

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Návod k použití

IVD CE

Prohlášení o ochranných známkách, patentech a autorských právech

Cepheid®, logo Cepheid, GeneXpert® a Xpert® jsou ochranné známky společnosti Cepheid registrované v USA a dalších zemích. Všechny ostatní ochranné známky jsou majetkem příslušných vlastníků.

ZAKOUPENÍM TOHOTO VÝROBKU PŘECHÁZÍ NA KUPUJÍCÍHO NEPŘENOSNÉ PRÁVO POUŽÍVAT JEJ V SOULADU S TÍMTO NÁVODEM K POUŽITÍ. ŽÁDNÁ DALŠÍ PRÁVA NEJSOU PŘEVÁDĚNA VÝSLOVNĚ, IMPLICITNĚ ANI ZPROSTŘEDKOVANĚ. ZAKOUPENÍM TOHOTO VÝROBKU DÁLE NEVZNIKAJÍ ŽÁDNÁ PRÁVA NA DALŠÍ PRODEJ.

© 2016-2023 Cepheid. Všechna práva vyhrazena.

Popis změn naleznete v části 25 Historie revizí.

Xpert® C. difficile BT

Diagnostický zdravotnický prostředek *in vitro*

1 Vlastní název

Xpert® C. difficile BT

2 Obecný nebo obvyklý název

Test Xpert C. difficile BT

3 Zamýšlené použití

Test Cepheid Xpert C. difficile BT, prováděný na přístrojích Cepheid GeneXpert®, je kvalitativní *in vitro* diagnostický test pro rychlou detekci *C. difficile* *tcdB* (gen pro toxin B), *cdt* (gen pro binární toxin) a delece nukleotidu na pozici 117 genu *tcdC* z neforemných (tekutých nebo měkkých) vzorků stolice odebraných pacientům s podezřením na infekci *Clostridium difficile* (CDI). Test Xpert C. difficile BT je určen jako pomůcka při diagnostice CDI a detekci kmenů potenciálně spojených s vážnějším onemocněním. Test využívá automatizovanou polymerázovou řetězovou reakci v reálném čase (PCR) k detekci *tcdB*, *cdt* a delece *tcdC* na bázi 117 spojené s kmenem ribotypu 027. Binární toxin je produkován omezeným počtem kmenů *C. difficile*, včetně kmene 027. Binární toxin spolu s detekcí *tcdB* je často indikátorem závažnějšího onemocnění nebo recidivy onemocnění. Izoláty *C. difficile*, které jsou negativní na *tcdB*, ale obsahují samotné geny pro binární toxin, mohou vyvolávat příznaky podobné toxigenním kmenům *C. difficile*, ale klinický význam těchto kmenů je v současné době nejistý. Současná kultivace je nutná pouze v případě, že je požadována další typizace nebo obnovení organismu.

4 Shrnutí a vysvětlení

C. difficile je grampozitivní anaerobní tyčinka tvořící spory, která byla poprvé spojena s onemocněním v roce 1978.¹

CDI se vyskytuje od mírného průjmu až po závažnou život ohrožující pseudomembranózní kolitidu.² Zralá bakteriální flóra tlustého střeva zdravého dospělého člověka je obecně odolná vůči kolonizaci *C. difficile*.³ Pokud však dojde ke změně normální flóry tlustého střeva, ztrácí se odolnost vůči kolonizaci jinými bakteriálními druhy, jako je *C. difficile*. Nejčastějším rizikovým faktorem pro vznik CDI je expozice antibiotikům.⁴ Hlavním faktorem virulence *C. difficile* je cytotoxin B.⁵ Geny kódující toxin A (*tcdA*; angl.

enterotoxin) a toxin B (*tcdB*) jsou součástí lokusu patogenity (PaLoc).^{6,7} Většina patogenních kmenů jsou kmeny s pozitivním toxinem A a pozitivním toxinem B (A+B+), ačkoli za patogenní byly uznány i izoláty s negativním toxinem A a pozitivním toxinem B (A-B+).⁸ Některé kmeny *C. difficile* produkují také aktin-specifickou ADP-ribosyltransferázu zvanou CDT nebo binární toxin. Lokus binárního toxinu obsahuje dva samostatné geny (*cdtA* a *cdtB*) a nachází se mimo PaLoc.^{9,10,11}

Diagnostika CDI je tradičně založena buď na detekci toxinu B přímo ve stolici (test neutralizace cytotoxicity buněčných kultur [CCCN]), nebo na kultivaci organismu s následným stanovením produkce toxinu B izolátem (toxigenní kultivace). Jak test CCCN, tak toxigenní kultivace jsou náročné na práci, ale stále jsou považovány za "zlatý standard" díky specifitě prvního z nich a citlivosti druhého.^{12,13} Pro detekci toxinu A a B bylo vyvinuto několik rychlých enzymových imunoanalýz; tyto testy však mají ve srovnání s testem CCCN sníženou citlivost a specifitě. Byly vyvinuty metody PCR pro detekci genů spojených s produkcí toxinu A a/nebo toxinu B, které vykazují vysokou citlivost a specifitě ve srovnání s toxigenní kulturou.¹⁴

Kromě toxinů A a B existuje podle nejnovější literatury souvislost mezi produkcí binárního toxinu a závažností i výsledkem onemocnění. Bauer a spol.¹⁵ prokázali přítomnost genů pro binární toxin u toxigenních izolátů u 23 % případů CDI v Evropě. Binární toxin produkovaný *cdt* geny je často pozorován u kmenů *C. difficile* spojených se zvýšenou závažností CDI. Binární toxin patří do rodiny ADP-ribosylačních toxinů a skládá se z genů *cdtA*, enzymatických genů *cdtA* a *cdtA*.

ADP-ribosyltransferáza, která modifikuje aktin, a *cdtB*, která se váže na hostitelské buňky a přemísťuje produkt *cdtA* do cytosolu. Četné klinické studie naznačují souvislost mezi přítomností binárních toxinových genů u *C. difficile* a zvýšenou 30denní mortalitou na CDI nezávisle na PCR ribotypu. V literatuře se rovněž uvádí, že osoby s těžkou CDI, fulminantní kolitidou a/nebo recidivující CDI jsou častěji infikovány ribotypy *C. difficile* nesoucími geny pro produkci binárního toxinu (*cdtA/cdtB*) než osoby bez těchto komplikací.^{16,17}

Podskupina izolátů produkujících binární toxin má mutace v genu pro negativní regulátor toxinu (*tcdC*), tj. delecí na nukleotidu 117 (*tcdCA117*), což odpovídá kmenům ribotypu 027. Infekce způsobená kmeny 027/NAP1/BI může být spojena s

vyšší mortalita a morbidita, včetně hospitalizace na jednotce intenzivní péče (JIP) a prodloužené doby pobytu. Multivariační analýza prokázala významnou souvislost mezi závažností onemocnění a přítomností ribotypů nesoucích binární toxinový gen s delecí na nukleotidu 117 nebo bez ní. V posledních několika letech došlo k vypuknutí epidemií CDI připisovaných řadě nových "hypervirulentních" kmenů, mezi něž patří kmeny rezistentní vůči fluorochinolinu patřící k PCR ribotypu 027 (které jsou také známé jako skupina NAP1 při elektroforéze v pulzním poli a typ BI při restrikční endonukleázové analýze).^{8,18} Kmeny 027 mohou vykazovat zvýšenou produkci toxinu, což se připisuje delecím v regulačním genu *tcdC*, a mohou produkovat více spor, což vede ke zvýšené perzistenci v prostředí.^{19,20} Předpokládaný pozitivní výsledek 027 může pomoci při identifikaci možných zdrojů ohniska 027.

V dalších studiích byly popsány případy pacientů s průměrem a podezřením na infekci *C. difficile* způsobenou toxinotypem XI/PCR ribotypu 033 nebo kmeny podobnými 033 pozitivními na binární toxin, ale negativními na toxin A a B.^{21,22} Klinický význam těchto binárních toxin pozitivních a toxin B negativních kmenů není zcela objasněn.

5 Zásada postupu

Přístrojové systémy GeneXpert automatizují a integrují přípravu vzorků, purifikaci a amplifikaci nukleových kyselin a detekci cílových sekvencí v jednoduchých nebo složitých vzorcích pomocí testů PCR v reálném čase. Systémy se skládají z přístroje, osobního počítače a předinstalovaného softwaru pro provádění testů na klinických vzorcích a zobrazování výsledků. Systémy vyžadují použití jednorázových kazet GeneXpert, v nichž jsou uložena činidla pro PCR a v nichž probíhají procesy extrakce DNA, amplifikace a detekce amplikonů. Vzhledem k tomu, že kazety jsou samostatné, je minimalizována křížová kontaminace mezi vzorky. Úplný popis systémů naleznete v příslušné příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx a/nebo v příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity.

Test Xpert *C. difficile* BT obsahuje reagentie pro detekci toxin produkujícího *C. difficile* a kontrolu zpracování vzorku (SPC). SPC indikuje adekvátní zpracování cílových bakterií a monitoruje přítomnost inhibitorů v PCR reakci. Kontrola kontroly sondy (PCC) ověřuje rehydrataci činidla, naplnění zkumavky PCR v kazetě, integritu sondy a stabilitu barviva.

Primery a sondy v testu Xpert *C. difficile* BT detekují sekvence v genech pro toxin B (*tcdB*), binární toxin (*cdt*) a *tcdCA117*.

6 Reagencie a přístroje

6.1 Poskytnuté materiály

Souprava Xpert *C. difficile* BT obsahuje dostatečné množství reagentů pro zpracování 10 vzorků nebo vzorků pro kontrolu kvality. Souprava obsahuje následující látky:

Kazety Xpert C. difficile BT s integrovanými reakčními zkumavkami**10**

- Partikule 1, partikule 2 a partikule 3 (lyofilizované)
- Reagencie 1
- Reagencie 2 (hydroxid sodný)

Od každé 1 kus v kazetě

3,0 ml na kazetu

3,0 ml na kazetu

Balení s reagenty Xpert C. difficile BT**10**

- Reagencie pro vzorky (guanidinium-thiokyanát)

10 x 2,0 ml v balení

CD**1 v balení**

- Soubory s definicí analýz (ADF)
- Pokyny pro import ADF do softwaru
- Návod k použití (příbalová informace)

Poznámka Bezpečnostní listy (SDS) jsou k dispozici na adrese www.cepheid.com nebo www.cepheidinternational.com pod odkazem **SUPPORT**. tab.

Poznámka Hovězí sérový albumin (BSA) v partikulách tohoto výrobku byl vyroben výhradně z hovězí plazmy pocházející ze Spojených států. Zvřatům nebyly podávány žádné bílkoviny přežvýkavců ani jiné živočišné bílkoviny; zvířata prošla testy pre- i post-mortem. Během zpracování nedošlo ke smíchání materiálu s jinými živočišnými materiály.

6.2 Skladování a manipulace

- Soupravu Xpert C. difficile BT skladujte při teplotě 2-28 °C.
- Nepoužívejte činidla pro vzorky ani kazety s prošlým datem expirace.
- Víko kazety neotvírejte, dokud nebudete připraveni provést testování.
- Nepoužívejte Reagenci pro vzorky, která se zakalila nebo změnila barvu.
- Nepoužívejte kazetu, která je porušená.

6.3 Požadované, ale neposkytované materiály

- GeneXpert Dx System nebo GeneXpert Infinity System (katalogové číslo se liší podle konfigurace): Přístroj GeneXpert, počítač s proprietárním softwarem GeneXpert verze 4.3 nebo vyšší, snímač čárových kódů a návod k obsluze.
- Tiskárna: V případě potřeby tiskárny se obraťte na obchodního zástupce společnosti Cepheid a domluvte se na zakoupení doporučené tiskárny.
- Vortex
- Jednorázové, čisté pipety
- Výtěrový tampón bez média pro přenos vzorku, např. Cepheid Sample Collection Device (Cepheid katalogové číslo: 900-0370), Cepheid Single-Use Disposable Swab (Cepheid katalogové číslo SDPS-120) nebo Copan Dual Swab and Transport System (139C LQ STUART).

7 Upozornění a bezpečnostní opatření

- Se všemi biologickými vzorky, včetně použitých kazet a reagentů, zacházejte, jako by mohly přenášet infekční agens. Protože často není možné zjistit, které z nich mohou být infekční, mělo by se se všemi biologickými vzorky zacházet s použitím standardních bezpečnostních opatření. Pokyny pro zacházení se vzorky jsou k dispozici v amerických Centrech pro kontrolu a prevenci nemocí a v Institutu klinických a laboratorních standardů^{23,24}.
- Dodržujte bezpečnostní postupy vaší instituce pro práci s chemikáliemi a manipulaci s biologickými vzorky.
- Noste čisté laboratorní pláště a rukavice. Mezi zpracováním každého vzorku si vyměňte rukavice.
- Nenahrazujte reagenty Xpert C. difficile BT jinými reagenty.
- Neotvírejte víčko kazety Xpert C. difficile BT, s výjimkou přidání vzorku a reagentů nebo odebrání vzorku z původní kazety pro provedení opakovaného testu v nové kazetě.
- Nepoužívejte kazetu, která byla upuštěna po vyjmutí z obalu.
- Kazetou netřepajte. Třesení nebo upuštění kazety po otevření víka může vést k neplatným výsledkům.
- Nepoužívejte kazetu s poškozenou reakční zkumavkou.

- Neumistujte štítek s identifikací vzorku na víko kazety ani na štítek s čárovým kódem.
- Každá jednorázová kazeta Xpert C. difficile BT slouží ke zpracování jednoho testu. Kazetu nepoužívejte opakovaně.
- Biologické vzorky, přenosová zařízení a použité kazety by měly být považovány za schopné přenášet infekční agens vyžadující standardní bezpečnostní opatření. Při správné likvidaci použitých kazet a nevyužitých reagentů postupujte podle postupů pro ekologický odpad vaší instituce. Tyto materiály mohou vykazovat vlastnosti nebezpečného chemického odpadu vyžadujícího zvláštní národní nebo regionální postupy likvidace. Pokud národní nebo regionální předpisy neposkytují jasné pokyny pro správnou likvidaci, měly by být biologické vzorky a použité kazety likvidovány podle pokynů WHO [Světové zdravotnické organizace] pro nakládání se zdravotnickým odpadem a jeho likvidaci.
- V případě kontaminace pracovního prostoru nebo zařízení vzorkem nebo kontrolami důkladně vyčistěte kontaminovaný prostor roztokem chlorového bělidla pro domácnost v poměru 1:10 a poté opakujte čištění pracovního prostoru 70% etanolem. Před dalším postupem pracovní plochy zcela vytřete do sucha.

8 Chemická nebezpečí 25,26

- Signální slovo: VAROVÁNÍ
- Standardní věty o nebezpečnosti:
 - Při požití je škodlivý.
 - Způsobuje podráždění kůže.
 - Způsobuje vážné podráždění očí.
- Bezpečnostní pokyny:
 - **Prevence**
 - Po manipulaci s prostředkem si důkladně umyjte ruce.
 - Při používání tohoto výrobku nejezte, nepijte a nekuřte.
 - Zabraňte uvolnění do životního prostředí.
 - Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranu očí/ochranu obličeje.
 - **Reakce**
 - PŘI STYKU S KŮŽÍ: Omyjte velkým množstvím vody a mýdla.
 - Kontaminovaný oděv si před dalším použitím svlékněte a vyperte.
 - Specifické ošetření viz doplňkové informace o první pomoci.
 - Pokud dojde k podráždění kůže: Vyhledejte lékařskou pomoc/opatření.
 - PŘI ZASAŽENÍ OČÍ: Opatrně několik minut vyplachujte vodou. Vyjměte kontaktní čočky, jsou-li přítomny a lze-li to snadno provést. Pokračujte ve vyplachování.
 - Pokud podráždění očí přetrvává: Vyhledejte lékařskou pomoc/ošetření.
 - PŘI POŽITÍ: Pokud se necítíte dobře, okamžitě zavolejte TOXIKOLOGICKÉ CENTRUM nebo lékaře.
 - Vypláchněte si ústa.
 - **Skladování/likvidace**
 - Obsah a/nebo obal zlikvidujte v souladu s místními, regionálními, národními a/nebo mezinárodními předpisy.

9 Odběr a přeprava vzorků

1. Neformovanou stolicí sbírejte do čisté nádoby. Postupujte podle pokynů vaší instituce pro odběr vzorků na testování přítomnosti C. difficile.
2. Označte je identifikačním číslem pacienta a odešlete do laboratoře k vyšetření.
3. Vzorek skladujte při teplotě 2-8 °C. Vzorek je při skladování při teplotě 2-8 °C stabilní až 5 dní. Alternativně lze vzorky uchovávat při pokojové teplotě (20-30 °C) po dobu až 24 hodin.

10 Postup

10.1 Příprava kazety

Důležité Spusťte test do 30 minut po přidání vzorku do kazety.

Přidání vzorku do kazety:

1. Vyjměte z obalu kazetu a Reagencii na vzorky.
2. Krátce ponořte výtěrový tampon do vzorku nezformovaných stolice. Tampon nemusí být zcela namočený.
3. Vložte tampon do zkumavky obsahující Reagencii na vzorky.

Poznámka Používejte sterilní gázu, abyste minimalizovali riziko kontaminace.

4. Držte tampon za stopku u okraje zkumavky, zvedněte tampon několik milimetrů ode dna zkumavky a zatlačte stopku proti okraji zkumavky, abyste ji přerušili. Ujistěte se, že je tampon dostatečně krátký, aby se víčko mohlo pevně uzavřít.
5. Zavřete zkumavku se vzorkem a výtěrovým tampónem a 10 sekund silně vortexujte.
6. Otevřete víko kazety. Pomocí čisté přenosové pipety přeneste celý obsah Reagencie pro vzorky do komory pro vzorky v kazetě.
7. Zavřete víko kazety.



Obrázek 1. Kazeta (pohled shora)

10.2 Spuštění testu

Důležité Pokud používáte systém *GeneXpert Dx*, před zahájením testu se ujistěte, že je spuštěn software *GeneXpert Dx* verze 4.7b nebo vyšší a že je do softwaru importován správný soubor s definicí testu.

Důležité Pokud používáte systém *GeneXpert Infinity*, ujistěte se před zahájením testu, že je v systému nainstalován software *Xpertise* verze 6.4b nebo vyšší a že je do softwaru importován správný soubor s definicí testu.

V této části jsou uvedeny základní kroky pro provedení testu. Podrobné pokyny naleznete v *Průručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *Průručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*, v závislosti na použitém modelu.

Poznámka Kroky, které budete provádět, se mohou lišit, pokud správce systému změnil výchozí pracovní postup systému.

1. Zapněte přístroj *GeneXpert*:
 - Pokud používáte přístroj *GeneXpert Dx*, nejprve zapněte přístroj *GeneXpert Dx* a poté počítač. Software *GeneXpert* se spustí automaticky. Pokud se tak nestane, dvakrát klikněte na ikonu zástupce softwaru *GeneXpert Dx* na ploše systému *Windows*®.
- nebo

- Pokud používáte *přístroj GeneXpert Infinity*, zapněte jej. Software Xpertise se spustí automaticky. Pokud se tak nestane, dvakrát klikněte na ikonu zástupce softwaru Xpertise na ploše systému Windows.®
- 2. Přihlaste se do softwaru GeneXpert Instrument System pomocí svého uživatelského jména a hesla.
- 3. V okně **systému GeneXpert** klikněte na tlačítko **Create Test** (GeneXpert Dx) nebo **Orders** a **Orders test** (Infinity). Otevře se okno **Create Test**. Otevře se dialogové okno **Scan Patient ID barcode**.
- 4. Naskenujte nebo zadejte ID pacienta. Pokud ID pacienta zadáváte, ujistěte se, že je ID pacienta zadáno správně. ID pacienta je spojeno s výsledky testu a zobrazuje se v okně **View Results** a ve všech sestavách. Otevře se dialogové okno **Scan Sample ID Barcode**.
- 5. Naskenujte nebo zadejte ID vzorku. Pokud ID vzorku zadáváte, ujistěte se, že je ID vzorku zadáno správně. ID vzorku je spojeno s výsledky testu a zobrazuje se v okně **View Results** a ve všech sestavách. Otevře se dialogové okno **Scan Cartridge Barcode**.
- 6. Naskenujte čárový kód na kazetě. Na základě informací z čárového kódu software automaticky vyplní pole pro následující položky: Vybrat analýzu, ID šarže reagencie, SN kazety a datum expirace.

Poznámka Pokud se čárový kód na kazetě naskenuje, opakujte test s novou kazetou. Pokud jste naskenovali čárový kód kazety v softwaru a soubor s definicí testu není k dispozici, zobrazí se obrazovka s informací, že soubor s definicí testu není v systému načten. Pokud se tato obrazovka zobrazí, kontaktujte technickou podporu společnosti Cepheid.

- 7. Klikněte na tlačítko **Start Test** (GeneXpert Dx) nebo **Submit** (Infinity). V zobrazeném dialogovém okně zadejte své heslo, pokud je vyžadováno.
- 8. U *systému GeneXpert Infinity* umístěte kazetu na dopravní pás. Kazeta se automaticky vloží, test proběhne a použitá kazeta se vloží do odpadní nádoby.

nebo

Pro *přístroj GeneXpert Dx*:

- a) Otevřete dvířka modulu přístroje s blikajícím zeleným světlem a vložte kazetu.
- b) Zavřete dvířka. Test se spustí a zelená kontrolka přestane blikat. Po dokončení testu kontrolka zhasne.
- c) Před otevřením dveří modulu počkejte, až systém uvolní zámek dveří. Poté vyjměte kazetu.
- d) Použité kazety zlikvidujte do příslušných kontejnerů na odpadní vzorky v souladu se standardními postupy vaší instituce.

11 Zobrazení a tisk výsledků

V této části jsou uvedeny základní kroky pro zobrazení a tisk výsledků. Podrobnější pokyny k prohlížení a tisku výsledků naleznete v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Dx* nebo v *příručce pro obsluhu systému GeneXpert Infinity*, v závislosti na použitém modelu.

- 1. Kliknutím na ikonu **View results** zobrazíte výsledky.
- 2. Po dokončení testu klikněte na tlačítko **Report** v okně **View Results** a zobrazte a/nebo vygenerujte soubor zprávy ve formátu PDF.

12 Kontrola kvality

Každý test zahrnuje kontrolu zpracování vzorku (SPC) a kontrolu sondy (PCC).

- **Kontrola zpracování vzorků (SPC):** Zajišťuje, že vzorek byl správně zpracován. SPC obsahuje spory *Bacillus globigii* ve formě suché partikule, která je součástí každé kazety a ověřuje správné zpracování vzorku. SPC ověřuje, že došlo k lýze bakterií *C. difficile* a spór, pokud jsou tyto organismy přítomny, a ověřuje, že zpracování vzorku je adekvátní. Kromě toho tato kontrola zjišťuje případnou inhibici real-time PCR způsobenou vzorkem. Test zajišťuje, že podmínky PCR reakce (teplota a čas) jsou vhodné pro amplifikační reakci a že činidla PCR jsou funkční. SPC by měl být pozitivní u negativního vzorku a může být negativní nebo pozitivní u pozitivního vzorku. SPC vyhovuje, pokud splňuje validovaná kritéria přijatelnosti.
- **Kontrola kontroly sondy (PCC):** Před zahájením reakce PCR měří systém GeneXpert fluorescenční signál ze sond, aby bylo možné sledovat rehydrataci kuliček, naplnění reakční zkumavky, integritu sond a stabilitu barviva. Kontrola sondy je validní, pokud splňuje přiřazená kritéria přijatelnosti.

13 Interpretace výsledků

Výsledky jsou interpretovány přístrojovým systémem GeneXpert z naměřených fluorescenčních signálů a použitých výpočetních algoritmů a zobrazí se v okně **View results**. Možné výsledky jsou uvedeny v tabulce níže.

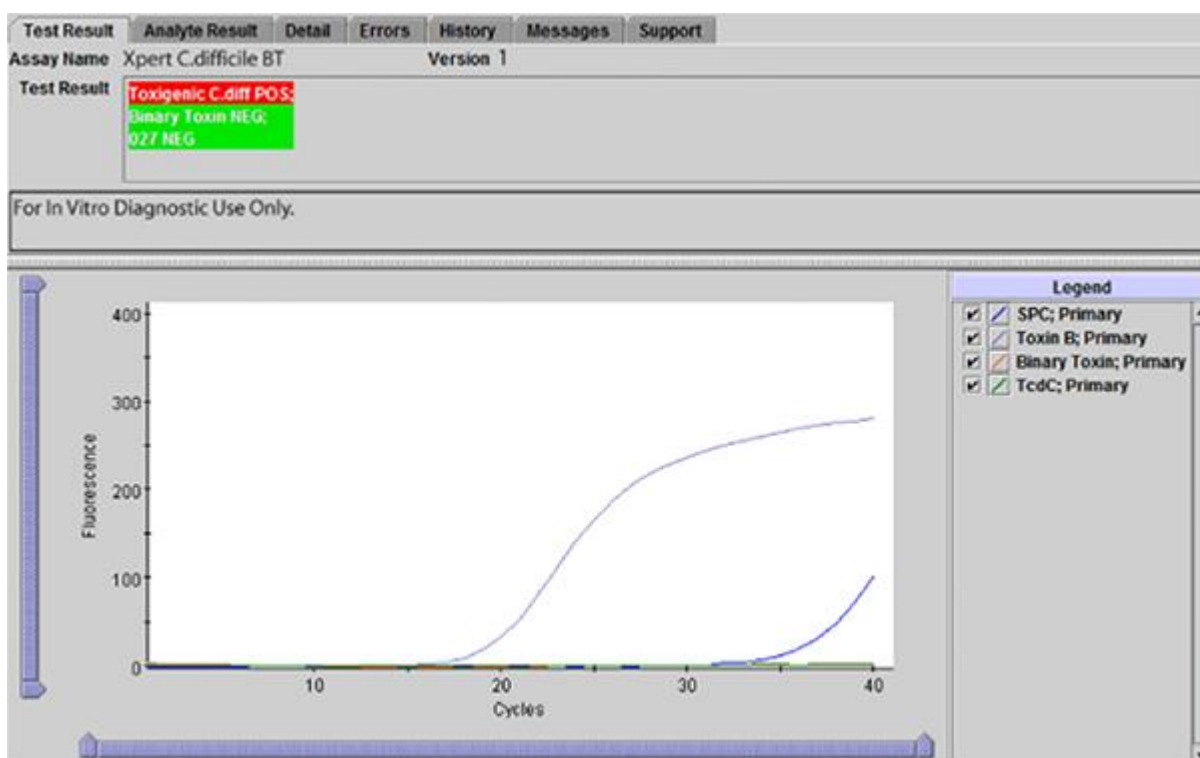
Tabulka 1. Výsledky a interpretace testu Xpert C. difficile BT

Výsledek	Výklad
Toxigenní C. diff POS, binární toxin NEG, 027 NEG Viz obrázek 2.	Jsou detekovány cílové sekvence DNA <i>C. difficile</i> produkující toxiny. <i>C. difficile</i> produkující toxin - cílová skupina <i>C. difficile</i> produkující toxin (gen pro toxin B) má Ct v platném rozmezí a koncovou hodnotu vyšší než minimální nastavení. - Binární toxinový gen a delece <i>tcdC</i> na nt 117 nejsou detekovány. - SPC - NA (nelze aplikovat); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace <i>C. difficile</i> může s touto kontrolou kompetovat. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.
Toxigenní C. diff POS, binární toxin POS, 027 NEG Viz obrázek 3.	Jsou detekovány cílové sekvence DNA <i>C. difficile</i> produkující toxiny. - Cíle <i>C. difficile</i> produkující toxin (gen pro toxin B a gen pro binární toxin) mají Cts v platném rozmezí a koncové body nad minimálním nastavením; delece <i>tcdC</i> na nt 117 není detekována. - SPC - NA (nelze aplikovat); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace <i>C. difficile</i> může s touto kontrolou kompetovat. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.
Toxigenní C. diff POS, binární toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS Viz obrázek 4.	Jsou detekovány toxin produkující <i>C. difficile</i> a předpokládané cílové sekvence DNA 027. - Všechny toxiny produkující <i>C. difficile</i>, předpokládané cíle 027 (toxin B, binární toxin a delece <i>tcdC</i> na nt 117) mají Cts v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením. - SPC - NA (nelze aplikovat); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace <i>C. difficile</i> může s touto kontrolou kompetovat. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.
Toxigenní C. diff NEG, binární toxin POS, 027 NEG Viz obrázek 5.	Sekvence genu pro toxin B <i>C. difficile</i> nejsou detekovány; je však detekován jiný cíl DNA (binární toxinový gen), který má Ct v platném rozmezí a koncovou hodnotu nad minimálním nastavením. Klinický význam izolátů pozitivních pouze na binární toxin musí být teprve stanoven. - SPC - NA (nelze aplikovat); SPC se ignoruje, protože cílová amplifikace <i>C. difficile</i> může s touto kontrolou kompetovat. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.
Toxigenní C. diff NEG, Binární toxin NEG, 027 NEG Viz obrázek 6.	Cílové sekvence DNA <i>C. difficile</i> (gen pro toxin B, gen pro binární toxin) nejsou detekovány. - Sekvence genů <i>C. difficile</i> produkujících toxin (gen pro toxin B a gen pro binární toxin) nebyly detekovány; jiné cíle DNA pro toxigenní <i>C. difficile</i> (delece <i>tcdC</i> v nt 117) nebyly detekovány. - SPC - PASS; SPC má Ct v platném rozsahu a koncový bod nad minimálním nastavením koncového bodu. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.

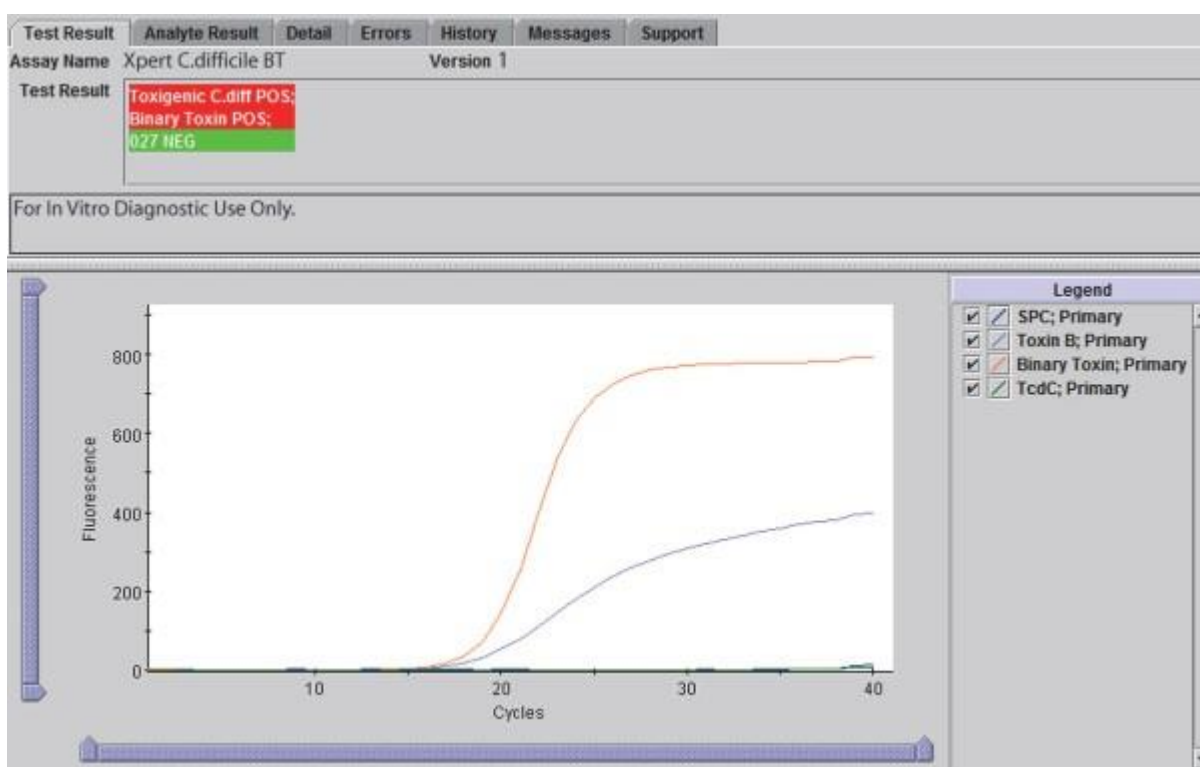
Výsledek	Výklad
INVALID Viz obrázek 7.	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA <i>C. difficile</i> nelze určit. Opakujte test podle pokynů v oddíle 15. SPC nesplňuje kritéria přijatelnosti, vzorek nebyl správně zpracován nebo je PCR inhibována. - INVALID - Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA <i>C. difficile</i> nelze určit. - SPC - FAIL; cílový výsledek SPC je negativní a SPC Ct není v platném rozsahu a koncový bod je pod minimálním nastavením. - Kontrola sondy - PASS; všechny výsledky kontroly sondy jsou vyhovující.
ERROR	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA <i>C. difficile</i> nelze určit. Opakujte test podle pokynů v oddíle 15. Kontrola sondy Probe Check selhala pravděpodobně proto, že reakční zkumavka byla nesprávně naplněna, byl zjištěn problém s neporušeností sondy nebo byly překročeny limity maximálního tlaku. - Toxin B – NO RESULT - Binární toxin - NO RESULT U - delece <i>tcdC</i> v nt 117 - NO RESULT *SPC - NO RESULT - Kontrola sondy - FAIL*; všechny výsledky kontroly sondy nebo jeden z nich jsou chybné. * Pokud kontrola sondy proběhla úspěšně, je chyba způsobena selháním systémové komponenty.
NO RESULT	Přítomnost nebo nepřítomnost cílové DNA <i>C. difficile</i> nelze určit. Opakujte test podle pokynů uvedených v oddíle 15. Nebyl shromážděn dostatek údajů pro získání výsledku testu (například obsluha zastavila probíhající test). - Toxin B (<i>tcdB</i>) - NO RESULT - Binární toxin (<i>cdt</i>) - NO RESULT <i>tcdC</i>Δ117 - NO RESULT - SPC - NO RESULT - Kontrola sondy - NA (nelze aplikovat)

Poz

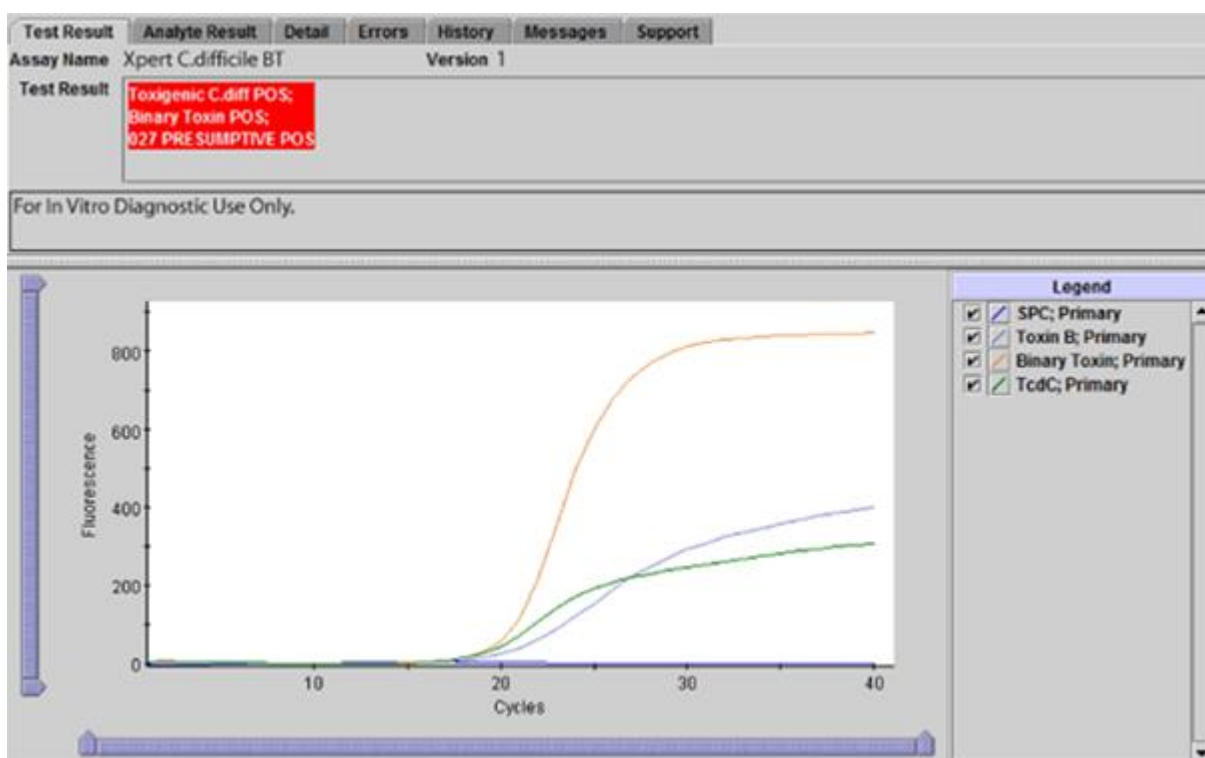
Obrazovky zobrazené v této části (Obrázek 2, Obrázek 3, Obrázek 4, Obrázek 5, Obrázek 6 a Obrázek 7) pocházejí ze systému GeneXpert Dx se softwarem GeneXpert Dx.



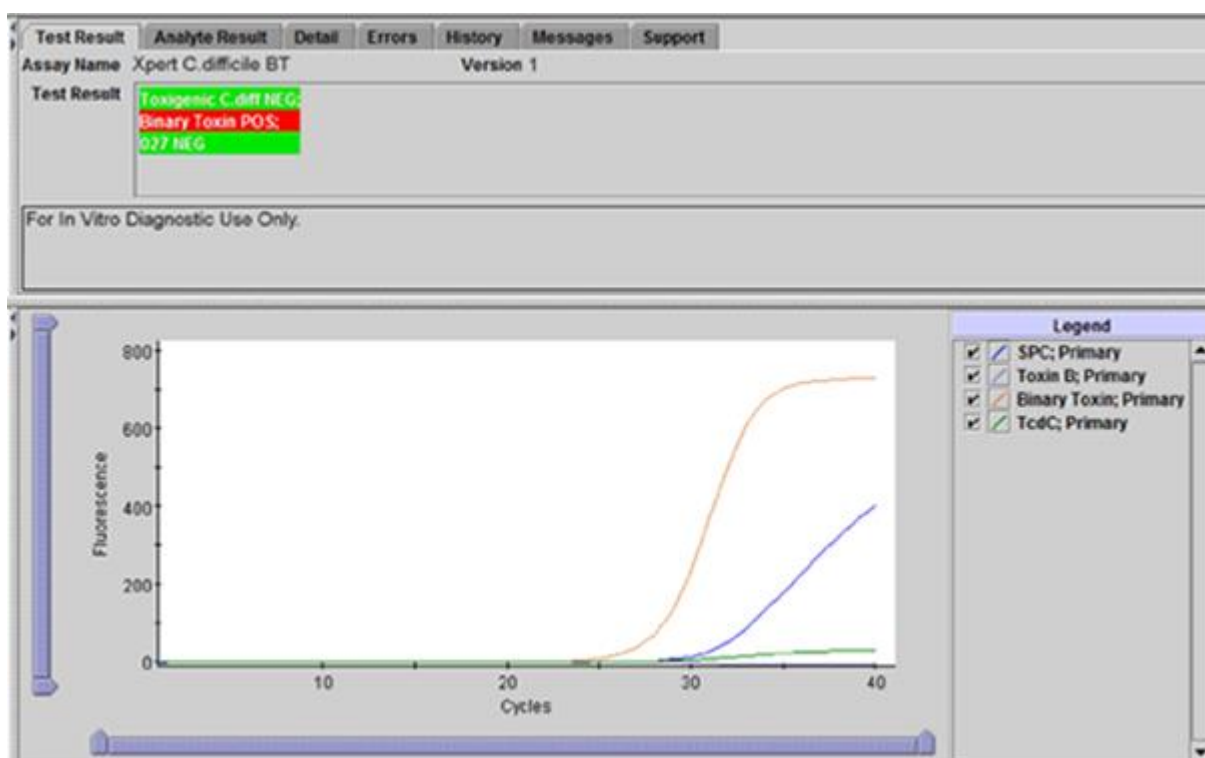
Obrázek 2. Příklad pozitivních výsledků toxigenní C. diff, negativních výsledků binárních toxinů a negativních výsledků 027



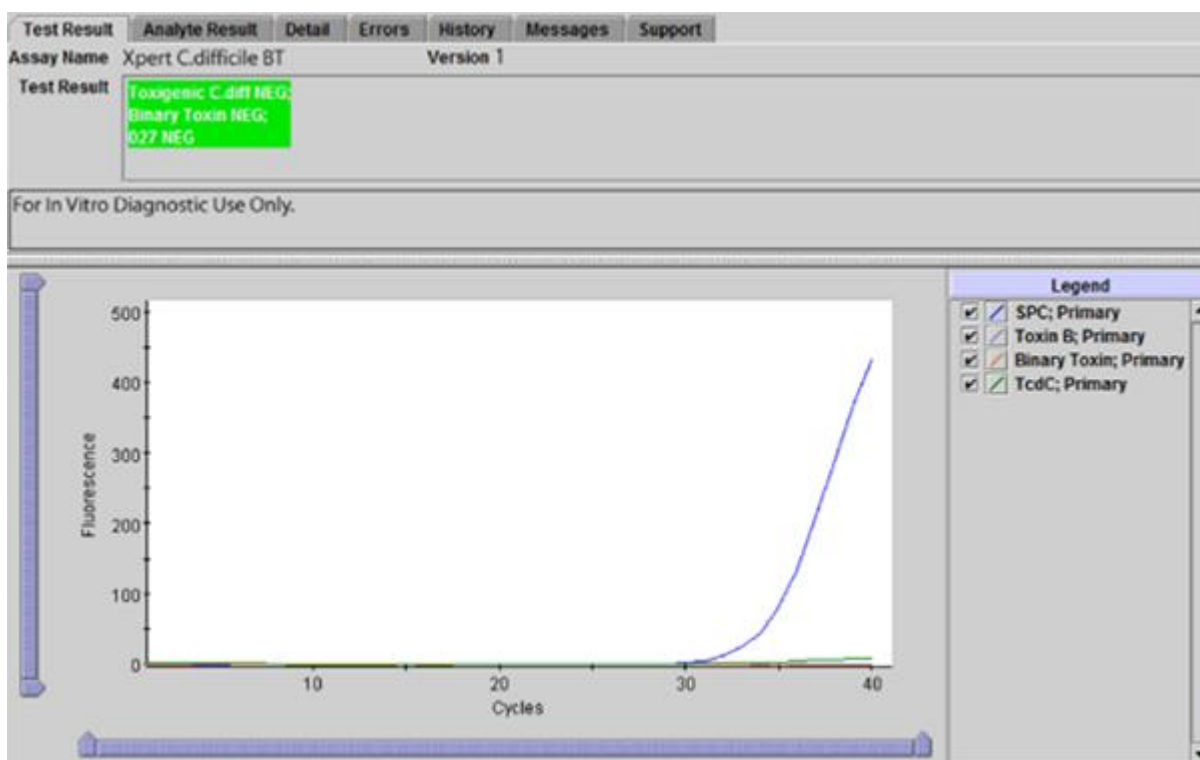
Obrázek 3. Příklad pozitivních výsledků toxigenní C. diff, pozitivních výsledků binárních toxinů a negativních výsledků 027



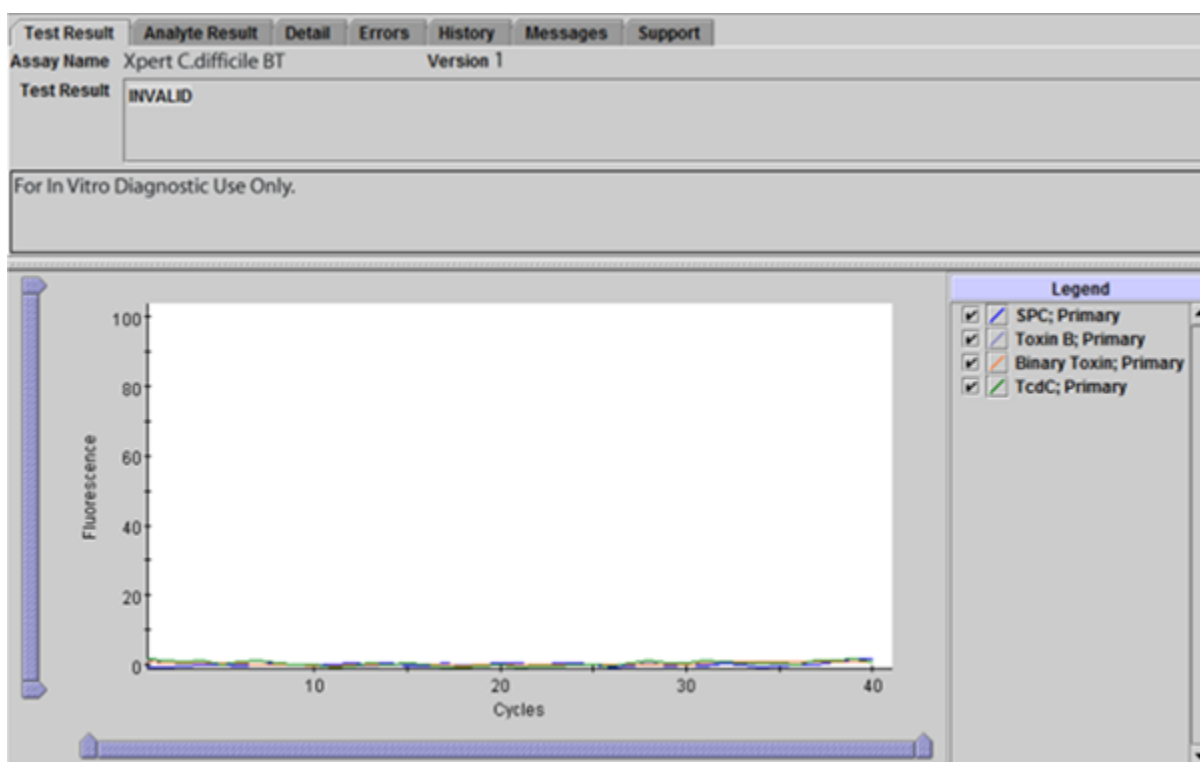
Obrázek 4. Příklad pozitivních výsledků toxigenní C. diff, pozitivních výsledků binárních toxinů a předpokládaných pozitivních výsledků 027



Obrázek 5. Příklad výsledků s negativním toxigenním C. diff, pozitivním binárním toxinem a negativním 027



Obrázek 6. Příklad negativních výsledků toxigenní C. diff, negativních výsledků binárních toxinů a výsledků 027



Obrázek 7. Příklad neplatného výsledku

14 Důvody pro opakování testu

Pokud se objeví některý z níže uvedených výsledků testu, opakujte test jednou podle pokynů v oddíle 15.

- Výsledek **INVALID** znamená, že SPC selhalo. Vzorek nebyl správně zpracován nebo došlo k inhibici PCR.
- Výsledek **ERROR** znamená, že kontrola sondy selhala a test byl přerušen pravděpodobně z důvodu nesprávného naplnění reakční zkumavky, zjištění problému s integritou reagenční sondy, překročení maximálních limitů tlaku nebo zjištění chyby v poloze ventilu.
- Výsledek **NO RESULT** znamená, že nebyl shromážděn dostatek údajů. Operátor například zastavil probíhající test.

15 Postup opakovaného testování

Pro opakování testu do 3 hodin od neurčitého výsledku použijte novou kazetu (kazetu nepoužívejte opakovaně) a nové reagensie.

1. Vyjměte novou kazetu z balení.
2. Pomocí jednorázové přenosové pipety přeneste veškerý zbývající obsah z komory pro vzorek do nové zkumavky s Reagencií pro vzorek
3. Vortexujte a přidejte celý obsah Reagensie pro vzorek do komory pro vzorek nové kazety Xpert C. difficile.
4. Zavřete víko kazety a spusťte nový test.

Pro opakování testu po 3 hodinách od neurčitého výsledku zopakujte test s novým vzorkem stěru z původního vzorku pacienta.

16 Omezení

- Izoláty jiné než 027 reprezentující toxintyp XIV budou hlášeny jako **toxigenní C. diff POS; binární toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS** pomocí testu Xpert C. difficile BT.
- **Toxigenní C. diff NEG; Binary Toxin POS, Presumptivní 027 NEG** pomocí Xpert C. difficile BT může obsahovat gen pro toxin B a/nebo delecí *tcdC* pod LoD testu.
- Příležitostně budou izoláty jiné než 027 reprezentující toxintypy IV, V a X hlášeny jako **toxigenní C. diff POS; binární toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS** pomocí testu Xpert C. difficile BT.
- Výkonnost testu Xpert C. difficile BT byla validována pouze pomocí postupů uvedených v této příbalové informaci. Úpravy těchto postupů mohou změnit výkonnost testu.
- Výsledky testu Xpert C. difficile BT by měly být interpretovány ve spojení s dalšími laboratorními a klinickými údaji, které má lékař k dispozici.
- K chybným výsledkům testu může dojít v důsledku nesprávného odběru vzorku, nedodržení doporučených postupů odběru, manipulace a skladování vzorku, technické chyby, záměny vzorku nebo proto, že počet organismů ve vzorku je příliš nízký na to, aby byl testem detekován. Aby se předešlo chybným výsledkům, je nutné pečlivě dodržovat pokyny uvedené v této příbalové informaci.
- Vzhledem k ředicímu faktoru spojenému s postupem retestu je možné, že vzorky pozitivní na *C. difficile*, které jsou velmi blízko nebo na hranici detekce (LoD) testu Xpert C. difficile BT, mohou mít při retestu falešně negativní výsledek.
- Inhibice testu Xpert C. difficile BT byla pozorována v přítomnosti následujících látek: Zinc oxide paste a Vagisil® cream.
- Ohniska CDI mohou být způsobena jinými kmeny než 027.
- Falešně negativní výsledky se mohou vyskytnout, pokud má infikující organismus genomové mutace, inserce, delece nebo přestavby nebo pokud se provádí velmi brzy v průběhu onemocnění.
- Pozitivní výsledky získané u pacientů s oslabenou imunitou mohou odrážet asymptomatické nosičství *C. difficile*.
- Detekce nukleové kyseliny *C. difficile* ve stolici potvrzuje přítomnost těchto organismů u pacientů s průjmem, ale nemusí znamenat, že *C. difficile* je příčinou průjmu.
- U pacientů mladších 2 let nebyly charakteristiky výkonu stanoveny.
- Mutace nebo polymorfismy ve vazebných oblastech primerů nebo sond mohou ovlivnit detekci cílových typů *C. difficile* a vést k falešně negativním výsledkům.

17 Očekávané hodnoty

Do klinické studie testu Xpert C. difficile BT bylo zahrnuto celkem 2293 vzorků neformované stolice ze 7 center ve Spojených státech a Kanadě. Počet a procento toxigenních případů C. difficile pozitivních na kultivaci, vypočtené podle věku a pohlaví, jsou uvedeny v tabulkách níže.

Tabulka 2. Pozorovaná prevalence toxigenní C. difficile podle věkových skupin^a

Věková skupina	N	Prevalence toxigenní C. difficile (zahrnuje 027)	Prevalence binárních toxinů	027 Prevalence
2-5	16	37.5% (6/16)	12.5% (2/16)	12.5% (2/16)
6-21	105	12.4% (13/105)	2.9% (3/105)	0.9% (1/105)
22-59	898	16.4% (147/898)	4.8% (43/898)	3.3% (30/898)
>60	1274	20.7% (264/1274)	9.2% (117/1274)	7.2% (92/1274)
Celkem	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

^a Prevalence založená na výsledcích testu Xpert.

Tabulka 3. Pozorovaná prevalence toxigenní C. difficile podle pohlaví^a

Pohlaví	N	Prevalence toxigenní C. difficile (zahrnuje 027)	Prevalence binárních toxinů	027 Prevalence
Muži	1072	18.2% (195/1072)	6.3% (68/1072)	5.0% (54/1072)
Samice	1221	19.2% (235/1221)	7.9% (97/1221)	5.8% (71/1221)
Celkem	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

^a Prevalence založená na výsledcích testu Xpert.

18 Výkonnostní charakteristiky

18.1 Klinický výkon

Výkonnostní charakteristiky testu Xpert C. difficile BT byly stanoveny v rámci prospektivní vyšetřovací studie na více místech v sedmi amerických a kanadských institucích porovnáním testu Xpert C. difficile BT s referenční kulturou a následným testováním izolátů podle CCCN a typizací kmene u toxigenních kmenů pomocí PCR-ribotypizace.

Mezi subjekty byli jedinci, u nichž bylo v rámci běžné péče požadováno testování na C. difficile. Část každého zbytku neformovaného vzorku stolice byla získána pro testování pomocí testu Xpert C. difficile BT. Zbývající přebytečný vzorek byl odeslán do centrální laboratoře k referenční kultivaci a vyšetření cytotoxinu B. Každý vzorek stolice byl naočkován na předredukovaný cykloserin-cefoxitin-fruktózový agar - přímá deska (CCFA-D) a cykloserin-cefoxitin-mannitolový bujón s taurocholátem lysozym-cysteinem (CCMB-TAL). Po 24 hodinách byl CCMB-TAL subkultivován na druhou desku CCFA-E (CCFA- Enriched). Tato metoda přímé obohacené kultivace je dále označována jako "referenční kultivace".

Pokud byl C. difficile izolován z desky CCFA-D a izolát byl pozitivní testem CCCN, byl vzorek klasifikován jako "toxigenní C. difficile pozitivní" a deska CCFA-E nebyla dále analyzována. Pokud nebyl z desky CCFA-D izolován žádný C. difficile nebo pokud byl izolát negativní pomocí testu CCCN, byla deska CCFA-E dále analyzována.

Pokud byl test CCFA-E pozitivní na C. difficile a izolát byl pozitivní v testu CCCN, byl vzorek klasifikován jako "toxigenní C. difficile pozitivní". Pokud byl vzorek CCFA-E negativní na C. difficile nebo byl izolát negativní v testu CCCN, byl hlášen jako "negativní".

Po referenčním kultivačním vyšetření byly toxigenní izoláty *C. difficile* pozitivní odeslány do druhé skupiny referenčních laboratoří k identifikaci kmene pomocí PCR-ribotypizace.

Výkonnost testu Xpert C. difficile BT byla vypočtena ve srovnání s výsledky přímé kultivace s typizací kmene a referenční kultivace s typizací kmene.

18.2 Celkové výsledky

Testem Xpert C. difficile BT, kultivací a typizací kmene bylo vyšetřeno celkem 2293 vzorků.

18.2.1 Výsledky výkonu vs. přímá kultura

Ve srovnání s přímou kultivací s PCR-ribotypizací prokázal test Xpert C. difficile BT senzitivitu 98,78 % a specifitu 90,86 % pro toxigenní *C. difficile*. Test Xpert C. difficile BT rovněž prokázal 100% pozitivní shodu a 97,70% negativní shodu pro 027 (viz tabulka níže).

Tabulka 4. Výkonnost testu Xpert C. difficile BT ve srovnání s přímou kultivací a PCR-ribotypizací

Přímá kultivace a PCR-ribotypizace					
		Toxin B+ 027+	Toxin B+ 027-	NEG	Celkem
Xpert C. difficile ^{BTb}	Toxin B+ 027+	74	4	47	125
	Toxin B+ 027-	0	164	140	304a
	NEG	0	3	1860	1863
	Celkem	74	171	2047	2292a
		Toxigenní C. difficile		Toxigenní C. difficile / 027	
		Citlivost: 98,78 % (242/245)		Pozitivní shoda:	
		Specifita: 90,86 % (1860/2047)		100% (74/74)	
		Přesnost: 91,71 % (2102/2292)		Negativní shoda:	
		PPV ^c : 56,41% (242/429)		97,70% (2167/2218)	
		NPV ^d : 99,84% (1860/1863)		Přesnost: 97,77 % (2241/2292)	
				PPV: 59,20 % (74/125)	
				NPV: 100% (2218/2218)	

a. Jeden izolát nebyl typizovatelný z důvodu kontaminace: tento vzorek není zahrnut do statistik výkonnosti.

b. Uvedené výsledky testu Xpert se týkají prvního nebo druhého pokusu. Přibližně 3,2 % vzorků bylo při prvním testování nevyhodnotitelných.

c. Pozitivní prediktivní hodnota

d. Negativní prediktivní hodnota

18.2.2 Výkonnost vs. Referenční kultura

Ve srovnání s referenční kultivací s PCR-ribotypizací prokázal test Xpert C. difficile BT citlivost 93,39 % a specifitu 94,02 % pro toxigenní C. difficile. Test Xpert C. difficile BT rovněž prokázal 98,89% pozitivní shodu a 98,36% negativní shodu pro O27 (viz tabulka 5).

Tabulka 5. Výkonnost testu Xpert C. difficile BT ve srovnání s referenční kultivací a PCR-ribotypizací

Referenční kultura a PCR-ribotypizace					
		Toxin B+ O27+	Toxin B+ O27-	NEG	Celkem
Xpert C. difficile BT^b	Toxin B+ O27+	89	5	31	125
	Toxin B+ O27-	0	217	86	303a
	NEG	1	21	1841	1863
	Celkem	90	243	1958	2291a
		Toxigenní C. difficile		Toxigenní C. difficile / O27	
		Citlivost: 93,39 % (311/333) Specifita: 94,02 % (1841/1958) Přesnost: 93,93 % (2152/2291) PPV ^c : 72,66 % (311/428) NPV ^d : 98,82% (1841/1863)		Pozitivní shoda: 98,89 % (89/90) Negativní shoda: 98,36% (2165/2201) Přesnost: 98,38 % (2254/2291) PPV: 71,20 % (89/125) NPV: 99,95 % (2165/2166)	

a. Dva izoláty nebyly typizovatelné z důvodu kontaminace: vzorky nejsou zahrnuty do statistik výkonnosti.

b. Uvedené výsledky testu Xpert se týkají prvního nebo druhého pokusu. Přibližně 3,2 % vzorků bylo při prvním testování nevyhodnotitelných.

c. Pozitivní prediktivní hodnota.

d. Negativní prediktivní hodnota.

18.2.3 Souhrn

V následující tabulce je uveden celkový počet vzorků pro každý jednotlivý výsledek testu z 2293 vzorků zahrnutých do analýzy údajů o klinickém výkonu.

Tabulka 6. Celkový výkon testu Xpert C. difficile BT

Výsledek testu	N
Toxigenní C. diff POS; binární toxin NEG; O27 NEG	272
Toxigenní C. diff POS; Binární toxin POS; O27 NEG	36
Toxigenní C. diff POS; Binární toxin POS; O27 PRESUMPTIVE POS	122
Toxigenní C. diff NEG; Binární toxin POS; O27 NEG	7 ^a
Toxigenní C. diff NEG; Binární toxin NEG; O27 NEG	1856
Celkem	2293

^a Při dodatečném testování bylo zjištěno, že 4 ze 7 kmenů jsou nositeli genu pro toxin B.

18.2.4 Používání antibiotik

Z 2293 případů zahrnutých do hlavního souboru dat bylo užívání antibiotik během 2 měsíců před odběrem vzorku hlášeno u 1630 případů a u 570 případů nebylo užívání antibiotik potvrzeno; u 93 případů nebyl stav užívání antibiotik znám. Užívání antibiotik nezpůsobilo statisticky významný rozdíl ve výkonnosti testu.

19 Analytický výkon

19.1 Analytická specifičnost

Bylo odebráno 55 kmenů, které byly kvantifikovány a testovány pomocí testu Xpert C. difficile BT. Kmeny pocházely z American Type Culture Collection (ATCC), Culture Collection University of Göteborg (CCUG), German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Institute of Public Health, Maribor, Slovinsko a Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI).

Z testovaných bakteriálních druhů bylo zahrnuto deset (10) netoxigenních kmenů *C. difficile* a jedenáct (11) netoxigenních druhů *klostridií*. Testované organismy byly identifikovány buď jako grampozitivní (37), nebo gramnegativní (18). Organismy byly dále klasifikovány jako aerobní (24), anaerobní (29) nebo mikroaerobní (2).

Každý kmen byl testován ve třech opakováních v koncentracích od $1,1 \times 10^8$ do $2,2 \times 10^{10}$ CFU/stěr. Do studie byly zahrnuty pozitivní a negativní kontroly.

V podmínkách studie byly všechny izoláty označeny jako **toxigenní C. diff NEG; binární toxin NEG; 027 NEG** (viz tabulka 7). Analytická specifita byla 100 %.

K prokázání specifičnosti testu na binární toxin byla testována další série non-*difficile* druhů *klostridií*.

Tabulka 7. Výsledky studie specifičnosti binárních toxinových genů

Rod	Druhy	Testovaný počet	Toxin A/B	Binární toxin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>aminovaletricum-like</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>baratii</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>bartletti</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>bifermantans</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>bolteae</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>butyricum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>cadaveris</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>celerecrescens</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>citroniae</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>clostridioforme</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>kochleárium</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>colicanis</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>disporicum</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	negativní	negativní

Rod	Druhy	Testovaný počet	Toxin A/B	Binární toxin
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>mayombe-like</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>novyi</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i> typu E	3	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	druhy	19	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	skupina subterminale	3	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</i>	2	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>xyloano/aerotolerans</i>	1	negativní	negativní
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 027	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 078	2	+	+

Všechny izoláty, které neobsahovaly binomický toxin, byly negativní v testu Xpert C. *difficile* BT.

19.2 Analytická citlivost

Byly provedeny studie s cílem stanovit 95% intervaly spolehlivosti pro analytickou mez detekce (LoD) *C. difficile* zředěného do fekální matrice lidského původu, kterou lze detekovat testem Xpert C. *difficile* BT. Fekální matrice se skládala z lidských tekutých výkalů (*C. difficile* negativní testem Xpert C. *difficile* BT) zředěných v PBS s 15% glycerolem. LoD je definována jako nejnižší počet jednotek tvořících kolonie (CFU) na stěr, který lze s 95% spolehlivostí reprodukovatelně odlišit od negativních vzorků.

Bylo vyhodnoceno 20 replikátů při každé testované koncentraci *C. difficile* (CFU/vzorek) pro 7 různých kmenů *C. difficile* reprezentujících toxinotypy 0 (dva kmeny), III (dva kmeny), IV, V a VIII (jeden od každého kmene).

Odhad a intervaly spolehlivosti byly stanoveny pomocí logistické regrese s údaji (počet pozitivních výsledků na počet opakování na každé úrovni) v rozsahu testovaných CFU. Intervaly spolehlivosti byly určeny pomocí odhadů maximální věrohodnosti parametrů logistického modelu s použitím matice rozptylu a kovariance velkého vzorku. .

Bodové odhady LoD a 95% horní a dolní intervaly spolehlivosti pro každý testovaný toxinotyp *C. difficile* jsou shrnuty v následující tabulce.

Tabulka 8. 95% interval spolehlivosti pro analytickou LoD-C. difficile

ID kmene	Toxinotyp	LoD _{95%} (CFU/Swab)	Dolní 95% CI	Horní 95% CI
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) ^a	III	23	19	31
LUMC-5 (027) ^a	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

^a Pomocí PCR-ribotypizace

Výsledky této studie ukazují, že test Xpert C. difficile BT poskytne v 95 % případů pozitivní výsledek na C. difficile u vzorku stolice obsahujícího 460 CFU/výtěr a v 95 % případů předpokládaný pozitivní výsledek 027 u výtěru obsahujícího 75 CFU.

19.3 Interferující látky

Dvacet jedna (21) biologických a chemických látek, které se občas používají nebo se vyskytují ve vzorcích stolice, bylo testováno na interferenci s testem Xpert C. difficile BT. Mezi potenciálně interferující látky patří mimo jiné krém Vagisil a pasta z oxidu zinečnatého (viz oddíl 16, Omezení). U 19 látek uvedených v tabulce níže nebyla zjištěna žádná interference s testem Xpert C. difficile BT.

Tabulka 9. Testované látky, které nevykazují interferenci v testu

Látka	Látka
Plná krev Karolinska University Hospital	K-Y želé/gel® McNeil-PPC
Mucin (prasečí) Sigma	Vazelína Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Preparation H Portable Wipes Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginal Contraceptive Film (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Příprava H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomycin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazol Actavis
Fekální tuhy Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company

Látka	Látka
Monistat® McNeil-PPC	E-Z HDTM Síran barnatý s vysokou hustotou pro suspenzi E-Z EM Kanada
Hydrokortizonový krém Longs Drugs	

20 Reprodukovanost

Panel 7 vzorků s různými koncentracemi toxigenního *C. difficile* a *C. difficile* ribotypu 027 byl testován v 10 různých dnech dvěma různými pracovníky na každém ze 3 pracovišť (7 vzorků x 2 pracovníci/den x 10 dní x 3 pracovišť). Na každém ze 3 testovacích pracovišť byla použita jedna šarže testu Xpert C. difficile BT. Testy Xpert C. difficile BT byly provedeny podle postupu testování Xpert C. difficile BT. Výsledky jsou shrnuty v následujících dvou tabulkách.

Tabulka 10. Souhrn výsledků reprodukovanosti (všechny)

ID vzorku	% shoda ^a			% Celková shoda podle vzorku
	pracoviště 1	pracoviště 2	pracoviště 3	
Negativní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> Vysoce negativní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> Nízká pozitivita	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> Středně pozitivní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> ribotyp 027 vysoce negativní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> ribotyp 027 nízké pozitivní	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96.7% (58/60)
Toxigenní <i>C. difficile</i> Ribotyp 027 Středně pozitivní	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% Celková shoda podle pracoviště	100% (140/140)	97.1% (136/140)	97.1% (136/140)	98.1% (412/420)

^a U negativních a vysoce negativních vzorků je % shody = (# negativních výsledků/celkový počet odebraných vzorků); u nízké a středně pozitivních vzorků je % shody = (# pozitivních výsledků/celkový počet odebraných vzorků).

Tabulka 11. Souhrn výsledků hodnot Ct podle úrovně vzorku a sondy

SPC			
Úroveň	průměr	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
Toxigenní <i>C. diff</i> vysoce negativní	32.17	0.59	1.83%
Toxigenní <i>C. diff</i> nízké pozitivní	32.14	0.53	1.66%
Toxigenní <i>C. diff</i> středně pozitivní	31.98	0.47	1.47%
027 vysoce negativní	32.11	0.65	2.03%
027 nízké pozitivní	31.93	0.72	2.26%
027 středně pozitivní	31.96	0.61	1.90%
Negativní	32.26	0.72	2.22%

<i>tcdB</i> (Toxin B)			
Úroveň	průměr	Směrodatná odchylka	Variační koeficient
Toxigenní <i>C. diff</i> vysoce negativní	39.59	0.70	1.77%
Toxigenní <i>C. diff</i> low pos	35.88	0.81	2.24%
Toxigenní <i>C. diff</i> mod pos	32.17	0.45	1.39%
027 vysoká negace	39.11	0.98	2.50%
027 nízká pozice	35.49	0.58	1.65%
027 mod pos	32.10	0.63	1.97%

Další panel 6 vzorků, 3 negativní a 3 vysoce negativní na toxigenní *C. difficile*, byl testován v 5 různých dnech 2 různými operátory na každém ze 3 pracovišť (6 vzorků x 2 operátoři/den x 5 dní x 3 pracoviště). Vysoce negativní vzorky byly připraveny v koncentraci nižší než LoD, takže se očekávalo, že ve 20 až 80 % případů poskytnou negativní výsledek. Na každém ze 3 testovacích míst byla použita jedna šarže testu Xpert *C. difficile* BT. Testy Xpert *C. difficile* BT byly provedeny podle postupu testu Xpert *C. difficile* BT. Výsledky jsou shrnuty v následující tabulce.

Tabulka 12. Shrnutí výsledků dalších vzorků reprodukovatelnosti

ID vzorku	% Dohoda ^a			% Celková shoda podle vzorku
	Pracoviště 1	Pracoviště 2	Pracoviště 3	
Negativní	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Toxigenní <i>C. difficile</i> Vysoce negativní ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53.3% (16/30)	57.8% (52/90)

^a (# negativní výsledky / celkový počet vysoce negativních vzorků)

^b 20-80% shoda se očekává u vysoce negativního vzorku

21 Odkazy

1. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063-1066.
2. Bartlett JG. Klinická praxe. Průjem spojený s antibiotiky. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. Vliv normální flóry na kolonizaci střeva *Clostridium difficile*. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Rizikové faktory infekce *Clostridium difficile*. J Hosp Infect 1998; 40:1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
6. Braun V, Hundsberger T, Leukel P, et al. Definice jediného integračního místa patogenního lokusu viru *Clostridium difficile*. 1996; Gene 181:29-38.
7. Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. Microb Pathog. 1995;19:203-213.
8. Sambol SP, Merrigan MM, Lysterly D, et al. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. Infect. Immun 2000;68:5480-5487.
9. Goncalves C, Decre D, Barbut F, et al. Prevalence a charakterizace binárního toxinu (aktin-specifické ADP- ribosyl-transferázy) z *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-1939
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Produkce aktin-specifické ADP-ribosyltransferázy (binárního toxinu) kmeny bakterií rodu *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 2000;186:307-12.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Akčně specifická ADP-ribotransferáza produkovaná bakterií *Clostridium difficile* kmen. Infect Immun 1998;56:2299-2306.
12. MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada, J Clin Microbiol. 2006 Jun;44(6):2147-2152.
13. Wilkins TD, Lysterly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41:531-534.
14. Delmee M. Laboratorní diagnostika onemocnění *Clostridium difficile*. Clin Microbiol Infect. 2001;7:411-416.
15. Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital- based survey. Lancet. 2011;377:63-73.
16. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, et al. Vztah mezi typem bakteriálního kmene, biomarkery hostitele a úmrtností u infekce *Clostridium difficile*. Clin Infect Dis. 2013; 56:1589-1600.
17. See I, Mu Y, Cohen J, Beldavs ZG, et al. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. Clin Infect Dis 2014;58:1394-1400.
18. Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; členské státy EU; Evropské centrum pro prevenci a kontrolu nemocí. Výskyt onemocnění spojených s *Clostridium difficile* v Severní Americe a Evropě. Clin Microbiol Infect. 2006; 12 Suppl 6:2-18.
19. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, et al. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*, J Clin Microbiol. 2007 Jan;45:215-221. Erratum in: J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):2103.
20. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. Infect Control Hosp Epidemiol. 2009;30(2):156-162.
21. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence a patogenita binárních toxinů *Clostridium difficile* pozitivních na binární toxin. kmeny, které neprodukují toxiny A a B. New Microbes New Infect. 2014;8;3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B a kol. Hodnocení testů Cepheid Xpert *C. difficile/Epi* a meridian bioscience illumigene *C. difficile* pro detekci kmenů *Clostridium difficile* ribotypu 033. J Clin Microbiol. 2015;53:973-5
23. Centra pro kontrolu a prevenci nemocí. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (Biologická bezpečnost v mikrobiologických a biomedicínských laboratořích). Richmond JY a McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Institut klinických a laboratorních standardů. Ochrana laboratorních pracovníků před infekcemi získanými při práci; schválený pokyn. Dokument M29 (viz poslední vydání).
25. NAŘÍZENÍ EVROPSKÉHO PARLAMENTU A RADY (ES) č. 1272/2008 ze dne 16. prosince 2008 o ochraně životního prostředí a o změně některých souvisejících zákonů (Úř. věst. prosince 2008 o klasifikaci, označování a balení látek a směsí, o změně a zrušení směrnic 67/548/EHS a 1999/45/ES (kterým se mění nařízení (ES) č. 1907/2007).
26. Normy bezpečnosti a ochrany zdraví při práci, Sdělení o nebezpečí, toxické a nebezpečné látky (26. března 2012) (29 C.F.R., bod 1910, pododdíl Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Srovnání sedmi technik typizace mezinárodních epidemických kmenů *Clostridium difficile*: restriční endonukleázová analýza, gelová elektroforéza s pulzním polem, PCR-ribotypizace,

multilokusová sekvenční typizace, multilokusová analýza tandemových opakování s proměnlivým počtem, polymorfismus s délkou amplifikovaného fragmentu a sekvenční typizace genu pro protein A povrchové vrstvy. J Clin Microbiol 2008;46:431-437.

22 Sídla společnosti Cepheid

Sídlo společnosti

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Spojené státy americké

Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Evropské ústředí

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
Francie

Telefon: + 33 563 825 300
Fax: + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

23 Technická pomoc

Než nás kontaktujete

Před kontaktováním technické podpory společnosti Cepheid shromážděte následující informace:

- Název produktu
- Číslo šarže
- Sériové číslo přístroje
- Chybová hlášení (pokud existují)
- Verze softwaru a případně číslo servisního štítku počítače

Technická podpora Spojených států amerických

Telefon: + 1 888 838 3222

E-mail: techsupport@cepheid.com

Francie Technická podpora

Telefon: + 33 563 825 319

E-mail: support@cepheideurope.com

Kontaktní informace na všechny pobočky technické podpory společnosti Cepheid jsou k dispozici na našich webových stránkách: www.cepheid.com/en/support/ contact-us.

24 Tabulka symbolů

Symbol	Význam
	Katalogové číslo
	Diagnostický zdravotnický prostředek <i>in vitro</i>
	Nepoužívejte znovu
	Kód dávky
	Přečtěte si návod k použití
	Upozornění
	Výrobce
	Země výroby
	Obsahuje dostatečné množství pro n testů
	Kontrola
	Datum expirace
	Označení CE - evropská shoda
	Teplotní omezení
	Biologické rizika
	Varování
	Zplnomocněný zástupce ve Švýcarsku
	Dovozce



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
Spojené státy americké
Telefon: + 1 408 541 4191
Fax: + 1 408 541 4192



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Švýcarsko



Cepheid Switzerland GmbH
Zürcherstrasse 66
Postfach 124, Thalwil
CH-8800
Švýcarsko



25 Historie revizí

Sekce	Popis změny
Tabulka symbolů	Do tabulky symbolů byly přidány symboly a definice CH REP a Importer. Přidány informace o CH REP a Importer s adresou Švýcarska.
Historie revizí	Aktualizovaná tabulka historie revizí.