



cobas[®] Cdiff Test

för användning på cobas[®] 4800-systemet

För *in vitro*-diagnostisk användning



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

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Avsedd användning	4
Sammanfattning och förklaring av testet/användningsprinciper.....	4
Bakgrund: Screening av <i>C. difficile</i>	4
Förklaring av testet	5
Testprinciper.....	5
Provpreparation	5
PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®	5
Selektiv amplifiering.....	5
Material, reagens och prover	6
Material och reagens som tillhandahålls	6
Förvaring och hantering av reagens.....	6
Extramaterial som behövs.....	13
Tillval	14
Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer	14
Försiktighetsåtgärder och information om förvaring	14
Varningar och försiktighetsåtgärder.....	14
God laboratoriesed	15
Kontamination.....	15
Integritet.....	15
Avfallshantering	16
Spill och rengöring.....	16
Provtagning, transport och förvaring av prover	16
Provtagning.....	16
Förvaring och stabilitet för prover under transport.....	16
Testprocedur	17
Körning av testet.....	17
Arbetsflöde	17
Bruksanvisning.....	17

Resultat	21
Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten	21
Positiv kontroll	21
Negativ kontroll.....	21
Internkontroll.....	21
Tolkning av resultat	22
Lista med resultatflaggor	23
Testets begränsningar.....	23
Icke-klinisk egenskapsutvärdering.....	24
Analytisk känslighet	24
Detektion av <i>C. difficile</i> -genotyper.....	25
Precision	26
Analytisk specificitet.....	27
Interferens	29
Klinisk prestanda med kliniska prover	31
Ytterligare information	33
Viktiga analyssegenskaper.....	33
Symboler	34
Teknisk support	35
Tillverkare och importör	35
Varumärken och patent.....	35
Copyright	35
Litteraturförteckning	36
Revidering av dokumentet	38

Avsedd användning

Testet **cobas**® Cdiff på **cobas**® 4800-systemet är ett automatiskt, kvalitativt *in vitro*-diagnostiskt test som använder PCR (Polymerase Chain Reaction) i realtid för direkt detektion av toxin B-genen (*tcdB*) i toxikogena *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) i flytande eller icke-fasta faecesprover erhållna från patienter med misstänkt *C. difficile*-infektion (CDI). Testet **cobas**® Cdiff är avsett som hjälp vid diagnos av CDI hos människor i samband med kliniska och epidemiologiska riskfaktorer.

Sammanfattning och förklaring av testet/användningsprinciper

Bakgrund: Screening av *C. difficile*

C. difficile är en grampositiv, anaerob, sporbildande bacill som identifierades som ett etiologiskt agens för antibiotika-associerad pseudomembranös kolit under den senare delen av 1970-talet.^{1,2} Den tros vara orsaken till 15–20 % av de antibiotikarelaterade fallen av diarré och nästan alla fall av antibiotika-associerad pseudomembranös kolit.³ Det senaste decenniet har incidensen av *C. difficile*-associerad infektion (CDI) ökat progressivt, och det är nu ett betydande kliniskt problem i industriländerna. Incidensen låg inom intervallet 30–40 fall per 100 000 patienter på akutsjukhus i USA, men den steg till mer än 80 per 100 000 patienter under 2005.⁴ Utbrott av CDI har beskrivits tidigare.⁵ Den direkta kostnaden som förknippades med CDI var 6 326 dollar per fall i USA.⁶

Ökningar av incidensen har delvis förklarats med uppkomsten av en påstått hypervirulent stam, klassificerad som ribotyp 027/nordamerikansk pulstyp 1 (NAP1) och toxinotyp III. Toxikogena stammar av *C. difficile* producerar vanligen två toxiner: toxin A (ett enterotoxin) och toxin B (ett cytotoxin).⁷ En liten procentandel av stammarna producerar endast toxin B.⁸

Ökad virulens har nyligen beskrivits i stammar som producerar ett annat toxin som kallas binärt toxin, och som har en deletion i den negativa regulatorgenen *tcdC*.^{9,10} De senare stammarna har rapporterats vara mer virulenta *in vitro* och verkar öka morbiditeten och mortaliteten hos människor.^{11,12}

Personer som har smittats med toxikogena *C. difficile* kan bli asymptomatiska bärare eller utveckla sjukdom i tjocktarmen. De kliniska symptomen för *C. difficile*-infektion (CDI) varierar från lätt diarré till livshotande pseudomembranös kolit som kännetecknas av buksmärtor, kraftig diarré och systemiska symptom som feber, aptitlöshet, illamående och sjukdomskänsla.

CDI-diagnos fastställs vanligen genom att påvisa förekomst av toxinerna A och/eller B i faecesprover. Påvisande av cytopatisk effekt på celler i monolager genom toxin B anses av de flesta vara "guldstandarden".^{13, 14} Påvisande av cytopatisk effekt kan uppnås genom direkt inkubering av faeces-supernatant på cellmonolagret. Alternativt kan *C. difficile*-isolat odlas i särskild buljongodling och supernatanten som erhålls kan därefter inkuberas i cellmonolagret (toxikogen kultur).¹⁵ För båda teknikerna krävs minst 48 till 72 timmar innan ett slutgiltigt resultat kan erhållas. Immunoanalyser för detektion av toxinerna A och B används ofta eftersom de kan leverera positiva resultat på mindre än 4 timmar; dock har de avsevärt lägre känslighet än vävnadskulturer.¹⁶ Jämfört med kliniska kriterier som kan användas för CDI rapporterades PCR ha en känslighet, specificitet samt positiva och negativa prediktiva värden på 93,3 %, 97,4 %, 75,5 % respektive 99,4 % och en turnaround-tid på < 4 timmar.¹⁵ PCR anses vara det optimala enskilda snabbtestet för detektion av *C. difficile*-toxin.¹⁷⁻²⁰ Trots den dramatiska ökningen av incidensen och de allvarliga följderna av CDI är metronidazol eller vankomycin fortfarande den vanligaste behandlingsmetoden för akuta och återkommande infektioner.²¹

Exempel på åtgärder för att kontrollera infektionen är försiktig användning av antimikrobikum, förhindrande av korsinfektion och aktiv övervakning av patienterna.²² Upprepade behandlingstester (dvs. test om behandlingen varit framgångsrik) rekommenderas inte eftersom toxinerna kan förekomma under lång tid utan kliniska symptom.

Det finns sålunda ett stort behov av en metod för högkänslig och snabb automatisk detektion av *C. difficile*. Med molekylära metoder finns potential att minska detektionstiden avsevärt, och därigenom göra det möjligt att snabbt påbörja antimikrobiell behandling och att snabbt sätta in åtgärder för infektionskontroll.¹⁷⁻²⁰

Förklaring av testet

Testet **cobas®** Cdiff består av två grundläggande processer: (1) automatisk provpreparation för att extrahera nukleinsyror från icke-formade faecesprover; (2) PCR-amplifiering av target DNA-sekvenser med hjälp av *C. difficile*-specifika primers, och realtidsdetektion av klyvda *C. difficile*-specifika oligonukleotid-prober märkta med fluorokromer. En internkontroll som innehåller ej relaterad randomiserad DNA-sekvens adderas till alla prover innan den automatiska provpreparationen och amplifieras och detekteras samtidigt med varje prov för att övervaka hela processen.

Testprinciper

Provpreparation

Provpreparation för testet **cobas®** Cdiff automatiseras genom användning av instrumentet **cobas®** x 480. Organismer lyseras med kaotropiskt agens, proteinas K- och SDS-reagens. Frigjorda nukleinsyror, tillsammans med adderat internkontroll-DNA, binds av magnetiska glaspartiklar. De tvättas och elueras sedan till en liten volym buffert. Instrumentet tar sedan en portion av det eluerade materialet och förbereder PCR-reaktionen med ett aktiverat master mix-reagens.

PCR-amplifiering och detektion med TaqMan®

PCR-cyklingsstegen och detektion av target-signal utförs i analysinstrumentet **cobas®** z 480. Master mix-reagenset innehåller primerpar och prober för två target: toxin B och internkontroll. Om target-nukleinsyra-sekvenserna är närvarande kommer amplifiering med motsvarande primers att uppstå med hjälp av ett värmebeständigt DNA-polymeras som genererar PCR-produkter (amplicon). De här produkterna detekteras med hjälp av specifika TaqMan-prober som innehåller ett fluorescerande färgämne och en quencher. Normalt hämmar quenchern fluorescensen i färgämnet. Men om PCR-produkten är närvarande hybridiserar proben till produkten och klyvs via 5' till 3'-nukleasaktiviteten hos polymeraset. Den här reaktionen gör att fluorescensen kan sändas ut från färgämnet, och signalen registreras i realtid under varje PCR-cykel med analysinstrumentet **cobas®** z 480. Signalen tolkas av programvaran i **cobas®** 4800-systemet och rapporteras som ett slutligt resultat.

Selektiv amplifiering

Selektiv amplifiering av target-nukleinsyra från provet kan göras med testet **cobas®** Cdiff genom användning av AmpErase (uracil-N-glykosylas) och deoxiuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet påvisar och katalyserar nedbrytning av DNA-strängar som innehåller deoxiuridin²³, men inte DNA som innehåller deoxymidin. Deoxiuridin finns inte i naturligt förekommande DNA, men finns alltid i amplicon på grund av användningen av deoxiuridintrifosfat i stället för tymidintrifosfater som en av deoxinukleosidtrifosfaterna i Master mix-reagenset. Följaktligen innehåller endast amplicon deoxiuridin. Deoxiuridin gör kontaminerande amplicon känsligt för nedbrytning av AmpErase-enzym före DNA-amplifieringen. AmpErase-enzym, som

ingår i Master mix-reagenset, katalyserar klyvning av DNA innehållande deoxiuridin vid deoxiuridinresterna genom att öppna deoxiriboskedjan vid C1-positionen. Vid uppvärmning i det första termocykelsteget vid alkaliskt pH för Master mix, bryts amplicon-DNA-kedjan vid deoxiuridinets position vilket ger icke amplifierbart DNA. AmpErase-enzym är inaktivt vid temperaturer över 55 °C, dvs. genom alla termocykelsteg. Därför förstörs inte target amplicon. Testet **cobas®** Cdiff har visat sig inaktivera minst 1 000 kopior av *C. difficile*-amplicon innehållande deoxiuridin per PCR.

Material, reagens och prover

Material och reagens som tillhandahålls

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet) 240 test (P/N: 05235782190)	MGP (magnetiska glaspartiklar för cobas® 4800-systemet) Magnetiska glaspartiklar 93 % isopropanol ^b	10 × 4,5 ml	 FARA H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga. H319: Orsakar allvarlig ögonirritation. H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. P233: Behållaren ska vara väl tillsluten. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P370 + P378: Vid brand: Släck med torr sand, torra kemikalier eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffert för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet) 960 test (P/N: 05235804190)	MGP (magnetiska glaspartiklar för cobas® 4800-systemet) Magnetiska glaspartiklar 93 % isopropanol ^b	10 × 13,5 ml	 FARA H225: Mycket brandfarlig vätska och ånga. H319: Orsakar allvarlig ögonirritation. H336: Kan göra att man blir dåsig eller omtöcknad. P210: Får inte utsättas för värme, heta ytor, gnistor, öppna lågor och andra antändningskällor. Rökning förbjuden. P233: Behållaren ska vara väl tillsluten. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P370 + P378: Vid brand: Släck med torr sand, torra kemikalier eller alkoholresistent skum. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (elueringsbuffert för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	N/A

* Produktsäkerhetsmärkningsen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	LYS-1 (lyseringsbuffert 1 för cobas® 4800-systemet) Natriumcitrat 5 % polydokanol ^b 42,6 % guanidintiocyanat ^b Ditiotreitol ^b	10 × 10 ml	 FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. EUH071: Frätande på luftvägarna. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol
	PK (proteinas K för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinas K ^b Glycerin	10 × 0,9 ml	 FARA H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H334: Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. P261: Undvik att andas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar. P284: Använd andningsskydd. P304 + P340: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P342 + P311: Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 39450-01-6 Proteinas, <i>Tritirachium album</i> serin

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
	SDS (SDS-reagens för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 3 ml	N/A
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	LYS-1 (lyseringsbuffert 1 för cobas® 4800-systemet) Natriumcitrat 5 % polydokanol ^b 42,6 % guanidintiocyanat ^b Ditiotreitol ^b	10 × 36 ml	 FARA H302: Skadligt vid förtäring. H314: Orsakar allvarliga frätskador på hud och ögon. H411: Giftigt för vattenlevande organismer med långtidseffekter. EUH032: Utvecklar mycket giftig gas vid kontakt med syra. EUH071: Frätande på luftvägarna. P273: Undvik utsläpp till miljön. P280: Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd/hörselskydd. P303 + P361 + P353: VID HUDKONTAKT (även håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten. P304 + P340 + P310: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P305 + P351 + P338 + P310: VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. P391: Samla upp spill. 593-84-0 Guanidintiocyanat 9002-92-0 Polidokanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-ditioerytritol

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
	PK (proteinase K för cobas ® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glycerin	20 × 1,2 ml	 FARA H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. H334: Kan orsaka allergi- eller astmasymtom eller andningssvårigheter vid inandning. P261: Undvik att andas dimma eller ångor. P280: Använd skyddshandskar. P284: Använd andningsskydd. P304 + P340: VID INANDNING: Flytta personen till frisk luft och se till att andningen underlättas. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P342 + P311: Vid besvär i luftvägarna: Kontakta GIFTINFORMATIONSCENTRALEN/läkare. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> serin
	SDS (SDS-reagens för cobas ® 4800-systemet) Trisbuffert Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 9 ml	N/A

* Produktsäkerhetsmärkningsen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB (Tvättbuffert för cobas® 4800 -systemet) Natriumcitrat-dihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl**	10 × 55 ml	 VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on hydroklorid
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB (Tvättbuffert för cobas® 4800 -systemet) Natriumcitrat-dihydrat 0,05 % N-metylisotiazolon-HCl**	10 × 200 ml	 VARNING H317: Kan orsaka allergisk hudreaktion. P261: Undvik att inandas dimma eller ångor. P272: Nedstänkta arbetskläder får inte avlägsnas från arbetsplatsen. P280: Använd skyddshandskar. P333 + P313: Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. P362 + P364: Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. P501: Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning. 26172-54-3 2-metyl-2H-isotiazol-3-on hydroklorid
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 körningar (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid < 0,01 % icke smittbärande, syntetiskt internkontroll-DNA inkapslat i Lambda-bakteriofagens skalprotein	20 × 0,5 ml	N/A

Kit/kassetter	Ingredienser i komponenter och reagens	Mängd per test	Säkerhetssymbol och varning*
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (cobas® 4800 Cdiff-amplifierings-/ detektionskit) 80 test (P/N: 06768237190)	Cdiff MMX (cobas® Cdiff-mastermix) Tricinbuffert EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroxid Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % uppströms- och nedströms- <i>C. difficile</i> - och internkontroll-primers < 0,01 % fluorokrommärkta <i>C. difficile</i> - och internkontrollprober < 0,01 % oligonukleotid-aptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymeras (mikrobiellt) < 0,02 % AmpErase-enzym (uracil-N-glykosylas) (mikrobiellt) 0,09 % natriumazid	10 × 0,3 ml	N/A
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (cobas® 4800 Cdiff-kit med kontroller och kofaktor) 10 körningar (P/N: 06768300190)	Cdiff (+) C (positiv kontroll för cobas® Cdiff) Trisbuffert EDTA < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt) 0,05 % natriumazid < 0,01 % icke smittbärande plasmid-DNA (mikrobiellt) innehållande <i>C. difficile</i> -sekvenser	10 × 0,5 ml	N/A
	(-) C (negativ kontroll för cobas® 4800-systemet) Trisbuffert EDTA 0,05 % natriumazid < 0,01 % poly rA RNA (syntetiskt)	10 × 0,5 ml	N/A
	Cofactor-3 (cobas® 4800 Cofactor-3) Manganacetat Magnesiumacetat Bovint serumalbumin från bovin plasma, ursprung USA 0,09 % natriumazid	10 × 1,7 ml	N/A

* Produktsäkerhetsmärknngen följer huvudsakligen EU:s GHS-system.

** Farlig substans.

Förvaring och hantering av reagens

Reagens	Förvarings-temperatur	Förvaringstid
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Provpreparationskit för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Lyseringskit 1 för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Internkontrollkit 1 för cobas® 4800-systemet)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (cobas® 4800 Cdiff-amplifierings-/detektionskit)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (cobas® 4800 Cdiff-kit med kontroller och kofaktor)	2–8 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Tvättbuffertkit för cobas® 4800-systemet)	15–25 °C	Hållbart till det angivna utgångsdatumet.

Obs! Frys inte reagens.

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

Extramaterial som behövs

Material	P/N
CORE-spetsar, 1000 µl, rack med 96	04639642001
50 ml-reagensbehållare	05232732001
200 ml-reagensbehållare	05232759001
Extraktionsplatta (djupbrunn) till cobas® 4800-systemet	05232716001
AD-platta (mikrotiter) 0,3 ml och skyddsfilm till cobas® 4800-systemet	05232724001
Skyddsfilmapplikator	04900383001
Rack med 24 positioner	04639502001
Påse för fast avfall	05530873001 (liten) eller 04691989001 (stor)
Hamilton STAR avfallsnedkast	04639669001
cobas® PCR Media and Swab Sample Kit	07051891190
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Engångshandskar, puderfria	Alla puderfria engångshandskar är godkända.
Vortexmixer (ett rör)	Alla typer av vortexmixer är godkända.
Centrifug försedd med en swing bucket-rotor med RCF på minst 1 500	Alla lämpliga centrifuger är godkända.

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om material som säljs separat.

Tillval

Material	P/N
Skyddsmatta eller skydd till djupbrunnspatta	Roche 04789288001 eller Hamilton 6474-01
Korkar, neutral färg (för återförslutning av prover efter körning)	Roche P/N 07958056190 för återförslutning av prover efter körning i 13 ml-rör med rund botten

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om tillval.

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer

Instrument och programvara som behövs men som inte medföljer
cobas® 4800-systemet Instrumentet cobas® x 480 Analysinstrumentet cobas® z 480 Kontrollenhet
Programmet cobas® Cdiff AP version 1.0.1 eller högre till cobas® 4800-systemet
Applikationsprogrammet (Core) version 2.2.0 eller högre till cobas® 4800-systemet

Kontakta din Roche-representant om du vill ha mer information om material som säljs separat.

Försiktighetsåtgärder och information om förvaring

Varningar och försiktighetsåtgärder

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

- Endast för *in vitro*-diagnostisk användning.
- Undvik mikrobiell kontamination och DNA-kontamination av reagens och prover.
- Säkerhetsdatablad (SDS) erhålls på begäran hos närmaste Roche-kontor.
- LYS-1-reagens innehåller guanidintiocyanat. Guanidintiocyanat får inte komma i direkt kontakt med natriumhypoklorit (blekmedel) eller några andra högreaktiva reagens som syror eller baser. Dessa blandningar kan bilda en skadlig gas.
- MGP innehåller isopropanol och är mycket brandfarligt. Håll borta från öppna lågor och miljöer som kan bilda gnistor.
- Se till att MGP inte exponeras för magnetiska fält.
- EB, Cdiff MMX, SDS, Cofactor-3, (–)C, Cdiff (+)C och IC-1 innehåller natriumazid.
- Ytterligare varningar, försiktighetsåtgärder och procedurer för att minska kontaminationsrisken för instrumentet **cobas®** x 480 eller analysinstrumentet **cobas®** z 480 finns i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet. Om du misstänker att kontamination förekommer ska du utföra rengöring och åtgärder för veckovis underhåll enligt beskrivningen i användarassistansen till **cobas®** 4800-systemet.

- Informera berörd lokal myndighet och tillverkaren om eventuella allvarliga incidenter som inträffar när du använder den här analysen.

Obs! Utförliga instruktioner finns i ”Provtagning, transport och förvaring av prover”.

God labororiesed

- Pipettera inte med munnen.
- Ät, drick eller rök inte i laboratoriet.
- Tvätta händerna noga efter hantering av prover och kitets reagens.
- Använd engångshandskar, laboratorierock och ögonskydd vid hantering av reagens. Undvik att dessa material kommer i kontakt med hud, ögon och slemhinnor. Tvätta omedelbart med stora mängder vatten vid eventuell kontakt. Brännskador kan annars uppstå. Om spill förekommer, späd med vatten innan spillet torkas upp.
- Rengör och desinficera noga alla arbetsytor i laboratoriet med en nyberedd lösning bestående av 0,5 % natriumhypoklorit i destillerat eller avjoniserat vatten (hushållsblekmedel utspätt 1:10). Torka därefter av ytan med 70-procentig etanol.

Kontamination

- Handskar ska användas och ska bytas mellan hantering av prover och **cobas®** Cdiff-reagens för att undvika kontamination. Undvik att förorena handskarna när du hanterar prover och kontroller. Använd laboratoriehandskar, laboratorierock och ögonskydd när du hanterar prover och kitets reagens.
- Undvik mikrobiell kontamination och ribonukleaskontamination av reagens.
- Falskt positiva resultat kan förekomma om carryover mellan prover inte förhindras vid provhantering.
- Prover ska behandlas som smittbärande i enlighet med säkra laboratorierutiner som exempelvis de rutiner som beskrivs i *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*²⁴ och i CLSI-dokumentet M29-A4.²⁵

Integritet

- Använd inte kit efter utgångsdatum.
- Blanda inte reagens.
- Använd inte engångsartiklar efter utgångsdatum.
- Använd inte reagens eller behållare som är synligt skadade eller visar tecken på läckage.
- Alla engångsartiklar är avsedda att användas en gång. Återanvänd dem inte.
- All utrustning ska hanteras enligt tillverkarens instruktioner.

Avfallshantering

- Reagens för **cobas**® 4800-systemet och reagens som är specifika för testet **cobas**® Cdiff innehåller natriumazid (se "**Varningar och försiktighetsåtgärder**"). Natriumazid kan reagera med bly- eller kopparrör och bilda mycket explosiva metallazider. Förhindra aziduppbyggnad genom att spola med mycket kallt vatten om lösningar som innehåller natriumazid hålls ut i avloppet.
- Kassera oanvända reagens och avfall enligt gällande nationella, regionala och lokala föreskrifter.

Obs! Information om hantering av vätskeavfall finns i användarassistansen till cobas® 4800-systemet.

Spill och rengöring

- LYS-1-reagens innehåller guanidintiocyanat. Utspilld vätska som innehåller guanidintiocyanat torkas upp med lämplig laboratedetergent och vatten. Om den utspillda vätskan innehåller potentiellt smittbärande agenser ska det aktuella området FÖRST rengöras med laboratedetergent och vatten, och därefter med 0,5 % natriumhypoklorit.
- Om spill förekommer på instrumentet **cobas**® 4800 ska anvisningarna i användarassistansen till **cobas**® 4800-systemet följas vid rengöringen.
- Använd inte natriumhypokloritlösning (blekmedel) vid rengöring av instrumentet **cobas**® x 480 eller analysinstrumentet **cobas**® z 480. Rengör instrumentet **cobas**® x 480 eller analysinstrumentet **cobas**® z 480 enligt anvisningarna i användarassistansen till **cobas**® 4800-systemet.

Provtagning, transport och förvaring av prover

Obs! Hantera alla prover som potentiellt smittbärande.

Provtagning

Samla in icke-formade faecesprover i en steril behållare. Proverna ska samlas in enligt standardrutinerna på din arbetsplats.

Förvaring och stabilitet för prover under transport

Icke-formade faecesprover är hållbara i 2 dagar i 2–30 °C, eller i 7 dagar i 2–8 °C och i 60 dagar i –20 °C innan testning på **cobas**® 4800-systemet (detta har påvisats genom att testa prover efter förvaring i 30 °C ± 1 °C i 2 dagar, följt av 2–8 °C i 5 dagar, följt av –20 °C i 60 dagar).

Faecesprover som blandats med **cobas**® PCR-medium är hållbara i 60 dagar i 2–8 °C eller i 7 dagar i 30 °C innan testning på **cobas**® 4800-systemet.

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

Testprocedur

Körning av testet

Arbetsflöde

Bild 1: Arbetsflöde för **cobas®** Cdiff

1	Starta systemet.
2	Utför underhåll av instrumentet.
3	Ta ut prover och reagens från förvaringen.
4	Starta körningen: Ladda carriers med prover.
5	Med LIS: bekräfta arbetsbeställning Utan LIS: skapa arbetsbeställning
6	Ladda förbrukningsartiklarna (djupbrunnsplatta, mikrotiterplatta, spetsrack) och reagens
7	Starta provpreparationen
8	Mata ut och försluta mikrotiterplattan
9	Ta bort prover, använd reagens och djupbrunnsplattan.
10	Ladda mikrotiterplattan i analysinstrumentet
11	Granska resultat
12	Med LIS: skicka resultaten till LIS
13	Utföra utmatning från analysinstrumentet

Bruksanvisning

Alla reagens utom Cdiff MMX och Cofactor-3 ska ha rumstemperatur innan de laddas i instrumentet **cobas®** x 480. Reagensen Cdiff MMX och Cofactor-3 kan tas direkt från förvaring i 2–8 °C eftersom de hinner ekvibreras till rumstemperatur i instrumentet **cobas®** x 480 innan de används i processen.

Obs! Mer information om användning finns i användarassistansen till **cobas® 4800-systemet.**

Körningsstorlek

cobas® 4800-systemet är utformat för att stödja fleranalyskörningar mellan testerna **cobas®** MRSA/SA, **cobas®** Cdiff och **cobas®** HSV 1- och 2. Det generiska provpreparationskitet för systemet **cobas®** 4800, det generiska lyseringskitet 1 för **cobas®** 4800-systemet och det generiska tvättbuffertkitet för **cobas®** 4800-systemet finns i två kitstorlekar, som var och en räcker till 10 körningar med upp till antingen 24 eller 96 prover (inklusive kontrollerna och proverna för alla analyser som ska köras). **cobas®** 4800 Cdiff-amplifierings-/detektionskitet räcker för att testa upp till 80 prover, inklusive de Cdiff-kontroller och -prover som ska köras. Flera flaskor med **cobas®** 4800 Cdiff master mix-reagens kan användas i en körning om det behövs, så länge de har samma kitstorlek. Det generiska internkontroll-kitet 1 för **cobas®** 4800-systemet och **cobas®** 4800-kitet med Cdiff-kontroller och kofaktor finns i en kitstorlek som kan användas med alla körningskonfigurationer. För varje körning som innehåller *C. difficile*-prover måste en positiv kontroll för **cobas®** 4800 Cdiff och en negativ kontroll för **cobas®** 4800-systemet användas (se "Kvalitetskontroll"). Maximalt 94 prover och 2 kontroller är tillåtna i en och samma testkörning.

Obs! Ett generiskt reagens för 96 test kan användas för en körning som innehåller 1–22 prover, fast det innebär då att man inte använder reagensen optimalt. Dock kan inte olika storlekar på tvättbuffertkit (WB) för cobas® 4800-systemet, provpreparationskit för cobas® 4800-systemet och lyseringskit 1 för cobas® 4800-systemet blandas. Om till exempel en reagensflaska med WB för 96 test skannas när körningen startar måste reagens med storlek för 96 test från de andra två kiten också användas.

Arbetsflöde

Testet **cobas® Cdiff** utförs med det fullständiga arbetsflödet i **cobas® 4800**-programmet. Det består av provpreparation i instrumentet **cobas® x 480** följt av amplifiering/detektion i analysinstrumentet **cobas® z 480**. Körningen kan vara enbart Cdiff, eller fleranalyskörningar med testerna **cobas® MRSA/SA** och/eller **cobas® HSV 1** och 2. Mer information finns i användarassistenten till **cobas® 4800**-systemet.

Överföring av prover till cobas® PCR-medierör

1. Använd en polyesterpinne för att överföra faeces till **cobas® PCR**-medieröret – kassera den andra pinnen i förpackningen (i förekommande fall). Undvik att vidröra insidan av faecesbehållaren och sänk ned spetsen på pinnen fullständigt i faecesprovet, upp till slutet av den avsmalnande delen. Ta sedan snabbt upp den inokulerade pinnen och placera den i **cobas® PCR**-medieröret. Testa inte provet om det inte finns tillräckligt med faeces så att spetsen på pinnen kan täckas fullständigt.

2. Bryt av pinnskaftet vid den grå skårade markeringen genom att trycka det mot kanten av röret. Sätt kork på röret och vortexa i minst 5 sekunder. Ta bort korken och placera röret/rören i ett provrack med 24 positioner för bearbetning. Kassera korkarna.

Obs! Testet cobas® Cdiff har validerats för användning med cobas® PCR Media Kit, cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit och cobas® PCR Media Dual Swab Sample Kit. Använd inte andra pinnar eller medietyper.

Obs! Använd endast en polyesterpinne för att överföra faeces. Om för mycket faeces överförs till cobas® PCR Media-röret kan koagel bildas och/eller resultaten kan bli ogiltiga.

Obs! Faecesproverna måste överföras till cobas® PCR Media-rör som är märkta med korrekt streckkod för bearbetning i instrumentet cobas® x 480. Läs om korrekta förfaranden för streckkodsmärkning i användarassistenten till cobas® 4800-systemet, där det även finns en lista över godkända streckkoder för cobas® 4800-systemet.

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

Obs! cobas® PCR-medium innehåller tillräcklig volym för att faecesproverna ska kunna analyseras flera gånger på cobas® 4800-systemet. Den minsta volym med faeces-suspension som behövs i cobas® PCR-medieröret för att utföra en cobas® Cdiff-körning är 3 ml.

Så här utförs testet cobas® Cdiff

Obs! Det går att utföra fleranalyskörningar mellan testerna cobas® MRSA/SA och cobas® Cdiff och/eller cobas® HSV 1 och 2. Mer information finns i användarassistenten till cobas® 4800-systemet.

1. Utför systemstart och underhåll genom att följa anvisningarna i användarassistenten till **cobas® 4800-systemet**.
2. Ta fram alla reagens och förbrukningsartiklar som behövs. Reagensen måste ha rumstemperatur när körningen startas, med undantag av reagensen **cobas® Cdiff MMX** och Cofactor-3.

Obs! Alla reagens och reagensbehållare har streckkod och är avsedda för engångsbruk. Programmet cobas® 4800 registrerar användningen av reagens och reagensbehållare och matar ut tidigare använda reagens eller reagensbehållare.

3. Starta en ny körning och definiera arbetsbeställningen för körningen. En arbetsbeställning kan skapas på tre sätt:
 - Genom att använda provredigeraren innan provracket laddas i instrumentet **cobas® x 480** (knappen "Editor" till höger i huvudmenyn). Arbetsbeställningar kan sparas, redigeras och matas in igen om det behövs.
 - Genom att följa programguiden för den nya körningen och ladda proverna på instrumentet **cobas® x 480** vid uppmaning. Provernas streckkoder skannas automatiskt och de begärda resultaten för varje prov måste definieras.
 - Genom att använda LIS-systemet på din arbetsplats.

Mer information finns i användarassistenten till **cobas® 4800-systemet**. Markera "Cdiff" när du väljer de begärda resultaten.

4. Ladda proverna och definiera/välj arbetsbeställning eller använd LIS. Alternativet "Unload sample carriers after transferring to deep well plate" är valt som standard. Det gör att användaren kan hämta de återstående proverna med faeces-suspension så fort som möjligt efter att de har delats upp för bearbetning av instrumentet **cobas® x 480**. Behållarna med faeces-suspension ska återförslutas med nya korkar (se "Tillval") om de ska förvaras.
5. Följ programguiden och ladda förbrukningsartiklarna. Ladda inte och ta inte heller bort enskilda spetsar i ett delvis använt spetsrack, eftersom programmet registrerar antalet kvarvarande spetsar. Om det inte finns tillräckligt många spetsar för att körningen ska kunna genomföras kommer programmet att varna användaren om detta.
6. Ladda provpreparationsreagensen i de streckkodsmärkta reagensbehållarna. Reagensbehållarna finns i två storlekar: 200 ml och 50 ml. Följ programguiden och välj rätt storlek på reagensbehållarna. Reagensbehållarnas streckkoder måste vara vända åt höger i racket. Använd "scan-scan-pour-place"-metoden för att ladda provpreparationsreagensen:
 - Skanna reagensflaskans streckkod.
 - Skanna reagensbehållarens streckkod.
 - Håll reagenset i behållaren.
 - Placera den fyllda reagensbehållaren på avsedd plats i reagensracket.

Obs! cobas® 4800-systemet har en intern klocka som övervakar den tid som reagensen finns i instrumentet. Efter att WB har skannats har man 1 timme på sig att utföra laddningen och klicka på "Start"-knappen. Ett tidur visas som räknar ned tiden på fliken "Workplace". Systemet tillåter inte att körningen startar om tiden som reagensen finns i instrumentet har gått ut.

Obs! Säkerställ noggrann överföring av MGP genom att vortexa eller kraftigt skaka MGP-flaskan omedelbart före dispensering i reagensbehållaren.

7. Ladda amplifierings-/detektionsreagensen (Cdiff MMX och Cofactor-3), proteinas K (PK) och kontrollerna [Cdiff (+) C, IC och (-) C] direkt i reagensracket. Handskar måste användas efter hantering av positiva kontroller för att undvika kontamination.

Obs! Programguiden beräknar optimalt antal och optimal storlek på de behållare med cobas® Cdiff MMX-reagens som ska användas. Detta visas i kolumnen "Kit size" i fönstret som visar laddning av MMX och kofaktor. Om du vill använda en annan storlek på behållaren med cobas® Cdiff MMX-reagens klickar du på knappen "Change kit size".

8. Starta provpreparationen genom att klicka på "Start Run".
9. Efter att provpreparationskörningen slutförts blir knapparna "Sample Preparation results" och "Unload" tillgängliga. Välj knappen "Sample Preparation results" om du vill granska resultaten och välj sedan "Unload" för att mata ut plattracken. Alternativt kan du välja "Unload" för att mata ut plattracket utan att granska resultaten. Se användarassistansen till cobas® 4800-systemet.
10. Följ anvisningarna i användarassistansen till cobas® 4800-systemet för att försluta mikrotiterplattan, transportera plattan till analysinstrumentet cobas® z 480 och starta amplifierings- och detektionskörningen.

Obs! cobas® 4800-systemet har en intern klocka som övervakar tiden efter tillsats av de preparerade proverna till aktiverat master mix. Amplifiering och detektion ska startas så snart som möjligt men senast 90 minuter efter att körningen i instrumentet cobas® x 480 avslutats. Ett tidur visas som räknar ned tiden på fliken "Workplace". Systemet avbryter körningen om tiden har gått ut.

11. När amplifierings- och detektionskörningen är klar ska mikrotiterplattan matas ut från analysinstrumentet cobas® z 480.
12. Följ anvisningarna i användarassistansen till cobas® 4800-systemet för att granska och godkänna resultaten.

Resultat

Kvalitetskontroll och giltighet för resultaten

Ett set positiva och negativa kontroller för testet **cobas**® Cdiff ingår i varje körning. För varje körning måste giltiga resultat erhållas både för den positiva och negativa kontrollen för att programmet **cobas**® 4800 ska visa de rapporterbara resultaten från testet **cobas**® Cdiff från körningen.

Positiv kontroll

Kontrollen Cdiff (+) innehåller icke smittbärande DNA-plasmider av *C. difficile*. Kontrollen Cdiff (+) övervakar extraktionen av nukleinsyra, amplifiering och detektionsstegen i en given körning av testet. Resultatet för kontrollen Cdiff (+) måste vara "Valid". Kontakta din Roche-representant och begär teknisk hjälp om resultaten för kontrollen Cdiff (+) genomgående är ogiltiga.

Negativ kontroll

Resultatet för kontrollen (–) måste vara "Valid". Kontakta din Roche-representant och begär teknisk hjälp om resultaten för kontrollen (–) är genomgående ogiltiga.

Internkontroll

Internkontrollen är en rekombinant lambda-bakteriofag som innehåller randomiserade sekvenser och targets för internkontrollspecifika primers och prober. Internkontrollen tillsätts i alla prover och i de positiva och negativa kontrollerna under provpreparationen på instrumentet **cobas**® x 480. Internkontrollen övervakar nukleinsyraextraktionen, amplifiering och detektionsstegen för ett givet prov. Internkontrollen krävs också för validering av körningskontrollerna.

Tolkning av resultat

Obs! All analys- och körningsvalidering fastställs av programmet cobas® 4800.

Obs! En giltig körning kan innehålla båda giltiga och ogiltiga provresultat.

Om körningen är giltig tolkas provresultaten enligt Tabell 1.

Tabell 1 Tolkning av resultat för testet cobas® Cdiff

Testet cobas® Cdiff	Resultatrapport och tolkning
POS Cdiff	Cdiff positivt Provet är positivt för förekomst av <i>C. difficile</i> DNA.
NEG Cdiff	Cdiff negativt* Cdiff-DNA, om förekommande, kunde inte detekteras.
Invalid	Ogiltigt Resultatet är ogiltigt. Det ursprungliga provet ska testas om så att giltiga resultat erhålls. Sätt på en ny kork på röret med faeces-suspension som hade det ogiltiga resultatet och vortexa i minst 5 sekunder. Tillsätt 0,5 ml av den vortexade faeces-suspensionen i ett nytt cobas® PCR-medierör som innehåller medium. Sätt kork på röret med spädningen och vortexa i minst 5 sekunder. Ta bort korken och placera röret med spädningen i en provcarrier med 24 positioner för bearbetning.
Failed	Inget resultat för prov Se användarassistenten till cobas® 4800-systemet för anvisningar om granskning av körningsflaggor och rekommenderade åtgärder. I sällsynta fall när ett pipetteringsfel uppstår (t.ex. på grund av koagel) ska det ursprungliga röret med faeces-suspension förslutas med en ny kork och placeras i en centrifug. Accelerera till 1 800 RCF (eller 1 800 × g) och stoppa sedan. Se till att flaskan inte skakas eller blandas efter centrifugeringen. Ta bort korken och placera röret i en provcarrier med 24 positioner för bearbetning.

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

Ogiltiga resultat kan erhållas om provet innehåller för mycket faeces eller hämmande ämnen som förhindrar extraktion av nukleinsyratarget och/eller amplifiering och detektion. I avsnittet "Testets begränsningar" finns information om kända interfererande ämnen.

Obs! Den minsta volym med faeces-suspension som behövs för testet cobas® Cdiff är 3 ml.

Lista med resultatflaggor

I följande tabell visas flaggor som är relevanta för tolkning av resultat.

Tabell 2 Lista med flaggor för testet **cobas® Cdiff**

Testet cobas® Cdiff	Testet cobas® Cdiff	Resultatrapport och tolkning
R20	Den positiva kontrollen är ogiltig.	En extern kontroll är ogiltig. 1. Upprepa hela körningen med nya reagens. 2. Kontakta Roche kundsupport om problemet kvarstår.
R21	Den negativa kontrollen är ogiltig.	En extern kontroll är ogiltig. 1. Upprepa hela körningen med nya reagens. 2. Kontakta Roche kundsupport om problemet kvarstår.
X3	Fel: Koagel detekterades. Provet bearbetades inte.	Säkerställ att proverna har hanterats enligt anvisningarna för arbetsflödet. 1. Kontrollera att det inte finns koagel i provet. 2. Kör om provet.
X4	Fel: Ett pipetteringsfel uppstod. Provet bearbetades inte.	Otillräcklig provvolym eller mekaniskt fel under pipetteringen är den troligaste orsaken. 1. Säkerställ att provvolymen är tillräcklig. 2. Kontrollera att spetsutmatningsplattan är korrekt placerad. 3. Kör om provet.

Testets begränsningar

1. Testet **cobas® Cdiff** har endast validerats för att användas med icke-formade faeces-prover som har överförts till **cobas®** PCR-medium enligt bruksanvisningen.
2. Resultatens tillförlitlighet förutsätter rätt provtagning, transport, förvaring och behandling av prover. Följ procedurerna i bruksanvisningen (kallas även bipacksedel) och i användarassistenten till **cobas® 4800**-systemet.
3. Detektion av *C. difficile*-DNA är beroende av antalet organismer i provet och kan påverkas av metoderna för provtagning/bearbetning, historiken för sjukhusvistelser, vilken antibiotikabehandling som har använts och de aktuella *C. difficile*-stammarna.
4. Falskt negativa eller ogiltiga resultat kan uppstå på grund av interferens från olika ämnen. Internkontrollen ingår i testet **cobas® Cdiff** för att bidra till att prover som innehåller ämnen som kan störa nukleinsyra-isoleringen och PCR-amplifieringen kan identifieras. Kända interferenser inkluderar, men är inte begränsat till följande:
 - Prover som innehåller mer än 25 % (viktprocent) mucin kan ge falskt negativa resultat.
5. Ett positivt resultat indikerar förekomst av *C. difficile*-DNA och inte nödvändigtvis av livsdugliga organismer. Därför innebär ett positivt resultat inte nödvändigtvis att behandling för bakterieutrotning har misslyckats.
6. Mutationer eller polymorfismer i primer- eller prob-bindande regioner kan påverka detektionen av nya eller okända varianter, vilket resulterar i ett falskt negativt resultat med testet **cobas® Cdiff**.
7. Det prediktiva värdet för en analys beror på sjukdomens prevalens i en viss population.

8. Tillsats av AmpErase-enzym i **cobas**® 4800 Cdiff-master mix möjliggör selektiv amplifiering av target-DNA. Kontamination av reagens och av amplifieringsblandningarna kan dock endast undvikas om god laboratoriebedömd tillämpas och om de procedurer som beskrivs i den här bruksanvisningen följs noga.
9. Endast personal med erfarenhet av PCR-teknik ska använda produkten och **cobas**® 4800-systemet.
10. Endast instrumentet **cobas**® x 480 och analysinstrumentet **cobas**® z 480 har validerats för att användas tillsammans med denna produkt. Inga andra provpreparationsinstrument eller PCR-system kan användas med denna produkt.
11. På grund av skillnader mellan metoder rekommenderas användaren, innan en metod byts ut mot en annan, att genomföra metodkorrelationsanalyser i laboratoriet för att identifiera skillnaderna mellan metoderna och verifiera den nya proceduren. Etthundra procent överensstämmelse mellan resultaten ska inte förväntas på grund av de tidigare nämnda skillnaderna mellan metoderna.
12. Korskontamination kan orsaka falskt positiva resultat. **cobas**® 4800-systemet är ett automatiskt instrument för realtids-PCR som är utformat för att minimera risken för korskontamination under provbearbetning, extraktion av nukleinsyra, amplifiering och detektion. För att testa systemets stabilitet genomfördes en simulerad, icke-klinisk checkerboard-studie med en panel bestående av omväxlande högpositiva och negativa artificiella prover där man bedömde en teoretisk nivå för korskontamination i systemet. De högpositiva proverna fick Ct-värden tidigare än vad som observerades hos 95 % av de infekterade patienterna i populationen för avsedd användning. Nivån för korskontamination i den här checkerboard-studien fastställdes till 0,24 % (1/423). Nivåerna för korskontamination i kliniska miljöer beror på andelen högpositiva prover och på sjukdomens prevalens. Nivåerna för korskontamination vid rutinmässig klinisk hantering förväntas vara avsevärt mycket lägre än vad som observerades i den här studien, och detta är något som måste bedömas i användarens aktuella miljö.

Icke-klinisk egenskapsutvärdering

Analytisk känslighet

Den analytiska känsligheten (detektionsgräns eller LOD) för testet **cobas**® Cdiff fastställdes genom analys av kvantifierade *C. difficile*-odlingar utspädda till flera koncentrationer i en bakgrundssuspension med negativa faecesprover i **cobas**® PCR-medium. Alla nivåer testades med testet **cobas**® Cdiff med tre unika loter av reagenser för testet **cobas**® Cdiff. Minst 21 replikat per reagenslot testades på varje nivå. LOD för det här testet definieras som den koncentration av target som kan detekteras som positiv i ≥ 95 % av de testade replikaten, baserat på de resultat som genererades av reagensloten med den sämsta prestandan.

De sju *C. difficile*-stammar som testades i studien av analytisk känslighet visas i Tabell 3.

Tabell 3 Detektionsgräns (LOD) för testet **cobas®** Cdiff

Stam-id	Toxintyp	REA*- typ	PFG†- typ	Ribotyp	Fenotyp	LOD (CFU/pinne)	
						Med andel positiva	Med probitanalys
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

*Restriktionsendonukleasanalys; †Pulse Field Gel

Detektion av *C. difficile*-genotyper

Detektionsgränsen för testet **cobas®** Cdiff på 28 toxikogena stammar som representerar ytterligare genotyper bekräftades genom att testa 40 replikat per nivå vid olika nivåer. Spädningarna och testproverna preparerades på ett liknande sätt som i studien av detektionsgräns (LOD) som beskrivs ovan. Den lägsta nivån som hade minst 95 % observerad träffsannolikhet sammanfattas i Tabell 4.

Alla de 28 toxikogena stammarna (Tabell 4) detekterades som positiva i ≥ 95 % av replikaten som testades vid koncentrationer från 77,9 CFU/pinne till 460 CFU/pinne.

Tabell 4 Sammanfattning av resultat för verifiering av toxikogena *C. difficile*

Stam	Toxintyp	Ribotyp	Konc. (CFU/pinne)	Andel positiva
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 %

Tabell 4 Sammanfattning av resultat för verifiering av toxikogena *C. difficile* (fortsättning)

Stam	Toxintyp	Ribotyp	Konc. (CFU/pinne)	Andel positiva
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 %

Precision

Studien av företagsintern precision utfördes med hjälp av en panel som bestod av *C. difficile*-odlingar spädda i negativ faeces-suspension i **cobas®** PCR-medium till koncentrationsnivåer under detektionsgränsen (LOD), nära LOD och över LOD för testet **cobas®** Cdiff. En negativ nivå framställd av endast faeces-suspensionen i **cobas®** PCR-medium testades också. I studien användes tre unika loter av reagens för testet **cobas®** Cdiff och tre instrument i totalt 36 körningar under 12 dagar. En beskrivning av precisionsproverna och sammanfattningen av studien visas i Tabell 5. Analys av varianskomponenterna (Tabell 6) pekade på att den mesta variabiliteten för target Ct-värden kan tillskrivas faktorer inom körning (slumpmässiga) och lot till lot-faktorer (60,0 % respektive 25,3 %) för koncentrationsnivåer på eller runt LOD. För koncentrationsnivåer över LOD kan den mesta variabiliteten för Ct-värden tillskrivas faktorer inom körning (slumpmässiga) och instrument till instrument-faktorer (72,5 % respektive 24,7 %). Resultaten (Tabell 7) visar att target Ct-värdena hade en total CV (%) på 1,5 % för koncentrationsnivåer vid LOD och 1,1 % för koncentrationsnivåer över LOD.

Tabell 5 Analys av andel positiva enligt studien av företagsintern precision

Panelprov	Ant. testade	Antal positiva	Andel positiva	95 % CI	
				Nedre	Övre
Negativt	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 = detektionsgräns

Tabell 6 Analys av varianskomponenter för precisionspanelprover

Nivå	Medelvärde	Varianskomponenter/bidrag till den totala variansen i procent					Totalt
		Lot	Instrument	Kitstorlek	Dag	Sluppmässigt	
~ 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 = detektionsgräns

Tabell 7 Analys av standardavvikelser och variationskoefficienter (%) för precisionspanelprover

Nivå	Medelvärde	SD-komponenter/CV (%)					Totalt
		Lot	Instrument	Kitstorlek	Dag	Sluppmässigt	
~ 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 = detektionsgräns

Analytisk specificitet

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

- 1) 103 bakterier, svampar och virus som kan hittas i faecesprover och en human cell (Tabell 8);
- 2) 28 *Clostridiaceae*-genusorganismer, inklusive icke-toxikogena *C. difficile* (* cytomegalovirus (HHV5) spikades till $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, humant adenovirus typ 40 till $2,2 \times 10^3$ PFU/ml och humant rotavirus till $9,8 \times 10^3$ PFU/ml för testning – Tabell 9).

Alla bakterier och humana celler spikades till 1×10^6 enheter*/ml och alla virus spikades till 1×10^5 enheter*/ml, utom cytomegalovirus (HHV5), humant adenovirus typ 40 och humant rotavirus som spikades till lägre koncentrationer på grund av begränsningar i stamkoncentrationen. Testerna utfördes med antingen enbart organismerna eller med två *C. difficile*-isolat närvarande vid 3 x detektionsgränsen (LOD) för testet **cobas®** Cdiff. Resultaten indikerade att inga av de här organismerna interfererade med detektion av avsedda Cdiff-targets. Inga av dem producerade falskt positiva resultat utan avsedd förekomst av *C. difficile*-target.

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

* Bakterier kvantifierades som kolonibildande enheter (CFU)/ml, humana celler kvantifierades som celler/ml och virus kvantifierades som plackbildande enheter (PFU)/ml, utom följande mikroorganismer. *Chlamydia trachomatis* kvantifierades som elementärkropp (EB)/ml. Cytomegalovirus, humant echovirus och humant enterovirus kvantifierades som IU/ml.

Tabell 8 Mikroorganismer och humana 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>	HCT-15-celler, humana	<i>Helicobacter fennelliae</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Leminorella 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)*	Humant adenovirus typ 40*
Humant coxsackievirus A10	Humant enterovirus 11	Humant enterovirus 71
Humant rotavirus*	Norovirus GII	-

* Cytomegalovirus (HHV5) spikades till $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, humant adenovirus typ 40 till $2,2 \times 10^3$ PFU/ml och humant rotavirus till $9,8 \times 10^3$ PFU/ml för testning.

Tabell 9 *Clostridiaceae*-organismer, inklusive icke-toxikogena *C. difficile*

<i>Clostridium beijerinckii</i>	<i>Clostridium bifermentans</i>	<i>Clostridium bolteae</i>
<i>Clostridium botulinum</i> *	<i>Clostridium butyricum</i>	<i>Clostridium chauvoei</i>
<i>Clostridioides difficile</i> serogrupp B (icke-toxikogen)	<i>Clostridioides difficile</i> serogrupp I (icke-toxikogen)	<i>Clostridium fallax</i>
<i>Clostridium haemolyticum</i>	<i>Clostridium histolyticum</i>	<i>Clostridium innocuum</i>
<i>Clostridium methylpentosum</i>	<i>Clostridium nexile</i>	<i>Clostridium novyi</i>
<i>Clostridium orbiscindens</i> (nytt namn <i>Flavonifractor plautii</i>)	<i>Clostridium paraputrificum</i>	<i>Clostridium perfringens</i>
<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Clostridium scindens</i>	<i>Clostridium septicum</i>
<i>Clostridium sordellii</i>	<i>Clostridium sphenoides</i>	<i>Clostridium spiroforme</i>
<i>Clostridium sporogenes</i>	<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Clostridium tertium</i>
<i>Clostridium tetani</i>	-	-

* Baserat på programmet BLAST.

Interferens

26 vanliga mediciner samt faecesfett, helblod och mucin testades för möjliga interferenseffekter med testet **cobas**® Cdiff. Alla ämnen testades vid nivåer som ligger över vad som rimligen kan förväntas vid insamling med en pinne i ett faecesprov. Mängden interfererande ämnen uttrycks som koncentrationen i ett primärt faecesprov. Två *C. difficile*-isolat spikades till 3 x detektionsgränsen (LOD) för testet **cobas**® Cdiff och användes som targets i testerna. Ingen interferens observerades för exogena ämnen. För faecesfett observerades ingen interferens upp till 28 %, för helblod observerades ingen interferens upp till 50 % och för mucin observerades ingen interferens upp till 25 %. De här resultaten sammanfattas i Tabell 10.

Tabell 10 Resultat från tester av interfererande ämnen

Ämne	Koncentration	Resultat
Faecesfett	4 ~ 28 % (viktprocent)	Ingen interferens
Helblod	25, 50 % (volymprocent)	Ingen interferens
Mucin	25, 50 % (viktprocent)	Ingen interferens upp till 25 % (viktprocent)
Tums	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Vankomycin	1 % (viktprocent)	Ingen interferens
Metronidazol	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Imodium AD®	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Laxermedel	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Pepto-Bismol® (Procter & Gamble)	10 % (volymprocent)	Ingen interferens
Nystatinsalva USP	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Preparation H® med Bio-Dyne®-kräm (Wyeth)	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
GYNOL II	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Vagisil®, kräm mot klåda	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Anusol® Plus	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Solskyddskräm	1 % (viktprocent)	Ingen interferens
Monistat® 7	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Vaseline™	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
SAB-Dimenhydrinate®, suppositorier (SABEX®)	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Mineralolja	10 % (volymprocent)	Ingen interferens
Equate, naturligt vegetabiliskt laxermedel	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Dulcolax®	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Fleet® (CB Fleet Company)	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
K-Y Jelly/Gelée® (McNeil-PPC)	1 % (viktprocent)	Ingen interferens
Afrin Original, nässpray	10 % (volymprocent)	Ingen interferens
Witch hazel	Vätska från 1 tork/pinne	Ingen interferens
E-Z-HD™, högdensitets-bariumsulfat för suspension (E-Z-EM Canada)	20 % (viktprocent)	Ingen interferens
Palmitinsyra	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Stearinsyra	10 % (viktprocent)	Ingen interferens
Aleve	10 % (viktprocent)	Ingen interferens

Klinisk prestanda med kliniska prover

Prestandan hos testet **cobas**® Cdiff jämfördes med ett högklassigt FDA-godkänt och CE-märkt jämförande NAT-test, där testning av cytotoxicitet i vävnadskultur på *C. difficile*-isolat från direktodling användes som referensmetod. Faecesprover som samlats in på 3 sjukhus testades med testet **cobas**® Cdiff och ett jämförande NAT-test och skickades till ett referenslaboratorium för testning av cytotoxicitet i vävnadskultur.

Testet **cobas**® Cdiff och det jämförande högklassiga NAT-testet utfördes enligt tillverkarens instruktioner. Testet av cytotoxicitet i vävnadskultur utfördes med hjälp av en procedur för direktodling. Varje faecesprov inokulerades på prereducerad cykloserin-cefoxitin-fruktos-agar (CCFA-HT). Misstänkta kolonier identifierades som *C. difficile* genom gramfärgning, aero-intolerans samt genom Pro-Disk-testet och inokulering i anaerob CM-buljong (chopped meat). Supernatanter som erhöles från anaerob CM-buljong bearbetas sedan för detektion av *C. difficile*-toxin B genom testning av cytotoxicitet i vävnadskultur (testet C. DIFFICILE TOX-B, Techlab).

Totalt 1 434 personer deltog från fem olika platser. 156 personer uteslöts på grund av ofullständiga resultat. Det påträffades 152 *C. difficile*-positiva prover genom direktodling (prevalens: 11,9 %). Prestandan hos testet **cobas**® Cdiff och det jämförande NAT-testet mot direktodling visas i Tabell 11 och Tabell 12.

Tabell 11 Testet **cobas**® Cdiff mot direktodling

		Direktodling		
		Positiva	Negativa	Totalt
Testet cobas ® Cdiff	Positiva	147	30	177
	Negativa	5	1 096	1 101
	Totalt	152	1 126	1 278

Känslighet och specificitet

Känslighet och specificitet för testet **cobas**® Cdiff vid direktodling är 96,7 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 92,5–98,6 %) respektive 97,3 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 96,2–98,1 %).

Positivt och negativt prediktivt värde

Observerade positiva och negativa prediktiva värden för testet **cobas**® Cdiff för prover i studien är 83,1 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 76,7–88,3 %) respektive 99,5 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 98,9–99,9 %).

Tabell 12 Jämförande nukleinsyratest (NAT) mot direktodling

		Direktodling		
		Positiva	Negativa	Totalt
Jämförande NAT-test	Positiva	147	29	176
	Negativa	5	1 097	1 102
	Totalt	152	1 126	1 278

Känslighet och specificitet

Känslighet och specificitet för det jämförande NAT-testet vid direktodling är 96,7 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 92,5–98,6 %) respektive 97,4 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 96,3–98,2 %).

Korrelation med jämförande NAT-test

Prestandan för testet **cobas**® Cdiff i direkt jämförelse med ett högklassigt FDA-godkänt och CE-märkt jämförande NAT-test visas i Tabell 13.

Tabell 13 Testet **cobas**® Cdiff mot jämförande nukleinsyratest (NAT)

		Jämförande NAT-test		
		Positiva	Negativa	Totalt
Testet cobas® Cdiff	Positiva	167	10	177
	Negativa	9	1 092	1 101
	Totalt	176	1 102	1 278

Procentandel positiva och negativa överensstämmelser

Procentandelen positiva och negativa överensstämmelser för testet **cobas**® Cdiff jämfört med det jämförande NAT-testet är 94,9 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 90,6–97,3 %) respektive 99,1 % (95 % tvåsidigt konfidensintervall: 98,3–99,5 %).

Ytterligare information

Viktiga analyssegenskaper

Provtyp	Icke-formade faecesprover
Mängd prov som krävs	4,3 ml cobas ® PCR-medium i primärrör, minst 3 ml krävs för ett cobas ® Cdiff-test.
Tidsåtgång	Resultat finns tillgängliga inom 2,5 timmar efter det att proverna laddats på systemet (1–22 prover).
Analytisk känslighet	Från 54 till 460 CFU/pinne beroende på isolat.
Specificitet	Ingen korsreaktivitet med 125 närbesläktade organismer eller organismer som är vanligt förekommande i faecesprover.
Inklusivitet	Alla kända <i>C. difficile</i> (toxintyperna 0 ~ XXXI, utom de icke-toxikogena toxintyperna XI) inklusive den hypervirulenta epidemiska stammen BI/NAP1/027.

Symboler

Följande symboler används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter.

Tabell 14 Symboler som används vid märkning av Roche PCR diagnostiska produkter

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

Teknisk support

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

Tillverkare och importör

Tabell 15 Tillverkare och importör



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

Tillverkad i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Germany

Varumärken och patent

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



Litteraturförteckning

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. 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.

Revidering av dokumentet

Information om revidering av dokumentet	
Doc Rev 8.0 02/2024	Lysis Kit 1 riskinformationen har uppdaterats. Varumärket cobas ® har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.
Doc Rev 9.0 06/2024	Riskinformation för provpreparationskit har uppdaterats. Symbolen för Rx Only har tagits bort från första sidan. Sidan med harmoniserade symboler har uppdaterats. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.
Doc Rev 10.0 07/2024	Riskinformation för Wash Buffer Kits har uppdaterats. Information har lagts till för att förtydliga att produktsäkerhetsmärkningen huvudsakligen följer EU:s GHS-system. Kontakta din representant från Roche vid eventuella frågor.

Sammanfattningen av säkerhets- och prestandarapporten finns på följande länk: <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>