

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © Cepheid 2016. All rights reserved.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert[®] C. difficile BT

In Vitro Diagnostic Medical Device

1 Proprietary Name

Xpert[®] C. difficile BT

2 Common or Usual Name

Xpert[®] C. difficile BT Assay

Atitiktis_1.1

3 Intended Use

The Cepheid Xpert C. difficile BT Assay, performed on the Cepheid GeneXpert[®] Instrument Systems, is a qualitative *in vitro* diagnostic test for rapid detection of C. difficile *tcdB* (toxin B gene), *cdt* (binary toxin gene), and a deletion of a nucleotide at position 117 of the *tcdC* gene from unformed (liquid or soft) stool specimens collected from patients suspected of having *Clostridium difficile* infection (CDI). The Xpert C. difficile BT Assay is intended as an aid in the diagnosis of CDI and detection of strains potentially associated with more severe disease. The test utilizes automated real-time polymerase chain reaction (PCR) to detect *tcdB*, *cdt*, and the *tcdC* deletion at base 117 associated with the ribotype 027 strain. Binary toxin is produced by a limited number of C. difficile strains, including the 027 strain. Binary toxin together with *tcdB* detection is often an indicator of more severe disease or recurrence of disease. Isolates of C. difficile that are negative for *tcdB* but contain binary toxin genes alone may produce symptoms similar to toxigenic C. difficile strains but the clinical significance of such strains is currently uncertain. Concomitant culture is necessary only if further typing or organism recovery is required.

4 Summary and Explanation

C. difficile is a Gram-positive, spore-forming, anaerobic rod that was first linked to disease in 1978.¹

CDI ranges from mild diarrhea to severe life-threatening pseudomembranous colitis.² Mature colonic bacterial flora in a healthy adult is generally resistant to C. difficile colonization.³ However, if the normal colonic flora is altered, resistance to colonization by other bacterial species, such as C. difficile, is lost. The most common risk factor for developing CDI is exposure to antibiotics.⁴ C. difficile's primary virulence factor is cytotoxin B.⁵ The genes coding for toxin A (*tcdA*; the enterotoxin) and toxin B (*tcdB*) are part of the pathogenicity locus (PaLoc).^{6,7} Most pathogenic strains are toxin A-positive, toxin B-positive (A+B+) strains, although toxin A-negative, toxin B-positive (A-B+) variant isolates have been recognized as pathogenic.⁸ Some strains of C. difficile also produce an actin-specific ADP-ribosyltransferase called CDT or binary toxin. The binary toxin locus contains two separate genes (*cdtA* and *cdtB*) and is located outside the PaLoc.⁹⁻¹¹

CDI diagnosis traditionally has been based either on the detection of toxin B directly in stool (the cell culture cytotoxicity neutralization [CCCN] test) or on culture of the organism followed by determination of toxin B production by the isolate (toxigenic culture). Both the CCCN test and toxigenic culture are labor intensive but are still considered to be the "gold standards" because of the specificity of the former and the sensitivity of the latter.^{12,13} Several rapid enzyme immunoassays have been developed for detection of toxin A and B; however, these tests have reduced sensitivity and specificity compared to the CCCN test. PCR methods for the detection of genes associated with toxin A and/or toxin B production have been developed and show high sensitivity and specificity as compared to toxigenic culture.¹⁴

In addition to toxin A and B, recent literature suggests a link between the production of binary toxin and both disease severity and outcome. Bauer et al.¹⁵ showed the presence of binary toxin genes in toxigenic isolates in 23% of the CDI cases in Europe. Binary toxin produced by *cdt* genes is frequently observed in C. difficile strains associated with increased severity of CDI. Binary toxin belongs to the family of ADP-ribosylating toxins and consists of *cdtA* genes, the enzymatic ADP-ribosyltransferase, which modifies actin, and *cdtB*, which binds to host cells and translocates the product of *cdtA* into the cytosol. Multiple clinical studies indicate an association between the presence of binary toxin genes in C. difficile and increased 30-day CDI mortality independent of PCR ribotype. There is also literature showing that subjects having severe CDI, fulminant colitis, and/or recurrent CDI are infected more frequently with C. difficile ribotypes carrying the genes for binary toxin production (*cdtA/cdtB*) than those without these complications.^{16,17}

A subset of binary-producing isolates have mutations in the negative toxin regulator gene (*tcdC*), i.e., a deletion at nucleotide 117 (*tcdCA117*) consistent with Ribotype 027 strains. Infection caused by 027/NAP1/BI strains may be associated with a higher rate of mortality and morbidity, including intensive care unit (ICU)-admission and prolonged length of stay. Multivariate analysis demonstrated a significant association between disease severity and the presence of ribotypes carrying the binary toxin gene with or without deletion at nucleotide 117. In the last several years, there have been outbreaks of CDI attributed to a number of emerging “hypervirulent” strains that include fluoroquinolone-resistant strains belonging to PCR ribotype 027, (which are also known as pulsed-field gel electrophoresis group NAP1 and restriction endonuclease assay type BI.)^{8,18} Strains of 027 may exhibit increased toxin production, which is attributed to deletions in the regulatory gene *tcdC* and may produce more spores, leading to enhanced persistence in the environment.^{19,20} A presumptive positive 027 result may aid in the identification of possible sources of an 027 outbreak.

Finally, additional studies have reported cases of patients with diarrhea and suspected *C. difficile* infection due to toxinotype XI/PCR ribotype 033, or 033-like strains positive for binary toxin but negative for toxin A and B.^{21,22} The clinical significance of such binary toxin positive, toxin B-negative strains is not fully understood.

5 Principle of the Procedure

The GeneXpert Instrument Systems automate and integrate sample preparation, nucleic acid purification and amplification, and detection of the target sequences in simple or complex samples using real-time PCR assays. The systems consist of an instrument, personal computer, and preloaded software for running the tests on clinical specimens and viewing the results. The systems require the use of single-use disposable GeneXpert cartridges that hold reagents for PCR and host the processes of DNA extraction, amplification, and amplicon detection. Because the cartridges are self-contained, cross-contamination between samples is minimized. For a full description of the systems, refer to the appropriate *GeneXpert Dx System Operator Manual* and/or *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Xpert *C. difficile* BT Assay includes reagents for the detection of toxin producing *C. difficile* and a Sample Processing Control (SPC). The SPC indicates adequate processing of the target bacteria and monitors the presence of inhibitors in the PCR reaction. The Probe Check Control (PCC) verifies reagent rehydration, PCR tube filling in the cartridge, probe integrity, and dye stability.

The primers and probes in the Xpert *C. difficile* BT assay detect sequences in the genes for toxin B (*tcdB*), binary toxin (*cdt*), and the *tcdCA117*.

6 Reagents and Instruments

6.1 Material Provided



The Xpert *C. difficile* BT kit contains sufficient reagents to process 10 specimens or quality control samples.

The kit contains the following:

Xpert <i>C. difficile</i> BT Assay Cartridges with Integrated Reaction Tubes	10
• Bead 1, Bead 2, and Bead 3 (freeze-dried)	1 of each per cartridge
• Reagent 1	3.0 mL per cartridge
• Reagent 2 (Sodium Hydroxide)	3.0 mL per cartridge
Xpert <i>C. difficile</i> BT Reagent Pouches	10
• Sample Reagent (Guanidinium Thiocyanate)	10 x 2.0 mL per pouch
CD	1 per kit
• Assay Definition Files (ADF)	
• Instructions to import ADF into software	
• Package Insert	



Note Safety Data Sheets (SDS) are available at www.cepheid.com or www.cepheidinternational.com under the **SUPPORT** tab.

Note

The bovine serum albumin (BSA) in the beads within this product was produced and manufactured exclusively from bovine plasma sourced in the United States. No ruminant protein or other animal protein was fed to the animals; the animals passed ante- and post-mortem testing. During processing, there was no commingling of the material with other animal materials.

6.2 Storage and Handling

- Store the Xpert *C. difficile* BT kit at 2–28 °C.
- Do not use sample reagent or cartridges that have passed the expiration date.
- Do not open the cartridge lid until you are ready to perform testing.
- Do not use sample reagent that has become cloudy or discolored.
- Do not use a cartridge that has leaked.

6.3 Materials Required but Not Provided

- GeneXpert Dx System or GeneXpert Infinity System (catalog number varies by configuration): GeneXpert instrument, computer with proprietary GeneXpert Software Version 4.3 or higher, barcode scanner, and operator manual.
- Printer: If a printer is required, contact Cepheid Sales Representative to arrange for the purchase of a recommended printer.
- Vortex mixer
- Disposable, clean transfer pipettes
- Dry swab for transfer of the specimen, such as the swab found in the Cepheid Sample Collection Device (Cepheid Catalog Number: 900-0370), Cepheid Single-Use Disposable Swab (Cepheid Catalog Number SDPS-120), or the Copan Dual Swab and Transport Systems (139C LQ STUART)

7 Warnings and Precautions

- Treat all biological specimens, including used cartridges and reagents, as if capable of transmitting infectious agents. Because it is often impossible to know which might be infectious, all biological specimens should be treated with standard precautions. Guidelines for specimen handling are available from the U.S. Centers for Disease Control and Prevention and the Clinical and Laboratory Standards Institute.^{23,24}
- Follow your institution's safety procedures for working with chemicals and handling biological samples.
- Wear clean lab coats and gloves. Change gloves between processing each sample.
- Do not substitute Xpert *C. difficile* BT reagents with other reagents.
- Do not open the Xpert *C. difficile* BT cartridge lid except when adding sample and reagents or to remove sample from the original cartridge to perform a retest in a new cartridge.
- Do not use a cartridge that has been dropped after removing it from the packaging.
- Do not shake the cartridge. Shaking or dropping the cartridge after opening the lid may yield invalid results.
- Do not use a cartridge that has a damaged reaction tube.
- Do not place the Sample ID label on the cartridge lid or on the barcode label.



- Each single-use Xpert *C. difficile* BT cartridge is used to process one test. Do not reuse a used cartridges.
- Consult your institution's environmental waste personnel on proper disposal of used cartridges and used reagents. This material may exhibit characteristics of hazardous waste requiring specific disposal requirements. Institutions should check their local and country hazardous waste disposal requirements.
- In the event of contamination of the work area or equipment with sample or controls, thoroughly clean the contaminated area with a solution of 1:10 dilution of household chlorine bleach and then repeat the cleaning of the work area with 70% ethanol. Wipe work surfaces dry completely before proceeding.

8 Chemical Hazards^{25,26}

8.1 Reagent 2:



- Contains sodium hydroxide
- Signal Word: Warning
- CLP/GHS Hazard Statements: H302: Harmful if swallowed, H315: Causes skin irritation, H319: Causes serious eye irritation

8.2 Sample Reagent:



- Contains guanidinium thiocyanate
- Signal Word: Warning
- CLP/GHS Hazard Statements: H302: Harmful if swallowed, H412: Harmful to aquatic life with long lasting effects, EUH031: Contact with acids liberates toxic gas
- Precautionary Statements:
 - P264: Wash hands thoroughly after handling.
 - P280: Wear protective gloves/eye protection/face protection.
 - P273: Avoid release to the environment.
 - P302 + P352: IF ON SKIN: Wash with plenty of soap and water.
 - P305 + P351 + P338: IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.
 - P312: Call a POISON CENTER or physician if you feel unwell.
 - P501: Dispose of contents/container to location in accordance with local and regional/national/international regulations.
 - P362: Take off contaminated clothing and wash before reuse.
 - P321: Specific treatment, see supplemental first aid information.
 - P332 + P313: If skin irritation occurs, get medical advice/attention.
 - P337 + P313: If eye irritation persists, get medical advice/attention.

9 Specimen Collection and Transport

[Atitiktis_1.2](#)

1. **Collect the unformed stool in a clean container.** Follow your institution's guidelines for collecting samples for *C. difficile* testing.
2. Label with Patient ID and send to the laboratory for testing.
3. Store specimen at 2–8 °C. The specimen is stable for up to 5 days when stored at 2–8 °C. Alternatively, specimens can be kept at room temperature (20–30 °C) for up to 24 hours.



10 Procedure

10.1 Preparing the Cartridge

Important Start the test within 30 minutes of adding the sample to the cartridge.

To add the sample to the cartridge (Xpert C. difficile BT):

1. Remove the cartridge and Sample Reagent from the package.
2. Immerse swab in the unformed stool sample briefly. The swab does not need to be completely soaked.
3. Insert the swab into the tube containing the Sample Reagent.

Note Use sterile gauze to minimize risks of contamination.

4. Hold the swab by the stem near the rim of the tube, lift the swab a few millimeters from the bottom of the tube, and push the stem against the edge of the tube to break it. Make sure the swab is short enough to allow the cap to close tightly.
5. Close the lid and vortex at high speed for 10 seconds.
6. Open the cartridge lid. Using a clean transfer pipette, transfer the entire contents of the Sample Reagent to the Sample Chamber of the Xpert C. difficile BT cartridge. See Figure 1.
7. Close the cartridge lid.

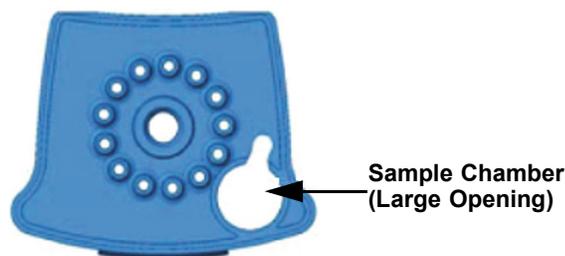


Figure 1. Xpert C. difficile BT Cartridge (Top View)

10.2 Starting the Test

Important Before you start the test, make sure the Xpert C. difficile BT assay definition file is imported into the software. This section lists the basic steps of running the test. For detailed instructions, see the *GeneXpert Dx System Operator Manual* or the *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Note The steps you follow can be different if the system administrator changed the default workflow of the system.

1. Turn on the GeneXpert instrument system:
 - If using the GeneXpert Dx instrument, first turn on the instrument and then turn on the computer. The GeneXpert software will launch automatically or may require double-clicking the GeneXpert Dx software shortcut icon on the Windows® desktop.
 - or
 - If using the GeneXpert Infinity instrument, power up the instrument. The GeneXpert software will launch automatically or may require double clicking the Xpertise software shortcut icon on the Windows desktop.
2. Log on to the GeneXpert Instrument System software using your user name and password.
3. In the GeneXpert System window, click **Create Test** (GeneXpert Dx) or click **Orders** and **Order Test** (Infinity). The Create Test window opens.
4. Scan in the Patient ID (optional). If typing the Patient ID, make sure the Patient ID is typed correctly. The Patient ID is associated with the test results and is shown in the View Results window.
5. Scan or type in the Sample ID. If typing the Sample ID, make sure the Sample ID is typed correctly. The Sample ID is associated with the test results and is shown in the View Results window.

6. Scan the barcode on the Xpert C. *difficile* BT cartridge. Using the barcode information, the software automatically fills the boxes for the following fields: Select Assay, Reagent Lot ID, Cartridge SN, and Expiration Date.

Note

If the barcode on the Xpert C. *difficile* BT cartridge does not scan, then repeat the test with a new cartridge following the procedure in Section 15, Retest Procedure.

7. Click **Start Test** (GeneXpert Dx) or **Submit** (Infinity). In the dialog box that appears, type your password.
8. For the GeneXpert Infinity System, place the cartridge on the conveyor belt. The cartridge will be loaded automatically, the test will run, and the used cartridge will be placed into the waste container.

or

For the GeneXpert Dx Instrument:

- A. Open the instrument module door with the blinking green light and load the cartridge.
- B. Close the door. The test starts and the green light stops blinking. When the test is finished, the light turns off.
- C. Wait until the system releases the door lock before opening the module door and removing the cartridge.
- D. The used cartridges should be disposed in the appropriate specimen waste containers according to your institution's standard practices.

11 Viewing and Printing Results

This section lists the basic steps for viewing and printing results. For more detailed instructions on how to view and print the results, see the *GeneXpert Dx System Operator Manual* or the *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

1. Click the **View Results** icon to view results.
2. Upon completion of the test, click the **Report** button of the View Results window to view and/or generate a PDF report file.

12 Quality Control

CONTROL

Each test includes a Sample Processing Control (SPC) and Probe Check Control (PCC).

- **Sample Processing Control (SPC):** Ensures the sample was correctly processed. The SPC contains spores of *Bacillus globigii* in the form of a dry bead that is included in each cartridge to verify adequate processing of the sample. The SPC verifies that lysis of *C. difficile* bacteria and a spore have occurred if the organisms are present and verifies that specimen processing is adequate. Additionally this control detects sample-associated inhibition of the real-time PCR assay, ensures the PCR reaction conditions (temperature and time) are appropriate for the amplification reaction, and that the PCR reagents are functional. The SPC should be positive in a negative sample and can be negative or positive in a positive sample. The SPC passes if it meets the validated acceptance criteria.
- **Probe Check Control (PCC):** Before the start of the PCR reaction, the GeneXpert System measures the fluorescence signal from the probes to monitor bead rehydration, reaction tube filling, probe integrity, and dye stability. Probe Check passes if it meets the assigned acceptance criteria.

13 Interpretation of Results

The results are interpreted by the GeneXpert Instrument Systems from measured fluorescent signals and embedded calculation algorithms and will be shown in the View Results window. Possible results are shown in Table 1.

Table 1. Xpert *C. difficile* BT Results and Interpretation

Result	Interpretation
Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG See Figure 2.	Toxin-producing <i>C. difficile</i> target DNA sequences are detected. <ul style="list-style-type: none"> Toxin-producing <i>C. difficile</i> — the toxin-producing <i>C. difficile</i> target (toxin B gene) has a Ct within the valid range and an endpoint above the minimum setting. Binary toxin gene and the <i>tcdC</i> deletion at nt 117 are not detected. SPC — NA (not applicable); SPC is ignored since <i>C. difficile</i> target amplification may compete with this control Probe Check — PASS; all probe check results pass.
Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 NEG See Figure 3.	Toxin-producing <i>C. difficile</i> target DNA sequences are detected. <ul style="list-style-type: none"> Toxin-producing <i>C. difficile</i> targets (toxin B gene plus binary toxin gene) have Cts within the valid range and endpoints above the minimum setting; the <i>tcdC</i> deletion at nt 117 is not detected SPC — NA (not applicable); SPC is ignored since <i>C. difficile</i> target amplification may compete with this control. Probe Check — PASS; all probe check results pass.
Toxigenic <i>C. diff</i> POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS See Figure 4.	Toxin-producing <i>C. difficile</i> and presumptive 027 target DNA sequences are detected. <ul style="list-style-type: none"> All toxin-producing <i>C. difficile</i>, presumptive 027 targets (toxin B, binary toxin and <i>tcdC</i> deletion at nt 117) have Cts within the valid range and endpoint above the minimum setting. SPC — NA (not applicable); SPC is ignored since <i>C. difficile</i> target amplification may compete with this control. Probe Check — PASS; all probe check results pass.
Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG See Figure 5.	<i>C. difficile</i> toxin B gene sequences are not detected; however, another DNA target (binary toxin gene) is detected and has a Ct within the valid range and an endpoint above the minimum setting. The clinical significance of binary toxin-positive only isolates has yet to be determined. <ul style="list-style-type: none"> SPC — NA (not applicable); SPC is ignored since <i>C. difficile</i> target amplification may compete with this control. Probe Check — PASS; all probe check results pass.
Toxigenic <i>C. diff</i> NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG See Figure 6.	<i>C. difficile</i> target DNA sequences (Toxin B gene, binary toxin gene) are not detected. <ul style="list-style-type: none"> Toxin-producing <i>C. difficile</i> gene sequences (toxin B gene and binary toxin gene) are not detected; other DNA targets for toxigenic <i>C. difficile</i> (<i>tcdC</i> deletion at nt 117) are not detected. SPC — PASS; SPC has a Ct within the valid range and endpoint above the endpoint minimum setting. Probe Check — PASS; all probe check results pass.
INVALID See Figure 7.	Presence or absence of <i>C. difficile</i> target DNA cannot be determined. Repeat test according to the instructions in Section 15, Retest Procedure. SPC does not meet acceptance criteria, the sample was not properly processed or PCR is inhibited. <ul style="list-style-type: none"> INVALID — Presence or absence of <i>C. difficile</i> target DNA cannot be determined. SPC — FAIL; SPC target result is negative and the SPC Ct is not within valid range and endpoint is below minimum setting. Probe Check — PASS; all probe check results pass.

Table 1. Xpert C. difficile BT Results and Interpretation (Continued)

Result	Interpretation
ERROR	<p>Presence or absence of <i>C. difficile</i> target DNA cannot be determined. Repeat test according to the instructions in Section 15, Retest Procedure. The Probe Check control failed probably because the reaction tube was filled improperly, a probe integrity problem was detected, or because the maximum pressure limits were exceeded.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B — NO RESULT • Binary Toxin — NO RESULT • <i>tcdC</i> deletion at nt 117 — NO RESULT • *SPC — NO RESULT • Probe Check — FAIL*; all or one of the probe check results fail. <p>* If the probe check passed, the error is caused by a system component failure.</p>
NO RESULT	<p>Presence or absence of <i>C. difficile</i> target DNA cannot be determined. Repeat test according to the instructions in Section 15, Retest Procedure. Insufficient data were collected to produce a test result (for example, the operator stopped a test that was in progress).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT • Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT • <i>tcdC</i>Δ117 — NO RESULT • SPC — NO RESULT • Probe Check — NA (not applicable)

Note The screens shown in this section (Figure 2, Figure 3, Figure 4, Figure 5, Figure 6, and Figure 7) are from a GeneXpert Dx instrument running GeneXpert Dx software.

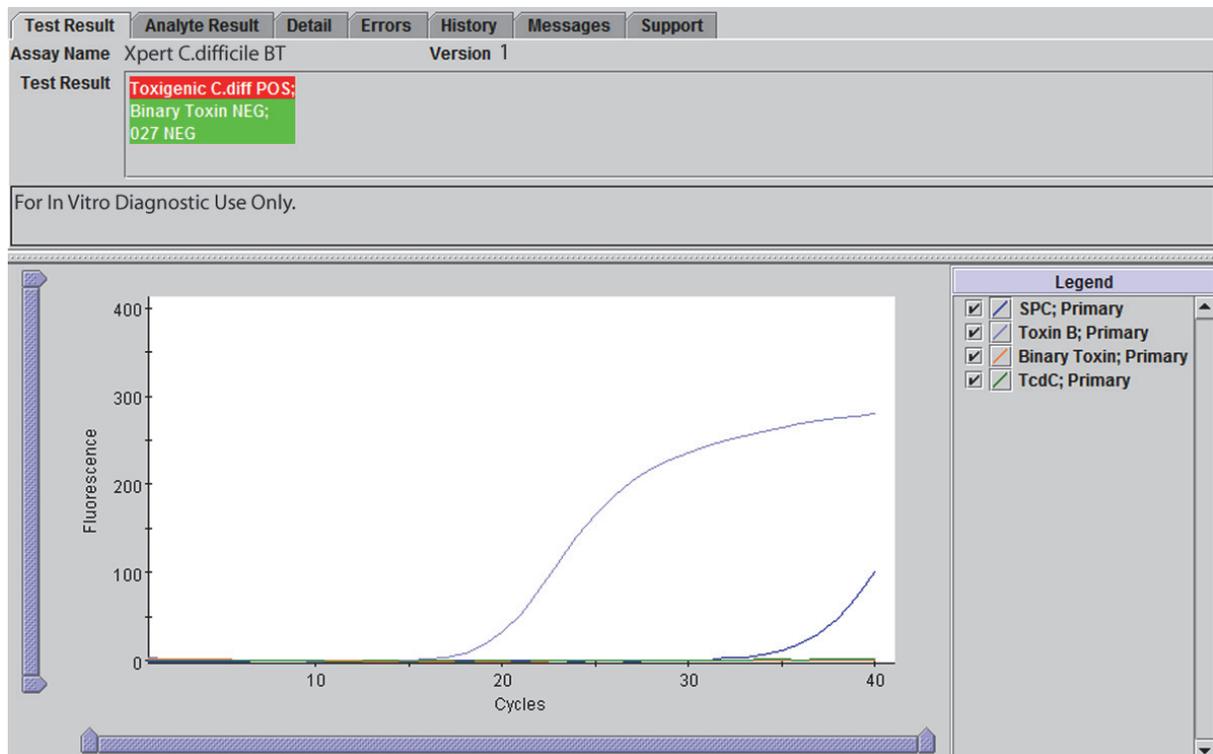


Figure 2. Example of Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Negative, and 027 Negative Results

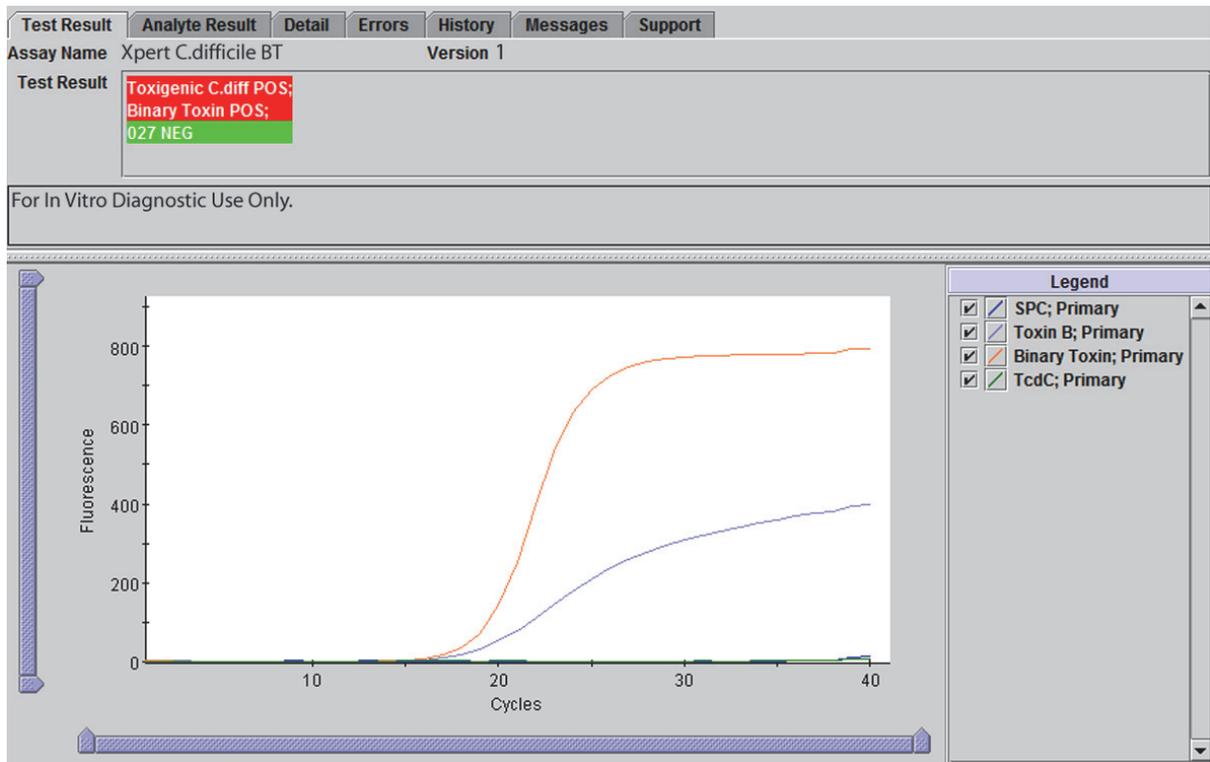


Figure 3. Example of Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Positive, and 027 Negative Results

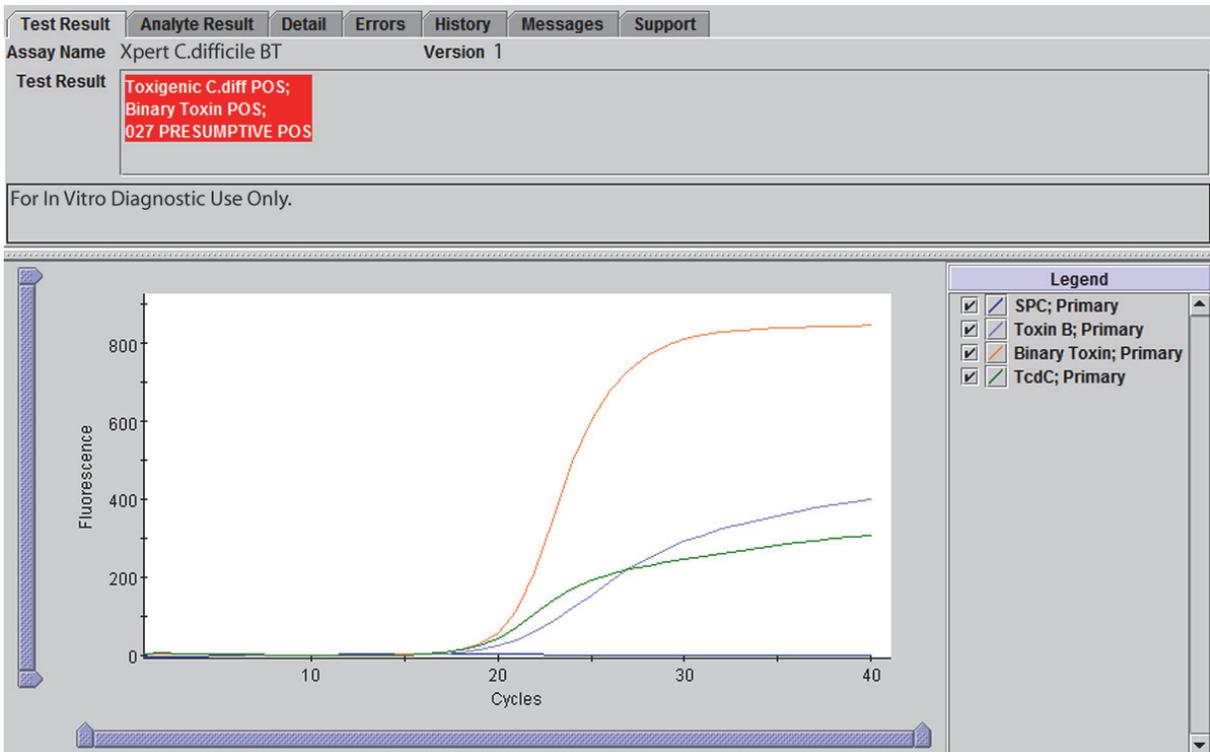


Figure 4. Example of Toxigenic C. diff Positive, Binary Toxin Positive, and 027 Presumptive Positive Results

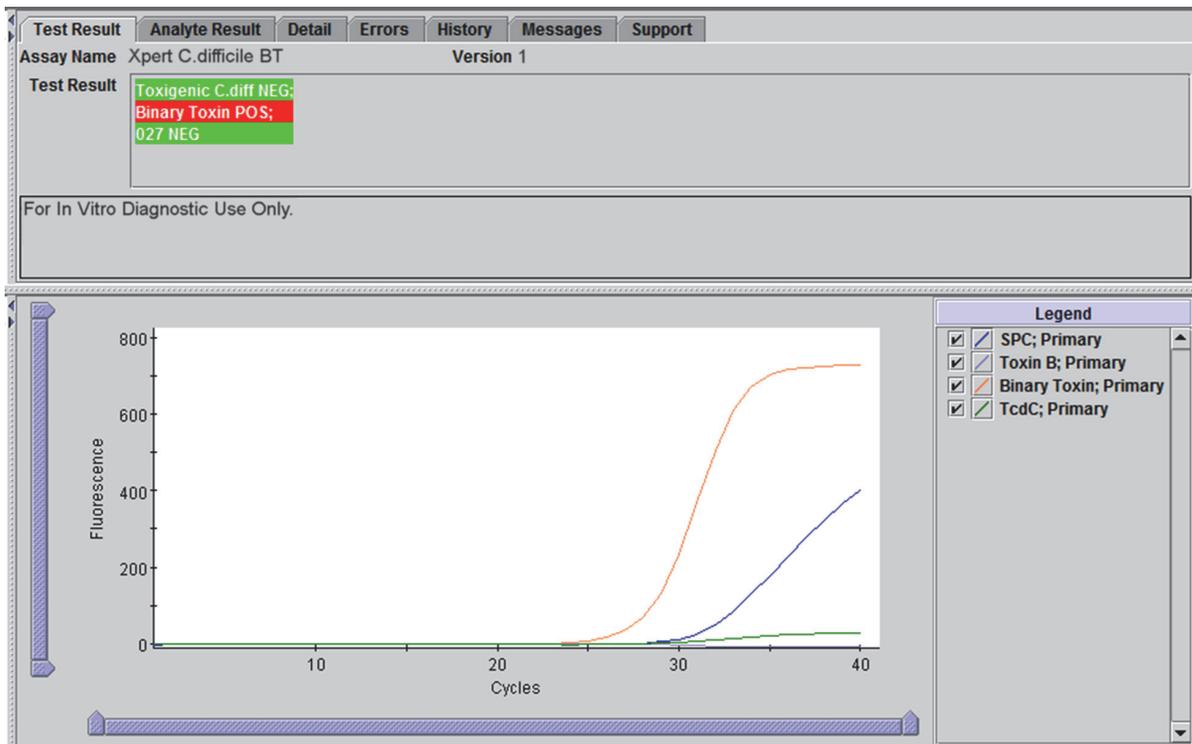


Figure 5. Example of Toxigenic C. diff Negative, Binary Toxin Positive, and 027 Negative Results

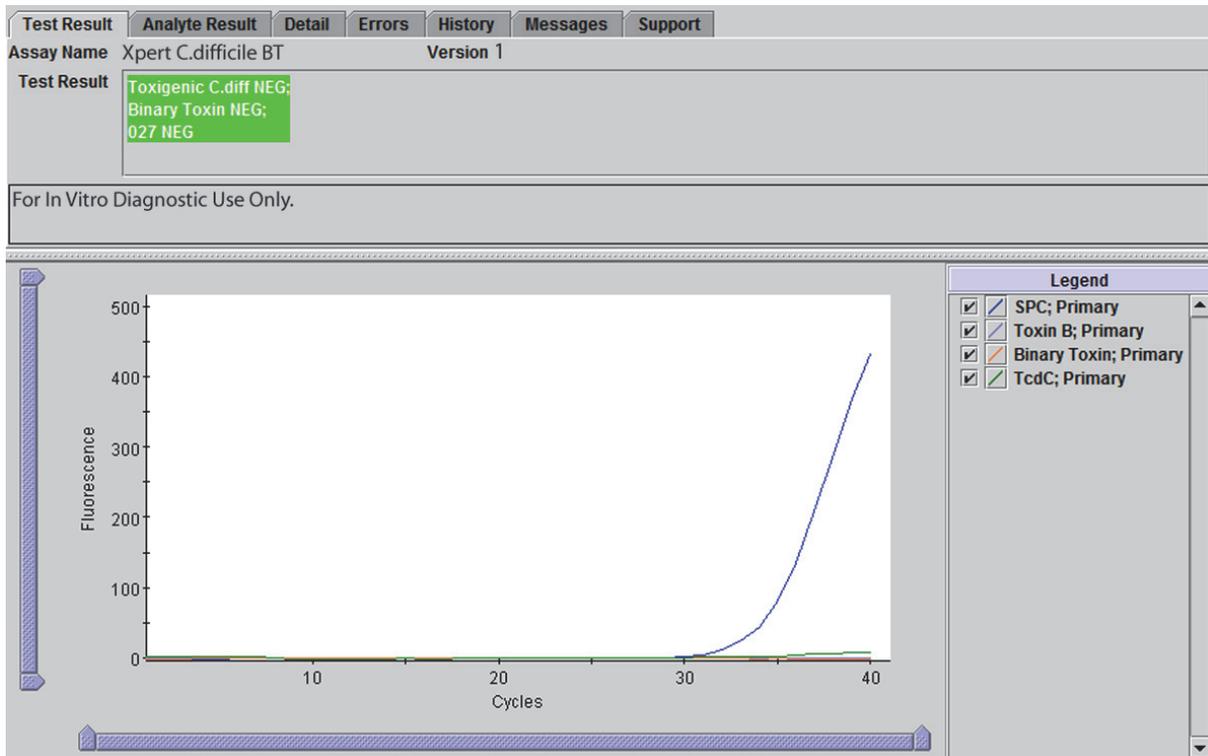


Figure 6. Example of Toxigenic C. diff Negative, Binary Toxin Negative, and 027 Negative Results

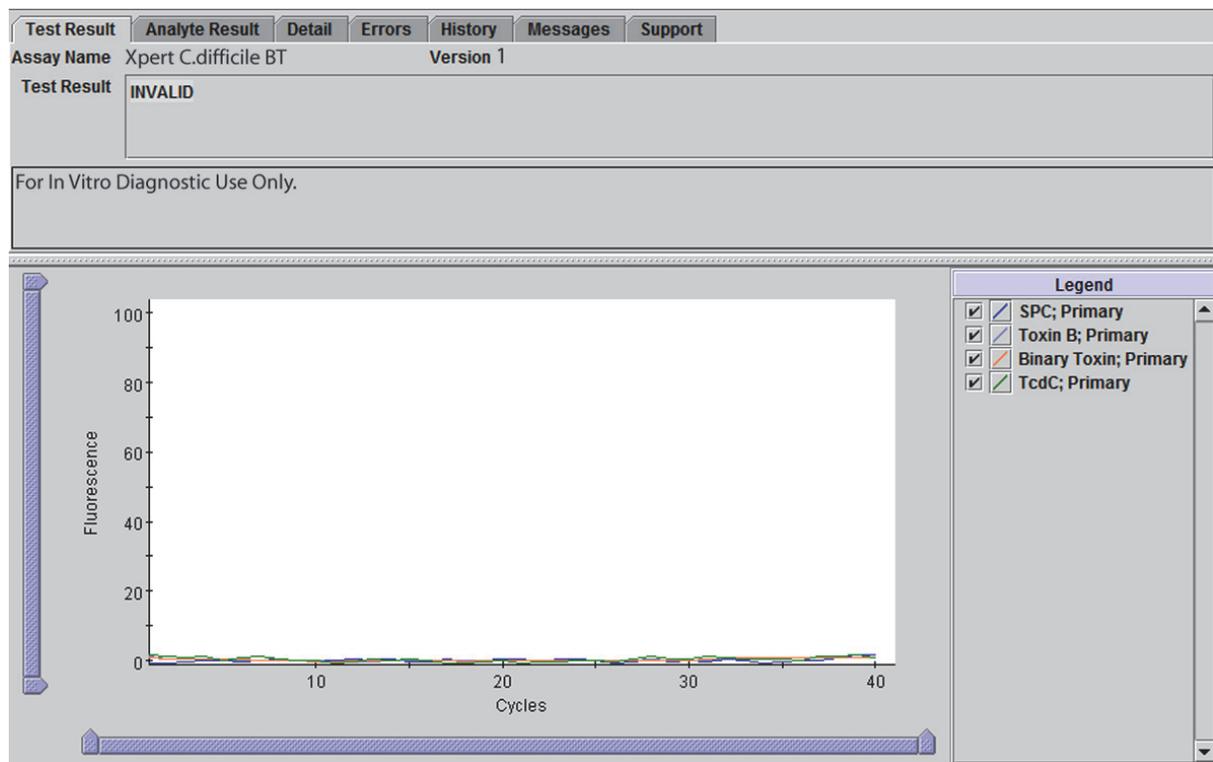


Figure 7. Example of an Invalid Result

14 Reasons to Repeat the Assay

If any of the test results mentioned below occur, repeat the test once according to the instructions in Section 15, Retest Procedure.

- An **INVALID** result indicates that the SPC failed. The sample was not properly processed or PCR was inhibited.
- An **ERROR** result indicates that the Probe Check control may have failed and the assay was aborted possibly due to the reaction tube being filled improperly, a reagent probe integrity problem was detected, or because the maximum pressure limits were exceeded, or a valve positioning error was detected.
- A **NO RESULT** indicates that insufficient data were collected. For example, the operator stopped a test that was in progress.

15 Retest Procedure

For retest within 3 hours of an indeterminate result, use a new cartridge (do not re-use the cartridge) and new reagents.

1. Remove a new cartridge from the kit.
2. Transfer all remaining contents from the Sample Chamber to a new Sample Reagent vial using a disposable transfer pipette.
3. Vortex and add the entire contents of the Sample Reagent to the Sample Chamber of the new Xpert *C. difficile* BT cartridge.
4. Close the lid and start the new test.

For retest after 3 hours of an indeterminate result, repeat the test with a new swab sample from the original patient specimen.

16 Limitations

- Non-027 isolates representing toxinotype XIV will be reported as **Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS** using the Xpert *C. difficile* BT Assay.
- **Toxigenic *C. diff* NEG; Binary Toxin POS, Presumptive 027 NEG** by Xpert *C. difficile* BT may harbor the Toxin B gene and/or the *tcdC* deletion below the LoD of the assay.
- Occasionally, non-027 isolates representing toxinotypes IV, V and X will be reported as **Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS** using the Xpert *C. difficile* BT Assay.
- The performance of the Xpert *C. difficile* BT Assay was validated using the procedures provided in this package insert only. Modifications to these procedures may alter the performance of the test.
- Results from the Xpert *C. difficile* BT Assay should be interpreted in conjunction with other laboratory and clinical data available to the clinician.
- Erroneous test results might occur from improper specimen collection, failure to follow the recommended sample collection, handling and storage procedures, technical error, sample mix-up, or because the number of organisms in the specimen is too low to be detected by the test. Careful compliance with the instructions in this insert is necessary to avoid erroneous results.
- Because of the dilution factor associated with the retest procedure, it is possible that *C. difficile* positive specimens, very near or at the limit of detection (LoD) of the Xpert *C. difficile* BT Assay, may result in a false negative result upon retest.
- Inhibition of the Xpert *C. difficile* BT Assay has been observed in the presence of the following substances: Zinc oxide paste and Vagisil® cream.
- Outbreaks of CDI may be caused by strains other than 027.
- False-negative results may occur when the infecting organism has genomic mutations, insertions, deletions, or rearrangements or when performed very early in the course of illness.
- Positive results obtained with immunocompromised patients may reflect asymptomatic carriage of *C. difficile*.
- Detection of *C. difficile* nucleic acid in stools confirms the presence of the organisms in patients with diarrhea but may not indicate that *C. difficile* is the cause of the diarrhea.
- Performance characteristics were not established for patients <2 years of age.

17 Expected Values

In the Xpert *C. difficile* BT Assay clinical study, a total of 2293 unformed stool specimens were included from seven centers across the United States and Canada. The number and percentage of toxigenic *C. difficile* positive cases by culture, calculated by age and gender, are presented in Table 2 and Table 3, respectively.

Table 2. Observed Prevalence of Toxigenic *C. difficile* by Age Group^a

Age Group	N	Toxigenic <i>C. difficile</i> Prevalence (includes 027)	Binary Toxin Prevalence	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)
Total	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

a. Prevalence based on Xpert results.

Table 3. Observed Prevalence of Toxigenic *C. difficile* by Gender^a

Gender	N	Toxigenic <i>C. difficile</i> Prevalence (includes 027)	Binary Toxin Prevalence	027 Prevalence
Male	1072	18.2% (195/1072)	6.3% (68/1072)	5.0% (54/1072)
Female	1221	19.2% (235/1221)	7.9% (97/1221)	5.8% (71/1221)
Total	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

a. Prevalence based on Xpert results.

18 Performance Characteristics

18.1 Clinical Performance

Performance characteristics of the Xpert *C. difficile* BT Assay were determined in a multi-site prospective investigation study at seven US and Canadian institutions by comparing the Xpert *C. difficile* BT Assay to reference culture followed by CCCN testing on the isolates and strain typing on the toxigenic strains by PCR-ribotyping.

Subjects included individuals whose routine care called for *C. difficile* testing. A portion of each leftover unformed stool specimen was obtained for testing by the Xpert *C. difficile* BT Assay. The remaining excess specimen was sent to a central laboratory for reference culture and cytotoxin B testing. Each stool specimen was inoculated onto pre-reduced cycloserine-cefoxitin-fructose agar –direct plate (CCFA-D) and cycloserine-cefoxitin mannitol broth with taurocholate lysozyme cysteine (CCMB-TAL). After 24 hours the CCMB-TAL was subcultured on to a second CCFA-E plate (CCFA- Enriched). This direct-enriched culture method is referred to hereafter as “reference culture”.

If *C. difficile* was isolated from the CCFA-D plate and the isolate was positive by CCCN assay, the specimen was classified as “toxigenic *C. difficile* positive” and CCFA-E plate was not further analyzed. If no *C. difficile* was isolated from the CCFA-D plate or if the isolate was negative by cell CCCN assay, the CCFA-E plate was further analyzed.

If CCFA-E was positive for *C. difficile* and the isolate was positive for CCCN assay, the specimen was classified as “toxigenic *C. difficile* positive”. The specimen was reported as “negative” if CCFA-E was negative for *C. difficile* or the isolate was found to be negative by the CCCN assay.

Following reference culture testing, the toxigenic *C. difficile* positive isolates were sent to a second set of reference laboratories for strain identification by PCR-ribotyping.

Performance of the Xpert *C. difficile* BT Assay was calculated relative to the results of direct culture with strain typing and reference culture with strain typing.

18.2 Overall Results

A total of 2293 specimens were tested by Xpert *C. difficile* BT Assay, culture, and strain typing.

Performance Results vs. Direct Culture

Relative to direct culture with PCR-ribotyping, the Xpert *C. difficile* BT Assay demonstrated a sensitivity and specificity for toxigenic *C. difficile* of 98.78% and 90.86%, respectively. The Xpert *C. difficile* BT Assay also demonstrated a 100% positive agreement and 97.70% negative agreement for 027 (Table 4).

Table 4. Xpert *C. difficile* BT Assay Performance vs. Direct Culture and PCR-Ribotyping

Direct Culture and PCR-Ribotyping					
		Toxin B+ 027 +	Toxin B+ 027 -	NEG	Total ^a
Xpert <i>C. difficile</i> BT^b	Toxin B+ 027+	74	4	47	125
	Toxin B+ 027-	0	164	140	304
	NEG	0	3	1860	1863
	Total	74	171	2047	2292
Toxigenic <i>C. difficile</i>			Toxigenic <i>C. difficile</i> / 027		
Sensitivity: 98.78% (242/245) Specificity: 90.86% (1860/2047) Accuracy: 91.71% (2102/2292) PPV ^c : 56.41% (242/429) NPV ^d : 99.84% (1860/1863)			Pos Agreement: 100% (74/74) Neg Agreement: 97.70% (2167/2218) Accuracy: 97.77% (2241/2292) PPV: 59.20% (74/125) NPV: 100% (2218/2218)		

- a. One isolate was not typeable due to contamination: this specimen is not included in the performance statistics.
- b. Xpert results shown are for first or second attempt. Approximately 3.2% of the specimens were indeterminate on first attempt.
- c. Positive predictive value
- d. Negative predictive value

Performance vs. Reference Culture

Relative to reference culture with PCR-ribotyping, the Xpert *C. difficile* BT Assay demonstrated a sensitivity and specificity for toxigenic *C. difficile* of 93.39% and 94.02%, respectively. The Xpert *C. difficile* BT Assay also demonstrated a 98.89% positive agreement and 98.36% negative agreement for O27 (Table 5).

Table 5. Xpert *C. difficile* BT Assay Performance vs. Reference Culture and PCR-Ribotyping

Reference Culture and PCR-Ribotyping					
		Toxin B+ O27 +	Toxin B+ O27 -	NEG	Total ^a
Xpert <i>C. difficile</i> BT ^b	Toxin B+ O27+	89	5	31	125
	Toxin B+ O27-	0	217	86	303
	NEG	1	21	1841	1863
	Total	90	243	1958	2291
		Toxigenic <i>C. difficile</i>		Toxigenic <i>C. difficile</i> / O27	
		Sensitivity: 93.39% (311/333) Specificity: 94.02% (1841/1958) Accuracy: 93.93% (2152/2291) PPV ^c : 72.66% (311/428) NPV ^d : 98.82% (1841/1863)		Pos Agreement: 98.89% (89/90) Neg Agreement: 98.36% (2165/2201) Accuracy: 98.38% (2254/2291) PPV: 71.20% (89/125) NPV: 99.95% (2165/2166)	

- One isolate was not typeable due to contamination: this specimen is not included in the performance statistics.
- Xpert results shown are for first or second attempt. Approximately 3.2% of the specimens were indeterminate on first attempt.
- Positive predictive value
- Negative predictive value

Summary

Table 6 lists the total number of specimens for each different Test Result out of the 2293 specimens included in the clinical Performance data analysis.

Table 6. Xpert *C. difficile* BT Assay Overall Performance

Test Result	N
Toxigenic <i>C. diff</i> POS; Binary Toxin NEG; O27 NEG	272
Toxigenic <i>C. diff</i> POS; Binary Toxin POS; O27 NEG	36
Toxigenic <i>C. diff</i> POS; Binary Toxin POS; O27 PRESUMPTIVE POS	122
Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; O27 NEG	7 ^a
Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin NEG; O27 NEG	1856
Total	2293

- In additional testing, 4 of 7 strains were shown to harbor the toxin B gene.

Antibiotic Usage

Among the 2293 cases included in the main dataset, antibiotic use within the 2 months prior to sample collection was reported for 1630 and no antibiotic use was confirmed for 570; for 93 cases, antibiotic status was unknown. Antibiotic use did not cause a statistically significant difference in assay performance.

19 Analytical Performance

Atitiktis_1.5

19.1 Analytical Specificity

Fifty-five (55) strains were collected, quantitated and tested using the Xpert *C. difficile* BT Assay. The strains originated from the American Type Culture Collection (ATCC), Culture Collection University of Göteborg (CCUG), German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), the Centers for Disease Control and Prevention (CDC), the Institute of Public Health, Maribor, Slovenia and Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI).

Of the bacterial species that were tested, ten (10) non-toxicogenic *C. difficile* strains and eleven (11) non-*C. difficile* *Clostridium* species were included. The organisms tested were identified as either Gram-positive (37) or Gram-negative (18). The organisms were further classified as aerobic (24), anaerobic (29) or microaerobic (2).

Each strain was tested in triplicate at concentrations ranging from 1.1×10^8 to 2.2×10^{10} CFU/swab. Positive and negative controls were included in the study. Under the conditions of the study, all isolates were reported **Toxicogenic C. diff NEG; Binary Toxin NEG; 027 NEG** (Table 7). The analytical specificity was 100%.

An additional series of non-*difficile* *Clostridium* species were tested to demonstrate the specificity of the binary toxin assay.

Table 7. Binary Toxin Gene Specificity Study Results

Genus	Species	Number Tested	Toxin A/B	Binary Toxin
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>aminovalericum-like</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>baratii</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>bartletti</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>bifermentans</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>bolteae</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>butyricum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>cadaveris</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>celerecrescens</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>citroniae</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>clostridioforme</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>cochlearium</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>colicanis</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>disporicum</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>mayombe-like</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>novyi</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2	neg	neg

Table 7. Binary Toxin Gene Specificity Study Results (Continued)

Genus	Species	Number Tested	Toxin A/B	Binary Toxin
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i> Type E	3	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	species	19	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>subterminale</i> group	3	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>tercium</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>xylano/aerotolerans</i>	1	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 027	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 078	2	+	+

All the non-binary toxin containing isolates were negative with the Xpert *C. difficile* BT Assay.

19.2 Analytical Sensitivity

[Atitiktis 1.4](#)

Studies were performed to determine the 95% confidence intervals for the analytical limit of detection (LoD) of *C. difficile* diluted into a fecal matrix of human origin that can be detected by the Xpert *C. difficile* BT Assay. The fecal matrix consisted of human liquid feces (*C. difficile* negative by Xpert *C. difficile* BT Assay) diluted in PBS with 15% glycerol. The LoD is defined as the lowest number of colony forming units (CFU), per swab that can be reproducibly distinguished from negative samples with 95% confidence.

Replicates of 20 were evaluated at each *C. difficile* concentration tested (CFU/swab) for 7 different *C. difficile* strains representing toxinotypes 0 (two strains), III (two strains), IV, V, and VIII (one of each strain).

The estimate and confidence intervals were determined using logistic regression with data (number of positive results per number of replicates at each level) over the range of CFUs tested. The confidence intervals were determined using maximum likelihood estimates on the logistic model parameters using the large sample variance-covariance matrix. The LoD point estimates and 95% upper and lower confidence intervals for each *C. difficile* toxinotype tested are summarized in Table 8.

Table 8. 95% Confidence Intervals for Analytical LoD—*C. difficile*

Strain ID	Toxinotype	LoD _{95%} (CFU/Swab)	Lower 95% CI	Upper 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. By PCR-ribotyping

The results of this study indicate that the Xpert *C. difficile* BT Assay will produce a positive *C. difficile* result 95% of the time for a fecal sample containing 460 CFU/swab and an 027 presumptive positive result 95% of the time for a swab containing 75 CFU.

In addition to the LoD determination, eighteen *C. difficile* strains representing toxinotypes 0 plus 12 variant toxinotypes, including four 027 toxinotype III isolates, were tested using the Xpert *C. difficile* BT Assay. *C. difficile* strains were selected to broadly represent the majority of *C. difficile* toxinotypes encountered in practice. Stock cultures were prepared by suspending the bacterial growth from agar plates in PBS buffer containing 15% glycerol. The concentration of each stock was adjusted to 1.4-5.9 McFarland units. All strains were serially diluted to approximately 900 CFU/swab and tested in triplicate.

Under the conditions of this study, the Xpert *C. difficile* BT Assay correctly identified all 18 strains tested as **Toxigenic *C. diff* POS**. Included in the panel were 8 toxinotypes reported to be positive for binary toxin (CDT) production as well. All were CDT positive using the Xpert *C. difficile* BT Assay. All four 027 isolates representing toxinotype III were correctly identified as **Toxigenic *C. diff* POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS**.

Seven *C. difficile* isolates of PCR ribotype 033 and three additional *C. difficile* isolates of related PCR ribotype that were negative for *tdcA* and *tdcB* but produced binary toxin (CDT)²² were tested with the Xpert *C. difficile* BT Assay. All 10 isolates yielded positive results for binary toxin only (Table 9), confirming the ability of the assay to detect isolates that are Toxin A-, toxin B-, binary toxin +).

Table 9. Testing Organisms that Produce Binary Toxin Only (Toxin A-, Toxin B-) with Xpert *C. difficile* BT Assay

Organism	Strain ID	PCR Ribotype	Test Result
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Toxigenic <i>C. diff</i> NEG; Binary Toxin POS; 027 NEG

19.3 Interfering Substances

Twenty-one (21) biological and chemical substances occasionally used or found in stool specimens were tested for interference with the Xpert *C. difficile* BT Assay. Potentially interfering substances include, but are not limited to, Vagisil cream and zinc oxide paste (see Section 16, Limitations). The 19 substances listed in Table 10 showed no detectable interference with the Xpert *C. difficile* BT Assay.

Table 10. Substances Tested and Showing No Assay Interference

Substance	Substance
Whole Blood Karolinska University Hospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucin (porcine) Sigma	Vaseline Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals

Table 10. Substances Tested and Showing No Assay Interference (Continued)

Substance	Substance
Immodium® McNeil-PPC	Preparation H Portable Wipes Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginal Contraceptive Film (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomycin Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazole Actavis
Fecal fats Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E-Z HDTM High Density Barium Sulfate for suspension E-Z EM Canada
Hydrocortisone Cream Longs Drugs	

20 Reproducibility

A panel of 7 specimens with varying concentrations of toxigenic *C. difficile* and *C. difficile* Ribotype 027 were tested on 10 different days by two different operators at each of the three sites (7 specimens x 2 operators/ day x 10 days x 3 sites). One lot of Xpert *C. difficile* BT Assay was used at each of the 3 testing sites. Xpert *C. difficile* BT Assays were performed according to the Xpert *C. difficile* BT Assay procedure. Results are summarized in Table 11 and Table 12.

Table 11. Summary of Reproducibility Results (All)

Specimen ID	% Agreement ^a			% Total Agreement by Sample
	Site 1	Site 2	Site 3	
Negative	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> High Negative	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> Low Positive	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> Moderate Positive	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 High Negative	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 Low Positive	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96.7% (58/60)
Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 Moderate Positive	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% Total Agreement by Site	100% (140/140)	97.1% (136/140)	97.1% (136/140)	98.1% (412/420)

- a. For negative and high negative samples, % Agreement = (# negative results/total samples run); for low and moderate positive samples, % Agreement = (# positive results/total samples run).

Table 12. Summary of Ct Value Results by Sample Level and Probe

SPC			
Level	Ave	StdDev	CV
Toxigenic <i>C. diff</i> high neg	32.17	0.59	1.83%
Toxigenic <i>C. diff</i> low pos	32.14	0.53	1.66%
Toxigenic <i>C. diff</i> mod pos	31.98	0.47	1.47%
027 high neg	32.11	0.65	2.03%
027 low pos	31.93	0.72	2.26%
027 mod pos	31.96	0.61	1.90%
Neg	32.26	0.72	2.22%
<i>tcdB</i> (Toxin B)			
Level	Ave	StdDev	CV
Toxigenic <i>C. diff</i> high neg	39.59	0.70	1.77%
Toxigenic <i>C. diff</i> low pos	35.88	0.81	2.24%
Toxigenic <i>C. diff</i> mod pos	32.17	0.45	1.39%
027 high neg	39.11	0.98	2.50%
027 low pos	35.49	0.58	1.65%
027 mod pos	32.10	0.63	1.97%

An additional panel of 6 specimens, three negative and three toxigenic *C. difficile* high-negative, were tested on 5 different days by two different operators at each of the three sites (6 specimens x 2 operators/ day x 5 days x 3 sites). The high negative specimens were prepared at a concentration below LoD such that they were expected to give a negative result 20 to 80% of the time. One lot of Xpert *C. difficile* BT Assay was used at each of the 3 testing sites. Xpert *C. difficile* BT Assays were performed according to the Xpert *C. difficile* BT Assay procedure. Results are summarized in Table 13.

Table 13. Summary of Additional Reproducibility Specimen Results

Specimen ID	% Agreement ^a			% Total Agreement by Sample
	Site 1	Site 2	Site 3	
Negative	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Toxigenic <i>C. difficile</i> High Negative ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53.3% (16/30)	57.8% (52/90)

- a. (# negative results / total high negative samples run)
- b. 20-80% agreement expected for high negative sample

21 References

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. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. 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. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *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, Lyerly 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 and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP- ribosyl-transferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-1939
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 2000;186:307-12.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. 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, Lyerly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41:531-534.
14. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. 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. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. 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*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. 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 and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. New Microbes New Infect. 2014;8;3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert *C. difficile*/Epi and meridian bioscience illumigene *C. difficile* assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. J Clin Microbiol. 2015;53:973-5
23. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
25. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).

26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. J Clin Microbiol 2008;46:431–437

22 Cepheid Headquarters Locations

Corporate Headquarters	European Headquarters
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Telephone: +1 408.541.4191	Telephone: +33 563 825 300
Fax: +1 408.541.4192	Fax: +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com

23 Technical Assistance

Before contacting Cepheid Technical Support, collect the following information:

- Product name
- Lot number
- Serial number of the instrument
- Error messages (if any)
- Software version and, if applicable, Computer Service Tag number

Region	Telephone	Email
US – Technical Support	+1 888.838.3222	techsupport@cepheid.com
Australia and New Zealand	1800 107 884 0800 001 028	techsupportanz@cepheid.com
China	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
France	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Germany	+49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
United Kingdom	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Italy	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
South Africa	+27 861 22 76 35	support@cepheideurope.com
Other European, Middle East and African countries	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Japan	+0120 95 4886	support@japan.cepheid.com
Countries not listed above	+1 408.400.8495	techsupport@cepheid.com

Contact information for other Cepheid offices is available on our website at www.cepheid.com, www.cepheidjapan.com or www.cepheidinternational.com under the **SUPPORT** tab. Select the **Contact Us** option.

24 Table of Symbols

Symbol	Meaning
	Catalog number
	<i>In vitro</i> diagnostic medical device
	Do not reuse
	Batch code
	Consult instructions for use
	Caution
	Manufacturer
	Contains sufficient for <n> tests
	Control
	Expiration date
	CE marking – European Conformity
	Authorized Representative in the European Community
	Temperature limitation
	Biological risks
	Warning



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden



Vertimas iš anglų kalbos

GeneXpert.
Powered By CEPHEID INNOVATION

Xpert[®] C. difficile BT

REF GXCDIFFBT-CE-10



In Vitro diagnostinė medicinos priemonė



301-6190 Peržiūra A. 2016 birželio mėn.

Prekybinis pavadinimas, patentai ir autorinės teisės

Cepheid®, Cepheid logotipas, GeneXpert® ir Xpert® yra prekybiniai ženklai, priklausantys Cepheid.

Windows® yra prekybinis ženklas, priklausantis Microsoft Corporation.

ŠIO PRODUKTO ĮSIGIJIMAS SUTEIKIA NEPERLEIDŽIAMĄ TEISĘ NAUDOTI PRODUKTĄ, LAIKANTIS PAKUOTĖS APRAŠYME PATEIKTŲ NURODYMŲ. JOKIOS KITOS TEISĖS NĖRA SUTEIKIAMOS NEI NETIESIOGIAI, NEI ESTOPPEL PRINCIPU. BE TO, ŠIO PRODUKTO ĮSIGIJIMAS NESUTEIKIA TESIĖS JĮ PERPARDUOTI.

Copyright © Cepheid 2016. Visos teisės yra saugomos.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Sweden

Xpert® *C. difficile* BT

In Vitro diagnostinė medicinos priemonė

1. Patentuotas pavadinimas

Xpert® *C. difficile* BT

2. Bendrinis / įprastinis pavadinimas

Xpert *C. difficile* BT tyrimas

Paskirtis

Cepheid Xpert *C. difficile* BT tyrimas, naudojamas su Cepheid GeneXpert® instrumentu sistemomis, yra kokybinis *in vitro* diagnostinis tyrimas, skirtas greitam *C. difficile* *tcdB* (toksino B geno) *cdt* (binarinio toksino geno) ir *tedC* geno 117 pozicijos nukleotido delecijos nustatymui išmatų mėginiuose, surinktuose iš pacientų, įtariamų dėl *Clostridium difficile* infekcijos (CDI). Xpert *C. difficile* BT tyrimas yra naudojamas kaip pagalbinė priemonė diagnozuojant CDI ir padermių, potencialiai susijusių su sunkesniais susirgimais, aptikime. Tyrime yra naudojama automatizuota tikro laiko polimerazės grandinės reakcija (PGR) *tcdB*, *cdt*, ir *tedC* delecijos 117 bazėje, susijusioje su 027 ribotipo paderme, aptikimui. Binarinis toksinas yra produkuojamas riboto skaičiaus *C. difficile* padermių, įskaitant 027 padermę. Binarinis toksinas kartu su *tcdB* aptikimu yra dažnas daug sunkesnių susirgimų ar ligos atsinaujinimo indikatorius. *C. difficile* izoliatai, neigiami dėl *tcdB*, bet turintys toksino genų, gali sukelti simptomus, panašius į toksigeniškos *C. difficile* padermės, tačiau klinikinė tokių padermių svarba kol kas nėra žinoma. Jei yra reikalingas tolimesnis tipavimas, būtina atlikti lydinčiuosius tyrimus.

4. Santrauka ir paaiškinimas

C. difficile yra Gram teigiama, sporas formuojanti anaerobinė bakterija, pirmą kartą su susirgimu susieta 1978m.¹

CDI sukelia susirgimus, pradedant nuo diarėjos baigiant ūmiu gyvybei pavojingu pseudomembraniniu kolitu.² Subrendusi gaubtinės žarnos bakterinė flora suaugusiame žmoguje paprastai yra atspari *C. difficile* kolonizacijai.³ Tačiau, kai normali gaubtinės žarnos flora susilpnėja, atsparumas kolonizacijai dingsta. Dažniausias rizikos faktorius yra antibiotikų vartojimas.⁴ Pirminis *C. Difficile* virulentiškumo faktorius yra citotoksinas B.⁵

Genai, koduojantys toksiną A (*tcdA*; enterotoksinas) ir toksiną B (*tcdB*) yra patogeniškumą koduojančio lokuso dalis (PaLoc).^{6,7} Dauguma patogeninių padermių yra teigiamos toksinui A, toksinui B (A+B+), nors toksinui A neigiami ir toksinui B teigiami (A-B+) variantų izoliatai buvo pripažinti kaip patogeniniai.⁸ Kai kurios *C. difficile* padermės taip pat produkuoja aktinui specifiską ADP-ribosiltransferazę, vadinamą CDT arba binariniu toksinu. Binarinio toksino lokusas susideda iš dviejų genų (*cdtA* ir *cdtB*) ir yra už PaLoc ribų.⁹⁻¹¹

CDI diagnozė tradiciškai yra paremta arba toksino B aptikimu tiesiogiai išmatose (ląstelių kultūros citotoksiškumo neutralizavimo [CCCN] tyrimas), arba organizmo kultūros auginimu ir toksino B produkavimo izoliato nustatymu (toksigeno kultūra). Ir CCCN tyrimas, ir toksigeno kultūros tyrimas reikalauja daug darbo, tačiau vis tiek yra laikomi „auksiniais standartais“ dėl pirmojo specifiskumo ir antrojo jautrumo.^{12,13} Toksino A ir toksino B aptikimui buvo sukurta keletas greitų imunofermentinių tyrimų, tačiau, šių tyrimų jautrumas ir specifiskumas yra mažesnis, lyginant su CCCN tyrimu. Buvo sukurti PGR metodai, skirti genų, susijusių su toksino A ir/ar toksino B produkavimu, aptikimui, demonstruojantys aukštą jautrumą ir specifiskumą, lyginant su toksigeno kultūra.¹⁴

Be toksino A ir B, naujausia literatūra pateikia sąsajas ir tarp binarinio toksino produkavimo ir susirgimo sunkumo bei pasekmių. Bauer ir kt.¹⁵ pateikė duomenis apie binarinių toksinų genų

buvimą toksigeniniuose izoliatuose 23% CDI atvejų Europoje. Binarinis toksinas, produkuojamas *cdt* genų, yra dažnai pastebimas *C.difficile* padermėse, susijusiose su sunkia CDI. Binarinis toksinas priklauso ADP-ribozilinančių toksinų šeimai ir susideda iš *cdtA* genų, fermentinės ADP-riboziltransferazės, kuri modifikuoja aktiną, ir *cdtB*, kuris suriša ląsteles-šeimininkes ir translokuoja *cdtA* produktą į citozolį. Klinikinės studijos pateikia sąsają tarp binarinio toksino genų buvimo *C. difficile* ir padidėjusio 30 dienų CDI mirtingumo, nepriklausomai nuo PGR ribotipo. Literatūroje taipogi teigiama, jog subjektai su sunkia CDI, žaibiniu kolitu ir/ar atsinaujinusia CDI, yra dažniau infekuojami *C. difficile* ribotipais su binarinį toksiną (*cdtA/cdtB*) produkuojančiais genais, nei komplikacijų nepatiriantys subjektai.^{16,17}

Binarinius toksinus produkuojančių izoliatų poaibis turi mutacijų neigiamo toksino reguliaciniame gene (*tcdC*), t.y., delecija ties nukleotidu 117 (*tcdCΔ117*) atitinka 027 ribotipo padermes. Infekcija, sukelta 027/NAP1/BI padermės, gali būti susijusi su didesniu mirtingumu ir sergamumu, įskaitant slaugymą intensyvios priežiūros palatoje bei prailgintą buvimą ligoninėje. Atlikta daugiamatė analizė demonstravo ženklų sąsają tarp susirgimo sunkumo ir ribotipų su binarinio toksino genu buvimu su ar be delecijos ties 117 nukleotidu. Per pastaruosius keletą metų, buvo užfiksuoti CDI proveržiai, sukelti “hipervirulentiškų” ir fluorokvinolonui atsparių padermių, priklausančių PGR ribotipui 027 (taip pat žinomam kaip pulso lauko gelio elektroforezės grupė NAP1 ir restriktinės endonukleazės tyrimo tipas).^{8,18} 027 padermės gali demonstruoti padidintą toksinų produkavimą, kuris yra priskiriamas prie delecijų gene *tcdC* ir gali produkuoti daugiau sporų, taip sustiprinant išliekamumą aplinkoje.^{19,20} Galimas teigiamas 027 rezultatas gali būti pagalbiniė priemonė identifikuojant galimus 027 protrūkio šaltinius.

Galiausiai, atlikus papildomus tyrimus, buvo pateikti atvejai, kai pacientams su diarėja buvo įtariama *C. difficile* infekcija dėl toksinotipo XI/PCR ribotipo 033, ar į 033 panašių padermių, teigiamų dėl binarinio toksino, bet neigiamų dėl toksino A ir B.^{21,22} Klinikinė šių teigiamų binariniam toksinui ir neigiamų B toksinui padermių svarba dar nėra iki galo išaiškinta.

5. Procedūros principas

GeneXpert Dx sistema integruoja ir automatizuoja mėginio apdorojimą, nukleininės rūgšties išgryninimą ir amplifikaciją bei taikinio eilių aptikimą paprastuose ar kompleksiniuose mėginiuose, naudojant tikro laiko PGR tyrimą. Sistemą sudaro instrumentas, personalinis kompiuteris ir įdiegta programinė įranga, skirta mėginių tyrimų paleidimui ir rezultatų peržiūrai. Sistemai yra reikalingos vienkartinio naudojimo GeneXpert kasetės, kuriose yra PGR reagentai ir kuriose vyksta DNR ekstrakcija, amplifikacija ir amplikono aptikimas. Kadangi kasetės yra individualios, yra eliminuojamas kryžminis užterštumas tarp mėginių. Pilną sistemų aprašymą rasite atitinkamame *GeneXpert Dx sistemos operatoriaus vadove* ir/ar *GeneXpert Infinity sistemos operatoriaus vadove*. Xpert *C. difficile* BT sudėtyje yra reagentų, skirtų toksino, produkuojančio *C. difficile* aptikimui bei mėginio apdorojimo kontrolė (SPC). SPC yra skirta adekvataus taikinio bakterijos apdorojimo atlikimui ir inhibitorių stebėjimui PGR reakcijoje. Tyrimo tikrinimo kontrolė (PCC) patikrina reagento rehidraciją, PGR mėgintuvėlio užpildymą kasetėje, mėgintuvėlio integralumą ir dažų stabilumą.

Xpert *C. difficile* BT tyrimo pradmenys ir mėgintuvėliai aptinka toksino B (*tcdB*), binarinio toksino B (*tcdB*) ir *tcdCΔ117* genų sekas.

6. Reagentai ir instrumentai

6.1 Tiekiamos medžiagos



Xpert *C. difficile* BT rinkinį sudaro reagentai, kurių pakanka 10 pacientų ar kokybės kontrolės mėginių.

Rinkinį sudaro:

Xpert *C. difficile* BT tyrimo kasetės su integruotais reakcijų mėgintuvėliais **10**

- Rutuliukas 1, rutuliukas 2 ir rutuliukas 3 (užšaldyti, sausi) po 1 kasetėje
- Reagentas 1 3.0 mL kasetėje
- Reagentas 2 (natrio hidroksidas) 3.0 mL kasetėje



Xpert *C. difficile* BT reagentų pakuotės

10

- Mėginio reagentas (Guanidinio tiocinatas) 1 x 2.0 mL pakuotėje
- CD**
- Tyrimo aprašymo failai (ADF)
 - ADF importavimo į programinę įrangą instrukcijos
 - Pakuotės aprašymas

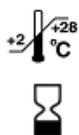
1 rinkinyje

Pastaba:

Medžiagos saugos duomenų lapai (MSDL) yra pateikiami www.cepheid.com arba www.cepheidinternational.com skirtuke „SUPPORT“.

Šiame produkte esantis jaučio serumo albuminas (BSA) buvo pagamintas išskirtinai iš jaučio plazmos Jungtinėse Amerikos Valstijose. Gyvūnai nebuvo šeriami ruminantiniais ar kitais gyvulinės kilmės baltymais; gyvūnams buvo atlikti priešmirtiniai ir pomirtiniai tyrimai. Proceso metu medžiaga nebuvo sumaišoma su kitomis gyvūninės kilmės medžiagomis.

6.2 Laikymas ir naudojimas



- Xpert *C. difficile* BT rinkinys turi būti laikomas prie 2–28 °C.
- Nenaudokite pasibaigusios galiojimo datos reagentų ar kasečių.
- Neatidarykite kasetės tol, kol nebūsime pasiruošę atlikti tyrimo.
- Nenaudokite drumzlinų ar spalvą pakeitusių reagentų.
- Nenaudokite pratekančios kasetės.

6.3 Reikalingos, bet nepateikiamos medžiagos

- GeneXpert Dx sistema arba GeneXpert Infinity sistema (katalogo numeris skiriasi priklausomai nuo konfigūracijos): GeneXpert instrumentas, kompiuteris su patentuotos GeneXpert programinės įrangos versija 4.3 ar vėlesne, brūkšninių kodų skaitytuvas, naudojimosi vadovas.
- Spausdintuvas: jei reikia spausdintuvo, susisieki su Cepheid pardavimo atstovu dėl rekomenduojamo spausdintuvo įsigijimo.
- Vortekso tipo purtyklė.
- Vienkartiniai sterilūs išpilstymo dozatoriai.
- Mėginių surinkimo priemonė, pavyzdžiui Cepheid mėginių paėmimo priemonė (Cepheid katalogo nr. 900-0370), Cepheid vienkartinis tamponas (Cepheid katalogo nr. SDPS-120), ar Copan dviguba paėmimo ir transportavimo sistema (139C LQ STUART).

7. Įspėjimai ir atsargumo priemonės



- Su visais biologiniais mėginiais, įskaitant panaudotas kasetes, elkitės kaip su galinčiais pernešti infekcinius agentus. Kadangi nėra žinoma, kuris mėginys yra infekciškas, su visais biologiniais mėginiais reikia dirbti laikantis universaliųjų atsargumo priemonių. Gairės dėl darbo su mėginiais yra pateikiamos JAV Ligų kontrolės ir prevencijos centro ir Klinikinių ir laboratorinių standartų instituto.^{23,24}
- Dėl darbo su chemikalais ir biologiniais mėginiais, laikykitės Jūsų laboratorijoje atliekamų saugos procedūrų.
- Dėvėkite švarius laboratorinius chalatus ir pirštines. Po kiekvieno mėginio apdorojimo

pasikeiskite pirštines.

- Xpert *C. difficile* BT tyrimo reagentų negalima sukeisti su kitais reagentais.
- Neatidarykite Xpert *C. difficile* BT kasetės dangtelio, išskyrus tą momentą, kai dedate mėginį ir reagentus arba išimate mėginį iš originalios kasetės, jog atliktumėte pakartotinį tyrimą su nauja kasete.
- Nenaudokite kasetės, kuri buvo išmesta ar supurtyta po to, kai įdėjote mėginį ir reagentą.
- Nepurtykite kasetės. Kasetės purtymas ar išmetimas ant žemės po atidarymo gali sukelti klaidingus rezultatus.
- Xpert *C. difficile* tyrimas neteikia jautrumo rezultatų. Jautrumo tyrimo atlikimui auginant kultūras yra reikalingas papildomas laikas.
- Nenaudokite kasetės, kurios reakcijos mėgintuvėlis yra pažeistas.
- Neklijuokite mėginio ID etiketės ant kasetės dangtelio ar ant brūkšnio kodo.
- ② • Kiekviena vienkartinio naudojimo Xpert *C. difficile* BT kasetė yra skirta vieno tyrimo atlikimui. Kasečių nenaudokite pakartotinai.
- Dėl tinkamo kasečių ir nepanaudotų reagentų išmetimo pasitarkite su savo įstaigos atliekų utilizavimo skyriumi. Ši medžiaga gali turėti valstybinio pavojingų atliekų charakteristiką, kurioms yra taikomi specifiniai utilizavimo reikalavimai. Įstaigos turi laikytis savo šalyje galiojančių nurodymų dėl pavojingų atliekų utilizavimo.
- Darbo vietos ar įrangos užteršimo mėginiais ar kontrolėmis atveju užterštą vietą kruopščiai išvalykite chloro baliklio tirpalu, skiestu santykiu 1:10 ir užterštą paviršių nuvalykite 70% etanoliumi. Prieš tęsiant darbą, paviršių gerai nusauskite.

8. Cheminis pavojus^{25,26}

8.1 Reagentas 2:



- Sudėtyje yra natrio hidroksido
- Signalinis žodis: įspėjimas
- CLP/GHS pavojaus frazės: H302: pavojingas prarijus, H315: dirgina odą, H319: sukelia rimtą akių sudirgimą.

8.2 Mėginio reagentas:



- Sudėtyje yra guanidinio tiocianato
- Signalinis žodis: įspėjimas
- CLP/GHS pavojaus frazės: H302: pavojingas prarijus, H412: pavojingas vandens organizmams su ilgai išliekančiu poveikiu, EUH031: sąlytyje su rūgštimis skleidžia toksiškas dujas.
- Atsargumo frazės:
- P264: Po darbo kruopščiai nusiplaukite rankas.
- P280: Dėvėkite apsaugines pirštines/akių apsaugą/veido apsaugą.
- P273: Venkite produkto patekimo į aplinką.
- P302 + P352: ANT ODOS: gausiai plaukite muilu ir vandeniu.
- P305 + P351 + P338: Į AKIS: keletą minučių kruopščiai plaukite vandeniu. Išimkite kontaktinius lęšius jei jie yra ir jei tai įmanoma padaryti. Plaukite toliau.
- P312: Jei pasijutote blogai, skambinkite APSINUODIJIMŲ CENTRUI ar gydytojui.
- P501: Turinį/konteinerį išmeskite laikydamiesi vietinių ir regioninių/valstybinių/tarptautinių taisyklių.
- P362: Nusivilkite užterštus rūbus ir prieš pakartotinį dėvėjimą juos išskalbkite.
- P321: Specifinis gydymas, dėl pirmosios pagalbos priemonių skaitykite papildomą informaciją.
- P332 + P313: Atsiradus odos sudirgimui, kreipkitės į gydytoją.
- P337 + P313: Jei akių sudirgimas išlieka, kreipkitės į gydytoją.

9. Mėginio surinkimas ir transportavimas

1. Bepormes išmatas surinkite į sterilų konteinerį. Laikykitės Jūsų įstaigoje taikomų instrukcijų dėl mėginių, skirtų *C. difficile* BT tyrimui, surinkimo.
2. Konteinerį pažymėkite mėginio ID ir siųskite į laboratoriją ištyrimui.
3. Mėginius laikykite prie 2–8 °C. Mėginiai yra stabilūs iki 5 dienų, jei yra laikomi prie 2–8 °C. Kambario temperatūroje (20–30 °C) mėginiai gali būti laikomi iki 24 valandų.



10. Procedūra

Kasetės paruošimas

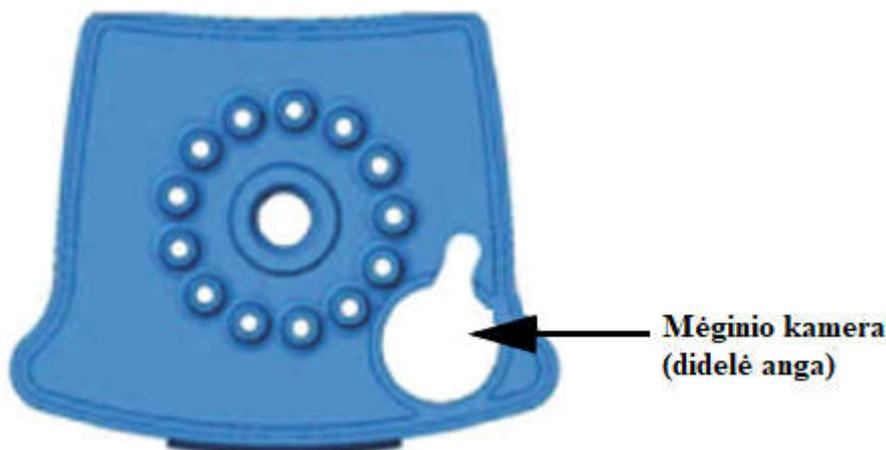
Svarbu: tyrimą būtina pradėti per 30 minučių nuo reagentų įdėjimo į kasetę momento.

Mėginio ir reagentų įdėjimas į kasetę (*Xpert C. Difficile* BT):

1. Iš pakuotės išimkite kasetę ir reagentus.
2. Trumpam pamerkite tamponėlį į beformių išmatų mėginį. Nereikia, kad tamponėlis visiškai permirkėtų.
3. Tamponėlį įdėkite į mėgintuvėlį su mėginio reagentu.

Pastaba: norint išvengti užterštumo, naudokite sterilią marlę.

4. Tamponėlį laikydami už kotelio šalia mėgintuvėlio krašto, kelis milimetrus pakelkite nuo mėgintuvėlio dugno ir stumdami kotelį į mėgintuvėlio kraštą, jį nulaužkite. Įsitikinkite, jog tamponėlis netrukdytų užsukti kamštelio.
5. Užkimškite ir vorteksuokite dideliu greičiu 10 sekundžių.
6. Atidarykite kasetės dangtelį. Naudodamiesi švriu dozatoriumi, perneškite visą mėginio reagento turinį į *Xpert C. difficile* BT kasetės mėginio kamerą. Žr. 1 pav.
7. Uždarykite kasetės dangtelį.



Pav. 1. *Xpert C. difficile* BT tyrimo kasetė (vaizdas iš viršaus).

10.2 Tyrimo paleidimas

Svarbu: prieš pradėdant tyrimą, įsitikinkite, jog *Xpert C. difficile* BT tyrimo aprašymo byla yra importuota į programinę įrangą. Šiame skyriuje yra pateikiami pagrindiniai tyrimo atlikimo etapai. Dėl detalesnių instrukcijų prašome žiūrėti *GeneXpert Dx* sistemos naudojimosi vadovą ar *GeneXpert Infinity* sistemos naudojimosi vadovą.

Pastaba: atliekami veiksmai gali skirtis, jei administratorius pakeitė pirminius sistemos darbo eigos nustatymus.

1. Įjunkite *GeneXpert Dx* instrumento sistemą:
 - Jei naudojate *GeneXpert Dx* instrumentą, pirmiausia įjunkite instrumentą ir tik tada - kompiuterį. *GeneXpert* programinė įranga įsijungs automatiškai arba reikės dukart paspausti *GeneXpert Dx* programinės įrangos piktogramą, esančią *Windows®* darbalaukyje.

arba

- Jei naudojate GeneXpert Infinity instrumentą, įjunkite instrumentą. GeneXpert programinė įranga įsijungs automatiškai arba reikės dukart paspausti Xpertise programinės įrangos piktogramą, esančią Windows darbalaukyje.

2. Prisijunkite prie GeneXpert Dx instrumento sistemos programinės įrangos įvesdami savo vartotojo vardą ir slaptažodį.

3. GeneXpert Dx sistemos lange paspauskite elementą **Create Test** (GeneXpert Dx) (sukurti tyrimą) arba spustelėkite **Orders** (užsakymai) ir **Order Test** (užsakyti tyrimą) (Infinity). Atsidarys tyrimo sukūrimo langas.

4. Nuskenуйте paciento ID (pasirinktinai). Jei paciento ID įvedate rankiniu būdu, įsitikinkite, jog paciento ID įvedėte teisingai. Paciento ID yra susiejamas su tyrimo rezultatais, rodomais rezultatų peržiūros lange.

5. Sample ID (mėginio ID) lentelėje nuskenуйте arba įveskite mėginio ID. Įsitikinkite, kad paciento ID įvedėte teisingai. Mėginio ID bus susietas su tyrimo rezultatais ir bus rodomas "View Results" (peržiūrėti rezultatus) lange.

6. Nuskenуйте Xpert *C. difficile* BT kasetės brūkšninį kodą. Naudojantis brūkšninio kodo informacija, programinė įranga užpildys šių laukelių informaciją: „Select Assay“ (pasirinkti tyrimą), „Reagent Lot ID“ (reagento serijos ID), „Cartridge SN“ (kasetės SN) ir „Expiration Date“ (galiojimo data).

Pastaba: jei Xpert *C. difficile* BT kasetės brūkšninis kodas nenusiskenuoja, tyrimą pakartokite naudodami naują kasetę ir laikydamiesi procedūros, pateikiamos 15 skyriuje „Tyrimo pakartojimo procedūra“.

7. Paspauskite **Start Test** (pradėti tyrimą) (GeneXpert Dx) arba **Submit** (pateikti) (Infinity). Atsiradusioje lentelėje įveskite savo slaptažodį.

8. Jei naudojate GeneXpert Infinity sistemą, padėkite kasetę ant konvejerio juostos. Kasetė bus įkelta automatiškai, tyrimas bus paleistas, o panaudota kasetė atsidurs atliekų konteineryje.

arba
Jei naudojate GeneXpert Dx instrumentą:

A. Atidarykite instrumento modulio dureles su žybsinčia žalia lempute ir įdėkite kasetę.

B. Uždarykite dureles. Tyrimas prasidės, o žalia leputė nustos blyksėti. Pasibaigus tyrimui, lemputė užges.

C. Palaukite, kol sistema atrakins dureles, atidarykite jas ir išimkite kasetę.

D. Panaudotas kasetes išmeskite į atitinkamą mėginių konteinerį laikydamiesi Jūsų įstaigoje praktikuojamų standartų.

11. Rezultatų peržiūra ir spausdinimas

Šiame skyriuje yra pateikiami pagrindiniai peržiūros ir spausdinimo etapų veiksmai. Dėl išsamių rezultatų peržiūros ir spausdinimo instrukcijų, žiūrėkite *GeneXpert Dx sistemos naudotojo vadovą* arba the *GeneXpert Infinity sistemos naudotojo vadovą*.

1. Paspauskite piktogramą **View Results** (peržiūrėti rezultatus).

2. Tyrimui pasibaigus, paspauskite klavišą **Report** (ataskaita), esantį rezultatų peržiūros lange ir peržiūrėkite rezultatus arba sugeneruokite ataskaitos PDF failą.

12. Kokybės kontrolė

CONTROL

Kiekviename tyrime yra mėginio apdorojimo kontrolė (SPC) ir mėgintuvėlio patikrinimo kontrolė (PCC).

Mėginio apdorojimo kontrolė (SPC)—užtikrina teisingą mėginio apdorojimą. SPC sudėtyje yra *Bacillus globigii* sporų sausų sporų rutuliuko formoje. Ši kontrolė yra kiekvienoje kasetėje tam, kad užtikrinti adekvatų mėginio bakterijos apdorojimą. SPC patvirtina, kad, esant organizmams, įvyko *C. difficile* bakterijos lizė ir mėginio apdorojimas yra adekvatus. Be to, ši kontrolė aptinka su

mėginiu susijusį tikro laiko PGR tyrimo inhibavimą, patikrina, ar PGR reakcijos sąlygos (temperatūra ir laikas) yra tinkamos amplifikacijos reakcijai ir, ar PGR reagentai yra funkcionalūs. SPC turi būti teigiama neigiamame mėginyje ir gali būti neigiama arba teigiama teigiamame mėginyje. SPC pavyksta, jei atitinka patvirtintus priimtumo kriterijus.

Mėgintuvėlio patikrinimo kontrolė (PCC)—prieš pradėdant PGR reakciją, GeneXpert sistema matuoja fluorescencijos signalą iš mėgintuvėlių ir patikrina rutuliukų rehidraciją, reakcijos mėgintuvėlio užpildymą, mėgintuvėlio integralumą ir dažų stabilumą. Mėgintuvėlio patikra pavyksta, jei atitinka patvirtintus priimtumo kriterijus.

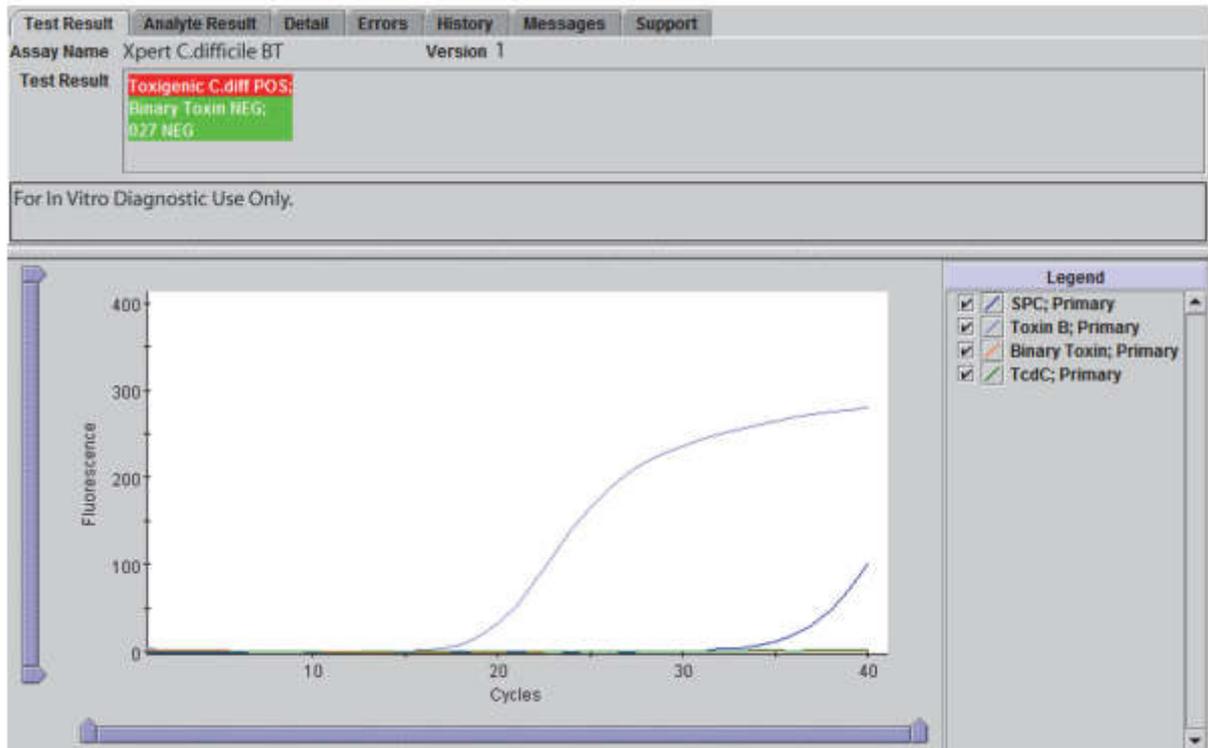
13. Rezultatų interpretavimas

GeneXpert instrumentų sistemos rezultatus interpretuoja pagal išmatuotą fluorescencijos signalą, įtraukiant apskaičiavimo algoritmus. Rezultatai yra rodomi “View Results” (Rezultatų peržiūros) lange. Galimi rezultatai yra pateikiami 1 lentelėje.

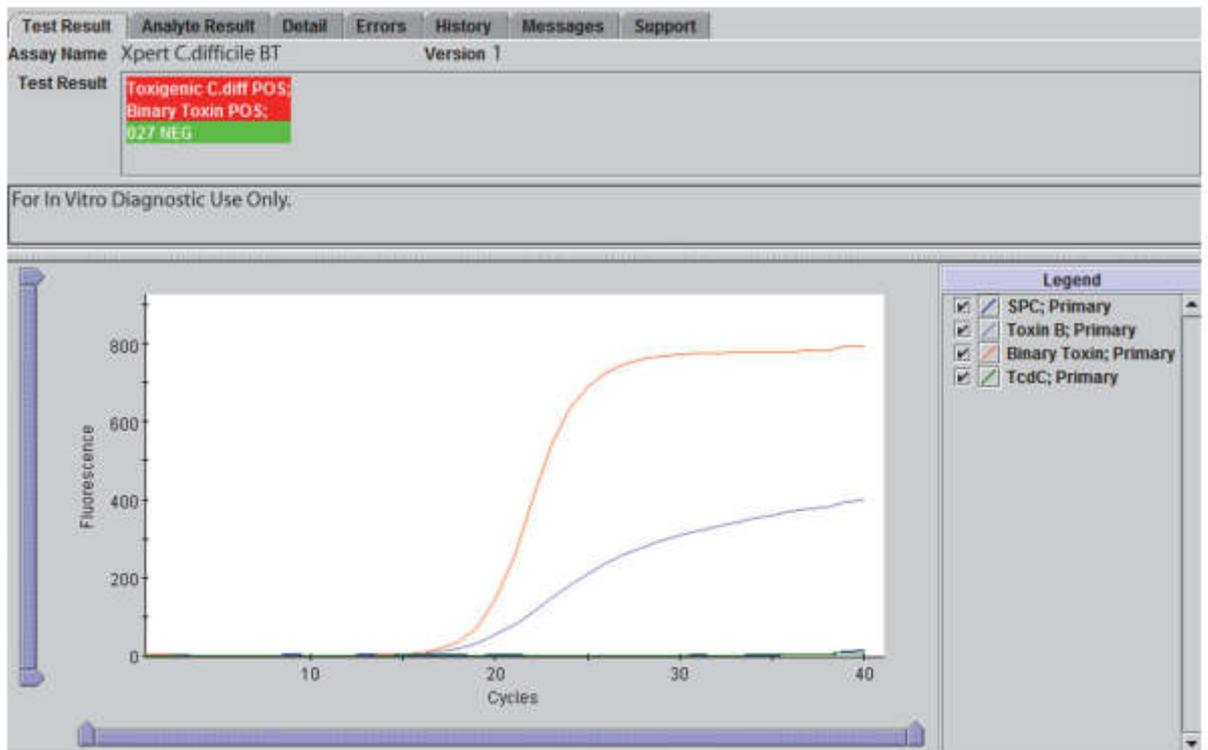
Rezultatas	Interpretavimas
Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin NEG, 027 NEG Žr.pav. 2.	Aptiktos toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> taikinio DNR sekos. <ul style="list-style-type: none"> • Toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> — toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> (toksino B genas) taikinyje turi teisingas Ct ribas ir galutinis taškas yra virš minimalaus nustatymo. • Binarinio toksino genas ir <i>tdcC</i> delecija ties nt 117 neaptikti. • SPC — NA (netaikoma); SPC yra ignoruojama, nes <i>C. difficile</i> amplifikacija gali konkuruoti su šia kontrole. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.
Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 NEG Žr.pav. 3.	Aptiktos toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> taikinio DNR sekos. <ul style="list-style-type: none"> • Toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> taikinių (toksino B genas plus binarinio toksino genas) Cts ribos yra tinkamose ribose, o galutinis taškas yra virš minimalaus nustatymo; <i>tdcC</i> delecija ties nt 117 neaptikta. • SPC — NA (netaikoma); SPC yra ignoruojama, nes <i>C. difficile</i> amplifikacija gali konkuruoti su šia kontrole. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.
Toxigenic C. diff POS, Binary Toxin POS, 027 PRESUMPTIVE POS Žr.pav. 4	Aptiktos toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> ir numanomo 027 taikinio DNR sekos. <ul style="list-style-type: none"> • Visi toksinai, produkuojantys <i>C. difficile</i>, numanomi 027 taikiniai (toksinas B, binarinis toksinas ir <i>tdcC</i> delecija ties nt 117) turi teisingas Ct ribas ir galutinis taškas yra virš minimalaus nustatymo. • SPC — NA (netaikoma); SPC yra ignoruojama, nes <i>C. difficile</i> amplifikacija gali konkuruoti su šia kontrole. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.
Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin POS, 027 NEG Žr.pav. 5	<i>C. difficile</i> toksino B sekos nėra aptiktos; tačiau aptiktas kitas DNR taikinyje (binarinio toksino genas), kurio Cts ribos yra tinkamose ribose, o galutinis taškas yra virš minimalaus nustatymo. Teigiamo binarinio toksino klinikinė reikšmė dar turi būti nustatoma. <ul style="list-style-type: none"> • SPC — NA (netaikoma); SPC yra ignoruojama, nes <i>C. difficile</i> amplifikacija gali konkuruoti su šia kontrole. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.

<p>Toxigenic C. diff NEG, Binary Toxin NEG, 027 NEG Žr.pav.6.</p>	<p><i>C. difficile</i> taikinio DNR sekos (toksino B genas, binarinio toksino genas) neaptiktos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toksino, produkuojančio <i>C. difficile</i> taikinių (toksino B genas ir binarinio toksino genas) neaptikta; kiti DNR taikiniai dėl toksigeninio <i>C.difficile</i> (tcdC delecija ties nt 117) neaptikti. • SPC — PASS (pavyko); SPC Ct yra tinkamose ribose, o galutinis taškas yra virš minimalaus nustatymo. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.
<p>INVALID Žr.pav.7</p>	<p><i>C. difficile</i> taikinio DNR buvimas ar nebuvimas negali būti nustatytas; pakartokite tyrimą pagal 15 skyriaus instrukcijas. SPC neatitinka priimtino kriterijų, mėginys nebuvo tinkamai apdorotas arba PGR yra inhibuota.</p> <ul style="list-style-type: none"> • INVALID — <i>C. difficile</i> taikinio DNR buvimas ar nebuvimas negali būti nustatytas. • SPC — FAIL (nepavyko); SPC taikinio rezultatas yra neigiamas ir SPC Ct nepatenka yra teisingas ribas, o galutinis taškas yra žemiau minimalaus nustatymo. • Probe Check — PASS (pavyko); mėgintuvėlio patikrinimas atliktas sėkmingai.
<p>ERROR</p>	<p><i>C. difficile</i> taikinio DNR buvimas ar nebuvimas negali būti nustatytas; pakartokite tyrimą pagal 15 skyriaus instrukcijas. Mėgintuvėlio patikrinimas nėra sėkmingas dėl netinkamai užpildyto mėgintuvėlio, mėgintuvėlio integralumo problemos ar dėl viršytų slėgio ribų.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B (toksinas B)— NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • Binary Toxin (binarinis toksinas) — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • tcdC deletion at nt 117 (tcdC delecija ties nt 117) — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • *SPC — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • Probe Check (mėgintuvėlio patikrinimas) — FAIL* (nepavyko); vieno ar kelių mėgintuvėlių patikrinimas nėra sėkmingas. <p>* Jei mėgintuvėlio patikrinimas yra sėkmingas, klaida įvyko dėl sistemos komponento.</p>
<p>NO RESULT</p>	<p><i>C. difficile</i> taikinio DNR buvimas ar nebuvimas negali būti nustatytas; pakartokite tyrimą pagal 15 skyriaus instrukcijas. Surinkta nepakankamai duomenų tyrimo rezultatų gavimui (pvz., operatorius sustabdė tyrimą tyrimo eigos metu).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxin B (toksinas B) (tcdB)— NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • Binary Toxin (binarinis toksinas) (cdt) — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • tcdCA117 — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • SPC — NO RESULT (NĖRA REZULTATO) • Probe Check (mėgintuvėlio patikrinimas) — NA (netaikoma)

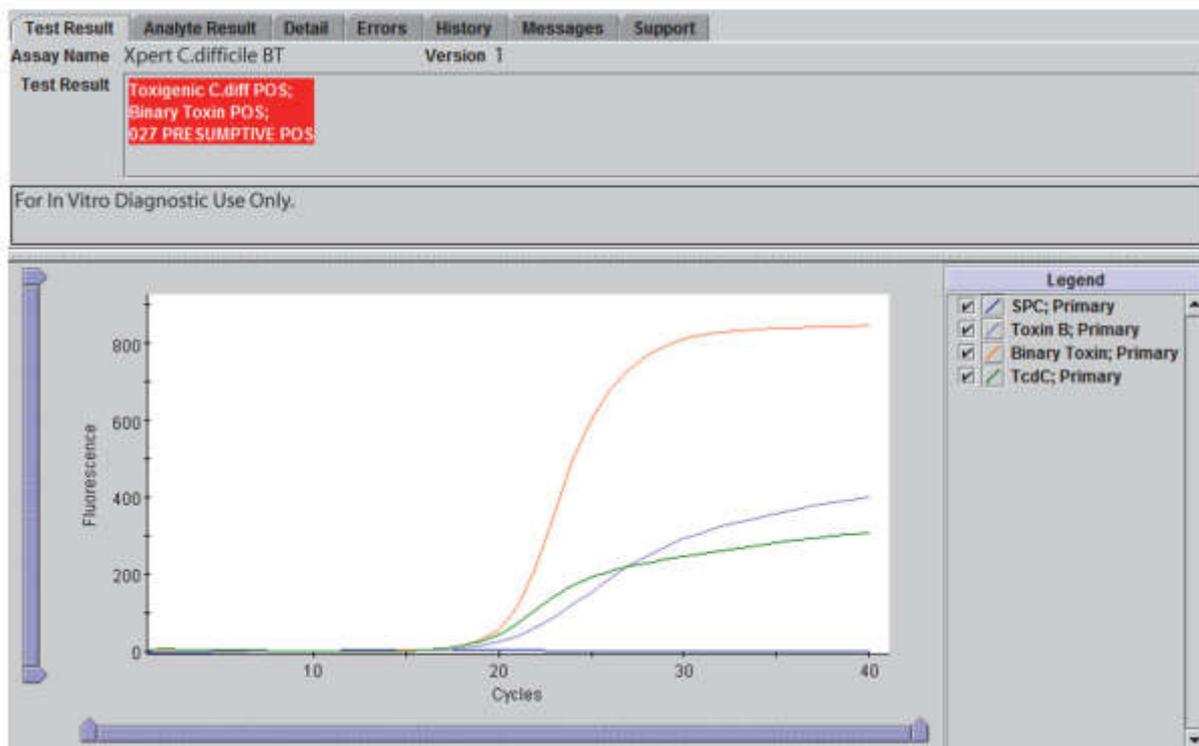
Pastaba: ekranų paveikslėliai, pateikiami šiame skyriuje (pav. 2, pav. 3, pav. 4, pav. 5, pav. 6 ir pav. 7) yra iš GeneXpert Dx instrumento, veikiančio su GeneXpert Dx programine įranga.



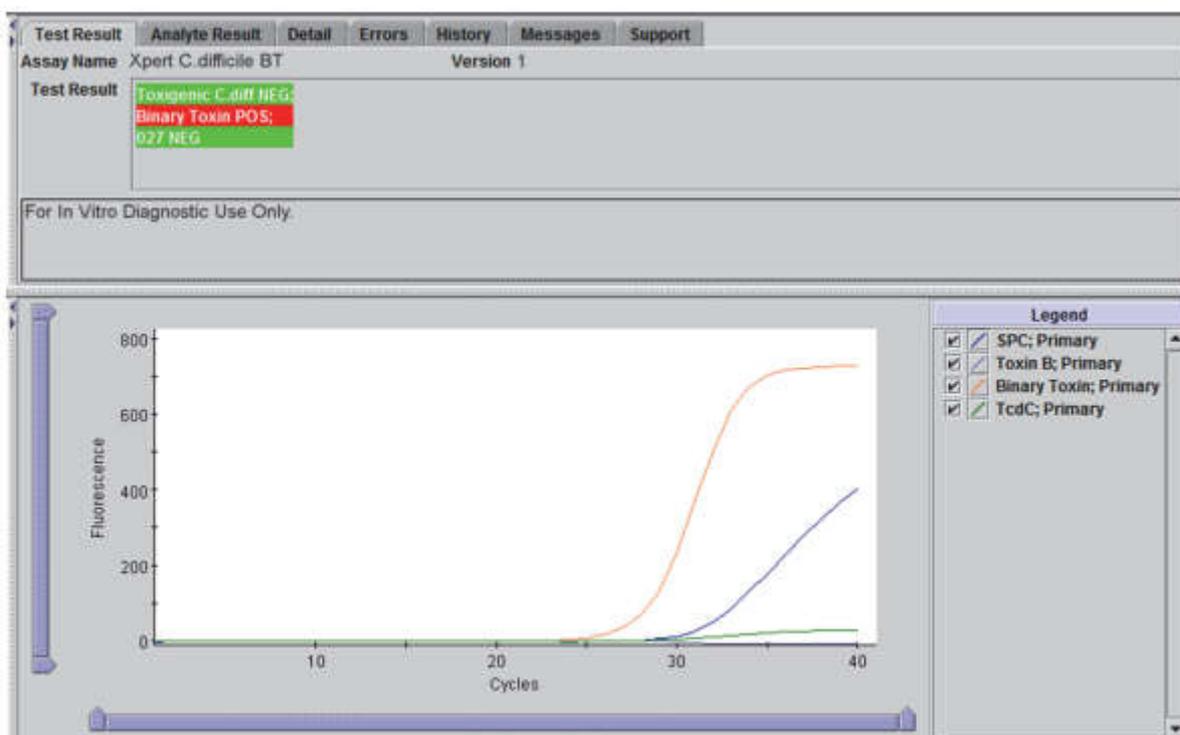
Pav. 2. Teigiamo toksigeninio C. Diff, neigiamo binarinio toksino ir neigiamo 027 rezultato pavyzdys



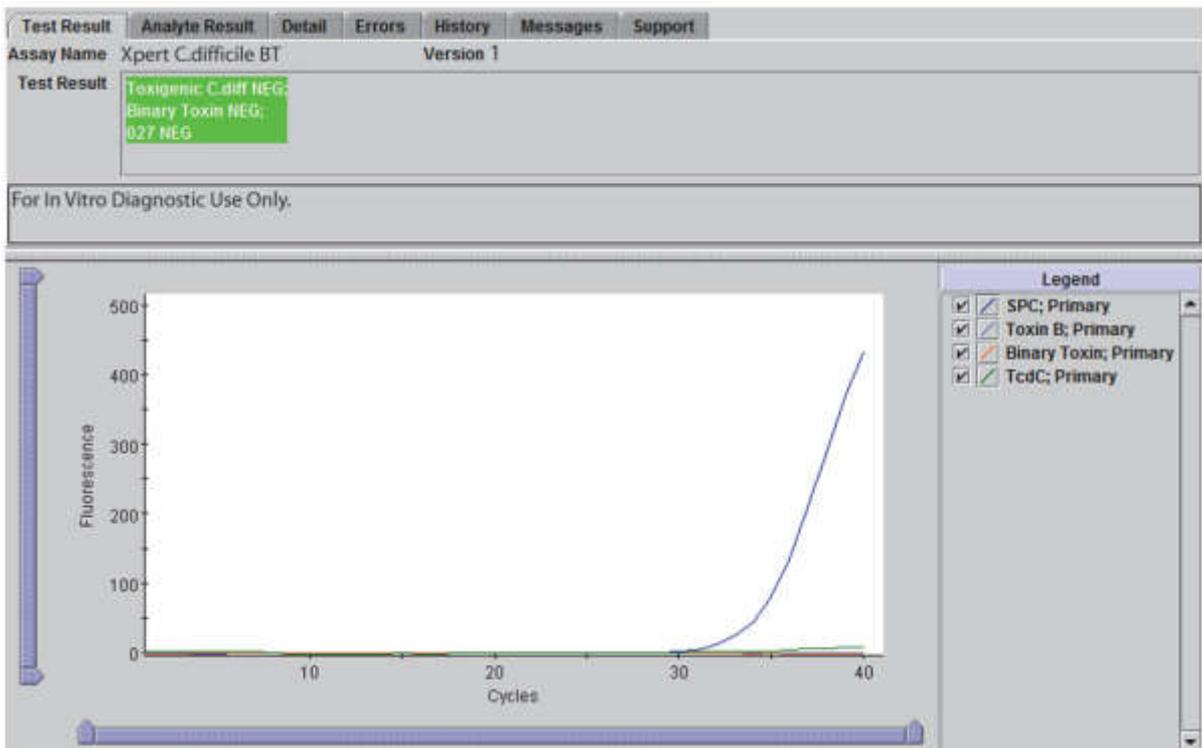
Pav. 3. Teigiamo toksigeninio C. Diff, teigiamo binarinio toksino ir neigiamo 027 rezultato pavyzdys



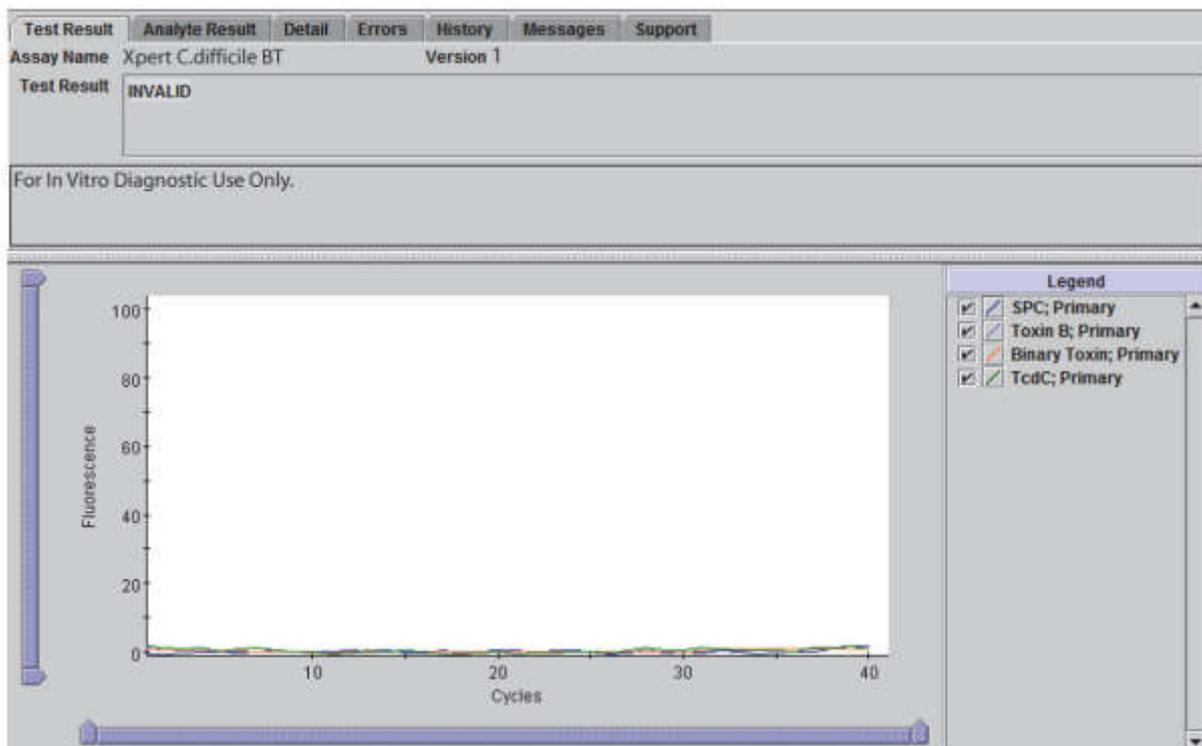
Pav. 4. Teigiamo toksigeninio C. diff, teigiamo binarinio toksino ir numanomai teigiamo 027 rezultato pavyzdys



Pav. 5. Neigiamo toksigeninio C. diff, teigiamo binarinio toksino ir neigiamo 027 rezultato pavyzdys



Pav. 6. Neigiamo toksigeninio C. diff, neigiamo binarinio toksino ir neigiamo 027 rezultato pavyzdys



Pav. 7. Klaidingo rezultato pavyzdys

14. Tyrimo kartojimo priežastys

Tyrimą kartokite laikydamiesi 15 skyriuje pateiktų instrukcijų, jei gavote vieną šių tyrimų rezultatų:

- **INVALID (KLAIDINGAS)** rezultatas rodo, kad SPC nepavyko. Mėginys nebuvo tinkamai paruoštas arba PGR buvo inhibuotas.

- **ERROR (KLAIDA)** rezultatas rodo, kad mėgintuvėlio patikrinimo kontrolė buvo nesėkminga, o tyrimas buvo atšauktas galimai dėl to, kad reakcijos mėgintuvėlis nebuvo tinkamai užpildytas, buvo aptikta reagento mėgintuvėlio integralumo problema, buvo peržengtos maksimalios slėgio ribos arba buvo aptikta vožtuvo pozicijos klaida.
- **NO RESULT (NĖRA REZULTATO)** rodo, kad nėra pakankamai duomenų. Pavyzdžiui, operatorius sustabdė tyrimą tyrimo metu.

15. Pakartotinio tyrimo procedūra

Norint pakartotinai iširti neaiškaus rezultato mėginį per 3 valandas: naudokite naują kasetę (pakartotinai naudoti kasetės negalima) ir naujus reagentus.

1. Iš rinkinio pakuotės išimkite naują kasetę.
2. Naudodami vienkartinį dozatorių, perneškite visą likusį turinį iš mėginio kameros į naują mėginio reagento buteliuką.
3. Vorteksuokite ir visą mėginio reagento turinį perneškite į naujos Xpert *C. difficile* BT kasetės mėginio kamerą.
4. Uždarykite dangtelį ir pradėkite naują tyrimą.

Norint pakartotinai iširti neaiškaus rezultato mėginį po 3 valandų, tyrimą kartokite naudodami naują mėginį, paimtą iš originalaus paciento mėginio.

16. Apribojimai

- Ne 027 izoliatai, atstovaujantys toksinotipą XIV, bus pateikiami kaip **Toxigenic C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS**, naudojant Xpert *C. difficile* BT tyrimą.
- **Toxigenic C. diff NEG; Binary Toxin POS, Presumptive 027 NEG** su Xpert *C. difficile* BT gali slėpti toksino B geną ir/ar *tcdC* deleciją, jei jis bus žemiau tyrimo aptikimo ribos.
- Kartais, ne 027 izoliatai, atstovaujantys toksinotipus IV, V ir X, gali būti pateikiami kaip **Toxigenic C. diff POS; Binary Toxin POS; 027 PRESUMPTIVE POS**, naudojant Xpert *C. difficile* BT tyrimą.
- Xpert *C. difficile* BT tyrimo veiksmingumas patvirtintas naudojant procedūras, pateiktas šiame pakuotės aprašyme. Šių procedūrų modifikacijos gali paveikti tyrimo veiksmingumą.
- Xpert *C. difficile* BT tyrimo rezultatai turi būti interpretuojami kartu su kitais laboratoriniais ir klinikiniais duomenimis, prieinamais gydytojui.
- Klaidingi rezultatai gali atsirasti dėl netinkamo mėginio surinkimo, mėginio surinkimo procedūros nesilaikymo, netinkamo mėginio paruošimo ar laikymo, technikinių klaidų, mėginių sumaišymo arba dėl per mažo organizmų skaičiaus mėginyje. Norint išvengti klaidingų rezultatų, būtina laikytis šiame pakuotės aprašyme pateiktų instrukcijų.
- Dėl skiedimo faktoriaus pakartotinio tyrimo procedūroje, įmanoma, jog *C. difficile* teigiamo mėginiai, esantys šalia ar ties Xpert *C. difficile* BT tyrimo aptikimo riba, pakartotiniame tyrime demonstruos klaidingai neigiamą rezultatą.
- Xpert *C. difficile* BT tyrimo inhibicija buvo pastebėta esant šioms substancijoms: cinko oksido pasta ir Vagisil® kremas.
- CDI protrūkius gali sukelti kitos nei 027 padermės.
- Klaidingai neigiami rezultatai gali atsirasti, kai infekuotas organizmas turi genominių mutacijų, insercijų, delecijų ar pertvarkymų, įvykusių ankstyvojoje susirgimo stadijoje.
- Teigiami rezultatai, gauti iš imunosupresuotų pacientų, gali atspindėti asimptotinę *C. difficile* pernešimą.
- *C. difficile* nukleolinių rūgščių aptikimas išmatose patvirtina organizmų buvimą pacientuose su diarėja, bet neindikuoja, jog *C. difficile* yra diarėjos priežastis.
- Veiksmingumo charakteristika nėra nustatyta pacientams, jaunesniems nei 2 metų amžiaus.

17. Tikėtinos vertės

Xpert *C. difficile* BT tyrimo klinikinėje studijoje iš viso buvo naudota 2293 beformių išmatų mėginiai, surinkti iš septynių centrų JAV ir Kanadoje. Teigiamo toksigeninio *C. difficile* skaičius ir procentinė išraiška, apskaičiuota pagal amžių ir lytį, yra pateikiama 2 lentelėje ir 3 lentelėje.

2 lentelė. Toksigeninio *C. difficile* paplitimas pagal amžiaus grupę

Amžiaus grupė	N	Toksigeninio <i>C. difficile</i> paplitimas (įskaitant 027)	Binarinio toksino paplitimas	027 paplitimas
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)
Iš viso	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

a. Paplitimas paremtas Xpert rezultatais.

3 lentelė. Toksigeninio *C. difficile* paplitimas pagal lytį

Lytis	N	Toksigeninio <i>C. difficile</i> paplitimas (įskaitant 027)	Binarinio toksino paplitimas	027 paplitimas
Vyrai	1072	18.2% (195/1072)	6.3% (68/1072)	5.0% (54/1072)
Moterys	1221	19.2% (235/1221)	7.9% (97/1221)	5.8% (71/1221)
Iš viso	2293	18.8% (430/2293)	7.2% (165/2293)	5.5% (125/2293)

18. Veiksmingumo charakteristika

18.1 Klinikinis veiksmingumas

Xpert *C. difficile* BT veiksmingumo charakteristika buvo nustatoma atliekant prospektinę tiriamąją studiją septyniose JAV ir Kanados institucijose, Xpert *C. difficile* BT tyrimą lyginant su referentiniu kultivavimo metodu kartu su CCCN tyrimu su izoliatų ir padermių tipavimu dėl toksigeninių padermių, atliekant PGR ribotipavimą.

Dalyvavo subjektai, kuriems buvo būtina atlikti *C. difficile* tyrimą. Buvo tiriama beformių išmatų dalis su Xpert *C. difficile* BT tyrimu. Likę mėginiai buvo siunčiami į centrinę laboratoriją referentiniam ištyrimui kultūros metodu ir citotoksino B tyrimui. Kiekvienas išmatų mėginys buvo inokuliuojamas ant preredukuoto cikloserino cefoksitino-fruktozės agaru – tiesiogiai į lėkštelę (CCFA-D) ir cikloserino cefoksitino manitolio buljono su taurocholato lizozimo cisteinu (CCMB-TAL). Po 24 valandų CCMB-TAL buvo subkultivuotas ant antros CCFA-E lėkštelės (CCFA-pagausinta). Šis tiesioginio pagausinimo kultivavimo metodas yra laikomas „referentiniu kultūros metodu“.

Jei *C. difficile* buvo izoliuota iš CCFA-D lėkštelės ir izoliatas buvo teigiamas su CCCN tyrimu, mėginys buvo klasifikuojamas kaip “teigiamas toksigeniniam *C. difficile*” ir CCFA-E lėkštelė toliau nebuvo tiriama. Jei *C. difficile* nebuvo izoliuota iš CCFA-D lėkštelės ar jei izoliatas buvo neigiamas su CCCN tyrimu, CCFA-E lėkštelė buvo tiriama toliau.

Jei CCFA-E buvo teigiamas dėl *C. difficile* ir izoliatas buvo teigiamas su CCCN tyrimu, mėginys buvo klasifikuojamas kaip “teigiamas toksigeniniam *C. difficile*”. Mėginys buvo nustatytas kaip neigiamas, jei CCFA-E buvo neigiamas dėl *C. difficile* arba izoliatas buvo neigiamas su CCCN tyrimu.

Atlikus referentinį kultūros tyrimą, toksigeniniam *C. difficile* teigiami izoliatai buvo siunčiami į centrinę laboratoriją padermės identifikavimui atliekant PGR rivotipavimą. Xpert *C. difficile* BT tyrimo veiksmingumas buvo apskaičiuotas atsižvelgiant į tiesioginio kultivavimo rezultatus su padermės tipavimu ir referentinį kultūros metodą su padermių tipavimu.

18.2 Suminiai rezultatai

Iš viso buvo tirti 2293 mėginiai su Xpert *C. difficile* BT tyrimu, kultūros metodu ir padermių tipavimu.

Veiksmingumo rezultatai ir tiesioginis kultivavimas

Lyginant su tiesioginio kultivavimo metodu ir PGR ribotipavimu, Xpert *C. difficile* BT tyrimas demonstravo 98.78% jautrumą ir 90.86% specifiškumą toksigeniniam *C. difficile*. Xpert *C. difficile* BT tyrimas taip pat parodė 100% teigiamą atitikimą ir 97.70% neigiamą atitikimą dėl 027 (4 lentelė).

4 lentelė. Xpert *C. difficile* BT tyrimo veiksmingumas ir tiesioginis kultivavimas bei PGR ribotipavimas

Tiesioginis kultivavimas ir PGR ribotipavimas					
		Toksinas B+ 027+	Toksinas B+ 027-	NEIG.	Iš viso ^a
Xpert <i>C.difficile</i> BT^b	Toksinas B+ 027+	74	4	47	125
	Toksinas B+ 027-	0	164	140	304
	NEIG.	0	3	1860	1863
	Iš viso	74	171	2047	2292
		Toksigeninis <i>C.difficile</i>		Toksigeninis <i>C.difficile</i>/027	
		Jautrumas: 98.78% (242/245) Specifiškumas: 90.86% (1860/2047) Tikslumas: 91.71% (2102/2292) PPV ^c : 56.41% (242/429) NPV ^d : 99.84% (1860/1863)		Teig.atitikimas: 100% (74/74) Neig.atitikimas: 97.70% (2167/2218) Tikslumas: 97.77% (2241/2292) PPV: 59.20% (74/125) NPV: 100% (2218/2218)	

a. Vienas izoliatas buvo netipuojamas dėl užterštumo: šis mėginys nėra įtrauktas į veiksmingumo statistiką.

b. Rodomi pirmojo arba antrojo bandymo su Xpert rezultatai. Apie 3.2% mėginių buvo nenustatyti pirmojo bandymo metu.

c. Teigiama tikėtina vertė

d. Neigiama tikėtina vertė

Veiksmingumas ir referentinis kultivavimas

Lyginant su referentiniu kultivavimo metodu ir PGR ribotipavimu, Xpert *C. difficile* BT tyrimas demonstravo 93.39% jautrumą ir 94.02% specifiškumą toksigeniniam *C. difficile*. Xpert *C. difficile* BT tyrimas taip pat parodė 98.89% teigiamą atitikimą ir 98.36% neigiamą atitikimą dėl 027 (5 lentelė).

5 lentelė. Xpert *C. difficile* BT tyrimo veiksmingumas ir referentinis kultivavimas bei PGR ribotipavimas

Referentinis kultivavimas ir PGR ribotipavimas					
		Toksinas B+ 027+	Toksinas B+ 027-	NEIG.	Iš viso ^a
Xpert <i>C.difficile</i> BT^b	Toksinas B+ 027+	89	5	31	125
	Toksinas B+ 027-	0	217	86	303
	NEIG.	1	21	1841	1863
	Iš viso	90	243	1958	2291
		Toksigeninis <i>C.difficile</i>		Toksigeninis <i>C.difficile</i>/027	
		Jautrumas: 93.39% (311/333) Specifiškumas: 94.02% (1841/1958) Tikslumas: 93.93% (2152/2291) PPV ^c : 72.66% (311/428) NPV ^d : 98.82% (1841/1863)		Teig.atitikimas: 98.89% (89/90) Neig.atitikimas: 98.36% (2165/2201) Tikslumas: 98.38% (2254/2291) PPV: 71.20% (89/125) NPV: 99.95% (2165/2166)	

a. Vienas izoliatas buvo netipuojamas dėl užterštumo: šis mėginys nėra įtrauktas į veiksmingumo statistiką.

b. Rodomi pirmojo arba antrojo bandymo su Xpert rezultatai. Apie 3.2% mėginių buvo nenustatyti pirmojo bandymo metu.

c. Teigiama tikėtina vertė

d. Neigiama tikėtina vertė

Santrauka

6 lentelėje yra pateikiamas skaičius mėginių, kiekvienam skirtingam tyrimo rezultatui iš 2293 mėginių, naudotų veiksmingumo duomenų analizėje.

6 lentelė. Bendras Xpert *C. difficile* BT tyrimo veiksmingumas

Tyrimo rezultatas	N
Toxigeniniam <i>C. diff</i> TEIG; Binariniam toksinui NEIG; O27 NEIG	272
Toxigeniniam <i>C. diff</i> TEIG; Binariniam toksinui TEIG; O27 NEG	36
Toxigeniniam <i>C. diff</i> TEIG; Binariniam toksinui TEIG; O27 NUMANOMAI TEIG	122
Toxigeniniam <i>C. diff</i> NEIG; Binariniam toksinui TEIG; O27 NEIG	7 ^a
Toxigeniniam <i>C. diff</i> NEIG; Binariniam toksinui NEIG; O27 NEIG	1856
Iš viso	2293

a. Papildomame tyrime, 4 iš 7 padermių maskavo toksino B geną.

Antibiotikų vartojimas

Tarp 2293 atvejų, įskaitant pagrindinį duomenų rinkinį, antibiotikų vartojimas per 2 mėnesius iki mėginio paėmimo, buvo pateiktas 1630 atvejų, o antibiotikų nevartojimas – 570 atvejų; 93 atvejais antibiotikų vartojimo statusas buvo nežinomas. Antibiotikų vartojimas nesukėlė statistškai reikšmingų skirtumų tyrimo veiksmingumo nustatyme.

19. Analitinis veiksmingumas

19.1 Analitinis specifiškumas

Penkiasdešimt penkios (55) padermės buvo surinktos, nustatytos kiekybiškai ir tirtos su Xpert *C. difficile* BT tyrimu. Padermės buvo gautos iš *American Type Culture Collection (ATCC)*, *Culture Collection University of Göteborg (CCUG)*, *German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ)*, *the Centers for Disease Control and Prevention (CDC)*, *the Institute of Public Health, Maribor, Slovenia* and *Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI)*.

Į visas tirtas bakterijų rūšis, buvo įtraukta dešimt (10) ne toksigeninių *C. difficile* pademrių ir vienuolika (11) ne *C. difficile Clostridium* rūšių. Tirti organizmai buvo identifikuoti kaip arba Gram teigiami (37), arba Gram neigiami (18). Vėliau organizmai buvo identifikuojami kaip aerobiniai (24), anaerobiniai (29) ar mikroaerobiniai (2).

Kiekviena padermė buvo tirta trigubu pakartojimu ties koncentracijomis nuo 1.1×10^8 iki 2.2×10^{10} CFU/tepinėlyje. Studijoje buvo naudojamos teigiama ir neigiama kontrolės. Studijos sąlygomis, visi izoliatai buvo nustatyti kaip **toksigeniniam C. diff NEIG.; binariniam toksinui NEIG.; 027 NEIG.** (7 lentelė). Analitinis specifiškumas buvo 100%.

Buvo tirtos papildomos ne *difficile Clostridium* rūšys, kad būtų pademonstruotas binarinio toksino tyrimo specifiškumas.

7 lentelė. Binarinio toksino geno specifiškumo studijos rezultatai

Gentis	Rūšis	Tirtas skaičius	Toksinas A/B	Binarinis toksinas
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>aminovalericum-like</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>baratii</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>bartletti</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>bifermentans</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>bolteae</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>butyricum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>cadaveris</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>celerecrescens</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>citroniae</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>clostridioforme</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>cochlearium</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>colicanis</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>disporicum</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>fallax</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>glycolicum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>hastiforme</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>hathewayi</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>hylemonae</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>innocuum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>lactatifermentans</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>lavalense</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>limosum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>mangenotii</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>mayombe-like</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>novyi</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>paraputrificum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens</i>	2	neig.	neig.

7 lentelė. Binarinio toksino geno specifiškumo studijos rezultatai (tęsinys)

Gentis	Rūšis	Tirtas skaičius	Toksinas A/B	Binarinis toksinas
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens Type E</i>	3	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>ramosum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>sardiniense</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>septicum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>sordellii</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	species	19	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>spiroforme</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>sporogenes</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>subterminale group</i>	3	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</i>	2	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>tetani</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>xylano/aerotolerans</i>	1	neig.	neig.
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 027	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile</i> RT 078	2	+	+

Visi ne binarinį toksą turintys izoliatai buvo neigiami su Xpert *C. difficile* BT tyrimu.

19.2 Analitinis jautrumas

Studijų metu buvo nustatomas 95% pasiklovimo intervalas analitinei aptikimo ribai (LoD), naudojant *C. Difficile*, skiestą žmogaus kilmės fekalijų matrica, kuri gali būti aptinkama Xpert *C. difficile* BT tyrimo. Fekalijų matrica buvo sudaryta iš skystų žmogaus išmatų (*C. difficile* neigiamas mėginys pagal Xpert *C. difficile* BT tyrimą), skiestų su PBS su 15% glicerolio. LoD yra mažiausias kolonijas formuojančių vienetų (CFU) skaičius tepinėlyje, kuris gali būti atkuriamai atskiriamas iš neigiamų mėginių su 95% pasiklovimu.

20 replikų buvo vertinama su kiekviena *C. difficile* tirta koncentracija (CFU/tepinėlyje) 7 skirtingoms *C. difficile* padermėms, atstovaujančios ribotipus 0 (dvi padermės), III (dvi padermės), IV, V, ir VIII (po vieną kiekvienos padermės).

Numanomas ir pasiklovimo intervalas buvo nustatomi naudojant logistinę regresiją su duomenimis (replikų teigiamų rezultatų skaičius kiekviename lygyje) visame CFU tirtame spektre. Pasiklovimo intervalas buvo nustatomas naudojant maksimaliai panašius įvertinimus su logistinio modelio parametrais, naudojant plačią įvairių mėginių kovariacijos matricą. LoD taško įvertinimai ir 95% viršutinis ir apatinis pasiklovimo intervalai kiekvienam tirtam *C. difficile* toksinotipui yra pateikti 8 lentelėje.

8 lentelė. *C. difficile* analitinės LoD 95% pasiklojimo intervalai

Padermės ID	Toksinotipas	LoD _{95%} (CFU/tepinėlyje)	Apatinis 95% PI	Viršutinis 95% PI
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. Pagal PGR ribotipavimą.

Šios studijos rezultatai rodo, jog Xpert *C. difficile* BT tyrimas pateikia teigiamą *C. difficile* rezultatą 95% išmatų mėginiams su 460 CFU/tepinėlyje ir 027 numanomą teigiamą rezultatą 95% atvejų tepinėliams su 75 CFU.

Be LoD nustatymo, aštuoniolika *C. difficile* padermių, atstovaujančių toksinotipus 0 plus 12 skirtingų toksinotipų, įskaitant keturis 027 toksinotipo III izoliatus, buvo tirtos naudojant Xpert *C. difficile* BT tyrimą. *C. difficile* padermės atstovavo daugumą *C. difficile* toksinotipų, aptinkamų praktikoje. Kamieninės kultūros buvo paruoštos suspenduojant bakterinį augimą agarą lėkštelėse PBS buferyje su 15% glicerolio. Kiekvienos kultūros koncentracija buvo nustatyta nuo 1.4 iki 5.9 McFarland vienetų. Visos padermės buvo skiestos serijiniu būdu iki maždaug 900 CFU/tepinėlyje ir tirtos trigubu pakartojimu.

Studijos sąlygomis, Xpert *C. difficile* BT tyrimas teisingai identifiko visus 18 padermių kaip **toksigeniniam C. diff TEIG**. Į panelį įtraukti 8 toksinotipai buvo nustatyti kaip teigiami dėl binarinio toksino (CDT) produkavimo. Visi buvo nustatyti kaip CDT teigiami su Xpert *C. difficile* BT tyrimu. Visi keturi 027 izoliatai, reprezentuojantys toksinotipą III, buvo teisingai identifikuoti kaip **toksigeniniam C. diff TEIG.; binariniam toksinui TEIG.; 027 NUMANOMAI TEIG.** Septyni *C. difficile* izoliatai iš PGR ribotipo 033 ir trys papildomi *C. difficile* izoliatai iš susijusio PGR ribotipo, kuris buvo neigiamas dėl *tcdA* ir *tcdB*, bet produkavo binarinį toksiną (CDT)₂₂, buvo tirti su Xpert *C. difficile* BT tyrimu. Visi 10 izoliatų demonstravo teigiamą rezultatą tik dėl binarinio toksino (9 lentelė), taip patvirtinant tyrimo gebėjimą aptikti izoliatus, kurie yra toksinas A-, toksinas B-, binarinis toksinas +).

9 lentelė. Organizmų, produkuojančių tik binarinį toksiną (toksinas A-, toksinas B-), tyrimas su Xpert *C. difficile* BT

Organizmas	Padermės ID	PGR ribotipas	Tyrimo rezultatas
<i>C. difficile</i>	CD12-066	033	Toksigeniniam C.diff NEIG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	CD12-203	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	CD13-022	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	06-08-02	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	NT077	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	Toksigeniniam C.diff NEG; binariniam toksinui TEIG; 027 NEIG

19.3 Interferuojančios medžiagos

Dvidešimt viena (21) biologinė ir cheminė substancija, kartais naudojama ar randama išmatų mėginiuose, buvo tiriama dėl interferencijos su Xpert *C. difficile* BT tyrimu. Potencialiai interferuojančios medžiagos yra, bet neapsiriboja: Vagisil kremas ir cinko oksido pasta (žr. 16 skyrių). 10 lentelėje 19 pateiktų substancijų neparodė jokios aptinkamos interferencijos su Xpert *C. difficile* BT tyrimu.

10 lentelė. Stirtos substancijos, neinterferuojančios tyrimo

Substancija	Substancija
Bendras kraujas Karolinska University Hospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucinas (kiaulės) Sigma	Vazelinas Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Preparation H Portable Wipes Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Vaginalinė kontraceptinė plėvelė (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vankomicinas Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazolas Actavis
Riebalai išmatose Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	E-Z HDTM didelio tankio bario sulfatas suspensijai E-Z EM Canada
Hidrokortizono kremas Longs Drugs	

20. Atkuriamumas

7 mėginių panelis su skirtingomis toksigeninio *C. difficile* ir *C. difficile* ribotipo 027 koncentracijomis, buvo tiriamas 10 skirtingų dienų, dviejų skirtingų operatorių, trijose skirtingose vietose (7 mėginiai x 2 operatoriai/diena x 10 dienų x 3 vietos). Visose 3 tyrimo vietose buvo naudojama viena Xpert *C. difficile* BT tyrimo partija. Xpert *C. difficile* BT tyrimai buvo atliekami laikantis Xpert *C. difficile* BT tyrimo procedūros. Rezultatai yra pateikti 11 ir 12 lentelėse.

11 lentelė. Atkuriamumo rezultatų (visų) santrauka

Mėginio ID	% Atitikimas ^a			% bendras atitikimas mėginyje
	Vieta 1	Vieta 2	Vieta 3	
Neigiamas	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> stipriai neigiamas	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> silpnai teigiamas	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)

Toksigeniniam <i>C. difficile</i> vidutiniškai teigiamas	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> ribotipui 027 High Negative	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> ribotipui 027 teigiamas	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96.7% (58/60)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> ribotipui 027 vidutiniškai teigiamas	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% Bendras atitikimas vietoje	100% (140/140)	97.1% (136/140)	97.1% (136/140)	98.1% (412/420)

a. Neigiamiems ir stipriai neigiamiems mėginiais, % atitikimas = (# neigiami rezultatai/visi mėginiai); silpnai ir vidutiniškai teigiamiems mėginiais, % atitikimas = (# teigiami rezultatai/visi mėginiai).

12 lentelė. Ct vertės rezultatų pagal mėginio lygį ir mėgintuvėlių santrauka

SPC			
Lygis	Vid.	Stand.deviacija	CV
Toksigeninis <i>C. diff</i> stipriai neig.	32.17	0.59	1.83%
Toksigeninis <i>C. diff</i> silpnai teig.	32.14	0.53	1.66%
Toksigeninis <i>C. diff</i> vid.teig.	31.98	0.47	1.47%
027 stipriai neig.	32.11	0.65	2.03%
027 silpnai teig.	31.93	0.72	2.26%
027 vid.teig.	31.96	0.61	1.90%
Neg	32.26	0.72	2.22%
tcdB (Toksinas B)			
Lygis	Vid.	Stand.deviacija	CV
Toksigeninis <i>C. diff</i> high neg	39.59	0.70	1.77%
Toksigeninis <i>C. diff</i> silpnai teig.	35.88	0.81	2.24%
Toksigeninis <i>C. diff</i> vid.teig.	32.17	0.45	1.39%
027 stipriai neig.	39.11	0.98	2.50%
027 silpnai teig.	35.49	0.58	1.65%
027 vid.teig.	32.10	0.63	1.97%

Papildomas 6 mėginių panelis, trys neigiami ir trys toksigeniniam *C. difficile* stipriai teigiami mėginiai, buvo tiriami 5 skirtingas dienas, tyrimus atliko du skirtingi operatoriai, trijose skirtingose vietose (6 mėginiai x 2 operatoriai/diena x 5 dienos x 3 vietos). Stipriai neigiami mėginiai buvo paruošti ties koncentracija, žemesne nei LoD, tokiu būdu tikėtasi gauti neigiamą rezultatą 20 - 80% visų atvejų. Visose 3 tyrimo vietose buvo naudojama viena Xpert *C. difficile* BT tyrimo partija. Xpert *C. difficile* BT tyrimai buvo atliekami laikantis Xpert *C. difficile* BT tyrimo procedūrų. Rezultatų santrauka yra pateikiama 13 lentelėje.

13 lentelė. Papildomų mėginių atkuriamumo rezultatų santrauka

Mėginio ID	% Atitikimas ^a			% bendras atitikimas mėginyje
	Vieta 1	Vieta 2	Vieta 3	
Neigiamas	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Toksigeniniam <i>C. difficile</i> stipriai neigiamas ^b	60% (18/30)	60% (18/30)	53.3% (16/30)	57.8% (52/90)

- a. (# neigiami rezultatai / visi stipriai neigiami mėginiai)
- b. 20-80% tikėtinas atitikimas stipriai neigiamiems mėginiams

21. Literatūros nuorodos

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. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. 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. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *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, Lyerly 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 and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP- ribosyl- transferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-1939
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. FEMS Microbiol Lett 2000;186:307-12.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. 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, Lyerly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41:531-534.
14. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. 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. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. 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*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. 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 and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. New Microbes New Infect. 2014;8;3:12-7.

22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert C. difficile/Epi and meridian bioscience illumigene C. difficile assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. J Clin Microbiol. 2015;53:973-5
23. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
25. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
26. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
27. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. J Clin Microbiol 2008;46:431–437.

22. Cepheid ofisas

Kompanijos būstinė	Atstovybė Europoje
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 USA	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Tel. nr. +1 408.541.4191	Tel. nr. +33 563 825 300
Faks. +1 408.541.4192	Faks. +33 563 825 301
www.cephheid.com	www.cephheidinternational.com

23. Techninė pagalba

Prieš susisiekiant su Cepheid techninės pagalbos skyriumi, turėkite šią informaciją:

- Produkto pavadinimas
- Partijos numeris
- Serijinis instrumento numeris
- Klaidų pranešima (jei yra)
- Programinės įrangos versija, ir, jei taikoma, kompiuterio priežiūros lipduko informacija

Regionas	Telefono nr.	El.paštas
JAV – Techninė pagalba	+1 888.838.3222	techsupport@cephheid.com
Australija ir Naujoji Zelandija	1800 107 884 0800 001 028	techsupportanz@cephheid.com
Kinija	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cephheid.com
Prancūzija	+33 563 825 319	support@cephheid europe.com
Vokietija	+49 69 710 480 480	support@cephheid europe.com
Jungtinė Karalystė	+44 3303 332 533	support@cephheid europe.com
Italija	+39 800 902 567	support@cephheid europe.com
Pietų Afrika	+27 861 22 76 35	support@cephheid europe.com

Kitos Europos, Vidurio Rytų ir Afrikos šalys	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Japonija	+0120 95 4886	support@japan.cepheid.com
Nepaminėtos šalys	+1 408.400.8495	techsupport@cepheid.com

Kontaktinę kitų Cepheid ofisų informaciją rasite tinklalapyje www.cepheid.com, www.cepheidjapan.com ar www.cepheidinternational.com **SUPPORT** (pagalba) skirtuke. Pasirinkite **Contact Us** (susisiekitė) parinktį.

24. Simbolių lentelė

Simbolis	Reikšmė
	Katalogo numeris
IVD	<i>In vitro</i> diagnostinė medicinos priemonė
	Vienkartinio naudojimo
	Partijos kodas
	Skaitykite naudojimo instrukcijas
	Dėmesio
	Gamintojas
	Turinys skirtas <n> tyrimams
	Kontrolė
	Galiojimo data
CE	CE žyma – Europos atitiktis
	Įgaliotas atstovas Europos Bendrijoje
	Temperatūros apribojimai
	Biologinis pavojus
	Įspėjimas



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Švedija



Tikslus dokumento vertimas į lietuvių kalbą

Vertėja Akvilė Gegelevičienė

Data 2017-06-08

UAB Diamedica
Molėtų pl. 73, Vilnius, Lietuva
Tel. 8 5 279 0080



