



cobas[®] Cdiff Test

til brug på cobas[®] 4800-systemet

Til *in vitro*-diagnostik



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

INDHOLDSFORTEGNELSE

Tilsigtet brug	4
Oversigt over og forklaring af testen/principper for proceduren	4
Baggrund: Screening for <i>C. difficile</i>	4
Forklaring af testen.....	5
Principper for proceduren	5
Prøveforberedelse	5
PCR-amplifikation og TaqMan®-detektion.....	5
Selektiv amplifikation.....	5
Materialer, reagenser og prøver.....	6
Medfølgende materialer og reagenser.....	6
Reagensopbevaring og -håndtering.....	6
Yderligere nødvendige materialer	13
Valgfrie materialer.....	14
Nødvendige, men ikke medfølgende instrumenter og software	14
Krav til forholdsregler og håndtering.....	14
Advarsler og forholdsregler.....	14
God laboratoriepraksis	15
Kontaminering	15
Integritet.....	15
Bortskaffelse.....	16
Spildt materiale og rengøring.....	16
Indsamling, transport og opbevaring af prøver.....	16
Indsamling af prøver	16
Opbevaring og stabilitet af prøver under transport	16
Testprocedure.....	17
Kørsel af testen.....	17
Arbejdsgang.....	17
Brugsanvisning.....	17

Resultater	21
Kvalitetskontrol og validitet af resultater	21
Positiv kontrol	21
Negativ kontrol	21
Intern kontrol	21
Fortolkning af resultater	21
Liste over resultatflag	22
Begrænsninger ved procedureerne	23
Evaluering af ikke-klinisk performance	24
Analytisk sensitivitet	24
Detektion af <i>C. difficile</i> -genotyper	24
Præcision	25
Analytisk specificitet	26
Interferens	28
Klinisk performance ved brug af kliniske prøver	30
Yderligere oplysninger	32
Vigtige analysefunktioner	32
Symboler	33
Teknisk support	34
Producent og importør	34
Varemærker og patenter	34
Copyright	34
Litteraturliste	35
Dokumentrevision	37

Tilsigtet brug

cobas® Cdiff-testen på **cobas®** 4800-systemet er en automatisk, kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test, der anvender real-time PCR (polymerase chain reaction) til direkte påvisning af toksin B-genet (*tcdB*) for toksigen *Clostridioides difficile* (*C. difficile*) i uformede (flydende eller bløde) fæcesprøver fra patienter, der kan have en *C. difficile*-infektion (CDI). **cobas®** Cdiff-testen er beregnet som en hjælp ved diagnostik af CDI hos mennesker sammen med kliniske og epidemiologiske risikofaktorer.

Oversigt over og forklaring af testen/principper for proceduren

Baggrund: Screening for *C. difficile*

C. difficile er en Gram-positiv, anaerob, sporedannende bakterie, der blev identificeret som et ætiologisk agens ved pseudomembranøs colitis associeret med antibiotika i slutningen af 1970'erne.^{1,2} Det menes at stå for 15-20 % af antibiotikaassocierede tilfælde af diarré og næsten alle tilfælde af antibiotikaassocieret pseudomembranøs colitis.³ Gennem det seneste årti har der været en gradvis stigning i forekomsten af *C. difficile*-associeret infektion (CDI), og det er nu et alvorligt klinisk problem i udviklede lande. Mens incidensraten var mellem 30-40 tilfælde pr. 100.000 personer på hospitaler for akut behandling i USA, steg incidensraten til mere end 80 pr. 100.000 personer i 2005.⁴ Udbrud af CDI er tidligere beskrevet.⁵ De direkte omkostninger forbundet med CDI var \$ 6.326 pr. tilfælde i USA.⁶

Stigningen i forekomsten har delvist medvirket til en tilsyneladende hypervirulent stamme, der er klassificeret som ribotype 027/nordamerikansk pulsotype 1 (NAP1) og toksinotype III. Toksigene stammer af *C. difficile* producerer typisk to toksiner: toksin A (et enterotoksin) og toksin B (et cytotoxin).⁷ En lille procentdel af stammerne producerer kun toksin B.⁸

Øget virulens er for nyligt blevet beskrevet i forbindelse med stammer, som producerer et andet toksin, kaldet binært toksin, og som bærer en deletion i det negative regulatorgen *tcdC*.^{9,10} De sidste stammer blev rapporteret som mere virulente *in vitro* og medfører tilsyneladende højere morbiditet og mortalitet hos mennesker.^{11,12}

Efter kolonisering med toksigene *C. difficile* kan nogle personer blive symptomfrie bærere eller udvikle sygdom i tyktarmen. De kliniske tegn på CDI kan variere fra mild diarré til livstruende pseudomembranøs colitis, der er karakteriseret ved mavesmerter, voldsom diarré og systemiske symptomer, som f.eks. feber, manglende appetit, kvalme og hovedpine.

Diagnostik af CDI fastslås som regel ved at påvise tilstedeværelsen af toksin A og/eller B i fæcesprøver. Påvisning af den cytopatiske effekt på et monolag af celler, ved hjælp af toksin B, anses af mange for at være "guld-standarden".^{13, 14} Påvisning af den cytopatiske effekt kan opnås ved direkte inkubation af fæcessupernatant på monolaget af celler. Alternativt kan *C. difficile*-isolater dyrkes i selektiv bouillon, og supernatanten herfra anvendes til efterfølgende inkubation i cellemonolaget (toksigendyrkning).¹⁵ Begge teknikker kræver mindst 48-72 timer for at finde det endelige resultat. Immunanalyser til påvisning af toksinerne A og B er bredt anvendte, da de giver positive resultater inden for mindre end 4 timer; sensitiviteten er dog væsentligt lavere sammenlignet med vævskulturer.¹⁶ Sammenlignet med kliniske kriterier, der understøtter CDI, blev PCR rapporteret med en sensitivitet, specificitet samt positive og negative prædiktive værdier på henholdsvis 93,3 %, 97,4 %, 75,5 % og 99,4 % med en svartid på < 4 timer.¹⁵ PCR anses for at være den optimale hurtige enkelttest til påvisning af *C. difficile*-toksinet.¹⁷⁻²⁰ På trods af den dramatiske stigning i forekomsten og alvorligheden af CDI forbliver metronidazol eller vancomycin den foretrukne medicinske behandling ved akutte tilfælde og tilbagevendende infektion.²¹

Infektionskontrol omfatter forsigtig anvendelse af antimikrobielle midler, forebyggelse af krydsinfektion og aktiv overvågning af tilfælde.²² Det anbefales ikke at udføre "test for helbredelse", da toksinerne kan være til stede i længere tidsperioder uden kliniske symptomer.

Der er således et stort behov for meget sensitiv og hurtig automatisk påvisning af *C. difficile*. Molekulære metoder kan reducere påvisningstiden væsentligt og derved gøre det muligt hurtigt at påbegynde den antimikrobielle behandling og implementere infektionskontrollen.¹⁷⁻²⁰

Forklaring af testen

cobas® Cdiff-testen indeholder to hovedprocesser: (1) automatisk prøveforberedelse for at ekstrahere nukleinsyrer fra uformede fæcesprøver; (2) PCR-amplifikation af target-DNA-sekvenser ved hjælp af *C. difficile*-specifikke primere og real-time-påvisning af spaltede fluorescensmærkede *C. difficile*-specifikke oligonukleotide detektionsprober. En intern kontrol, der indeholder en ikke-relateret randomiseret DNA-sekvens, tilsættes alle prøver før den automatisk prøveforberedelse og amplificeres og detekteres samtidig med hver prøve for at overvåge hele processen.

Principper for proceduren

Prøveforberedelse

Prøveforberedelse til **cobas®** Cdiff-testen automatiseres ved hjælp af **cobas®** x 480-instrumentet. Organismer lyseres med kaotropisk stof, proteinase K og SDS-reagenser. De frigivne nukleinsyrer samt det tilsatte intern kontrol-DNA bindes af magnetiske glaspartikler. De vaskes og elueres derefter i en lille mængde buffer. Instrumentet tager derefter en afmålt mængde af det eluerede materiale og opsætter PCR-reaktionen med en aktiveret Master Mix.

PCR-amplifikation og TaqMan®-detektion

PCR og detektion af target-signal sker i **cobas®** z 480-analyseinstrumentet. Master Mix-reagenset indeholder primerpar og prober for to targets: toksin B og intern kontrol. Hvis target-nukleinsyre-sekvenserne er til stede, vil en termostabil DNA-polymerase ved hjælp af de specifikke primere generere PCR-produkter (amplikon). Disse produkter detekteres af specifikke TaqMan-prober, der indeholder et fluorescerende farvestof, og en quencher. En quencher undertrykker farvens fluorescens. Ved tilstedeværelse af PCR-produkt hybridiseres proben til produktet og spaltes af polymerasens 5' til 3' nuklease-aktivitet. Denne reaktion giver fluorescensen mulighed for at blive udsendt fra farven, og signalet registreres i real-time under hver PCR-cyklus af **cobas®** z 480-analyseinstrumentet. Signalet fortolkes af **cobas®** 4800-systemsoftwaren, som rapporterer det endelige resultat.

Selektiv amplifikation

Selektiv amplifikation af target-nukleinsyren fra prøven opnås i **cobas®** Cdiff-testen ved hjælp af AmpErase-enzym (uracil-N-glycosylase) og deoxyuridintrifosfat (dUTP). AmpErase-enzymet genkender og katalyserer nedbrydningen af DNA-streng, der indeholder deoxyuridin²³, men ikke DNA, der indeholder deoxythymidin. Deoxyuridin findes ikke i naturligt forekommende DNA, men findes altid i amplikon som følge af brugen af deoxyuridintrifosfat i stedet for thymidintrifosfat som en af dNTP'erne i Master Mix-reagenset. Derfor er det kun amplikonet, der indeholder deoxyuridin. Deoxyuridin gør kontaminerende amplikon modtageligt for nedbrydning med AmpErase-enzym, før amplifikationen af target-DNA'et. AmpErase-enzym, der findes i Master Mix-reagenset, katalyserer spaltningen af deoxyuridin-holdigt DNA ved deoxyuridin-residues ved at åbne deoxyribosekæden ved positionen C1. Ved opvarmning i den første termiske cyklus ved den alkaliske pH i Master Mix brækker amplikonets DNA-kæde ved positionen for

deoxyuridin, og dermed kan DNA'et ikke amplificeres. AmpErase-enzym er inaktivt ved temperaturer over 55 °C, dvs. i de termiske cyklusser, og derfor ødelægges target-amplikonet ikke. Det er påvist, at **cobas®** Cdiff-testen kan inaktivere mindst 1000 kopier af deoxyuridin-holdigt *C. difficile*-amplikon pr. PCR.

Materialer, reagenser og prøver

Medfølgende materialer og reagenser

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveforberedelseskit til cobas® 4800-systemet) 240 test (P/N: 05235782190)	MGP (magnetiske glaspartikler til cobas® 4800-systemet) Magnetiske glaspartikler 93 % isopropanol ^b	10 × 4,5 ml	 FARE H225: Meget brandfarlig væske og damp. H319: Forårsager alvorlig øjenirritation. H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed. P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt. P233: Hold beholderen tæt lukket. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørevern. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P370 + P378: Ved brand: Anvend tørt sand, tørt kemisk eller alkoholbestandigt skum til brandslukning. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Elueringsbuffer til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	I/R

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveforberedelseskit til cobas® 4800-systemet) 960 test (P/N: 05235804190)	MGP (magnetiske glaspartikler til cobas® 4800-systemet) Magnetiske glaspartikler 93 % isopropanol ^b	10 × 13,5 ml	 FARE H225: Meget brandfarlig væske og damp. H319: Forårsager alvorlig øjenirritation. H336: Kan forårsage sløvhed eller svimmelhed. P210: Holdes væk fra varme, varme overflader, gnister, åben ild og andre antændelseskilder. Rygning forbudt. P233: Hold beholderen tæt lukket. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P370 + P378: Ved brand: Anvend tørt sand, tørt kemisk eller alkoholbestandigt skum til brandslukning. 67-63-0 Propan-2-ol
	EB (Elueringsbuffer til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer 0,09 % natriumazid	10 × 18 ml	I/R

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farligt stof.

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 240 test (P/N: 06768253190)	LYS-1 (Lysisbuffer 1 til cobas® 4800-systemet) Natriumcitrat 5 % polidocanol ^b 42,6 % guanidiniumthiocyanat ^b Dithiothreitol ^b	10 × 10 ml	 FARE H302: Farlig ved indtagelse. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. EUH071: Ætsende for luftvejene. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørevern. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol
	PK (Proteinase K til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glycerin	10 × 0,9 ml	 FARE H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Brug beskyttelseshandsker. P284: Anvend åndedrætsværn. P304 + P340: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P342 + P311: Ved luftvejssymptomer: Ring til en GIFTINFORMATION/læge. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i> -serin

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
	SDS (SDS-reagens til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 3 ml	I/R
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 960 test (P/N: 06768270190)	LYS-1 (Lysisbuffer 1 til cobas® 4800-systemet) Natriumcitrat 5 % polidocanol ^b 42,6 % guanidiniumthiocyanat ^b Dithiothreitol ^b	10 × 36 ml	 FARE H302: Farlig ved indtagelse. H314: Forårsager svære ætsninger af huden og øjenskader. H411: Giftig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. EUH032: Udvikler meget giftig gas ved kontakt med syre. EUH071: Ætsende for luftvejene. P273: Undgå udledning til miljøet. P280: Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse/hørevern. P303 + P361 + P353: VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Alt tilsmudset tøj tages straks af. Skyl huden med vand. P304 + P340 + P310: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejrtrækningen lettes. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P305 + P351 + P338 + P310: VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis dette kan gøres let. Fortsæt skylning. Ring omgående til en GIFTINFORMATION/læge. P391: Udslip opsamles. 593-84-0 Guanidiniumthiocyanat 9002-92-0 Polidocanol 3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutan-2,3-diol

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
	PK (Proteinase K til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer EDTA Kalciumklorid Kalciumacetat < 2,0 % proteinase K ^b Glycerin	20 × 1,2 ml	 FARE H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. H334: Kan forårsage allergi- eller astmasymptomer eller åndedrætsbesvær ved indånding. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P280: Brug beskyttelseshandsker. P284: Anvend åndedrætsværn. P304 + P340: VED INDÅNDING: Flyt personen til et sted med frisk luft og sørg for, at vejtrækningen lettes. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P342 + P311: Ved luftvejssymptomer: Ring til en GIFT-INFORMATION/læge. 39450-01-6 Proteinase, <i>Tritirachium album</i>-serin
	SDS (SDS-reagens til cobas® 4800-systemet) Tris-buffer Natriumdodecylsulfat 0,09 % natriumazid	10 × 9 ml	I/R

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farligt stof.

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 240 test (P/N: 05235863190)	WB (Vaskebuffer til cobas® 4800 -systemet) Natriumcitratdihydrat 0,05 % N-methylisothiazolon-HCl**	10 × 55 ml	 ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg. 26172-54-3 2-methyl-2H-isothiazol-3-on-hydrochlorid
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit 960 test (P/N: 05235871190)	WB (Vaskebuffer til cobas® 4800 -systemet) Natriumcitratdihydrat 0,05 % N-methylisothiazolon-HCl**	10 × 200 ml	 ADVARSEL H317: Kan forårsage allergisk hudreaktion. P261: Undgå indånding af tåge eller damp. P272: Tilsmudset arbejdstøj bør ikke fjernes fra arbejdspladsen. P280: Brug beskyttelseshandsker. P333 + P313: Ved hudirritation eller udslæt: Søg lægehjælp. P362 + P364: Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. P501: Indholdet/beholderen bortskaffes til et godkendt affaldsmodtagelsesanlæg. 26172-54-3 2-methyl-2H-isothiazol-3-on-hydrochlorid
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 20 kørsler (P/N: 06768318190)	IC-1 (cobas® 4800 IC-1) Tris-buffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk) 0,05 % natriumazid < 0,01 % ikke-smitsomt syntetisk intern kontrol DNA, indkapslet i Lambda-bakteriofag proteinkappe	20 × 0,5 ml	I/R

Kit/kassetter	Indholdsstoffer i komponenter og reagenser	Antal pr. test	Sikkerhedssymbol og advarsel*
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (Cdiff-amplifikations-/ detektionskit til cobas® 4800) 80 test (P/N: 06768237190)	Cdiff MMX (cobas® Cdiff Master Mix) Tricinbuffer EDTA DMSO Kaliumacetat Kaliumhydroxid Tween 20 < 0,19 % dATP, dCTP, dGTP, dUTP < 0,01 % upstream- og downstream- primere til <i>C. difficile</i> og intern kontrol < 0,01 % fluorescensmærkede <i>C. difficile</i> - og IC-prober < 0,01 % oligonukleotid aptamer < 0,01 % Z05 DNA-polymerase (mikrobiel) < 0,02 % AmpErase-enzym (uracil-N- glycosylase) (mikrobielt) 0,09 % natriumazid	10 × 0,3 ml	I/R
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (Kit med Cdiff-kontroller og -cofaktor til cobas® 4800) 10 kørsler (P/N: 06768300190)	Cdiff (+) C (Cdiff-positiv kontrol til cobas®) Tris-buffer EDTA < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk) 0,05 % natriumazid < 0,01 % ikke-smitsomt plasmid-DNA (mikrobiel) indeholdende <i>C. difficile</i> - sekvens	10 × 0,5 ml	I/R
	(-) C (Negativ kontrol til cobas® 4800 -systemet) Tris-buffer EDTA 0,05 % natriumazid < 0,01 % Poly rA RNA (syntetisk)	10 × 0,5 ml	I/R
	Cofactor-3 (cobas® 4800 cofaktor-3) Manganacetat Magnesiumacetat Bovint serumalbumin fra bovint plasma fremskaffet i USA 0,09 % natriumazid	10 × 1,7 ml	I/R

* Produktsikkerhedsmærkningen følger primært EU GHS-retningslinjerne.

** Biologisk farligt stof.

Reagensopbevaring og -håndtering

Reagens	Opbevarings-temperatur	Opbevaringstid
cobas® 4800 System Sample Preparation Kit (Prøveforberedelseskit til cobas® 4800-systemet)	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Lysis Kit 1 (Lysiskit 1 til cobas® 4800-systemet)	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Internal Control Kit 1 (Kit 1 med intern kontrol til cobas® 4800-systemet)	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit (Cdiff-amplifikations-/detektionskit til cobas® 4800)	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 Cdiff Controls and Cofactor Kit (Kit med Cdiff-kontroller og -cofaktor til cobas® 4800)	2-8 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato
cobas® 4800 System Wash Buffer Kit (Vaskebufferkit til cobas® 4800-systemet)	15-25 °C	Holdbar til den angivne udløbsdato

Bemærk: Reagenser må ikke nedfryses.

Reagensudløbsdatoen er baseret på UTC (Coordinated Universal Time). Den lokale reagensudløbstid kan være forskudt med plus eller minus 12 timer, afhængigt af den lokale tidszone ift. UTC.

Yderligere nødvendige materialer

Materialer	P/N
CORE-spidser, 1000 µl, rack med 96	04639642001
50 ml reagensreservoir	05232732001
200 ml reagensreservoir	05232759001
Ekstraheringsplade (deepwell-plade) til cobas® 4800-systemet	05232716001
AD-plade (microwell-plade) 0,3 ml og forseglingsfilm til cobas® 4800-systemet	05232724001
Hjælpepartel til forseglingsfilm	04900383001
24-positions carrier	04639502001
Pose til fast affald	05530873001 (lille) eller 04691989001 (stor)
Hamilton STAR-plastikslidske	04639669001
cobas® PCR Media and Swab Sample Kit	07051891190
cobas® PCR Media Uni Swab Sample Kit	07958030190
Engangsbeskyttelseshandsker, uden talkum	Alle engangsbeskyttelseshandsker uden talkum kan bruges.
Vortex-mixer (enkelt rør)	Alle vortex-mixere kan bruges.
Centrifuge udstyret med en "swinging bucket"-rotor med minimum RCF på 1500	Alle egnede centrifuger kan bruges.

Ønskes yderligere oplysninger om de materialer, der sælges separat, kontaktes din lokale Roche-repræsentant.

Valgfrie materialer

Materialer	P/N
Forseglingsmåtte eller deepwell-pladedæksel	Roche 04789288001 eller Hamilton 6474-01
Låg, neutral farve (til genlukning af prøver efter kørsel)	Roche P/N 07958056190 til genlukning af prøver efter kørsel i 13 ml rundbundede rør

Ønskes yderligere oplysninger om de valgfrie materialer kontaktes din lokale Roche-repræsentant.

Nødvendige, men ikke medfølgende instrumenter og software

Nødvendige instrumenter og software, ikke medfølgende
cobas® 4800-system cobas® x 480-instrumentet cobas® z 480-analyseinstrumentet Kontrolenhed
cobas® 4800-system cobas® Cdiff AP-softwareversion 1.0.1 eller nyere
cobas® 4800-system applikationssoftware (Core) version 2.2.0 eller nyere

Ønskes yderligere oplysninger om de materialer, der sælges separat, kontaktes din lokale Roche-repræsentant.

Krav til forholdsregler og håndtering

Advarsler og forholdsregler

Som ved alle testprocedurer er det vigtigt med god laboratoriepraksis, for at analysen skal kunne fungere korrekt. På grund af testens høje analytiske sensitivitet skal man være omhyggelig med at undgå, at reagenser, prøver og amplifikationsblandinger kontamineres.

- Kun til *in vitro*-diagnostik.
- Undgå mikrobiel og DNA-kontaminering af reagenser og prøver.
- Der kan rekvireres sikkerhedsdatablade (SDS) ved anmodning til dit lokale Roche-kontor.
- LYS-1-reagens indeholder guanidinthiocyanat. Undgå direkte kontakt mellem guanidinthiocyanat og natriumhypoklorit (blegemiddel) eller andre stærkt reaktive reagenser som syrer eller baser. Disse blandinger kan frigive en giftig gas.
- MGP indeholder isopropanol og er meget brandfarlig. Skal beskyttes mod åben ild og omgivelser, hvor der kan dannes gnister.
- Undgå, at MGP udsættes for kilder med magnetisk felt.
- EB, Cdiff MMX, SDS, Cofactor-3, (-)C, Cdiff (+)C og IC-1 indeholder natriumazid.
- I Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet findes der yderligere advarsler, forholdsregler og procedurer til reduktion af risikoen for kontaminering af **cobas®** x 480-instrumentet eller **cobas®** z 480-analyseinstrumentet. Hvis der er mistanke om kontaminering, skal der udføres rengøring og ugentlig vedligeholdelse som beskrevet i Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet.
- Informer den lokale kompetente myndighed og producent om eventuelle alvorlige hændelser, der kan opstå ved brug af denne analyse.

Bemærk: Se “Indsamling, transport og opbevaring af prøver” for en specifik brugervejledning.

God laboratoriepraksis

- Brug ikke mundpipettering.
- Der må ikke spises, drikkes eller ryges i laboratoriets arbejdsområder.
- Vask hænderne grundigt efter at have håndteret prøver og testreagenser.
- Anvend beskyttelsesbriller, særligt arbejdstøj og engangsbeskyttelseshandsker ved håndtering af alle reagenser. Undgå kontakt med huden, øjnene og slimhinderne. Ved kontakt skylles straks med store mængder vand. Der kan opstå ætsninger, hvis området ikke behandles. Hvis der spildes, skal der fortyndes med vand, før det tørres op.
- Rengør og desinficer alle arbejdsflader i laboratoriet grundigt med blegemiddel fortyndet med deioniseret eller destilleret vand til en 0,5 % opløsning af natriumhypoklorit (fortyndet blegemiddel 1:10). Opløsningen skal være nyfremstillet. Tør overfladen efter med 70 % ethanol.

Kontaminering

- Der skal bæres handsker, og de skal skiftes mellem håndtering af prøver og **cobas**® Cdiff-reagenser for at forhindre kontaminering. Undgå at kontaminere handsker ved håndtering af prøver og kontroller. Anvend beskyttelseshandsker, særligt arbejdstøj og beskyttelsesbriller ved håndtering af prøver og kitreagenser.
- Undgå bakterie- og ribonukleasekontaminering af reagenser.
- Der kan forekomme falsk-positive resultater, hvis krydskontaminering ikke undgås under håndtering af prøver.
- Prøver skal håndteres som smittefarligt materiale i overensstemmelse med forskrifterne for sikkerhed i laboratoriet, f.eks. *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*²⁴ og i CLSI-dokumentet M29-A4.²⁵

Integritet

- Brug ikke kittene efter deres udløbsdato.
- Reagenserne må ikke pooles.
- Anvend ikke engangsartikler efter deres udløbsdato.
- Brug ikke reagenser eller beholdere, der er synligt beskadigede eller udviser tegn på utætheder.
- Alle engangsartikler må kun bruges én gang. De må ikke genbruges.
- Alt udstyr skal vedligeholdes korrekt i henhold til producentens anvisninger.

Bortskaffelse

- **cobas®** 4800-systemets reagenser og **cobas®** Cdiff-testens specifikke reagenser indeholder natriumazid (se "**Advarsler og forholdsregler**"). Natriumazid kan reagere med bly- og kobber-installationer og danne højeksplosive metalazider. Når natriumazidholdige opløsninger hældes ud i laboratorievasken, skal afløbet skylles med store mængder koldt vand for at undgå ophobning af azider.
- Reagenser og affald skal bortskaffes i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale bestemmelser.

Bemærk: Se Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få oplysninger om bortskaffelse af flydende affald.

Spildt materiale og rengøring

- LYS-1-reagens indeholder guanidinthiocyanat. Rengør med egnet laboratorierengøringsmiddel og vand, hvis der spildes væske, som indeholder guanidinthiocyanat. Hvis den spildte væske indeholder potentielt smittefarlige stoffer, skal det berørte område FØRST rengøres med laboratorierengøringsmiddel og derefter med 0,5 % natriumhypoklorit.
- Hvis der spildes materiale på **cobas®** 4800-instrumentet, skal vejledningen i Brugerassistance til **cobas®** 4800 System følges ved rengøring.
- Anvend ikke en opløsning af natriumhypoklorit (blegemiddel) til rengøring af **cobas®** x 480-instrumentet eller **cobas®** z 480-analyseinstrumentet. Rengør **cobas®** x 480-instrumentet eller **cobas®** z 480-analyseinstrumentet i henhold til de procedurer, der er beskrevet i den relevante Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet.

Indsamling, transport og opbevaring af prøver

Bemærk: Alle prøver skal håndteres som potentielt smittefarlige.

Indsamling af prøver

Indsaml fæcesprøver i en steril beholder. Prøver skal indsamles efter den procedure, der er beskrevet i din institutions retningslinjer.

Opbevaring og stabilitet af prøver under transport

Uformede fæcesprøver kan holde sig ved 2-30 °C i mindst 2 dage, eller 2-8 °C i 7 dage samt ved -20 °C i 60 dage før test på **cobas®** 4800-systemet (dette er blevet påvist ved test af prøver, som først blev opbevaret ved 30 °C ±1 °C i 2 dage og derefter ved 2-8 °C i 5 dage, efterfulgt af -20 °C i 60 dage).

Fæcesprøve blandet med **cobas®** PCR-mediet er holdbart ved 2-8 °C i 60 dage eller ved 30 °C i 7 dage før test på **cobas®** 4800-systemet.

Transport af *C. difficile*-prøver skal overholde nationale, regionale og lokale bestemmelser for transport af ætiologiske stoffer.

Testprocedure

Kørsel af testen

Arbejdsgang

Figur 1: cobas® Cdiff-arbejdsgang

1	Start systemet op
2	Udfør instrumentvedligeholdelse
3	Fjern prøver og reagenser fra lagerstedet
4	Start kørsel: • Indsæt carriers med prøver
5	Med LIS: bekræft arbejdsordre Uden LIS: opret arbejdsordre
6	Indsæt forbrugsartikler (deepwell-plade, microwell-plade, rack med spidser) og reagenser
7	Start kørslen af prøveforberedelsen
8	Udtag og forsegl microwell-plade
9	Fjern prøver, brugte reagenser og deepwell-plade
10	Indsæt microwell-pladen i analyseinstrumentet
11	Gennemse resultaterne
12	Med LIS: send resultaterne til LIS
13	Udtag analyseinstrument

Brugsanvisning

Alle reagenser med undtagelse af Cdiff MMX og Cofactor-3 skal have opnået den omgivende temperatur, før de indsættes i cobas® x 480-instrumentet. Cdiff MMX- og Cofactor-3-reagenser kan tages direkte fra opbevaring ved 2-8 °C, da de vil blive tempereret til den omgivende temperatur i cobas® x 480-instrumentet, når de bruges i processen.

Bemærk: Se Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få en detaljeret brugsanvisning.

Kørselsstørrelse

cobas® 4800-systemet er udviklet til at understøtte blandede batchkørsler mellem cobas® MRSA/SA-, cobas® Cdiff- samt cobas® HSV 1- og 2-test. Det generiske prøveforberedelseskit til cobas® 4800-systemet, det generiske System Lysis Kit 1 til cobas® 4800-systemet og det generiske System Wash Buffer Kit til cobas® 4800-systemet er tilgængelige i to kitstørrelser, der hver rækker til 10 kørsler med op til henholdsvis 24 og 96 prøver, der inkluderer kontroller og prøver til alle de analyser, der skal køres. cobas® 4800 Cdiff Amplification/Detection Kit rækker til test af op til henholdsvis 80 prøver, der inkluderer de Cdiff-kontroller og prøver, som skal køres. Der kan bruges flere rør af Cdiff Master Mix-reagenset til cobas® 4800 til én kørsel, så længe de er af samme kitstørrelse. Det generiske Internal Control Kit 1 til cobas® 4800-systemet og Cdiff Controls and Cofactor Kit til cobas® 4800 er tilgængelige i en enkelt kitstørrelse, der passer til alle kørselskonfigurationer. For hver kørsel, der indeholder *C. difficile*-prøver, skal der anvendes én Cdiff-positiv kontrol til cobas® 4800-systemet og én negativ kontrol til cobas® 4800-systemet (se "Kvalitetskontrol"). For en enkelt testkørsel er det tilladte maks. antal prøver 94 prøver og 2 kontroller.

Bemærk: Selvom det ikke er den optimale anvendelse af reagenserne, kan et generisk 96-test-reagens bruges til en kørsel med 1-22 prøver i alt. De forskellige størrelser System Wash Buffer Kit (WB) til cobas® 4800-systemet, Sample Preparation Kit til cobas® 4800-systemet og System Lysis Kit 1 til cobas® 4800-systemet må ikke blandes. Hvis f.eks. en WB-reagensflaske til 96-testen scannes i starten af kørslen, skal der også bruges reagenser med 96-teststørrelse fra de andre to kit.

Arbejdsgang

cobas® Cdiff-testen udføres ved hjælp af den fulde arbejdsgang i **cobas®** 4800-softwaren. Den består af prøveforberedelse på **cobas®** x 480-instrumentet efterfulgt af amplifikation/detektion på **cobas®** z 480-analyseinstrumentet. Kørslen kan være kun Cdiff eller med flere batches med **cobas®** MRSA/SA- og/eller **cobas®** HSV 1- og 2-test. Se Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet for at få flere oplysninger.

Prøveoverførsel til cobas® PCR Media-røret

1. Brug én polyesterpodepind til overførsel af fæces til **cobas®** PCR-medierøret – kassér evt. den anden podepind i pakken. Uden at røre siden af fæcesbeholderen skal sænkes spidsen af podepinden helt ned i fæcesprøven, op til enden af den spidse del, derefter fjern den med det samme og placere den podede prøve i **cobas®** PCR Media-røret. Prøven skal ikke testes, hvis der ikke er nok fæces til at dække hele spidsen af podepinden.
2. Knæk podepindsskafte ved det grå mærke ved at presse mod siden af røret. Bland prøverne i en vortex-mixer i mindst 5 sekunder. Fjern lågene, og placer rørene i en prøvecarrier med 24 positioner til behandling. Kassér lågene.

Bemærk: **cobas®** Cdiff-testen er blevet valideret til brug sammen med **cobas®** PCR Media Kit, **cobas®** PCR Media Uni Swab Sample Kit og **cobas®** PCR Media Dual Swab Sample Kit. Brug ikke andre enheder eller medietyper.

Bemærk: Brug kun én polyesterpodepind til overførsel af fæces. For meget fæces overført til **cobas®** PCR Media-røret kan medføre klumper og/eller invalide resultater.

Bemærk: Fæcesprøver skal overføres til **cobas®** PCR Media-rør, der er mærket med en korrekt stregkode til behandling på **cobas®** x 480-instrumentet. Se Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet for at få oplysninger om korrekt stregkodning og en liste over acceptable stregkoder til **cobas®** 4800-systemet.

Bemærk: For at undgå krydskontaminering med fæcesprøveopløsninger i **cobas®** PCR Media skal der anvendes ekstra låg til **cobas®** PCR Media-beholderen med en anden farve (neutral; se "Valgfrie materialer") til genlukning af prøverne efter behandlingen.

Bemærk: **cobas®** PCR Media indeholder tilstrækkelig volumen til, at fæcesopløsningen kan analyseres flere gange i **cobas®** 4800-systemet. Den mindste volumen af fæcesopløsning til udførelse af en **cobas®** Cdiff-kørsel er 3 ml i **cobas®** PCR Media-røret.

Udførelse af cobas® Cdiff-test

Bemærk: Der kan foretages kørsler af flere batches af **cobas®** MRSA/SA- og **cobas®** Cdiff- og/eller **cobas®** HSV 1- og 2-test. Se Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet for at få flere oplysninger.

1. Udfør systemets opstarts- og vedligeholdelsesprocedurer ved at følge vejledningen i Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet.

2. Indsaml alle nødvendige reagenser og forbrugsartikler. Reagenser skal have opnået stuetemperatur, før kørslen startes, med undtagelse af **cobas®** Cdiff MMX- og Cofactor-3-reagenser.

Bemærk: Alle reagenser og reagensreservoirs er stregkodet og beregnet til engangsbrug. cobas® 4800-softwaren sporer brugen af reagenser og reagensreservoirs og afviser reagenser eller reagensreservoirs, der tidligere har været brugt.

3. Start en ny kørsel, og definer arbejdsordren for kørslen. Der er tre måder at oprette en arbejdsordre på:
- Ved at bruge prøveeditoren før prøverack'et indsættes i **cobas®** x 480-instrumentet (knappen "Editor" i højre side af hovedmenuen). Arbejdsordrer kan om nødvendigt gemmes, redigeres og genindlæses.
 - Ved at følge softwareguiden for den nye kørsel og indlæse prøveoplysningerne i **cobas®** x 480-instrumentet, når der gives besked om dette. Prøvestregkoderne scannes automatisk, og de påkrævede resultater for hver prøve skal defineres.
 - Ved brug af din institutions LIS-system.

Se Brugerassistance til **cobas®** 4800-systemet for at få flere oplysninger. Når man vælger de ønskede resultater, skal man markere "Cdiff".

4. Indlæs prøver, og definer/vælg arbejdsordre, eller brug LIS, efter behov. Indstillingen "Unload sample carriers after transferring to deep well plate" er valgt som standard. Dette giver brugeren mulighed for at hente de resterende fæcesprøver så hurtigt som muligt, efter at de er alikvoteret til behandling i **cobas®** x 480-instrumentet. Der skal sættes låg på beholderne med fæcesopløsninger igen med frisk lukning (se "**Valgfrie materialer**"), hvis der er brug for opbevaring.
5. Følg softwareguiden, og indsæt forbrugsartikler. Indsæt eller fjern ikke individuelle spidser i et delvist brugt rack med spidser, da softwaren registrerer det tilbageværende antal spidser. Hvis der ikke er nok spidser til, at kørslen kan udføres, giver softwaren brugeren besked.
6. Indsæt prøveforberedelsesreagenserne i de stregkodede reagensreservoirs. Reagensreservoirsne fås i to størrelser: 200 ml og 50 ml. Følg softwareguiden for at vælge den korrekte reagensreservoirsstørrelse. Stregkoderne på reagensreservoirs skal vende mod højre side af carrien. Brug metoden "scan-scan-hæld-placér" til at indsætte prøveforberedelsesreagenser:
- Scan stregkoden på reagensflasken
 - Scan stregkoden på reagensreservoirs
 - Hæld reagensen i reservoirs
 - Placér det fyldte reagensreservoir i den angivne position i reagens-carrien

Bemærk: cobas® 4800-systemet har et internt ur, der overvåger, hvor længe reagenserne er indsat. Når WB er scannet, har man 1 time til at fuldføre isætningsprocessen og trykke på knappen "Start". Der vises et nedtællingsur på fanen "Workplace". Systemet tillader ikke, at kørslen går i gang, hvis isætningstiden er udløbet.

Bemærk: Bland MGP-røret på vortex-mixer, eller ryst det grundigt straks inden, det tilsættes reagensreservoirs, for at sikre en nøjagtig overførsel af MGP.

7. Indsæt amplifikations-/detektionsreagenser (Cdiff MMX og Cofactor-3), Proteinase K (PK), og kontroller [Cdiff (+) C, IC og (-) C] direkte på reagenscarrien. For at forhindre kontaminering skal der skiftes handsker efter håndteringen af positive kontroller.

Bemærk: Softwareguiden beregner det optimale antal og størrelsen af det cobas® Cdiff MMX-reagens, der skal bruges. Dette afspejles i kolonnen "Kit size" på indsætningsskærmene for MMX og cofaktor. For at bruge en anden størrelse cobas® Cdiff MMX-reagens skal man klikke på knappen "Change kit size".

8. Start prøveforberedelse ved at klikke på "Start Run".
9. Efter en succesfuld kørsel af prøveforberedelsen bliver knappen "Sample Preparation results" og knappen "Unload" tilgængelige. Vælg om ønsket knappen "Sample Preparation results" for at gennemse resultaterne, og vælg derefter "Unload" for at udtage pladecarrierne. Man kan også vælge "Unload" for at udtage pladecarrieren uden at gennemse resultaterne. Se Brugerassistance til **cobas**® 4800-systemet.
10. Følg vejledningen i Brugerassistance til **cobas**® 4800-systemet for at forsegle microwell-pladen, transportere pladen til **cobas**® z 480-analyseinstrumentet og starte amplifikations- og detektionskørslen.

Bemærk: cobas® 4800-systemet har et internt ur, der overvåger tiden fra tilsætningen af de forberedte prøver til aktivering af Master Mix. Amplifikation og detektion skal startes så hurtigt som muligt og ikke senere end 90 minutter efter, at cobas® x 480-instrumentkørslen er afsluttet. Der vises et nedtællingsur på fanen "Workplace". Systemet afbryder kørslen, hvis timeren er udløbet.

11. Tag microwell-pladen ud af **cobas**® z 480-analyseinstrumentet, når amplifikations- og detektionskørslen er fuldført.
12. Følg vejledningen i Brugerassistance til **cobas**® 4800-systemet for at gennemse og godkende resultater.

Resultater

Kvalitetskontrol og validitet af resultater

Der er inkluderet et sæt positive og negative kontroller i hver kørsel for **cobas**® Cdiff-testen. For en kørsel skal der opnås valide resultater for både positive og negative kontroller, for at **cobas**® 4800-softwaren kan vise de brugbare **cobas**® Cdiff-testresultater fra den pågældende kørsel.

Positiv kontrol

Cdiff (+)-kontrollen indeholder ikke-infektiose DNA-plasmider af *C. difficile*. Cdiff (+)-kontrollen overvåger trinnene for ekstraktion af nukleinsyrer, amplifikation og detektion i en given testkørsel. Resultatet af Cdiff (+)-kontrollen skal være "Valid". Hvis resultaterne af Cdiff (+)-kontrollen konstant er invalide, skal kontaktes Roche for at få teknisk hjælp.

Negativ kontrol

Resultatet af (-)-kontrollen skal være "Valid". Hvis resultaterne af (-)-kontrollen konstant er invalide, skal Roche kontaktes for at få teknisk hjælp.

Intern kontrol

Den interne kontrol består af rekombinant bakteriofag lambda, som indeholder randomiserede sekvenser og targets for intern kontrol-specifikke primere og en probe. Den interne kontrol føjes til alle prøver og de positive og negative kontroller under prøveforberedelsen på **cobas**® x 480-instrumentet. Den interne kontrol overvåger trinnene for ekstraktion af nukleinsyrer, amplifikation og detektion for en given prøve. Den interne kontrol er også påkrævet til validering af kørselskontroller.

Fortolkning af resultater

Bemærk: Al validering af analyser og kørsler foretages af cobas® 4800-softwaren.

Bemærk: En valid kørsel kan indeholde både valide og invalide prøveresultater.

Hvis kørslen er valid, skal prøveresultaterne fortolkes som vist i Tabel 1.

Tabel 1 Fortolkning af resultater fra cobas® Cdiff-testen

cobas® Cdiff-test	Resultatrapport og -fortolkning
POS Cdiff	Cdiff-positiv Prøven er positiv for tilstedeværelsen af <i>C. difficile</i> -DNA.
NEG Cdiff	Cdiff-negativ* <i>C. difficile</i> -DNA blev ikke påvist, hvis det var til stede.
Invalid	Invalid Resultatet er invalid. Den oprindelige prøve skal analyseres igen for at få invalide resultater. Sæt et nyt låg på det rør, der indeholder fæcesopløsningen med et invalidt resultat, og bland det i en vortex-mixer i mindst 5 sekunder. Tilføj 0,5 ml af den blandede fæcesopløsning til et nyt cobas® PCR Media-rør med mediet. Sæt låg på røret med den fortyndede opløsning, og bland den i en vortex-mixer i mindst 5 sekunder. Fjern låget, og placer det fortyndede rør i en prøvecarrier med 24 positioner med henblik på behandling.
Failed	Der er intet resultat for prøven Se Brugerassistance til cobas® 4800-systemet for at få oplysninger om gennemsyn af kørselsmarkeringer og anbefalede handlinger. Når der i sjældne tilfælde opstår pipetteringsfejl (f.eks. en prop eller anden tilstopning), skal den oprindelige fæcesprøveopløsning lukkes med et nyt låg og placeres i en centrifuge. Accelerer til 1800 RCF (eller 1800 × g), og stop derefter. Sørg for, at flasken ikke rystes eller blandes efter centrifugeringen. Fjern låget, og placer røret i en prøvecarrier med 24 positioner med henblik på behandling.

*Et negativt resultat udelukker ikke tilstedeværelsen af *C. difficile*-DNA, da resultaterne afhænger af tilstrækkelig prøveindsamling, fravær af inhibitorer og tilstrækkeligt med DNA, før der kan foretages en detektion.

Der kan forekomme invalide resultater, hvis prøven indeholder for meget fæces eller hæmmende stoffer, der forhindrer nukleinsyretarget-ekstraktion og/eller -amplifikation og -detektion. Se "**Begrænsninger ved procedurerne**" for oplysninger om kendte interferensstoffer.

Bemærk: Den krævede minimumsvolumen af fæcesopløsning til cobas® Cdiff-testen er 3 ml.

Liste over resultatflag

Den følgende tabel viser de flag, som er relevante for fortolkning af resultatet.

Tabel 2 Liste over flag for cobas® Cdiff-testen

cobas® Cdiff-test	cobas® Cdiff-test	Resultatrapport og -fortolkning
R20	Den positive kontrol er invalid.	En ekstern kontrol er invalid. 1. Gentag hele kørslen med friske reagenser. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
R21	Den negative kontrol er invalid.	En ekstern kontrol er invalid. 1. Gentag hele kørslen med friske reagenser. 2. Kontakt Roche Service, hvis problemet fortsætter.
X3	Fejl: Der blev detekteret clotdannelse. Prøven blev ikke behandlet.	Sørg for, at prøverne blev håndteret i henhold til beskrivelsen af arbejdsgangen. 1. Kontrollér prøven for clotdannelser. 2. Kør prøven igen.
X4	Fejl: Der opstod en pipetteringsfejl. Prøven blev ikke behandlet.	Utilstrækkelig prøvevolumen eller en mekanisk fejl under pipettering er den mest sandsynlige årsag. 1. Sørg for, at der er tilstrækkelig prøvevolumen. 2. Kontrollér, om spidsudskydningspladen er placeret korrekt. 3. Kør prøven igen.

Begrænsninger ved procedurerne

1. **cobas**® Cdiff-testen er kun blevet godkendt til brug sammen med uformede fæcesprøver, der er blevet overført til **cobas**® PCR Media i henhold til denne brugervejledning.
2. Pålidelige resultater er afhængige af korrekte procedurer for prøvetagning, transport, opbevaring og processering. Følg procedurerne i denne brugervejledning (også kaldet et pakningsindlæg) og Brugerassistance til **cobas**® 4800-systemet.
3. Detektion af *C. difficile*-DNA afhænger af, hvor mange organismer der er i prøven, og kan påvirkes af prøveindsamlingen/behandlingsmetoder, indlæggelseshistorik, antibiotisk behandlingsregime og *C. difficile*-stammer.
4. Falsk-negative eller invalide resultater kan forekomme pga. interferens fra forskellige stoffer. Den interne kontrol er inkluderet i **cobas**® Cdiff-testen for at hjælpe med at identificere de prøver, der indeholder stoffer, som kan påvirke isolering af nukleinsyrer og PCR-amplifikation. Kendte interferenser kan omfatte, men er ikke begrænset til, følgende:
 - Prøver, der indeholder mere end 25 % (w/v) mucin, kan give falsk-negative resultater.
5. Et positivt resultat indikerer tilstedeværelsen af *C. difficile*-DNA og ikke nødvendigvis levedygtige organismer. Et positivt resultat betyder derfor ikke nødvendigvis fejl ved eradikationsbehandlingen.
6. Mutationer eller polymorfier i primer- eller probe-bindingsområder kan påvirke detektionen af nye eller ukendte varianter, hvilket giver et falsk negativt resultat med **cobas**® Cdiff-testen.
7. Den prædiktive værdi af en analyse afhænger af forekomsten af sygdommen i en bestemt population.
8. Tilsætningen af AmpErase-enzym til **cobas**® 4800 Cdiff Master Mix aktiverer den selektive amplifikation af target-DNA. Kontaminering af reagenser og amplifikationsblandinger kan dog kun undgås med god laboratoriepraksis og nøje overholdelse af de procedurer, der er angivet i denne brugervejledning.
9. Dette produkt må kun anvendes af medarbejdere, som er uddannet i brugen af PCR-teknikker og brugen af **cobas**® 4800-systemet.
10. Kun **cobas**® x 480-instrumentet og **cobas**® z 480-analyseinstrumentet er godkendt til brug sammen med dette produkt. Ingen andre prøveforberedelsesinstrumenter eller PCR-systemer må bruges sammen med dette produkt.
11. På grund af naturlige forskelle mellem teknologier anbefales det, at brugeren udfører metode-korrelationsundersøgelser i laboratoriet for at identificere teknologiske forskelle og godkender den nye procedure, før der skiftes fra en teknologi til en anden. Man skal ikke forvente 100 procent overensstemmelse mellem resultaterne på grund af de ovennævnte forskelle mellem teknologierne.
12. Krydskontaminering kan forårsage falsk-positive resultater. **cobas**® 4800-systemet er et instrument til automatisk real-time PCR og er designet til at minimere risikoen for krydskontaminering under prøvebehandling, ekstrahering af nukleinsyrer, amplifikation og detektion. For at afprøve systemets robusthed er der blevet udført en ikke-klinisk checkerboard-undersøgelse på et panel af skiftevist høje positive og negative prøver for at vurdere systemets teoretiske krydskontamineringsforhold. De høje positive prøver havde Ct-værdier tidligere, end hvad ville være observeret hos 95 % af de inficerede patienter i den tiltænkte anvendelsespopulation. Krydskontamineringsforholdet i denne checkerboard-undersøgelse blev fastlagt til at være 0,24 % (1/423). Krydskontamineringsforholdene i de kliniske omgivelser afhænger af andelen af høje positive prøver og forekomsten af sygdom. De kliniske krydskontamineringsforhold i rutinen forventes at være betydeligt lavere end dem, der blev observeret i denne undersøgelse, og skal vurderes i brugerens miljø.

Evaluering af ikke-klinisk performance

Analytisk sensitivitet

Den analytiske sensitivitet (detektionsgrænsen eller LOD) for **cobas**® Cdiff-testen blev bestemt ved at analysere kvantificerede *C. difficile*-dyrkninger, der var fortyndet til flere koncentrationsniveauer i en negativ fæcesopløsning i **cobas**® PCR Media. Alle niveauer blev testet ved hjælp af **cobas**® Cdiff-testen på tre unikke lot af **cobas**® Cdiff-testreagenser. Mindst 21 bestemmelser pr. reagenslot blev testet ved hvert niveau. Detektionsgrænsen for denne test defineres som den targetkoncentration, der kan detekteres som positiv ved ≥ 95 % af de testede bestemmelser baseret på resultater, der er genereret af reagenslot med det dårligste resultat.

De syv *C. difficile*-stammer, der blev testet i den analytiske sensitivitetsundersøgelse, er vist i Tabel 3.

Tabel 3 Detektionsgrænsen for **cobas**® Cdiff-test

Stamme-id	Toksinotype	REA*-type	PFG†-type	Ribotype	Fænotype	Detektionsgrænse (CFU/podeprøve)	
						Efter positivrate	Efter Probit-analyse
ATCC 43255 (VPI 10463)	0	Ikke relevant	Ikke relevant	087	A+B+CDT-	113	90
ATCC BAA-1382 (630)	0	R 23	Ikke relevant	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	Ikke relevant	Ikke relevant	078	Ikke relevant	54	45
ATCC 43598 (1470)	VIII	Ikke relevant	Ikke relevant	017	A-B+	225	130
F15	XII	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant	54	59

*Restriktionsendonucleaseanalyse; †pulsfelt-gel

Detektion af *C. difficile*-genotyper

Detektionsgrænsen for **cobas**® Cdiff-testen på 28 toksigene stammer, der repræsenterer yderligere toksinotyper, blev verificeret ved test af 40 prøver pr. niveau ved flere niveauer. Fortyndinger og test af prøverne blev forberedt på samme måde som ved den undersøgelse af detektionsgrænsen, der er beskrevet ovenfor. Der vises en oversigt over det laveste niveau, der havde en observeret hit rate på mindst 95 %, i Tabel 4.

Alle 28 toksigene stammer (Tabel 4) blev påvist som positive i ≥ 95 % af de bestemmelser, der blev testet ved koncentrationer fra 77,9 CFU/podeprøve til 460 CFU/podeprøve.

Tabel 4 Oversigt over resultater af toksigen *C. difficile*-bekræftelse

Stamme	Toksinotype	Ribotype	Konc. (CFU/podeprøve)	Positivitetsprocent
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 %

Tabel 4 Oversigt over resultater af toksigen *C. difficile*-bekræftelse (fortsat)

Stamme	Toksinotype	Ribotype	Konc. (CFU/podeprøve)	Positivitetsprocent
51377	VI	Ikke relevant	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	Ikke relevant	460	97,5 %
K095	XVIII	014	234	95,0 %
TR13	XIX	Ikke relevant	234	97,5 %
TR14	XX	Ikke relevant	77,9	100,0 %
CH6223	XXI	Ikke relevant	234	100,0 %
CD07-468	XXII	Ikke relevant	234	100,0 %
8785	XXIII	Ikke relevant	234	95,0 %
597B	XXIV	131	234	97,5 %
7325	XXV	027	234	100,0 %
7459	XXVI	Ikke relevant	234	95,0 %
KK2443-2006	XXVII	Ikke relevant	234	100,0 %
CD08-070	XXVIII	126	234	97,5 %
CD07-140	XXIX	056	234	97,5 %
ES 130	XXX	Ikke relevant	234	100,0 %
WA 151	XXXI	Ikke relevant	460	100,0 %

Præcision

En in-house-præcisionsundersøgelse blev udført ved hjælp af et panel bestående af *C. difficile*-dyrkninger fortyndet i negativ fæcesopløsning i **cobas**® PCR Media til koncentrationsniveauer under detektionsgrænsen (LOD), tæt på LOD og over LOD for **cobas**® Cdiff-testen. Et negativt niveau af fæcesopløsningen alene i **cobas**® PCR Media blev også testet. Undersøgelsen brugte tre unikke lot af **cobas**® Cdiff-testreagenser og tre instrumenter til i alt 36 kørsler over 12 dage. I Tabel 5 vises en beskrivelse af præcisionspanelerne og undersøgelsesoversigten. En analyse af varianskomponenterne (Tabel 6) indikerede, at den største variation af target Ct-værdier skyldtes intra-serielle (vilkårlige) og lot-til-lot-faktorer (hhv. 60,0 % og 25,3 %) for et koncentrationsniveau på eller i nærheden af LOD. Ved et koncentrationsniveau på mere end LOD skyldtes den største variation i Ct-værdierne intra-serielle (vilkårlige) og instrument-til-instrument-faktorer (hhv. 72,5 % og 24,7 %). Resultaterne (Tabel 7) viste, at target Ct-værdierne havde et overordnet CV (%) på 1,5 % for et koncentrationsniveau på LOD og 1,1 % for et koncentrationsniveau over LOD.

Tabel 5 Analyse af positivitetsprocenten for in-house-præcisionsundersøgelse

Panelmedlem	Ant. testet	N positive	Positivitetsprocent	95 % CL	
				Nedre	Øvre
Negativ	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 = detektionsgrænse

Tabel 6 Analyse af varianskomponenter for præcisionspanelmedlemmer

Niveau	Gennemsnit	Varianskomponenter/procentvis bidrag til total					I alt
		Lot	Instrument	Kitstørrelse	Dag	Tilfældig	
~ 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 = detektionsgrænse

Tabel 7 Analyse af standardafvigelser og variationskoefficient (%) for præcisionspanelmedlemmer

Niveau	Gennemsnit	SD-komponenter/CV (%)					I alt
		Lot	Instrument	Kitstørrelse	Dag	Tilfældig	
~ 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 = detektionsgrænse

Analytisk specificitet

For at vurdere den analytiske specificitet for **cobas**® Cdiff-testen blev følgende organismepaneller testet:

- 1) 103 bakterier, svampe og vira, der kan findes i fæcesprøver, og én human celle (Tabel 8);
- 2) 28 *Clostridiaceae*-genus organismer, herunder ikke-toksigen *C. difficile* (* cytomegalovirus (HHV5), blev tilsat ved $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, human adenovirus type 40 ved $2,2 \times 10^3$ PFU/ml og human rotavirus ved $9,8 \times 10^3$ PFU/ml til test; Tabel 9).

Alle bakterier og humane celler blev beriget til 1×10^6 enheder*/ml, og alle vira blev beriget til 1×10^5 enheder*/ml, med undtagelse af cytomegalovirus (HHV5), human adenovirus type 40 og human rotavirus, som blev beriget til lavere koncentrationer som følge af stammekonzentrationsbegrænsninger. Testen blev udført med organismerne alene eller med to *C. difficile*-isolater til stede enkeltvist ved 3 x detektionsgrænsen (LOD) for **cobas**® Cdiff-testen. Resultaterne indikerede, at ingen af disse organismer interfererede med detektionen af de tilsigtede Cdiff-targets. Ingen genererede falsk-positive resultater, når der ikke var noget tilsigtet *C. difficile*-target til stede.

Den analytiske specificitet for *Clostridium botulinum* blev bekræftet ved hjælp af programmet BLAST ift. GenBank-nukleotidsekvensdatabasen til efterligning af PCR-amplikon-genereringstrinnet.

* Bakterier blev kvantificeret som CFU/ml (Colony Forming Units), human celle blev kvantificeret som celler/ml, og vira blev kvantificeret som PFU/ml (Plaque Forming Units), med undtagelse af følgende mikroorganismer. *Chlamydia trachomatis* blev kvantificeret som EB/ml (Elementary Body). Cytomegalovirus, human echovirus og human enterovirus blev kvantificeret som IU/ml.

Tabel 8 Mikroorganismer og humane celler

<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>Aeromonas hydrophila</i>	<i>Alcaligenes faecalis</i> subsp. <i>faecalis</i>	<i>Anaerococcus tetradius</i>
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 13472	<i>Bacteroides caccae</i>
<i>Bacteroides merdae</i>	<i>Bacteroides stercoris</i>	<i>Bifidobacterium adolescentis</i>
<i>Bifidobacterium longum</i>	<i>Campylobacter coli</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida catenulata</i>	<i>Cedecea davisae</i>
<i>Chlamydia trachomatis</i> serotype L2	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>
<i>Citrobacter koseri</i>	<i>Citrobacter sedlakii</i>	<i>Collinsella aerofaciens</i>
<i>Corynebacterium genitalium</i>	<i>Desulfovibrio piger</i>	<i>Edwardsiella tarda</i>
<i>Eggerthella lenta</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>
<i>Enterococcus casseliflavus</i>	<i>Enterococcus cecorum</i>	<i>Enterococcus dispar</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i> vanA	<i>Enterococcus gallinarum</i> vanC
<i>Enterococcus hirae</i>	<i>Enterococcus raffinosus</i>	<i>Escherichia coli</i> ATCC 11775
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Escherichia fergusonii</i>	<i>Escherichia hermannii</i>
<i>Fusobacterium varium</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Gemella morbillorum</i>
<i>Hafnia alvei</i>	<i>Humane HCT-15-celler</i>	<i>Helicobacter fennelliae</i>
<i>Helicobacter pylori</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp. <i>pneumoniae</i>
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	<i>Lactobacillus reuteri</i>	<i>Lactococcus lactis</i>
<i>Leminorella grimontii</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Listeria innocua</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Mitsuokella multacida</i>	<i>Mobiluncus curtisii</i>
<i>Moellerella wisconsensis</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>
<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Plesiomonas shigelloides</i>
<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
<i>Proteus penneri</i>	<i>Providencia alcalifaciens</i>	<i>Providencia rettgeri</i>
<i>Providencia stuartii</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas putida</i>
<i>Ruminococcus bromii</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>choleraesuis</i>	<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>arizonae</i> (f.k.a. <i>Salmonella choleraesuis</i> subsp. <i>arizonae</i>)
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar <i>Choleraesuis</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Shigella boydii</i>	<i>Shigella dysenteriae</i>	<i>Shigella sonnei</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Streptococcus intermedius</i>
<i>Streptococcus uberis</i>	<i>Trabulsiella guamensis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Vibrio parahaemolyticus</i>	<i>Yersinia bercovieri</i>
<i>Yersinia rohdei</i>	Cytomegalovirus (HHV5)*	Human adenovirus type 40*
Human coxsackievirus A10	Human enterovirus 11	Human enterovirus 71
Human rotavirus*	Norovirus GII	-

* Cytomegalovirus (HHV5) blev tilsat ved $2,0 \times 10^3$ PFU/ml, human adenovirus type 40 ved $2,2 \times 10^3$ PFU/ml og human rotavirus ved $9,8 \times 10^3$ PFU/ml til test.

Tabel 9 Clostridiaceae-genus organismer, herunder ikke-toksigen *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> serotype B (ikke-toksigen)	<i>Clostridioides difficile</i> serotype I (ikke-toksigen)	<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> (omdøbt <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>	-	-

* Baseret på BLAST-program.

Interferens

26 almindeligt anvendte medikamenter, samt fækalt fedt, fuldblod og mucin, blev testet for potentiel interferens med **cobas**® Cdiff-testen. Alle stoffer blev testet på niveauer over, hvad der rimeligvis kan forventes at blive indsamlet med en podepind ved en fæcesprøve. Mængden af stoffer med interferens udtrykkes som koncentrationen i den primære fæcesprøve. To *C. difficile*-isolater blev beriget til 3 x **cobas**® Cdiff-testens detektionsgrænse (LOD) og brugt som targets ved testene. Der blev ikke observeret nogen interferens for eksogene stoffer. For fækalt fedt blev der ikke observeret nogen interferens op til 28 %, for fuldblod blev der ikke observeret nogen interferens op til 50 %, og for mucin blev der ikke observeret nogen interferens op til 25 %. Disse resultater er opsummeret i Tabel 10.

Tabel 10 Resultater af test for interferensstoffer

Stof	Koncentration	Resultater
Fækalt fedt	4 ~ 28 % (w/v)	Ingen interferens
Fuldblod	25, 50 % (v/v)	Ingen interferens
Mucin	25, 50 % (w/v)	Ingen interferens op til 25 % (w/v)
Tums	10 % (w/v)	Ingen interferens
Vancomycin	1 % (w/v)	Ingen interferens
Metronidazol	10 % (w/v)	Ingen interferens
Imodium AD®	10 % (w/v)	Ingen interferens
Blødgører til fæces	10 % (w/v)	Ingen interferens
Pepto-Bismol® (Procter & Gamble)	10 % (v/v)	Ingen interferens
Nystatin salve USP	10 % (w/v)	Ingen interferens
Preparation H® med Bio-Dyne® creme (Wyeth)	10 % (w/v)	Ingen interferens
GYNOL II	10 % (w/v)	Ingen interferens
Vagisil® kløestillende creme	10 % (w/v)	Ingen interferens
Anusol® Plus	10 % (w/v)	Ingen interferens
Solcreme	1 % (w/v)	Ingen interferens
Monistat® 7	10 % (w/v)	Ingen interferens
Vaseline™	10 % (w/v)	Ingen interferens
SAB-Dimenhydrinate® suppositorier (SABEX®)	10 % (w/v)	Ingen interferens
Mineralolie	10 % (v/v)	Ingen interferens
Equate Natural Vegetable Laxative	10 % (w/v)	Ingen interferens
Dulcolax®	10 % (w/v)	Ingen interferens
Fleet® (CB Fleet Company)	10 % (w/v)	Ingen interferens
K-Y Jelly/Gelée® (McNeil-PPC)	1 % (w/v)	Ingen interferens
Afrin Original næsespray	10 % (v/v)	Ingen interferens
Troldnød	Flydende fra 1 aftøring/podepind	Ingen interferens
E-Z-HD™-bariumsulfat med høj massefylde til opløsning (E-Z-EM Canada)	20 % (w/v)	Ingen interferens
Palmitinsyre	10 % (w/v)	Ingen interferens
Stearinsyre	10 % (w/v)	Ingen interferens
Aleve	10 % (w/v)	Ingen interferens

Klinisk performance ved brug af kliniske prøver

cobas® Cdiff-testens performance blev sammenlignet med en avanceret FDA-godkendt og CE-mærket komparator-NAT ved hjælp af cytotoxicitetstest ved vævskultur på *C. difficile*-isolater fra direkte dyrkning som referencemetode. Fæcesprøve indsamlet på 3 hospitaler/medicinske centre blev testet med **cobas®** Cdiff-test og komparator-NAT og sendt til et referencelaboratorium til cytotoxicitetstest ved brug af vævskulturer.

cobas® Cdiff-testen og den avancerede komparator-NAT-test blev udført i henhold til producentens instruktioner. Cytotoxicitetstest ved brug af vævskulturer blev udført ved hjælp af direkte dyrkning. Hver fæcesprøve blev podet i en på forhånd reduceret agarplade med CCFA-HT (cycloserin-cefoxitin-fruktose). Mistænkte kolonier blev identificeret som *C. difficile* ved hjælp af gramfarvning, aero-intolerans samt Pro-Disk-test og podet i et anaerobt medium. Supernatanter fra et anaerobt medium blev derefter behandlet med henblik på detektion *C. difficile* toksin B ved hjælp af cytotoxicitetstest ved brug af vævskulturer (*C. DIFFICILE* TOX-B-test, Techlab).

I alt 1.434 forsøgspersoner deltog på fem centre. 156 forsøgspersoner blev udelukket på grund af ufuldstændige resultater. Der var 152 *C. difficile*-positive prøver ved direkte dyrkning (forekomst: 11,9 %).

cobas® Cdiff-testens og komparator-NAT-analysens performance sammenlignet med direkte dyrkning er vist i Tabel 11 og Tabel 12.

Tabel 11 **cobas®** Cdiff-test sammenlignet med direkte dyrkning

		Direkte dyrkning		
		Positiv	Negativ	I alt
cobas® Cdiff-test	Positiv	147	30	177
	Negativ	5	1.096	1.101
	I alt	152	1.126	1.278

Sensitivitet og specificitet

Sensitiviteten og specificiteten i **cobas®** Cdiff-testen i forhold til direkte dyrkning er henholdsvis 96,7 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 92,5-98,6 %) og 97,3 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 96,2-98,1 %).

Positiv og negativ prædiktiv værdi

Observerede positive og negative prædiktive værdier af **cobas**® Cdiff-testen til undersøgelsesprøver er henholdsvis 83,1 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 76,7-88,3 %) og 99,5 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 98,9-99,9 %).

Tabel 12 Komparator-NAT (Nucleic Acid Test) sammenlignet med direkte dyrkning

		Direkte dyrkning		
		Positiv	Negativ	I alt
Komparator-NAT	Positiv	147	29	176
	Negativ	5	1.097	1.102
	I alt	152	1.126	1.278

Sensitivitet og specificitet

Sensitiviteten og specificiteten i komparator-NAT i forhold til direkte dyrkning er henholdsvis 96,7 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 92,5-98,6 %) og 97,4 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 96,3-98,2 %).

Korrelation til komparator-NAT

cobas® Cdiff-testens performance ved direkte sammenligning med en avanceret FDA-godkendt og CE-mærket komparator-NAT er vist i Tabel 13.

Tabel 13 **cobas**® Cdiff-test sammenlignet med komparator-NAT (Nucleic Acid Test)

		Komparator-NAT		
		Positiv	Negativ	I alt
cobas® Cdiff-test	Positiv	167	10	177
	Negativ	9	1.092	1.101
	I alt	176	1.102	1.278

Positiv og negativ procentoverensstemmelse

Positiv og negativ procentoverensstemmelse i **cobas**® Cdiff-testen i forhold til komparator-NAT er henholdsvis 94,9 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 90,6-97,3 %) og 99,1 % (95 % øvre og nedre konfidensgrænse: 98,3-99,5 %).

Yderligere oplysninger

Vigtige analysefunktioner

Prøvetype	Uformede fæcesprøver
Påkrævet prøvemængde	4,3 ml cobas ® PCR Media i den primære flaske, der kræves mindst 3 ml til en cobas ® Cdiff-test.
Testvarighed	Resultaterne er tilgængelige inden for 2,5 timer efter indsætning af prøven på systemet (1-22 prøver).
Analytisk sensitivitet	Fra 54 til 460 CFU/podeprøve, afhængigt af isolat.
Specificitet	Ingen krydsreaktivitet med 125 nært beslægtede organismer eller organismer, der typisk findes i fæcesprøver.
Inklusivitet	Alle kendte <i>C. difficile</i> (toksinotyper 0 ~ XXXI, med undtagelse af ikke-toksogene toksinotyper XI), herunder BI/ NAP1/027 hypervirulent epidemisk stamme.

Symboler

Følgende symboler anvendes ved Roche PCR-diagnostiske produkter.

Tabel 14 Symboler, der er anvendt ved Roche PCR-diagnostiske produkter

Age/DOB Alder eller fødselsdato	 Udstyr, der ikke er til patientnær test	QS IE pr. PCR-reaktion. Brug QS internationale enheder (IE) pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.
 Hjælpesoftware	 Udstyr, der ikke er til selvtest	QS IU/PCR
Assigned Range [copies/mL] Tildelt interval (kopier/mL)	 Distributør (Bemærk! Gældende land/region kan være angivet under symbolet.)	SN Serienummer
Assigned Range [IU/mL] Tildelt interval (IE/mL)	 Må ikke genbruges	Site Sted
EC REP Autoriseret repræsentant i EF	 Kvinder	Procedure Standard Standardprocedure
BARCODE Barkodedataark	 Kun til evaluering af IVD-performance	STERILE EO Steriliseret med ethylenoxid
LOT Batchkode	GTIN Global Trade Item Number	 Opbevares mørkt
 Biologisk fare	 Importør	 Temperaturbegrænsning
REF Katalognummer	IVD Medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	 Testdefinitionsfil
 CE-overensstemmelsesmærkning: Denne enhed stemmer overens med de gældende krav for CE-mærkning af medicinsk udstyr til <i>in vitro</i> -diagnostik	LLR Nedre grænse for tildelt interval	 Denne side op
Collect Date Prøvetagningsdato	 Mænd	Procedure UltraSensitive Ultrasensitive-procedure
 Se brugsanvisning	 Producent	UDI Unik udstyrsidentifikation
 Indeholder tilstrækkeligt til <n> tests	CONTROL - Negativ kontrol	ULR Øvre grænse for tildelt interval
CONTENT Indhold i pakning	 Usteril	Urine Fill Line Urinpåfyldningslinje
CONTROL Kontrol	 Patientnavn	Rx Only Kun USA: Ifølge amerikansk lovgivning må denne enhed kun sælges af eller efter anmodning fra en læge.
 Fremstillingsdato	 Patientnummer	 Sidste anvendelsesdato
 Udstyr til patientnær test	 Riv her	
 Udstyr til selvtest	CONTROL + Positiv kontrol	
	QS copies / PCR QS kopier pr. PCR-reaktion. Brug QS kopier pr. PCR-reaktion til beregning af resultaterne.	

Teknisk support

Kontakt den lokale afdeling for teknisk support (assistance):
https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

Producent og importør

Tabel 15: Producent og importør



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

Fremstillet i USA



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim
Tyskland

Varemærker og patenter

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

Copyright

©2024 Roche Molecular Systems, Inc.



Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany



Litteraturliste

1. Bartlett JG, Chang TW, Moon N, Onderdonk AB. Antibiotic-induced lethal enterocolitis in hamsters: studies with eleven agents and evidence to support the pathogenic role of toxin-producing *Clostridia*. *Am J Vet Res*. 1978;39(9):1525-1530.
2. Larson HE, Price AB, Honour P, Borrielo SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis. *Lancet*. 1978;1(8073):1063-1066.
3. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. *N Engl J Med*. 2002;346(5):334-339.
4. McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. *Clostridium difficile* infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996-2003. *Emerg Infect Dis*. 2006;12(3):409-415.
5. Loo VG, Poirier L, Miller MA, et al. A predominantly clonal multi-institutional outbreak of *Clostridium difficile*-associated diarrhea with high morbidity and mortality. *N Engl J Med*. 2005;353(23):2442-2449.
6. Song X, Bartlett JG, Speck K, Naegeli A, Carroll K, Perl TM. Rising economic impact of *clostridium difficile*-associated disease in adult hospitalized patient population. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29(9):823-828.
7. Wolfhagen MJ, Torensma R, Fluit AC, Verhoef J. Toxins A and B of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol Rev*. 1994;13(1):59-64.
8. Johnson S, Sambol SP, Brazier JS, et al. International typing study of toxin A-negative, toxin B-positive *Clostridium difficile* variants. *J Clin Microbiol*. 2003;41(4):1543-1547.
9. Barbut F, Decré D, Lalande V, et al. Clinical features of *Clostridium difficile*-associated diarrhoea due to binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase)-producing strains. *J Med Microbiol*. 2005;54(Pt 2):181-185.
10. Geric B, Rupnik M, Gerding DN, Grabnar M, Johnson S. Distribution of *Clostridium difficile* variant toxinotypes and strains with binary toxin genes among clinical isolates in an American hospital. *J Med Microbiol*. 2004;53(Pt 9):887-894.
11. Pépin J, Valiquette L, Alary ME, et al. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in a region of Quebec from 1991 to 2003: a changing pattern of disease severity. *CMAJ*. 2004;171(5):466-472.
12. Warny M, Pepin J, Fang A, et al. Toxin production by an emerging strain of *Clostridium difficile* associated with outbreaks of severe disease in North America and Europe. *Lancet*. 2005;366(9491):1079-1084.
13. Bartlett JG. Narrative review: the new epidemic of *Clostridium difficile*-associated enteric disease. *Ann Intern Med*. 2006;145(10):758-764.
14. Fekety R. Guidelines for the diagnosis and management of *Clostridium difficile*-associated diarrhea and colitis. American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol*. 1997;92(5):739-750.
15. Peterson LR, Manson RU, Paule SM, et al. Detection of toxigenic *Clostridium difficile* in stool samples by real-time polymerase chain reaction for the diagnosis of *C. difficile*-associated diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2007;45(9):1152-1160.
16. Sloan LM, Duresko BJ, Gustafson DR, Rosenblatt JE. Comparison of real-time PCR for detection of the *tcdC* gene with four toxin immunoassays and culture in diagnosis of *Clostridium difficile* infection. *J Clin Microbiol*. 2008;46(6):1996-2001.

17. Deshpande A, Pasupuleti V, Rolston DD, et al. Diagnostic accuracy of real-time polymerase chain reaction in detection of *Clostridium difficile* in the stool samples of patients with suspected *Clostridium difficile* infection: a meta-analysis. Clin Infect Dis. 2011;53(7):e81-90. Epub 2011/09/06.
18. Kufelnicka AM, Kirn TJ. Effective utilization of evolving methods for the laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis. 2011;52(12):1451-1457. Epub 2011/06/02.
19. Tenover FC, Baron EJ, Peterson LR, Pershing DH. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection can molecular amplification methods move us out of uncertainty? J Mol Diagn. 2011;13(6):573-582. Epub 2011/08/23.
20. Peterson LR, Mehta MS, Patel PA, Hacek DM, Harazin M, Nagwekar PP, et al. Laboratory testing for *Clostridium difficile* infection: light at the end of the tunnel. Am J Clin Pathol. 2011;136(3):372-380.
21. Kelly CP, LaMont JT. *Clostridium difficile*--more difficult than ever. N Engl J Med. 2008;359(18):1932-1940.
22. Monaghan T, Boswell T, Mahida YR. Recent advances in *Clostridium difficile*-associated disease. Gut. 2008;57(6):850-860.
23. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. Clin Microbiol Infect. 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
24. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
25. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

Dokumentrevision

Oplysninger om dokumentrevision	
Doc Rev 8.0 02/2024	Lysisbuffer 1 fareoplysningerne er opdateret. cobas® -branding er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev 9.0 06/2024	Prøveforberedelseskit fareoplysningerne er opdateret. Rx Only er fjernet fra forsiden. Siden med harmoniserede symboler er opdateret. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.
Doc Rev 10.0 07/2024	Wash Buffer Kit fareoplysningerne er opdateret. Erklæring om, at produktsikkerhedsmærkningen følger EU GHS-retningslinjerne, er tilføjet. Kontakt den lokale Roche-repræsentant ved eventuelle spørgsmål.

Du kan finde rapporten med oversigten over sikkerhed og performance ved hjælp af følgende link:
<https://ec.europa.eu/tools/eudamed>.