihine kadar stabildir

Not: Reaktifleri dondurmayın.

Operatör testi gerçekleştirmek için hazır olana kadar hiçbir test tüpü ambalajını açmayın.

cobas® Liat® Aktarma Pipeti Paketi, **cobas®** Cdiff test tüpü kitinden ilk kez çıkarıldıktan sonra oda sıcaklığında saklanabilir. **cobas®** Liat® aktarma pipeti paketinden aktarma pipetlerini çıkarırken temiz eldivenler kullanıldığından emin olun. Gerekli pipetleri çıkardıktan hemen sonra **cobas®** Liat® aktarma pipeti paketini tekrar kapatın.

Reaktifin son kullanma tarihi, Koordineli Evrensel Saate (UTC) dayanır. Reaktifin son kullanma tarihi için yerel saat, UTC'ye göre yerel saat dilimine bağlı olarak artı veya eksi 12 saat ile dengelenebilir.

Diğer gerekli materyaller

Tablo 4: Diğer gerekli materyaller

Materyaller	P/N
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Tek kullanımlık eldivenler, pudrasız	Pudrasız tek kullanımlık eldivenler kabul edilebilir.

Ayrı satılan materyallerle ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

İsteğe bağlı materyal

Tablo 5: İsteğe bağlı materyal

Materyal	P/N
cobas® PCR Replacement Cap Kit	07958056190

İsteğe bağlı materyalle ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Gereken ancak sağlanmayan cihaz ve yazılımlar

Tablo 6: Gereken ancak sağlanmayan cihaz ve yazılımlar

Gerekli cihaz ve yazılımlar, sağlanmamıştır
cobas® Liat® analizörü (P/N 07341920190)
• cobas® Liat® Sistem Yazılımı (Ana) Sürüm 3.3.0 veya üzeri dahil
cobas® Cdiff Script v1.1 veya üzeri

Gerekli olan cihazlar ve yazılımlarla ilgili daha fazla bilgi için, lütfen yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Önlemler ve taşıma gereklilikleri

Uyarılar ve önlemler

Herhangi bir test prosedüründe olduğu gibi, bu testin iyi performans sağlaması için iyi laboratuvar uygulamaları esastır. Bu testin analitik hassasiyetinin yüksek olması nedeniyle, reaktifleri, numuneleri ve amplifikasyon karışımlarını kontaminasyondan korumaya dikkat edilmelidir.

- Sadece *in vitro* diagnostik kullanım içindir.
- **cobas® Liat®** Sisteminde kullanıma yönelik **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi, hastabaşında (POC) ya da klinik laboratuvar ortamında **cobas® Liat®** Sisteminin kullanımı konusunda yetkin sağlık uzmanları veya eğitilmiş kullanıcılar tarafından kullanılmak üzere tasarlanmıştır.
- Reaktiflerin ve numunelerin mikrobik ve DNA kontaminasyonunu önleyin.
- Reaktiflerde ve pipetlerde kontaminasyondan kaçınmak için **cobas® Liat®** Aktarma Pipeti Paketinden aktarma pipetini çıkarmadan önce ve her numune veya kontrol kullanımından sonra tek kullanımlık eldivenleri değiştirin.
- Güvenlik Bilgi Formları (SDS) talep halinde bölge Roche temsilcinizden temin edilebilir.
- **cobas® Liat®** Lysis Buffer (LYS reaktifi), guanidin tiyosiyanat içerir. Guanidin tiyosiyanat ve sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) ya da asitler veya bazlar gibi yüksek oranda reaktif diğer ajanlar arasında doğrudan teması izin vermeyin. Bu karışımlar zehirli gaz salabilir.
- **cobas® Liat®** Elution Buffer-1 (EB), **cobas® Liat® Cdiff** Master Mix-1 (Cdiff MMX-1), **cobas® Liat® Cdiff** Master Mix-2 (Cdiff MMX-2), **cobas® Liat® Cdiff** Cofactor (Cofactor), BUF (-) C ve Cdiff (+) C sodyum azid içerir.
- **cobas® Liat®** Analizörüne ilişkin kontaminasyon riskini azaltmaya yönelik ek uyarılar, önlemler ve prosedürler için güncel **cobas® Liat®** Sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın.
- AB'de: Bu testi kullanırken meydana gelebilecek tüm ciddi olayları yerel yetkili makama bildirin.

İyi laboratuvar uygulamaları

- Ağzınızla pipetleme yapmayın.
- Çalışma ortamlarında yiyecek veya içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin.
- Numunelerle ve kit reaktifleriyle işlem yaptıktan sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- Reaktiflerle işlem yaparken kurumsal politikaya göre gözlük, laboratuvar önlüğü ve tek kullanımlık eldiven kullanın. Bu materyallerin cildinize, gözlerinize veya mukoza membranlarına temas etmesinden kaçın. Temas etmeniz durumunda, vakit kaybetmeden bol miktarda suyla yıkayın. Tedavi edilmezse yanıklar oluşabilir. Dökülme meydana gelirse, silmeden önce suyla seyreltin.
- AmpErase enziminin **cobas® Liat® Cdiff** Master Mix'e eklenmesi, hedef DNA'nın selektif amplifikasyonunu sağlar; ancak iyi laboratuvar uygulamaları ve bu Kullanım Talimatları belgesinde belirtilen prosedürlere tam uyum, reaktiflerde ve amplifikasyon karışımlarında kontaminasyonu önlemek için gereklidir.
- Distile veya deiyonize suya %0,5 oranında sodyum hipoklorit ekleyerek taze hazırlayacağınız çözeltiyle laboratuvardaki tüm çalışma yüzeylerini iyice temizleyin ve dezenfekte edin (ev temizliği için kullanılan çamaşır suyunu 1:10 oranında seyreltin). Bunun ardından %70 etanol içeren çözeltiyle yüzeyi silin.

Kontaminasyon

- Kontaminasyonu önlemek için tek kullanımlık eldiven kullanılmalıdır ve **cobas® Liat®** aktarma pipeti paketinden **cobas® Liat®** aktarma pipetini çıkarmadan önce, farklı numunelerle ve **cobas® Cdiff** test tüpü veya Kontrol flakonlarıyla işlem yaptıktan sonra tek kullanımlık eldivenler değiştirilmelidir. Numunelerle ve kontrollerle işlem yaparken kontamine edici eldiven kullanmaktan kaçın. Numuneleri ve kit reaktiflerini kullanırken laboratuvar eldiveni, laboratuvar önlüğü ve göz koruması kullanın.

- Reaktiflerin mikrobik ve ribonükleaz kontaminasyonundan kaçının.
- Numunelerin kullanılması sırasında numune taşınması önlenmezse yanlış pozitif sonuçlar meydana gelebilir.
- Numuneler, Mikrobiyoloji ve Biyomedikal Laboratuvarlarında Biyogüvenlik (*Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*)²⁰ ve CLSI Belgesi M29-A4'te²¹ tanımlanan iyi laboratuvar uygulamaları kullanılarak enfeksiyöz madde gibi değerlendirilmelidir.

Bütünlük

- Kitleri son kullanma tarihi geçmişse kullanmayın.
- Reaktifleri birleştirmeyin.
- Hasarlı bir **cobas® Cdiff** test tüpünü veya folyo poşetinden çıkarıldıktan sonra düşürülmüş bir **cobas® Cdiff** test tüpünü kullanmayın.
- **cobas® Cdiff** test tüplerini tekrar kullanmayın. **cobas® Cdiff** test tüpü manşonun içinde değilse veya tüp numune bölmesi zaten sıvı içeriyorsa tüpü KULLANMAYIN.
- Tüm ekipmanların bakımı üreticinin talimatlarına göre doğru bir şekilde gerçekleştirilmelidir.
- Tüm reaktif kitleri uygun şekilde saklanmalıdır. Bkz. Tablo 3.

İmha

- **cobas® Cdiff** test tüpü, merkeze özgü Çevre Sağlığı ve Güvenliği standartlarında belirtilen şekilde uygun biyolojik tehlikeli atık kabına atılmalıdır.
- **cobas® Cdiff** reaktifleri ve kontrolleri sodyum azid içerir (bkz. "Uyarılar ve önlemler"). Sodyum azit, bakır ve kurşun su borularıyla reaksiyona girerek yüksek patlayıcı özelliğe sahip metal azitler oluşturabilir. Laboratuvardaki lavabolarda çözeltileri içeren sodyum azit atılırken, azit birikimini önlemek için bol miktarda soğuk su akıtarak giderleri temizleyin.
- Kullanılmayan test tüpünü ve atıkları ülke genelindeki, federal, eyalet düzeyindeki ve yerel düzenlemelere göre atın.

Dökülme ve temizleme

- **cobas® Liat®** Analizöründe dökülme meydana gelirse, temizlemek için **cobas® Liat®** Sistemi Kullanıcı Kılavuzundaki ilgili talimatları takip edin.

Numune alma, taşıma ve saklama

Tüm numuneleri bulaşıcı madde yayma potansiyeli olduğunu varsayarak kullanın.

Numunelerin toplanması

cobas® Cdiff, yalnızca **kısmen şekilli veya şekilsiz dışkı numuneleriyle** kullanılmalıdır. Bu, kabın şeklini alan dışkı numunesi olarak tanımlanır. Dışkı numunesini kurumunuzun standart çalışma prosedürlerini izleyerek temiz, kuru ve kullanılmamış bir kapta toplayın.

Numunelerin taşınması, saklanması ve stabilitesi

Şekilsiz dışkı numuneleri, **cobas® PCR Media**'ya aktarılmadan ve **cobas® Liat®** Sisteminde test edilmeden önce oda sıcaklığında (2–30°C) 2 gün veya 2–8°C'de 9 gün stabildir (bu, 2 gün boyunca 30±1°C'de, ardından 7 gün boyunca 2–8°C'de ardışık saklamadan sonra numunelerin test edilmesiyle gösterilmiştir).

cobas® PCR Media'da yeniden süspansiyon edilen dışkı numunesi, **cobas® Liat®** Sisteminde test edilmeden önce 7 gün boyunca 2–30°C'de stabildir.

C. difficile numunelerinin taşınması, etiyolojik ajanların taşınmasıyla ilgili ülke genelindeki, federal, eyalet düzeyindeki ve yerel düzenlemelere uygun olmalıdır.

Test prosedürü

“Add Lot” (Lot Ekleme) iş akışı

Şekil 1: “Add Lot” (Lot Ekleme) iş akışı

1	Sistemi başlatın ve oturum açın
2	Kontrolleri, test tüplerini ve aktarma pipetlerini saklama alanından çıkarın
3	“Assay” (Test) menüsünden “New Lot” (Yeni Lot) seçeneğini belirleyin
4	Prospektüs ID Barkod kartındaki barkodu tarayın
5	Negatif Kontrolü tarayın ve çalıştırın
6	Pozitif Kontrolü tarayın ve çalıştırın

Numune aktarma iş akışı

Şekil 2: Numune aktarma iş akışı

1	Sürüntü çubuğunu dışkı numunesine daldırın
2	İnoküle edilmiş sürüntü çubuğunu cobas® PCR Media Tüpüne yerleştirin
3	Sürüntü çubuğunun şaftını gri çentikten kırın
4	Tüpün kapağını kapatın ve en az 5 kere döndürün

cobas® Cdiff iş akışı

Şekil 3: **cobas®** Cdiff iş akışı

1	Sistemi başlatın ve oturum açın
2	Numuneleri, test tüplerini ve aktarma pipetlerini saklama alanından çıkarın
3	Ana Menüde “Run Assay” (Testi Çalıştır) seçeneğini belirleyin
4	cobas® Cdiff test tüpü barkodunu tarayın
5	Numune ID numarasını tarayın ya da girin
6	Aktarma pipeti kullanarak cobas® Cdiff test tüpüne numune ekleyin ve tüpün kapağını kapatın
7	cobas® Cdiff test tüpü barkodunu tekrar tarayın
8	cobas® Cdiff test tüpünü yerleştirerek çalışmayı başlatın
9	Sonuçları gözden geçirin*
10	Kullanılmış cobas® Cdiff test tüpünü boşaltın ve imha edin

* Sonuçların Veri Yönetim Sistemi ve LIS'e yüklenmesiyle ilgili ayrıntılar için güncel **cobas®** Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

Kullanım talimatları

“Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü

cobas® Cdiff test tüplerinin yeni bir lotu kullanılmadan önce, **cobas® Cdiff** test tüpü lotunun merkezinizde valide edilmesi için **cobas® Liat®** Analizöründe Add Lot (Lot Ekleme) prosedürü gerçekleştirilmelidir. Prosedür, bir Negatif Kontrol numunesi ve bir Cdiff Pozitif Kontrol numunesi çalıştırılmasını içerir.

“Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü için gerekli olan materyaller

- **cobas® Liat®** Sisteminde kullanıma yönelik yeni **cobas® Cdiff** Nükleik asit testi lotu (iki test tüpü)
- **cobas® Liat®** Aktarma Pipeti Paketinden 2 aktarma pipeti
- **cobas® Cdiff** test tüplerinin yeni lotu için Prospektüs ID Barkod kartı
- **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol
- **cobas® Liat®** Negatif Kontrol
- **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol ve **cobas® Liat®** Negatif Kontrol için barkod kartı

Not: *Ayrıntılı çalışma talimatları için cobas® Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzu'na bakın.*

Prosedür

1. **cobas® Liat®** analizörünü başlatmak için güç açma/kapatma düğmesine basın.
2. **cobas® Liat®** Analizörün ekranında **Login** (Oturum Aç) ögesini seçin.
3. İstendiğinde kullanıcı adını girin, **Enter** (Gir) ögesini seçin.
4. İstendiğinde kullanıcı parolasını girin, **Enter** (Gir) ögesini seçin.

Not: *Kullanıcı Kılavuzunu (yani cobas® Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzu) okuduğunuzu onaylamanız istenebilir.*

5. **cobas® Liat®** Analizörün ana menüsünde **Assay Menu** (Test Menüsü) ögesini seçin.
6. Listenin altında **New Lot** (Yeni Lot) ögesini seçin.
7. **Scan the Insert ID** (Prospektüs ID'sini tarayın) talimatı verildiğinde, **Scan** (Tara) ögesini seçerek **cobas® Cdiff** Prospektüs ID Barkod kartını tarayın. Kırmızı tarama ışığının tüm barkodun üzerini kapladığından emin olun.

Not: *Prospektüsü veya Kullanım Talimatlarını okuduğunuzu onaylamanız istenebilir.*

8. **Scan Negative Control ID** (Negatif Kontrol ID'sini tarayın) talimatı verildiğinde, **Scan** (Tara) ögesini seçerek kontrol kiti ile birlikte temin edilen Negatif Kontrol Barkod kartını tarayın. Kırmızı tarama ışığının tüm barkodun üzerini kapladığından emin olun. Ardından, **cobas® Liat®** Analizörü, **Add negative control & scan tube ID** (Negatif kontrol ekleyin ve tüp ID'sini tarayın) mesajını gösterecektir.
9. **cobas® Liat®** Negatif Kontrol tüpünü dik şekilde tutun ve sıvıyı tüpün dibinde toplamak için tüple düz bir yüzeye hafifçe vurun.
10. **cobas® Cdiff** test tüpünün folyo poşetini açın (eklenecek olan lottan) ve test tüpünü çıkarın.
11. **cobas® Liat®** Negatif Kontrolü **cobas® Cdiff** test tüpüne eklemek için **cobas® Liat®** Aktarma Pipeti Paketinden bir aktarma pipeti kullanın. Pipet haznesini, hazne tamamen düz olana kadar sıkın, ardından pipetin ucunu sıvıya yerleştirin ve hazneyi yavaşça serbest bırakarak numuneyi çekin.

Not: *Kontrolleri ve numuneleri cobas® Cdiff test tüpüne aktarmak için yalnızca cobas® Liat® Aktarma Pipeti Paketinde temin edilen aktarma pipetini kullanın.*

12. **cobas® Cdiff** test tüpünün kapağını dikkatli şekilde çıkarın ve pipeti ağız kısmına yerleştirin. Pipeti, açık segmentin alt kısmının yanına yerleştirin.

13. Pipetin içindekileri **cobas® Cdiff** test tüpüne boşaltmak için hazneyi yavaşça sıkın. Numunenin içinde kabarcıkların oluşmasını önleyin. Pipet hala **cobas® Cdiff** test tüpünün içindeyken pipet haznesini serbest bırakmayın.

Not: *cobas® Cdiff test tüpünü veya numune kompartımanının altındaki sızdırmazlığı delmeyin. Bunlardan biri zarar görürse, hem cobas® Cdiff test tüpünü hem de aktarma pipetini atın ve yeni bir cobas® Cdiff test tüpü ve pipet ile test prosedürüne tekrar başlayın.*

14. **cobas® Cdiff** test tüpünün kapağını geri takın. Aktarma pipetini atın.

15. **Scan** (Tara) ögesini seçin ve **cobas® Cdiff** test tüpünü, barkod okuyucusunun altına, kırmızı tarama ışığı tüm barkodu kapsayacak şekilde masanın üzerine yatay olarak yerleştirin. Barkod okunduğunda, **cobas® Liat®** Analizörün üstündeki test tüpü giriş kapağı otomatik olarak açılacaktır.

16. **cobas® Cdiff** test tüpünün manşonunu çıkarın ve hemen **cobas® Cdiff** test tüpünü, tüp klik sesi ile yerine oturacak şekilde **cobas® Liat®** Analizörün içine yerleştirin.

Not: *cobas® Cdiff test tüpü yalnızca tek yönde yerine oturur cobas® Cdiff test tüpünün oluklu kısmı, kapak takılı haldeyken solda olmalıdır.*

17. Kapı kapatıldığında test tüpü yerleştirilmiş olmazsa, **cobas® Cdiff** test tüpünün barkodunu tekrar tarayın ve **cobas® Cdiff** test tüpünü tekrar yerleştirin. **cobas® Cdiff** test tüpü doğru şekilde yerleştirildiğinde, **cobas® Liat®** Analizör kapıyı otomatik olarak kapatacak ve testi başlatacaktır.

18. Test sırasında, **cobas® Liat®** Analizör, çalışma durumunu ve kalan tahmini süreyi gösterir. Test tamamlandığında **Negative control result accepted** (Negatif kontrol sonucu kabul edildi) görüntülenirse **Confirm** (Onayla) ögesini seçin. Sonuç reddedilirse, negatif kontrol çalıştırmasını tekrarlayın (adım 8–18). Tekrarlanan kontrol çalışması beklenen sonuçları vermezse yerel Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

19. Test tamamlandığında, **cobas® Liat®** Analizörü **Remove the assay tube slowly and carefully** (Test tüpünü yavaşça ve dikkatli bir şekilde çıkarın) mesajını görüntüler ve otomatik olarak test tüpü giriş kapağını açar. **cobas® Cdiff** test tüpünü yavaşça **cobas® Liat®** Analizörden kaldırın. Kullanılmış **cobas® Cdiff** test tüpünü, biyolojik tehlikeli atık kabına atın.

20. Aynı cihazda **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol testine devam etmek için **Back** (Geri) ögesini seçin.

21. Benzer şekilde, **cobas® Liat®** Negatif Kontrol yerine **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol ile 8 ila 17 arasındaki adımları izleyin.

22. Çalışma sonunda **“Positive control result accepted. Lot ... added”** (Pozitif kontrol sonucu kabul edildi. Lot ... eklendi) mesajı görüntülenirse **Confirm** (Onayla) ögesini seçin ve ardından ana menüye dönmek için **Back** (Geri) ögesini seçin. Sonuç reddedilirse **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol testini tekrarlayın. Tekrarlanan kontrol çalışması beklenen sonuçları vermezse yerel Roche temsilciniz ile iletişime geçin.

23. Adım 19'u tekrarlayın.

24. Yeni lotun eklendiğini doğrulamak için **Assay Menu** (Test Menüsü) ögesini seçin.

Bir analizörde “Add Lot” (Lot Ekleme) işlemi tamamlandıktan sonra, lot bilgilerini merkezinizdeki diğer analizörlere aktarmak için bir USB bellek kullanarak **cobas®** Liat Analizöründeki Tools (Araçlar) Menüsünü kullanın. Bu sayede, her bir analizörde Add Lot (Lot Ekleme) işlemi yapılmasına gerek duyulmadan diğer analizörlerde bu **cobas®** Cdiff test tüpü lotu kullanılabilir. **cobas®** Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzundaki talimatları izleyin ve “Add Lot” (Lot Ekleme) işleminin gerçekleştirildiği analizörde bir “Export assay lots” (Test lotlarını dışa aktar) işlemi yapın. Ardından merkezinizdeki diğer analizörlerde de “Import assay lots” (Test lotlarını içe aktar) prosedürünü gerçekleştirin.

cobas® PCR Media'ya numune aktarımı

1. Dışkı numunesi **cobas®** PCR Media tüpüne aktarılmalı ve “Numune toplama, taşıma ve saklama” bölümünde açıklanan zaman dilimi içinde test edilmelidir. Bu belgede orijinal dışkı numunesi aynı zamanda “primer numune” olarak anılır ve **cobas®** PCR Media'daki dışkı süspansiyonu (bkz. aşağıdaki adımlar) “sekonder numune” olarak anılır.
2. Dışkı numunesini aktarmak için **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit içinde verilen sürüntü çubuğunu kullanın. Dışkı kabının kenarına dokunmadan, sürüntü çubuğunun ucunu konik bölümün sonuna kadar tamamen dışkı numunesine daldırın.
3. İnoküle edilmiş sürüntü çubuğunu hemen çıkarın ve **cobas®** PCR Media tüpüne yerleştirin. Sürüntü çubuğunun ucunu tamamen daldırmak için yeterli dışkı yoksa numuneyi test etmeyin.
4. **cobas®** PCR Media tüpünün yan tarafına basınç uygulayarak sürüntü çubuğunun şaftını gri çentik işaretinden kırın.
5. Tüpün kapağını kapatın ve tüpü en az 5 kere döndürün.

Not: *cobas® Cdiff, cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit ile birlikte kullanım için valide edilmiştir. Diğer cihazlar veya ortam tipleri, cobas® Cdiff ile birlikte kullanım için valide edilmemiştir.*

Not: *cobas® PCR Media'daki dışkı numunesi süspansiyonlarının çapraz kontaminasyonunu önlemek için işlemde sonra numune süspansiyonlarını yeniden kapatmak için alternatif renkte (renksiz; bkz. “İsteğe bağlı materyal”) ek cobas® PCR Media tüpleri kullanılmalıdır.*

Not: *cobas® PCR Media tüpleri, dışkı süspansiyonlarının cobas® Liat® Sisteminde birden fazla kere test edilmesi için yeterli hacimde cobas® PCR Media içerir. Bir cobas® Cdiff çalışmasını yürütmek için gereken minimum dışkı süspansiyonunun hacmi 0,2 mL'dir.*

Klinik numunelerde cobas® Cdiff uygulama

cobas® Cdiff çalışması için gerekli materyal

- **cobas®** Cdiff testi folyo poşetinden **cobas®** Cdiff test tüpü
- **cobas®** Liat® Aktarma Pipeti Paketinden aktarma pipeti
- **cobas®** PCR Media'ya aktarılan ve yeniden süspanse edilen dışkı numuneleri (bkz. “**cobas®** PCR Media'ya Numune Aktarma”)

Prosedür

1. **cobas®** Liat® Analizörün açık olduğundan emin olun.
2. **cobas®** Liat® Analizörün ekranında **Login** (Oturum Aç) ögesini seçin.
3. İstendiğinde kullanıcı adını girin, **Enter** (Gir) ögesini seçin.
4. İstendiğinde kullanıcı parolasını girin, **Enter** (Gir) ögesini seçin.

Not: *Kullanıcı Kılavuzunu (yani cobas® Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzu) okuduğunuzu onaylamanız istenebilir.*

5. Ana menüde **Run Assay** (Testi Çalıştır) seçeneğini belirleyin.
6. **cobas® Cdiff** test tüpü poşetini açın ve test tüpünü çıkarın. **Scan Tube ID** (Tüp ID'sini tarayın) talimatı verildiğinde, **Scan** (Tara) ögesini seçin ve **cobas® Cdiff** test tüpünü, barkod okuyucusunun altına, kırmızı tarama ışığı tüm barkodu kapsayacak şekilde masanın üzerine yatay olarak yerleştirin.
7. **Scan sample ID** (Numune ID'sini tarayın) talimatı verildiğinde, numune barkodunu taramak için **Scan** (Tara) ögesini seçin. Numunenin taranamaması halinde, numune ID'sini manuel olarak girmek için **Enter** (Gir) ögesini seçin.

Not: *Analizör konfigürasyonuna bağlı olarak, alınan hasta bilgilerinin onaylanması gerekiyorsa “Confirm” (Onayla) düğmesini seçin.*

8. İstendiğinde numuneyi **cobas® Cdiff** test tüpüne ekleyin.
9. İkincil numuneyi aktarmak için **cobas® Liat®** Aktarma Pipeti Paketinden bir aktarma pipeti kullanın. Pipet haznesini, hazne tamamen düz olana kadar sıkın, ardından pipetin ucunu sıvıya yerleştirin ve hazneyi yavaşça serbest bırakarak numuneyi çekin.

Not: *Pipet paketinde kontaminasyondan kaçınmak için cobas® Liat® Aktarma Pipeti Paketinden bir aktarma pipetini çıkarmadan önce tek kullanımlık eldivenleri değiştirin.*

10. **cobas® Cdiff** test tüpünün kapağını dikkatli şekilde çıkarın ve pipeti ağız kısmına yerleştirin. Pipeti, açık segmentin alt kısmının yanına yerleştirin.
11. Pipetin içindekileri **cobas® Cdiff** test tüpüne boşaltmak için hazneyi yavaşça sıkın. Pipet hala **cobas® Cdiff** test tüpünün içindeyken pipet haznesini serbest bırakmayın.
12. **cobas® Cdiff** test tüpünün kapağını kapatın ve aktarma pipetini atın.

Not: *Eldivenler, ekipman ve çalışma yüzeylerinin pipette kalan içerikle çapraz kontaminasyonunu önleyin.*

13. **Scan** (Tara) ögesini seçin ve aynı **cobas® Cdiff** test tüpü barkodunu tekrar tarayın. **cobas® Liat®** Analizörün üstündeki test tüpü giriş kapısı otomatik olarak açılacaktır.
14. **cobas® Cdiff** test tüpünün manşonunu çıkarın ve hemen **cobas® Cdiff** test tüpünü, tüp klik sesi ile yerine oturacak şekilde **cobas® Liat®** Analizörün içine yerleştirin.

Not: *cobas® Cdiff test tüpü yalnızca tek yönde yerine oturur cobas® Cdiff test tüpünün oluklu kısmı, kapak takılı haldeyken solda olmalıdır.*

15. Kapı kapatıldığında test tüpü yerleştirilmiş olmazsa, **cobas® Cdiff** test tüpünün barkodunu tekrar tarayın ve **cobas® Cdiff** test tüpünü tekrar yerleştirin. **cobas® Cdiff** test tüpü doğru şekilde yerleştirildiğinde, **cobas® Liat®** Analizör kapıyı otomatik olarak kapatacak ve testi başlatacaktır.
16. Test sırasında, **cobas® Liat®** Analizör, çalışma durumunu ve kalan tahmini süreyi gösterir. Test tamamlandığında, **cobas® Liat®** Analizörü **Remove the assay tube slowly and carefully** (Test tüpünü yavaşça ve dikkatli bir şekilde çıkarın) mesajını görüntüler ve otomatik olarak test tüpü giriş kapağını açar. **cobas® Cdiff** test tüpünü yavaşça **cobas® Liat®** Analizörden kaldırın. Kullanılmış **cobas® Cdiff** test tüpünü, biyolojik tehlikeli atık kabına atın.
17. Sonuç Raporunu görmek için **Report** (Rapor) ögesini seçin. Gerekirse raporu yazdırmak için **Print** (Yazdır) ögesini seçin.
18. **Back** (Geri) ögesini seçin ve ardından **Main** (Ana) ögesini seçerek ana menüye dönüp sonraki testi gerçekleştirin.

Ek kontrol çalışmaları gerçekleştirme

Yerel, federal gereklilikler ve/veya devlet ve/veya akreditasyon kuruluşu gereklilikleri uyarınca, “Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü ile halihazırda eklenmiş olan **cobas®** Cdiff test tüpü lotu ile ek kontrol çalışmaları gerçekleştirilebilir. Bu çalışmaları gerçekleştirmek için **cobas®** Liat® Sisteminde kullanıma yönelik **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit'i kullanın.

Ek kontrol çalışmaları için gerekli materyal

- **cobas®** Cdiff test tüpleri ve aktarma pipetleri
- **cobas®** Liat® Cdiff Pozitif Kontrol ve/veya **cobas®** Liat® Negatif Kontrol
- **cobas®** Liat Cdiff Pozitif Kontrol ve/veya **cobas®** Liat® Negatif Kontrol için ilgili barkodlar.

Prosedür

Ek kontrol çalışmaları yapmak için “Klinik numunelerde **cobas®** Cdiff uygulama” bölümünde belirtilen prosedürü kullanın. 7. adımda, numune ID barkodu olarak taramak üzere **cobas®** Cdiff Positive and Negative Control Kit içinde temin edilen kontrol barkodlarını kullandığınızdan emin olun. Ek Cdiff Pozitif Kontrolleri veya Negatif Kontrollerini çalışırken **cobas®** Cdiff için sonuçların yorumlanması “Sonuçların yorumlanması” bölümünde Tablo 9 ve Tablo 10 içinde gösterilmiştir. Temin edilen kontrol barkodlarından farklı barkodlar kullanmak, yanlış kontrol sonuçlarına yol açabilir.

Sonuçlar

Kalite kontrol ve sonuçların geçerliliği

Daha önce açıklanan “Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü sırasında bir **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol ve bir **cobas® Liat®** Negatif Kontrol çalışılır. Cihazda valide edilecek yeni **cobas® Cdiff** test tüpü lotu için hem Pozitif hem de Negatif Kontrol için geçerli sonuçlar elde edilmelidir. Ek kontrol çalışmaları, “Add Lot” (Lot Ekleme) prosedüründen sonra gerçekleştirilebilir. Ayrıntılar için Kullanım Talimatlarında “Ek kontrol çalışmaları gerçekleştirme” bölümüne bakın.

cobas® Liat® Cdiff Dahili Kontrol, her **cobas® Cdiff** test tüpünün içinde ambalajlanır ve tüm test iş akışı sırasında her numune ile birlikte çalışılmalıdır.

Pozitif kontrol

cobas® Liat® Cdiff Pozitif Kontrol, *C. difficile* hedef sekansı içeren bulaşıcı olmayan DNA plazmidleri içerir. **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol, **cobas® Cdiff** test tüpündeki reaktiflerin bütünlüğünü ve **cobas® Liat** Analizörünün uygun şekilde çalıştığını doğrular. **cobas® Liat® Cdiff** Pozitif Kontrol sonuçları sıklıkla geçersiz olarak alınıyorsa, teknik destek için yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Negatif kontrol

cobas® Liat® Negatif Kontrol bir hedef içermez ve iş akışındaki veya ortamdaki potansiyel hedef kontaminasyonu izler. **cobas® Liat®** Negatif Kontrol sonuçları sıklıkla bir geçersiz olarak alınıyorsa, teknik destek için yerel Roche temsilcinizle iletişime geçin.

Dahili kontrol

Test tüpüne tüm organizma Dahili Kontrol (Bti) dahildir ve numunenin hazırlanmasının başlangıcında tüm numunelere otomatik olarak eklenir. **cobas® Liat® Cdiff** Dahili Kontrol, her **cobas® Cdiff** test tüpüne eklenen ve her numuneyle birlikte işlenen kimyasal olarak inaktive edilmiş bir bakteridir. Dahili kontrol, testin tüm adımlarında hedef bakterinin gerektiği şekilde işlendiğini kontrol eder ve numune hazırlamada ve PCR'da inhibitörlerin varlığını izler. **cobas® Liat® Cdiff** Dahili Kontrol, negatif numunede pozitif olmalıdır ve bir Cdiff pozitif numunede negatif veya pozitif olabilir.

Sonuçların yorumlanması

Not: Numune ve kontrol çalışması validasyonları tamamen cobas® Liat® Sistemiyle belirlenir.

“Add Lot” (Lot Ekleme) prosedürü çalıştırılırken sonuçlar, Tablo 7 içinde gösterilen şekilde yorumlanır.

Tablo 7: “Add Lot” (Lot Ekle) prosedürünü çalıştırırken cobas® Cdiff sonuçlarının yorumlanması

cobas® Liat® analizörü ekranı	Sonuç Raporu Yazdırma ve Yorumlama
Negative Control Valid	Negative Control Valid <i>C. difficile</i> DNA varlığı için kontrol negatiftir.
Negative Control Invalid. Repeat Run	Negative Control Invalid Sonuç Geçersizdir. Negatif Kontrol, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Çalışmayı tekrarlayın.
Positive Control Valid	Positive Control Valid <i>C. difficile</i> DNA varlığı için kontrol pozitiftir.
Positive Control Invalid. Repeat Run	Positive Control Invalid Sonuç Geçersizdir. Pozitif kontrol, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Çalışmayı tekrarlayın.

Numune sonuçları, Tablo 8 içinde gösterilen şekilde yorumlanır.

Tablo 8: Klinik bir numune çalışılırken cobas® Cdiff sonuçlarının yorumlanması

cobas® Liat® analizörü ekranı	Sonuç Raporu Yazdırma ve Yorumlama
Cdiff Detected	Cdiff Detected <i>C. difficile</i> DNA varlığı için numune pozitiftir.
Cdiff Not Detected	Cdiff Not Detected* <i>C. difficile</i> DNA için numune negatiftir veya varsa, saptanamamıştır.
Assay Invalid	Assay Invalid** Sonuç Geçersizdir. Orijinal numune, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Bkz. “Önerilen Tekrar Test Prosedürü”.
Assay Aborted by User	Assay Aborted by User Çalışma kullanıcı tarafından iptal edildi. Orijinal numune, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Bkz. “Önerilen Tekrar Test Prosedürü”.
Assay Aborted by System	Assay Aborted by System Çalışma sistem tarafından iptal edilmiştir. Orijinal numune, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Bkz. “Önerilen Tekrar Test Prosedürü”.

* Negatif bir sonuç, sonuçların yeterli numune alınmasına, inhibitörlerin yokluğuna ve saptanacak yeterli DNA'ya bağlı olmasından ötürü *C. difficile* DNA'sının varlığını olanak dışı bırakmaz.

** Numune, nükleik asit hedef ekstraksiyonunu ve/veya amplifikasyonunu ve saptamayı önleyen aşırı dışkı veya interferans oluşturan maddeler içeriyorsa geçersiz sonuçlar elde edilebilir. Bilinen interferans oluşturan maddeler için bkz. “Prosedür ile ilgili sınırlamalar”. Yetersiz numune hacmi de geçersiz sonuçlara neden olabilir. cobas® Cdiff için minimum dışkı hacmi/cobas® PCR Media süspansiyonu 0,2 mL'dir.

“Add Lot” (Lot Ekleme) prosedüründen sonra ek kontroller çalışılırken alınan sonuçlar, Tablo 9 ve Tablo 10 içinde gösterilen şekilde yorumlanır.

Tablo 9: Pozitif Kontrol çalışılırken cobas® Cdiff sonuçlarının yorumlanması

cobas® Liat® analizörü ekranı	Sonuç Raporu Yazdırma ve Yorumlama
Positive Control Valid	Positive Control Valid <i>C. difficile</i> DNA varlığı için kontrol pozitifdir.
Positive Control Invalid	Positive Control Invalid Sonuç Geçersizdir. Pozitif Kontrol, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Çalışmayı tekrarlayın.

Tablo 10: Negatif Kontrol çalışılırken cobas® Cdiff sonuçlarının yorumlanması

cobas® Liat® analizörü ekranı	Sonuç Raporu Yazdırma ve Yorumlama
Negative Control Valid	Negative Control Valid <i>C. difficile</i> DNA varlığı için kontrol negatiftir.
Negative Control Invalid	Negative Control Invalid Sonuç Geçersizdir. Negatif Kontrol, geçerli sonuç elde etmek üzere tekrar test edilmelidir. Çalışmayı tekrarlayın.

Önerilen tekrar test prosedürü

Geçersiz ve başarısız/iptal edilen çalışmalar aynı sekonder numune kullanılarak bir kez tekrarlanabilir. Tekrar çalışması hala geçersizse, primer dışkı numunesinden yeni bir sekonder numune hazırlanabilir. Alternatif olarak, mümkünse cobas® Cdiff tekrar çalışmak için yeni bir primer numune alın.

Prosedür ile ilgili sınırlamalar

1. cobas® Cdiff, yalnızca bu Kullanım Talimatları (Prospektüs olarak da anılır) belgesine göre cobas® PCR Media tüpüne aktarılmış, şekilsiz veya kısmen şekilli dışkı numuneleriyle kullanım için valide edilmiştir.
2. Alınan sonuçların güvenilir olması yeterli numune toplama, taşıma, depolama ve işleme koşullarına bağlıdır. cobas® Cdiff için bu Kullanıcı Talimatları belgesindeki ve cobas® Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzundaki prosedürleri izleyin.
3. *C. difficile* DNA'sının saptanması, numunede bulunan organizmaların sayısına bağlıdır ve numune alma/işleme yöntemlerinden, hastaneye yatış öyküsünden, antibiyotik tedavi rejiminden ve *C. difficile* suşlarından etkilenebilir.
4. Çeşitli maddelerden kaynaklanan interferans nedeniyle yanlış negatif veya geçersiz sonuçlar alınabilir. Nükleik asit izolasyonu ve PCR amplifikasyonuna engel olabilecek maddeler içeren numuneleri tanımlamaya yardımcı olması için cobas® Cdiff Dahili Kontrol dahil edilmiştir. Bilinen interferans, aşağıdakileri içerir ancak bunlarla sınırlı olmayabilir:
 - %50'den fazla (a/h) müsin içeren numuneler yanlış negatif sonuçlar oluşturabilir.
5. Pozitif bir sonuç, *C. difficile* DNA'sının varlığının göstergesidir ve canlı organizmalar olduğu anlamına gelmez. Bu nedenle, bu testin tedavinin izlenmesi veya tedavi ile iyileşme için bir test olarak kullanılması önerilmez.
6. Primer veya prob bağlanma bölgelerindeki mutasyonlar veya polimorfizmler, yeni veya bilinmeyen varyantların saptanmasını etkileyerek cobas® Cdiff ile yanlış negatif sonuç verebilir.
7. Bir testin tahmin değeri, herhangi bir belirli popülasyonda hastalığın prevalansına bağlıdır.
8. Bu ürünü sadece cobas® Liat® Sisteminin kullanımı konusunda eğitilmiş olan personel kullanmalıdır.

Performans değerlendirilmesi

Analitik hassasiyet

cobas® Cdiff için analitik hassasiyet (Saptama Limiti veya LoD), **cobas® PCR Media**'da negatif dışkı temelinin süspansiyonunda çoklu konsantrasyon seviyelerine seyreltilmiş kantifiye *C. difficile* kültürleri analiz edilerek saptanmıştır. Tüm seviyeler, her biri iki benzersiz **cobas® Cdiff** test tüpü lotu kullanılarak üç kopya halinde test edilmiştir. %100 eşleşme oranına sahip en düşük seviye, LoD seviyesini doğrulamak için ek kopyalarla test edilmiştir. Bu seviye için genel eşleşme oranı %95'in altındaysa, bir üst panel seviyesi ek kopyalarla test edilmiştir. Nihai LoD seviyesi, en az 21 ek kopya ile doğrulanmıştır. Bu test için LoD, en kötü performansı gösteren reaktif lotu ile elde edilen sonuçlara dayanılarak, test edilen kopyaların $\geq$ %95'inde pozitif olarak saptanabilen hedef konsantrasyon olarak tanımlanır.

Analitik hassasiyet çalışmasının sonuçları Tablo 11'de gösterilmiştir.

Tablo 11: **cobas® Cdiff** Test LoD (Saptama Limiti)

Suş ID	Toksinotip	REA* Tipi	PFG† Tipi	Ribotip	Fenotip	LoD (CFU/sürüntü)
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	Yok	Yok	87	A+B+CDT-	90
R12087 (CD196)	III	BI	NAP1	27	A+B+CDT+	45

* Kısıtlama endonükleaz analizi; † Puls Alan Jeli.

C. difficile genotiplerinin saptanması

cobas® Cdiff'in ek toksinotipleri temsil eden 37 toksijenik suş üzerinde saptama limiti, ATCC 43255'in LoD seviyesinin (270 CFU/sürüntü) üç katında suş başına üç kopya test edilerek doğrulanmıştır. Dilüsyonlar ve test numuneleri, yukarıda açıklanan Saptama Limiti (LoD) çalışmasına benzer şekilde hazırlanmıştır.

37 toksijenik suşun tamamı (Tablo 12), **cobas® Cdiff**'in bu *C. difficile* toksinotiplerini saptayabildiğini doğrulayarak bu çalışmada %100 pozitif olarak saptanmıştır.

Tablo 12: Toksijenik *C. difficile* doğrulama sonuçlarının özeti

	Cdiff suşu	Toksinotip	Ribotip	Eşleşme oranı
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	Yok	%100,00
7	P43	IV	Yok	%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	Yok	%100,00
17	IS 25	XII	56	%100,00
18	R 9367	XIII	70	%100,00

	Cdiff suşu	Toksinotip	Ribotip	Eşleşme oranı
19	R 10870	XIV (yeni XIVa)	111	%100,00
20	R 9385	XV (yeni 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	Yok	%100,00
25	TR14	XX	Yok	%100,00
26	CH6223	XXI	Yok	%100,00
27	CD07-468	XXII	Yok	%100,00
28	8785	XXIII (yeni IXc)	Yok	%100,00
29	597B	XXIV	131	%100,00
30	7325	XXV	27	%100,00
31	7459	XXVI	Yok	%100,00
32	KK2443/2006	XXVII	Yok	%100,00
33	CD08-070	XXVIII	126	%100,00
34	CD07-140	XXIX	56	%100,00
35	ES 130	XXX	Yok	%100,00
36	WA 151	XXXI	Yok	%100,00
37	173070	XXXII	Yok	%100,00

Kesinlik

cobas® PCR Media'da negatif dışkı süspansiyonuna seyreltilmiş *C. difficile* kültürü ATCC 43255'ten oluşan bir panel kullanılarak, **cobas®** Cdiff'in Saptama Limitinin (LoD) altında, LoD yakınında ve LoD üzerindeki konsantrasyon seviyelerine kadar dahili bir kesinlik çalışması yapılmıştır. **cobas®** PCR Media'da yalnızca negatif dışkı süspansiyonundan oluşan bir negatif seviye de test edilmiştir. Çalışmada, 12 gün boyunca toplam 192 çalışma için üç benzersiz **cobas®** Cdiff test reaktifi lotu ve altı cihaz kullanılmıştır. Kesinlik panellerinin tanımı ve çalışma özeti Tablo 13 içinde gösterilmiştir.

Varyans bileşenlerinin analizi (Tablo 14) hedef Ct değerlerinin çoğu değişkenliğinin, LoD veya civarındaki konsantrasyon seviyesi için rastgele ve cihaz faktörlerine (sırasıyla %67 ve %32) atfedilebileceğini düşündürmüştür. LoD'nin üzerindeki konsantrasyon seviyesi için, Ct değerinin değişkenliğinin çoğu rastgele ve lotlar arası faktörlere atfedilmiştir (sırasıyla %58 ve %20). Sonuçlar (Tablo 15), hedef Ct değerlerinin LoD'deki konsantrasyon seviyesi için %2,4 ve LoD üzerindeki konsantrasyon seviyesi için %2,3'lük genel CV (%) oranına sahip olduğunu göstermiştir.

Tablo 13: Dahili kesinlik çalışması pozitiflik oranı analizi

Panel üyesi	Test edilen N	N pozitif	Pozitiflik oranı	%95 GA	
				Alt	Üst
Negatif	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 = saptama limiti

Tablo 14: Kesinlik paneli ögeleri için Ct varyans bileşenleri analizi

Seviye	Ortalama Ct	Varyans bileşenleri/Toplama katkı yüzdesi				Toplam
		Lot	Cihaz	Gün	Rastgele	
~ 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 = saptama limiti

Tablo 15: Kesinlik paneli üyeleri için Ct Standart Sapmaları ve Varyasyon Katsayıları (%) analizi

Seviye	Ortalama Ct	SD Bileşenleri/Yüzde CV				Toplam
		Lot	Cihaz	Gün	Rastgele	
~ 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 = saptama limiti

Analitik özgüllük

cobas® Cdiff'in analitik özgüllüğünü değerlendirmek için aşağıdaki organizma panelleri test edilmiştir:

- 1) Dışkı numunelerinde bulunabilen 118 bakteri, mantar ve virüs ve bir insan hücresi türü (Tablo 16)
- 2) Toksik olmayan *C. difficile* dahil 32 *Clostridium* cinsi organizmalar (Tablo 17)

Clostridium botulinum'un analitik özgüllüğü, PCR ampikon oluşturma adımını taklit etmek için GenBank nükleotit sekansı veritabanına karşı BLAST programı kullanılarak öngörülmüştür.

Tüm bakteri ve insan hücreleri 1×10^6 ünite*/mL düzeyinde eklenmiştir ve tüm virüsler dışkı matrisine 1×10^5 ünite*/mL eşdeğer düzeyinde eklenmiştir. Test, tek başına organizmalarla veya cobas® Cdiff'in 3 × Saptama Limiti (LoD) düzeyde ayrı ayrı bulunan iki toksijenik *C. difficile* izolatu ile yapılmıştır. Sonuçlar, bu organizmaların hiçbirinin amaçlanan Cdiff hedeflerinin saptanması için interferans oluşturmadığını göstermiştir. Amaçlanan bir *C. difficile* hedefi olmadığında hiçbir yanlış pozitif sonuç alınmamıştır.

* Bakterilerin miktarı koloni oluşturabilen birimler (CFU)/mL olarak, insan hücresinin miktarı hücre/mL olarak ve *Chlamydia trachomatis* IFU/mL olarak belirlenmiş olmasının dışında virüslerin miktarı TCID₅₀/mL olarak belirlenmiştir.

Tablo 16: Test edilen mikroorganizmalar ve insan hücreleri

<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> alt türü <i>faecalis</i> ATCC 15554
<i>Alcaligenes faecalis</i> alt türü <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> alt türü <i>jejuni</i> ATCC 33292	<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>
<i>Cedecea davisae</i>	<i>Chlamydia trachomatis</i> L2 LGVII454 serotipi	<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 insan hücreleri	<i>Helicobacter fennelliae</i>	<i>Helicobacter pylori</i>
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> alt türü <i>pneumoniae</i>	<i>Lactobacillus acidophilus</i>
<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>	<i>Leminorella grimontii</i>
<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>	<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC BAA-839	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 25933
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 29906	<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>
<i>Providencia rettgeri</i>	<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 35554
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 33584	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Ruminococcus bromii</i>
<i>Salmonella enterica</i> <i>Choleraesuis</i> serotipi ATCC 7001	<i>Salmonella enterica</i> alt türü <i>arizonae</i> ATCC 13314 (eski adıyla <i>Salmonella choleraesuis</i> alt türü <i>arizonae</i>)	<i>Salmonella enterica</i> alt türü <i>enterica</i> CMCC 1975
<i>Salmonella enterica</i> alt türü <i>enterica</i> <i>Typhi</i> serotipi ATCC 19430	<i>Salmonella enterica</i> alt türü <i>enterica</i> <i>Typhimurium</i> serotipi ATCC 14028	<i>Serratia liquefaciens</i> CMCC 169
<i>Serratia liquefaciens</i> ATCC 27592	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 13880	<i>Serratia marcescens</i> ATCC 8100
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus</i> sp. suşu 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>	Sitomegalovirüs (HHV5)
İnsan adenovirüs tip 41	İnsan koksakivirüsü A4	İnsan koksakivirüsü B4
İnsan ekovirüsü 11	İnsan enterovirüsü 71	İnsan rotavirüsü
Norovirüs GII	-	-

Tablo 17: Toksikojen olmayan *C. difficile* dahil *Clostridium* cinsi organizmalar

<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> serogrup B (toksikojen olmayan)	<i>Clostridioides difficile</i> serogrup I (toksikojen olmayan)	<i>Clostridioides difficile</i> (ES 1103) (toksikojen olmayan Tip XIa)**
<i>Clostridioides difficile</i> (6035/06) (toksikojen olmayan Tip XIa)**	<i>Clostridioides difficile</i> (F14) (toksikojen olmayan Tip XIb)**	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (<i>Flavonifractor plautii</i> olarak yeniden adlandırılmıştır)	<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>	-

* BLAST programı analizine dayanır.

** Kapsayıcılık çalışması sırasında **cobas®** Cdiff testi ile saptanmayan ancak test edilen toksikojen olmayan üç Cdiff suşu (toksinotip XI), bu tabloya dahil edilmiştir.

İnterferans

Yaygın olarak kullanılan otuz sekiz ilacın yanı sıra fekal yağ, tam kan ve müsin **cobas®** Cdiff ile potansiyel interferans etkileri açısından test edilmiştir. Tüm maddeler, makul olarak bir dışkı numunesinde bir sürüntü çubuğu ile toplanması beklenebilecek seviyelerde test edilmiştir. İnterferans oluşturan maddenin miktarı, primer dışkı numunesindeki konsantrasyon olarak ifade edilmiştir. İki *C. difficile* izolatu, **cobas®** Cdiff'in 3 × Saptama Limiti (LoD) düzeyinde eklenmiştir ve testlerde hedef olarak kullanılmıştır. Ekzojen maddeler için interferans gözlenmemiştir. Fekal yağ için %39'a (a/h) kadar interferans gözlenmemiştir, tam kan için %100'e (a/h) kadar interferans gözlenmemiştir ve müsin için %50'ye (a/h) kadar interferans gözlenmemiştir. Bu sonuçlar, Tablo 18 içinde özetlenmiştir.

Tablo 18: İnterferans oluşturan maddelerin test sonuçları

Madde	Konsantrasyon
Fekal Yağ	%0,22-39 (a/h)
Tam kan	%100 (a/h)
Müsin	%50 (a/h)
Aleve	%100 (a/h)
Mylanta	%100 (a/h)
Anusol	%100 (a/h)
Dulcolax	%23* (a/h)
Equate Laksatif	%50* (a/h)
Equate Hidrokortizon	%100 (a/h)
E-Z-HD Baryum Sülfat	%100 (a/h)
Fleet	%100 (a/h)
Gliserin Supozituarları	%100 (a/h)
Gravol Supozituarları	%100 (a/h)
Gynol II Doğum Kontrol Hapı	%10* (a/h)
Imodium	%100 (a/h)
Kaopectate	%100 (a/h)
K-Y Jelly	%100 (a/h)
Metronidazol	%100 (a/h)
Mikonazol	%100 (a/h)
Mineral Yağ	%100 (a/h)
Monistat Krem	%100 (a/h)
Monistat Complete Care	%100 (a/h)
Nystatin Merhem	%100 (a/h)
Palmitik Asit	%100 (a/h)
Pedia Lax	%100 (a/h)
Pepto Bismol	%25* (a/h)
Karaağaç	%50* (a/h)
Preparation H Hemoroid Kremi	%100 (a/h)
Preparation H Hemoroid merhemi	%100 (a/h)
Dramamine	%12,5* (a/h)
Sterik Asit	%100 (a/h)
Dokusat Sodyum	%100 (a/h)
Tums	%50* (a/h)
Mesalamin Rektal Süspansiyon	%100 (a/h)
Vagisil Kaşıntı Giderici Krem	%12,5* (a/h)
Vankomisin	%100 (a/h)
Vazelin	%100 (a/h)
Güneş Kremi	%100 (a/h)
Monistat Vajinal Fitol	%100 (a/h)
Vajinal Doğum Kontrol Filmi	%100
Spermisidal Kondomlar	%100

Klinik numuneler kullanılarak klinik performans

cobas® Cdiff in performansı, referans yöntem olarak doğrudan ve zenginleştirilmiş kültürden elde edilen *C. difficile* izolatları üzerinde doku kültürü sitotoksiste testi kullanılarak, piyasada bulunan Son Teknoloji karşılaştırma yöntemi nükleik asit testi (NAT) ile karşılaştırılmıştır. İki merkezden prospektif olarak toplanan dört yüz kırk iki dışkı numunesi ve beş merkezden dondurulmuş ve arşivlenmiş 284 dışkı numunesi **cobas® Cdiff** ve karşılaştırma yöntemi NAT ile test edilmiştir. Numunelerin ikinci bir alikotu, doku kültürü sitotoksiste testi için bir referans laboratuvara gönderilmiştir.

cobas® Cdiff ve Son Teknoloji karşılaştırma yöntemi NAT testi, üreticinin yönergelerine göre gerçekleştirilmiştir. Doku kültürü sitotoksiste testi, doğrudan ve zenginleştirilmiş kültür prosedürleri kullanılarak yapılmıştır. Kısaca, her dışkı numunesi, ilk olarak önceden indirgenmiş sikloserin-sefoksitin-fruktoz agar (CCFA-HT) ve CCMB TAL sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. CCMB TAL sıvı besiyeri, 48–72 saat boyunca inkübe edilmiş ve 35°C'de 5 gün boyunca Brucella agarda pasajlanmıştır. *C. difficile* kolonilerinin izole edilmesi zorsa organizmalar, CCFA-VA agarda pasajlanmıştır. Şüpheli koloniler, Gram boyama, aerointolerans ve Pro-Disk Testi ile *C. difficile* olarak tanımlanmış ve anaerobik kıyılmış et sıvı besiyerine inoküle edilmiştir. Anaerobik kıyılmış et sıvı besiyeriden elde edilen üst fazlar daha sonra doku kültürü sitotoksiste testi (*C. DIFFICILE* TOX-B testi, Techlab) kullanılarak *C. difficile* toksin B'nin saptanması için işlenmiştir.

Kombine doğrudan ve zenginleştirilmiş kültür yoluyla 155 pozitif *C. difficile* numunesi olmuştur (prevalans: %21,3).

cobas® Cdiff ve karşılaştırma yöntemi NAT'ın kültüre karşı performansı, Tablo 19 ila Tablo 21 içinde gösterilmiştir. Doğrudan kültür sonuçlarıyla ve kombine doğrudan ve zenginleştirilmiş kültür sonuçlarıyla korelasyon gösterilmiştir. “Kombine sonuçlar”, doğrudan veya zenginleştirilmiş kültür sonucunun veya her ikisinin de pozitif olması durumunda, numunenin kombine kültür sonucu için pozitif olarak kabul edileceği anlamına gelir. Yalnızca hem doğrudan hem de zenginleştirilmiş kültür sonuçları negatif olduğunda, numunenin kombine kültür sonucu için negatif olduğu kabul edilir.

Kültür ile cobas® Cdiff'in korelasyonu

Doğrudan kültür ve kombine doğrudan ve zenginleştirilmiş kültüre kıyasla **cobas® Cdiff** in performansı, sırasıyla Tablo 19 ve Tablo 20 içinde gösterilmiştir.

Tablo 19: Doğrudan kültüre karşı **cobas® Cdiff**

		Doğrudan kültür		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® Cdiff	Pozitif	129	21	150
	Negatif	9	567	576
	Toplam	138	588	726
Hassasiyet	%93,5 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %88,1–96,5)			
Özgüllük	%96,4 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %94,6–97,7)			
Negatif Tahmin Değeri	%98,4 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %97,1–99,3)			
Pozitif Tahmin Değeri	%86,0 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %79,5–90,7)			

Tablo 20: Doğrudan ve zenginleştirilmiş kültüre karşı cobas® Cdiff

		Doğrudan ve Zenginleştirilmiş Kültür		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® Cdiff	Pozitif	139	11	150
	Negatif	14	562	576
	Toplam	153	573	726
Hassasiyet	%90,8 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %85,2–94,5)			
Özgüllük	%98,1 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %96,6–98,9)			
Negatif Tahmin Değeri	%97,6 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %96,0–98,5)			
Pozitif Tahmin Değeri	%92,7 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %87,3–95,9)			

Karşılaştırma yöntemi NAT ile cobas® Cdiff'in korelasyonu

cobas® Cdiff'in, piyasada bulunan Son teknoloji karşılaştırma yöntemi NAT ile doğrudan performans karşılaştırması, Tablo 21 içinde gösterilmiştir.

Tablo 21: Karşılaştırma Yöntemi Nükleik Asit Testine (NAT) karşı cobas® Cdiff

		Karşılaştırmacı NAT		
		Pozitif	Negatif	Toplam
cobas® Cdiff	Pozitif	145	5	150
	Negatif	6	570	576
	Toplam	151	575	726
Pozitif uyumu	%96,0 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %91,6–98,2)			
Negatif uyumu	%99,1 (Kesin %95 2 taraflı Güven Aralığı %98,0–99,6)			

Geçersiz oran

cobas® Cdiff için geçersiz oran, Korelasyon çalışmasındaki 726 numuneyi içeren 978 ayrı klinik numune testinin sonucundan hesaplanmıştır. Test edilen 978 numuneden 2'sinde, geçersiz cobas® Cdiff sonuçları alınmıştır. Yeniden test edildiğinde, 2 numuneden 1'i geçerli sonuç vermiş ve diğeri geçersiz olarak kalmıştır. Bu nedenle, bu numune grubundaki cobas® Cdiff için ilk numune geçersiz oranı %0,2 ve yeniden test sonrasındaki geçersiz oranı %0,1 olmuştur.

Hata kodları

Test sonucunun yorumlanması ve hesaplanması işlemine bağlı olarak, Tablo 22 içinde açıklanan hata kodları sonuç raporunda görüntülenebilir.

Tablo 22: Hata kodları ve tanımları

Hata Kodları	Numune	Negatif Kontrol (Lot Ekleme)	Pozitif Kontrol (Lot Ekleme)
r0	IC Negatif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın	IC Negatif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın	IC Negatif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın
r1			
r3*			
r4			
x4**	IC Negatif veya Geçersiz olduğunda Cdiff Pozitif. Çalışmayı Tekrarlayın	Yok	Cdiff ve/veya IC Negatif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın
FP	Yok	Cdiff Pozitif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın	Yok
g0	Yok	Yok	Cdiff Negatif veya Geçersiz. Çalışmayı Tekrarlayın
g1			
g3			
g4			
x5	Numune hacmi çok düşük	Numune hacmi çok düşük	Numune hacmi çok düşük

Not*: Hata kodu r3, Pozitif ve Negatif kontroller için görünmez.

Not**: Hata kodu x4, Pozitif Kontrol (Lot Ekle) için görünmez. Pozitif kontrol için x4 hata kodu yalnızca "Add Lot" (Lot Ekleme) prosedüründen sonra ek pozitif kontrol çalışmaları sırasında hata meydana geldiğinde tetiklenebilir (bkz. "Ek kontrol çalışmalarının gerçekleştirilmesi").

Hata kodları hakkında daha fazla bilgi için güncel **cobas®** Liat® Sistemi Kullanıcı Kılavuzuna bakın.

Ek bilgiler

Temel test özellikleri

Numune tipi	Şekilsiz dışkı numuneleri
Gereken numune miktarı	Her bir cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit ile birlikte 4,3 mL cobas® PCR Media sağlanır, bir cobas® Cdiff için minimum 0,2 mL gereklidir.
Test süresi	Sonuçlar, numunenin sisteme yüklenmesinden sonra yaklaşık 20 dakika içinde hazır olacaktır.
Analitik hassasiyet	İzolata bağlı olarak 45 ila 90 CFU/sürüntü
Özgüllük	149 yakından ilişkili organizma veya dışkı numunelerinde tipik olarak bulunan organizmalar ile çapraz reaktivite yok
Kapsayıcılık	BI/NAP1/027 hipervirülan epidemik suş dahil bilinen tüm <i>C. difficile</i> (Toksinotipler 0 ila XXXI, Toksik olmayan Toksinotipler XI hariç)

Semboller

Aşağıdaki semboller Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılır.

Tablo 23: Roche PCR diagnostik ürünlerinin etiketlenmesinde kullanılan semboller

Age/DOB Yaş veya doğum tarihi	 Hasta yanında test için uygun olmayan cihaz	QS IU/PCR PCR reaksiyonu başına QS IU, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS ulusal birimlerini (IU) kullanın.
 Yardımcı yazılım	 Kendi kendine test için uygun olmayan cihaz	SN Seri numarası
Assigned Range [copies/mL] Atanan aralık (kopya/mL)	 Distribütör (Not: Sembolün altında geçerli ülke/bölge belirtilmiş olabilir)	Site Tesis
Assigned Range [IU/mL] Atanan aralık (IU/mL)	 Tekrar kullanmayın	Procedure Standard Standart prosedür
EC REP Avrupa Topluluğundaki yetkili temsilci	 Kadın	STERILE EO Etilen oksit ile sterilize edilmiştir
BARCODE Barkod Veri Sayfası	 Sadece IVD performans değerlendirmesi için	 Karanlık ortamda muhafaza edin
LOT Parti kodu	GTIN Küresel ticari ürün numarası	 Sıcaklık sınırı
 Biyolojik riskler	 İthalatçı	 Test tanım dosyası
REF Katalog numarası	IVD <i>In vitro</i> tıbbi tanı cihazı	 Burası yukarı gelecek
 CE uygunluk işareti; bu cihaz, <i>in vitro</i> tıbbi tanı cihazı için geçerli CE işareti gerekliliklerine uygundur	LLR Belirlenen aralığın alt limiti	Procedure UltraSensitive Ultra hassas prosedür
Collect Date Numune alma tarihi	 Erkek	UDI Benzersiz cihaz kimliği
 Kullanım talimatlarına bakın	 Üretici	ULR Belirlenen aralığın üst limiti
 Σ $<n>$ test için yeterli miktarda içerir	CONTROL - Negatif kontrol	Urine Fill Line İdrar dolum çizgisi
CONTENT Kit içeriği	 Steril değil	Rx Only Yalnızca ABD: Federal yasalar, bu cihazın yalnızca bir hekim tarafından veya hekimin siparişiyle satışına izin verir.
CONTROL Kontrol	 ? Hasta adı	 Son kullanma tarihi
 Üretim tarihi	 # Hasta numarası	
 Hasta başında test için uygun cihaz	 Buradan soyarak açın	
 Kendi kendine test için uygun cihaz	CONTROL + Pozitif kontrol	
	QS copies / PCR PCR reaksiyonu başına QS kopya, sonuçların hesaplanmasında PCR reaksiyonu başına QS kopyalarını kullanın.	

Teknik destek

Teknik destek için lütfen yerel bağlı şirket ile iletişime geçin:
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Üretici ve ithalatçı

Tablo 24: Üretici ve ithalatçı



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

ABD'de imal edilir



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

Ticari markalar ve patentler

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

Telif hakkı

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Referanslar

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.

Belge revizyonu

Belge revizyonu bilgileri	
Doc Rev. 5.0 04/2024	IVDR ile uygunluk sağlamak üzere revize edilmiştir. cobas® Liat® Analyzer Software 3.3'ü desteklemek için referanslar ve prosedürler uyumlu hale getirilmiş ve güncellenmiştir. Tehlike bilgileri güncellenmiştir. Hedef Kullanıcı ifadesi eklenmiştir. Tablo 18, konsantrasyon birimleri eklenerek ve fazla bilgiler çıkarılarak güncellenmiştir. Kapsayıcılık bölüm başlığı, <i>C. difficile</i> Genotiplerinin Saptanması bölüm başlığı olarak güncellenmiştir. Yazım yanlışları düzeltilmiştir ve genel açıklama revizyonları yapılmıştır. Uyumlaştırılmış sembol sayfası güncellenmiştir. Bağlantı da dahil olmak üzere Ticari markalar ve patentler bölümü güncellenmiştir. cobas® Liat® aktarma pipeti paketlerinin (12 pipet/paket, Kat. No. 09329676001) tanımı ve kullanımı için bilgiler eklenmiştir. Herhangi bir sorunuz varsa lütfen Roche Temsilciniz ile iletişime geçin.