

“賽沛” 困難梭狀芽孢桿菌檢測套組 “Cepheid” Xpert C.difficile/Epi

衛部醫器輸字第 031487 號

限由醫師或醫檢師使用
本產品僅供體外診斷使用
使用前請務必詳閱原廠之使用說明書並遵照指示使用。

型號
GXCDIFF/EPI-10
GXCDIFF/EPI-120

專用名稱
Xpert C. *difficile*/Epi

常用名稱
Xpert C. *difficile*/Epi

效能

本產品是一使用GeneXpert 儀器系統以自動反轉錄聚合酶反應(RT-PCR)快速偵測、定量困難梭狀芽孢桿菌tcdB (毒素B基因)、cdt(二元毒素基因)及tcdC基因第117個核苷酸有無缺失的體外診斷試劑，採用的檢體為疑似困難梭狀桿菌感染病人的未成形(液體或質地軟)糞便，用於協助診斷困難梭狀芽孢桿菌感染(CDI)及偵測可能造成較嚴重感染的菌株。

預期用途

本產品是快速檢測毒素B基因序列的定性體外診斷試驗，從懷疑患有困難梭狀芽孢桿菌感染(CDI)的患者收集未成形(液狀或軟狀)糞便檢體，鑑定是否有027 / NAP1 / BI困難梭狀芽孢桿菌的推斷感染。推斷鑑定027 / NAP1 / BI困難梭狀芽孢桿菌是通過檢測二元毒素(CDT)基因序列和tcdC基因中核苷酸117處的單鹼基對缺失。tcdC基因編碼困難梭狀芽孢桿菌毒素生產中的負調節物。該測試是在Cepheid GeneXpert Dx系統上進行且利用自動化的即時聚合酶鏈式反應(PCR)來檢測與產毒困難梭狀芽孢桿菌相關的毒素基因序列。本產品旨在幫助CDI的診斷。本產品檢測困難梭狀芽孢桿菌027 / NAP1 / BI菌株是推斷的，僅適用於流行病學目的，並非旨在指引或監測治療困難梭狀芽孢桿菌。只有在需要進一步分型或重複細菌體時附隨的培養才是必要的。

摘要和說明

困難梭狀芽孢桿菌是一種革蘭氏陽性，可形成孢子的厭氧桿菌，在1978年首先發現與疾病相關。困難梭狀芽孢桿菌感染(CDI)範圍從瀉瀉到嚴重危及生命的假膜性結腸炎。健康成人的成熟結腸其細菌菌群通常可抵抗跟難梭菌的定植。然而，如果正常結腸菌群發生改變，對細菌產生的抵抗力喪失。最常見的危險因素是接觸抗生素。困難梭狀芽孢桿菌的主要毒力因子是細胞毒素B。可轉譯毒素A (tcdA;腸毒素)和毒素B (tcdB)的基因是致病性基因座(PaLoc)的一部分。儘管大部份致病菌株是為毒素A陽性，毒素B陽性(A + B +)，但毒素A陰性，毒素B陽性(A-B +)的雙重分離株也被認為致病性的。一些困難梭狀芽孢桿菌株還產生肌動蛋白特異性ADP-核糖基轉移酶稱為CDT或二元毒素。二元毒素基因座含有兩個基因(cdtA和cdtB)，位於PaLoc之外。

在過去的幾年中，CDI的爆發是由於一些新出現的“超強毒性”菌株所引起的。這些菌株對氣嗜琳有抗藥性且屬於PCR核糖型027，PFGE型NAP1和REA型BI。027 / NAP1 / BI表現出更多的毒素產生，這歸因於調節基因tcdC的缺失並且它們被認為產生更多孢子，導致於環境中的持久性增強。推定陽性或陰性027 / NAP1 / BI的結果可能有助於確認027 / NAP1 / BI爆發的潛在來源。

困難梭狀芽孢桿菌診斷傳統上基於毒素A或B的檢測。然後是勞力密集型的培養程序，通過對分離物的細胞毒性測試，並且對糞便樣品的細胞毒性細胞分析仍被認為是“金標準”因為其高特異性。已經開發了數種快速酶免測定法用於檢測毒素A和B然而，這些與細胞毒性測定相比，具有較低的靈敏度和特異性。最近，開發用於檢測毒素A和/或毒素B的PCR方法與細胞毒性與免測定相比也有高靈敏度和特異性。

程序原理

GeneXpert Dx系統可自動化並整合樣品純化，核酸擴增和目標檢測使用即時PCR和即時逆轉錄酶PCR(RT-PCR)測定法在簡單或複雜樣品中測定。（即時的RT-PCR用於檢測RNA的分析。本產品使用即時PCR檢測DNA。）系統的組成由儀器，個人電腦和可用於運行測試和查看結果的預裝軟件。該系統需要使用一次性使用的試劑盒，可容納PCR試劑並運作PCR過程。由於試劑盒是獨立的，可免除樣品之間交叉又污染。有關系統的完整說明，請參閱GeneXpert Dx系統操作手冊。

本產品(其中Epi指流行病學)包括用於檢測產毒困難梭狀芽孢桿菌的試劑和推斷檢測027 / NAP1 / BI菌株中發現的序列。樣品處理品管(SPC)也包括在內。SPC是存在以控制目標細菌有被充分處理並監測PCR反應中是否有抑制劑的存在。探針檢查品管(PCC)驗證試劑補液，PCR管填充盒，探針完整性和染料穩定性。對細胞的細胞毒性和免測定。本產品是一種用於定性檢測毒素產生的快速自動體外診斷測試，從懷疑有困難梭狀芽孢桿菌感染(CDI)患者的未成形(液狀或軟狀)糞便標本直接測定。該測定法檢測毒素B基因(tcdB)，二元毒素基因(CDT)和在編碼毒素生產負調控因子的基因內(tcdC 117)核苷酸117處的單鹼基對缺失。同時表現編碼毒素B的基因並且存在二元毒素和tcdC 117缺失已知與稱為027 / NAP1 / BI的超致病力困難梭狀芽孢桿菌菌株有關，並已與全球醫療機構的嚴重疾病爆發相關聯。該測定是在Cepheid GeneXpert Dx系統上進行。

試劑和設備

提供的材料

本產品GXCDIFF/EPI-10包括足夠處理10位患者或品管檢體的試劑，GXCDIFF/EPI-120包括足夠處理120位患者或品管檢體的試劑。

試劑組包括以下內容：

Xpert C. difficile/Epi分析試劑匣含完整反應管	10個	120個
Bead 1, 2, 3 and Bead 4 (冷凍乾燥)	1個/試劑匣	1個/試劑匣
試劑1	3.0 mL /試劑匣	3.0 mL /試劑匣
試劑2(氫氧化鈉)	3.0 mL /試劑匣	3.0 mL /試劑匣
Xpert C. difficile/Epi分析試劑袋	1個/試劑組	
檢體試劑瓶硫酸胍	0x2.0 mL /袋	125x2.0 mL /袋
光碟	1片/試劑組	

- 檢測定義檔（ADF）
- ADF匯入GX軟體之說明
- 產品仿單

注意：

安全數據表（SDS）可在**www.cephid.com/tests-and-reagents/literature/msds**或**www.cephidinternational.com/tests-and-reagents/literature/msds**獲得。

注意：

本產品的牛血清白蛋白（BSA）的製備完全來自美國牛血漿。BSA的生產也在美國進行。沒有反芻動物蛋白質或任何其他動物蛋白餵養給動物，動物通過了犧牲前及犧牲後檢驗。在處理過程中，未與其他動物的材料混合在一起。

其他需求材料，但未提供

- GeneXpert DX系統 (型號取決於使用的設備型號)：GeneXpert DX儀器、電腦(包含適當軟體版本4.3或更高)、條碼掃描器和GeneXpert DX系統操作手冊。
- 印表機(有關兼容性準則，請參閱GeneXpert Dx系統操作員手冊)。
- 渦流混合器
- 乾拭子用於轉移檢體 - 例如在Cepheid Sample Collection Device 900-0370 (Copan Venturi
- Transystem Culture)或Copan Dual Swab and Transport System (139CFM LQ STUART)或Cepheid Single-Use Disposable Swab (SDPS-120)中的拭子。
- 一次性的轉移吸量管

其他可用材料，但未提供

- 來自 MicroBioLogics 型號 #0329 (產毒困難梭狀芽孢桿菌)的KWIK-STIKs作為陽性品管組以及型號 #0527 (非產毒困難梭狀芽孢桿菌)和型號 #0331 (索氏梭狀芽孢桿菌)

作為陰性品管組。

- 也可以使用困難梭狀芽孢桿菌的菌株來自ATCC #9689(野生型產毒困難梭狀芽孢桿菌)和#BAA-1870 (NAP1/027困難梭狀芽孢桿菌)作為陽性品管組以及#700057 (非產毒困難梭狀芽孢桿菌)作為陰性品管組
- 此外，菌株可從疾病控制和預防中心，醫療保健質量促進處獲得。

警告及注意事項

- 本產品的結果並非為困難梭狀芽孢桿菌感染的治療指南。
- 具感染性的生物性檢體包含使用過的檢測匣，因為在檢測前無法得知其感染性與否，因此所有的人類檢體必須依照注意事項進行操作。依美國疾病防治管制局和臨床和實驗室標準委員會提供的操作檢體的標準程序(前身為國家臨床實驗室標準委員會)。
- 依照實驗室安全規定操作化學試劑和生物性檢體。
- 對於小於2歲的患者沒有建立性能特徵。
- 本產品沒有提供一個藥敏的結果。需要單獨等分的樣本和額外的時間來培養和進行藥敏試驗
- 勿將本產品試劑替換為其他試劑。
- 除了添加檢體和試劑及重新測試時，不要打開本產品試劑匣蓋。
- 請勿使用已掉落的試劑匣。
- 請勿使用已損壞反應管的試劑匣。
- 每個一次性使用的本產品試劑匣用於處理一個測試。切勿重複使用試劑匣。
- 請諮詢您在機構的環境廢物處理人員，以妥善處置廢舊試劑匣和未使用的試劑。該材料可能具有聯邦EPA資源保護和恢復法（RCRA）危險廢物的特性，需要特定的處置要求。檢查狀態和當地法規，因為它們可能與聯邦處置法規不同。機構應檢查其國家的有害廢物處置要求。
- 試劑2含有氫氧化鈉（H302，H315，H319），會刺激眼睛和皮膚，需要眼睛和皮膚的防護。
- 樣品試劑含有硫氰酸胍（H302，H316，H320，H402，EUH031），對水生動物有害，與酸接觸釋放有毒氣體。

儲存和操作

- 本產品檢測套組儲存在2-8 °C。
- 請勿使用已經過期的試劑或是及試劑匣。
- 在準備好執行測試之前，不要打開試劑匣蓋
- 不要使用變得渾濁或變色的試劑。

檢體採集和運送

- 將未成形的糞便檢體收集在乾淨的容器中。按照您在機構的指引收集困難梭狀芽孢桿菌檢測樣本。
- 標有樣本ID並發送至實驗室。
- 檢體儲存在2-8 °C。2-8 °C儲存時，檢體可穩定5天。檢體可以保持在室溫（20-30 °C）長達24小時。

步驟

準備試劑匣

重要：樣本加入試劑匣30分鐘之內開始測定。

加入檢體入試劑匣：

- 從包裝中取出試劑匣和檢體試劑。
- 簡要地將拭子置入糞便中。拭子不需要完全滲透。
- 將拭子插入含有檢體試劑的瓶中。

注意：使用無菌紗布將污染風險降至最低。

- 用瓶邊緣的擰住拭子的桿，將拭子從試管底部提起幾毫米並靠在小瓶的邊緣推動桿折斷它。確認拭子鉤短使蓋子緊緊閉合。
- 蓋上蓋子並高速旋轉10秒鐘。
- 打開試劑匣蓋。使用乾淨的轉移吸量管（未提供）將檢體試劑的全部內容物轉移到本產品試劑匣的“S”室中。
- 關上試劑匣蓋。

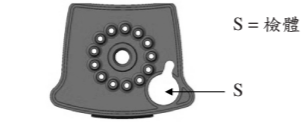


圖1. Xpert C. difficile/Epi Assay試劑匣(上方俯視圖)

開始檢測

重要：啟動檢測前，確認本產品定義檔已安裝到軟體中。

本節列出了操作GeneXpert儀器系統的基本步驟。其他詳細說明請參閱GeneXpert DX 系統操作手冊。

注意：如果系統管理員更改了系統的自訂工作流程，則您所遵循的步驟可能會有所不同。

- 打開GeneXpert DX設備電GeneXpert軟件將自動或可能啟動 需要雙擊Windows®桌面上的GeneXpert Dx軟件快捷方式圖標。
- 以您的使用者名稱和密碼登入GeneXpert DX設備系統軟體。
- 在GeneXpert DX系統視窗，按下Create test(GeneXpert DX)進入新增檢測視窗。
- 掃描病人編號（可選擇），如果鍵入病人編號，確保正確鍵入病人編號。病人編號有關的測試結果會顯示在“ 查看結果(View results)”的視窗中。
- 掃描或輸入檢體編號。如果鍵入檢體編號，確保正確鍵入檢體編號。檢體編號有關的測試結果會顯示在“ 查看結果(View results)”的視窗中。
- 掃描本產品試劑匣的條碼。使用條碼信息，該軟體可自動填入以下資訊：選擇分析檢測，試劑批號標示，試劑匣序號，和保存期限。

注意：如果本產品試劑匣的條碼無法掃描，取新的試劑匣重複測試。

- 按下 Start Test。在出現的對話框中，輸入您的密碼。
- 綠燈閃爍時打開儀器模組的門，並裝上試劑匣。
- 關閉模組的門。測試開始且綠色指示燈停止閃爍。當測試完成，指示燈熄滅。
- 直到設備打開門鎖，才可打開模組門並取出試劑匣。
- 根據您在機構的檢體廢棄物標準做法，丟棄使用過的試劑匣。

查看和列印結果

查看及列印結果詳細說明，請參閱GeneXpert DX 系統操作手冊。

品管

每個測試包含樣品處理品管（SPC）和探針檢查品管（PCC）。

樣品處理品管（SPC） - 確保檢體正確處理。SPC含有孢子狀的芽孢桿菌孢子在每個試劑匣中，以驗證檢測過程有充分的檢體細菌。SPC證實如果存在生物體，則發生困難梭狀芽孢桿菌和芽孢的裂解，並驗證樣本處理是否充分。另外，品管在檢測即時PCR測定的檢體相關抑制劑。SPC在陰性檢體中應為陽性，在陽性樣本中可為陰性或陽性。如果SPC符合驗證的驗收標準，則SPC通過。

探針檢查品管（PCC） - 在PCR反應開始之前，GeneXpert Dx系統從探針的螢光信號測量來監測 bead再水合、反應管充填、探針完整和染料穩定。如果符合驗證的標準，那麼探針檢查品管為合格。

外部品管 - 根據適用情況，可以根據當地，州，聯邦認證機構使用外部品管措施。

結果判讀

結果判讀是由GeneXpert DX儀器系統藉由量測的螢光信號和內建軟體的計算公式產生結果。結果將顯示於View Results視窗。可能結果顯示於表1。表1總結了可能的結果;附表中提供了更多詳細信息

結果				解釋	範例 ¹
毒素 B	毒素	tcdC	SPC		
+	+	+	+/-	產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性027-NAP1-BI 推斷陽性	圖2
+	+	-	+/-	產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性027-NAP1-BI 推斷陰性	圖3
	-	+	+/-		
-	-	-	+/-	產毒困難梭狀芽孢桿菌陰性027-NAP1-BI 推斷陰性	圖4
	+	+	+		
	+	-	+		
-	-	+	+		
-	-	-	+		

¹樣本截圖提供了陽性和陰性的*C.diff/Epi*結果和無效結果。請參見圖2至圖5.錯誤和無結果示例未顯示。

產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性；027推斷陽性(圖2)
產生毒素的困難梭狀芽孢桿，推斷027 / NAP1 / BI目標DNA序列被檢測到。

- 產毒困難梭狀芽孢桿菌目標(毒素B)及推斷027 / NAP1 / BI 目標 (Binary Toxin及tcdCA117)的Ct在有效範圍內及檢測終點高於最小設定。
 - SPC- NA (不適用);因為難梭狀芽孢桿菌目標擴增可能與該品管競爭，所以SPC被忽略。
 - 探針檢查 - 通過;所有探針檢查結果通過。

注意：使用本產品，非027/NAP1/ BI的 XIV毒素型和有時為IV，V和X毒素型的分離株將被報告為“產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性：02 / NAP1/BI推斷陽性” (圖2)。

產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性；027推斷陰性(圖3)

產生毒素的困難梭狀芽孢桿被檢測到。

- 產毒困難梭狀芽孢桿菌目標(毒素B)及只有一個和沒有推斷027 / NAP1 / BI 目標 (Binary Toxin及tcdCA117)的Ct在有效範圍內及檢測終點高於最小設定。
 - SPC- NA (不適用);因為難梭狀芽孢桿菌目標擴增可能與該品管競爭，所以SPC被忽略。
 - 探針檢查 - 通過;所有探針檢查結果通過。

產毒困難梭狀芽孢桿菌陰性；027推斷陰性(圖4)

產生毒素的困難梭狀芽孢桿未被檢測到。

- 未檢測到產毒困難梭狀芽孢桿菌目標(毒素B)，不論是否檢測到Binary Toxin及tcdCA117
- SPC - 通過; SPC Ct在有效範圍內及檢測終點高於最小設定。
- 探針檢查 - 通過;所有探針檢查結果通過。

無效(圖5)

無法確定困難梭狀芽孢桿菌目標DNA存在或不存在。根據下面部分的說明重複測試。

- SPC - 失敗; SPC 目標結果陰性以及SPC Ct不在有效範圍內及檢測終點高於最小設定。
- 探針檢查 - 通過;所有探針檢查結果通過。

錯誤

- 產生毒素的困難梭狀芽孢桿目標 - 沒結果
- Binary Toxin (CDT) - 沒結果
- tcdCA117 - 沒結果

探針檢查 - 失敗*：所有或一個探針檢查結果失敗

*如果探針檢查通過，錯誤是由超過可接受範圍的最大壓力極限引起的。

沒結果

無法確定困難梭狀芽孢桿菌目標DNA存在或不存在。根據下面部分的說明重複測試。

- 產生毒素的困難梭狀芽孢桿目標 - 沒結果
- Binary Toxin (CDT) - 沒結果
- tcdCA117 - 沒結果
- SPC - NA (不適用)

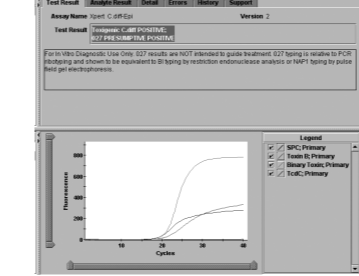


圖2. 產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性；027推斷陽性範例

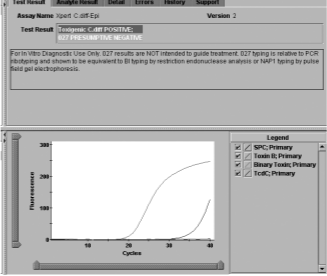


圖3. 產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性；027推斷陰性範例

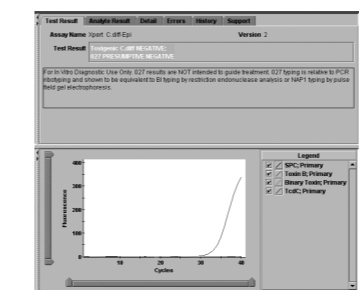


圖4. 產毒困難梭狀芽孢桿菌陰性；027推斷陰性範例

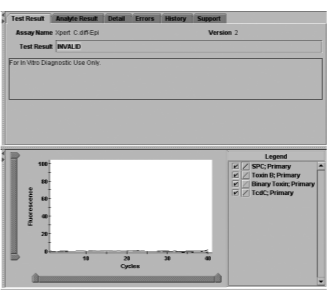


圖5. 無效結果範例

重新檢測的原因

如果出現下列檢測結果，根據下面重新檢測流程部分的說明重新測試。無效結果表示SPC失敗。檢體未被正確處理或PCR被抑制。錯誤的結果表明探針檢查控制失敗並且分析被中止。可能的原因包括：反應管填充不當；檢測到試劑探針完整性問題;或超過最大壓力限制。NO RESULT結果顯示資料不足。如：操作者中途停止檢測。

重新檢測流程

對於不確定的結果3小時內重新檢測，請使用試劑匣（不要重複使用試劑匣）和新試劑。

- 使用一次性的轉移吸量管將剩餘內容從S室轉移到新的檢體試劑瓶中。
- 高速旋轉並將樣品試劑的全部內容添加到新的試劑匣S室中。
- 關上蓋子並開始新的檢測。

對於不確定的結果3小時後重新檢測，請使用新的拭子樣本重複檢測

限制

- 使用本產品，非027/NAP1/ BI的 XIV毒素型和有時為IV，V和X毒素型的分離株將被報告為“產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性; 02 / NAP1/BI推斷陽性”。
- 使用本產品，有時IV，V和X毒素型的分離株將被報告為“產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性：02 / NAP1/BI推斷陽性”。
- 本產品的性能僅使用此說明書中提供的程序進行驗證。對這些程序的修改可能會改變測試的性能。
- 本產品的結果應結合其他可用的實驗室和臨床數據對臨床醫生進行解釋
- 採樣不當可能會導致錯誤的測試結果，未遵循推薦的檢體採集、處理和存儲程序，技術錯誤，檢體混淆，或因為樣本中的生物體數量太少而不能被測試檢測到。仔細遵守說明書的說明是必要的，以避免錯誤的結果。
- 由於稀釋因子與再次檢測程序相關，困難梭狀芽孢桿菌陽性檢體可能非常接近或處於本產品偵測極限(LoD)時可能導致重新檢測時的偽陰性結果。
- 存在以下物質的情況下觀察到本產品抑制：氧化鋅糊劑和Vagisil®霜。
- CDI的爆發可能是由027/NAP1/BI以外的菌株引起的。
- 當感染生物體具有基因組突變，插入，缺失或重排或在病程早期時可能會發生假陰性結果。

預期值

在本產品臨床研究中，共有2293個未形成的糞便標本來自美國和加拿大的七個中心。產毒困難梭狀芽孢桿菌的數量和比例透過培養並按年齡和性別計算，分別列於表2和表3。

 表2. 按年齡組觀察產毒困難梭狀芽孢桿菌的盛行率^a

年齡組	數量	產毒困難梭狀芽孢桿菌盛行率	027/NAP1/BI 盛行率
2-5	16	37.5% (6/16)	12.5% (2/16)
6-21	105	12.4% (13/105)	0.9% (1/105)
22-59	898	16.4% (147/898)	3.3% (30/898)
>60	1274	20.7% (264/1274)	7.2% (92/1274)
總和	2293	18.8% (430/2293)	5.5% (125/2293)

^a基於Xpert結果的盛行率

 表3. 按性別觀察產毒困難梭狀芽孢桿菌的盛行率^a

性別	數量	產毒困難梭狀芽孢桿菌盛行率 (包括 027/NAP1/BI)	027/NAP1/BI 盛行率
男性	1072	18.2% (195/1072)	5.0% (54/1072)
女性	1221	19.2% (235/1221)	5.8% (71/1221)
總和	2293	18.8% (430/2293)	5.5% (125/2293)

^a基於Xpert結果的盛行率

性能特徵

臨床性能

本產品的性能特徵在美國和加拿大七個機構的多地點前瞻性調查研究中通過比較本產品和參考培養，隨後對分離菌株進行細胞毒性測試和通過PCR-核糖分型，脈場凝膠電泳（PFGE）和限制性核酸內切酶分析（REA）方法對產毒菌株進行菌株分型。

受試者包括需要常規困難梭狀芽孢桿菌檢測的個體。每個剩餘未形成的糞便檢體一部分獲得本產品檢測用。剩餘的樣本被送到中心實驗室進行參考培養和細胞毒素B檢測。將每個糞便標本接種到預選原的環氧乙酸 - 頭孢西丁 - 果糖瓊脂直接培養皿(CCFA-D)及牛磺膽酸鹽溶菌酶半胱氨酸（CCMB-TAL）的環氧乙酸頭孢西丁甘露醇肉湯中。24小時後，將CCMB-TAL次培養至第二CCFA-E培養皿（富含CCFA）。這種直接豐富的培養方法在下文中被稱為“參考培養”。

如果從CCFA-D培養皿分離困難梭狀芽孢桿菌並且通過細胞毒性測定法為陽性，則將檢體分類為“產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性”，並且CCFA-E培養皿未被進一步分析。如果沒有從CCFA-D培養皿上分離到困難梭狀芽孢桿菌，或者如果通過細胞毒性測定分析為陰性，則進一步進行CCFA-E培養皿分析。

如果CCFA-E對困難梭狀芽孢桿菌呈陽性，並且該分離物對細胞毒性測定呈陽性，則將該樣品分類為“產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性”。如果CCFA-E對困難梭狀芽孢桿菌呈陰性或者分離物通過細胞毒性測定測試為陰性，則檢體報告為“陰性”。

參考培養物測試後，產毒困難梭狀芽孢桿菌陽性的分離株被送到第二組參考實驗室，用REA，PFGE和PCR核糖基因分型鑑定菌株。

本產品的性能與直接培養和菌株分型方法的每一種方法的結果，及參考培養和菌株分型方法的每一種的結果進行計算。

整體結果

總共2293個樣本經過本產品，培養和菌株分型測試。

性能與直接培養

相對於使用REA菌株分型進行的直接培養，本產品證明了產毒困難梭狀芽孢桿菌的靈敏度和特異性分別為98.72％和90.86％。本產品也表明BI 98.55％的陽性一致性的和97.65％陰性一致性(表4)。

表4. 本產品分析性能與直接培養和REA的比較

		直接培養 & REA			
		毒素B+ BI+	毒素B+ BI-	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi ^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	68	5	47	120
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	1	158	140	299
	陰性	0	3	1860	1863
	總和	69	166	2047	2282
		產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI		
		靈敏度: 98.72% (232/235)	靈敏度: 98.72% (232/235)	陽性一致性: 98.55% (68/69)	
		特異性: 90.86% (1860/2047)	特異性: 91.67% (2092/2282)	陰性一致性: 97.65% (2161/2213)	

表5.本產品分析性能與直接培養和PFGE的比較

直接培養 & PFGE					
		毒素 B+ NAP1 +	毒素 B+ NAP1 -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	71	6	47	124
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	0	161	140	301
	陰性	0	3	1860	1863
	總和	71	169	2047	2288
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 98.76% (238/241) 特异性： 90.86% (1860/2047) 精確度： 91.70% (2098/2288) PPV ^c : 56.00% (238/425) NPV ^d : 99.84% (1860/1863)	陽性一致性: 100% (71/71) 陰性一致性: 97.61% (2163/2216) 精確度： 97.68% (2234/2288) PPV: 57.26% (71/124) NPV: 100% (2164/2164)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。^b 5個檢體培養陽性，但由於以下原因而沒有菌株分型：限制性內切酶消化不完全；沒有生長；或者污染。這5個樣本不包含在上述性能特徵中。

^c 陽性預測值

^d 陰性陽性預測值

相對於使用PCR核糖基因分型菌株分型進行的直接培養，本產品證明了產毒困難梭狀芽孢桿菌的靈敏度和特异性分別為98.78%和90.86%。本產品也表明027 100%的陽性一致性和的97.70%陰性一致性 (表6)

直接培養 & REA					
		毒素 B+ BI +	毒素 B+ BI -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	68	5	47	120
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	1	158	140	299
	陰性	0	3	1860	1863
	總和	69	166	2047	2282
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 98.72% (232/235) 特异性： 90.86% (1860/2047) 精確度： 91.67% (2092/2282) PPV ^c : 55.37% (232/419) NPV ^d : 99.84% (1860/1863)	陽性一致性: 98.55% (68/69) 陰性一致性: 97.65% (2161/2213) 精確度： 97.68% (2229/2282) PPV: 56.67% (68/120) NPV: 99.95% (2161/2162)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。^b 1個分離株因污染沒有分型。這1個樣本不包含在性能統計中。

^c 陽性預測值

^d 陰性陽性預測值

性能與參考培養

在有症狀的患者中，參考（豐富）培養是檢測困難梭狀芽孢桿菌更敏感的方法，例如，由於先前的抗生素治療以及檢體傳送中失去生存能力，它可以增加檢體中微生物數量的檢測。

相對於使用REA菌株分型進行的參考培養，本產品證明了產毒困難梭狀芽孢桿菌的靈敏度和特异性分別為93.35%和94.02%。本產品也表明BI 96.51%的陽性一致性和的98.31%陰性一致性 (表7)。

參考培養 & REA					
		毒素 B+ BI +	毒素 B+ BI -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	83	6	31	120
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	2	204	86	292
	陰性	1	20	1841	1862
	總和	86	230	1958	2274
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 93.35% (295/316) 特异性： 94.02% (1841/1958) 精確度： 93.93% (2092/2282) PPV ^c : 71.60% (295/412) NPV ^d : 98.87% (1841/1862)	陽性一致性: 96.51% (83/86) 陰性一致性: 98.31% (2151/2188) 精確度： 98.24% (2234/2274) PPV: 69.17% (83/120) NPV: 99.86% (2151/2154)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。^b 9個檢體培養陽性，但由於以下原因而沒有菌株分型：限制性內切酶消化不完全；或者分離株沒有發送。這19個樣本不包含在上述性能特徵中。

^c 陽性預測值

^d 陰性陽性預測值

相對於使用PFGE菌株分型進行的參考培養，本產品證明了產毒困難梭狀芽孢桿菌的靈敏度和特异性分別為93.60%和94.02%。本產品也表明NAP1 97.73%的陽性一致性和的98.27%陰性一致性 (表8)。

參考培養 & PFGE					
		毒素 B+ NAP1 +	毒素 B+ NAP1 -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	86	7	31	124
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	1	213	86	300
	陰性	1	20	1841	1862
	總和	88	240	1958	2286
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 93.60% (307/328) 特异性： 94.02% (1841/1958) 精確度： 93.96% (2148/2286) PPV ^c : 72.41% (307/424) NPV ^d : 98.87% (1841/1862)	陽性一致性: 97.73% (86/88) 陰性一致性: 98.27% (2160/2198) 精確度： 98.25% (2246/2286) PPV: 69.35% (86/124) NPV: 99.91% (2160/2162)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。

^b 11個檢體培養陽性，但由於以下原因而沒有菌株分型：限制性內切酶消化不完全；沒有生長；或者污染。這11個樣本不包含在上述性能特徵中。

^c 陽性預測值

^d 陰性陽性預測值

參考培養 & PCR-核糖基因分型					
		毒素 B+ 027 +	毒素 B+ 027 -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	89	5	31	125
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	0	217	86	303
	陰性	1	21	1841	1863
	總和	90	243	1958	2291
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 93.39% (311/333) 特异性： 94.02% (1841/1958) 精確度： 93.93% (2152/2291) PPV ^c : 72.66% (311/428) NPV ^d : 98.82% (1841/1863)	陽性一致性: 98.89% (89/90) 陰性一致性: 98.36% (2165/2201) 精確度： 98.38% (2254/2291) PPV: 71.20% (89/125) NPV: 99.95% (2165/2166)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。^b 2個培養陽性檢體但因污染沒有菌株分型。這2個樣本不包含在性能統計中。

^c 陽性預測值

^d 陰性陽性預測值

抗生素的使用

在主要數據集包含的2293例中，檢體收集前2個月內使用抗生素的數量為1630例，確認沒有使用抗生素為570例；93例抗生素情況未知。抗生素的使用不會導致測定性能的統計學顯著差異。

分析特异性

收集55個菌株，並使用本產品進行定量和測試。菌株源於美國典型培養物保藏中心(ATCC)，哥德堡大學培養物保藏中心(CCUG)，德國微生物和細胞培養物保藏中心(DSMZ)，疾病控制和預防中心(CDC)，公共衛生研究所，馬里博爾，斯洛文尼亞和瑞典傳染病控制研究所(SMI)。

被檢測的菌種中，包括10種非產毒困難梭狀芽孢桿菌及11種非困難梭狀芽孢桿菌菌種。測試的生物體被鑑定為革蘭氏陽性(37)或革蘭氏陰性(18)。有機物被進一步分類為嗜氧(24)，厭氧(29)或微嗜氧(2)。每個菌株一式三份測試，濃度範圍從1.1x108到 2.2x1010 CFU/拭子。研究中包括陽性和陰性品管。在該研究的條件下，所有分離菌株被報告為產毒困難梭狀芽孢桿菌陰性，027-NAP1-BI 推斷陰性。分析特异性為100%。

分析靈敏度

將稀釋的困難梭狀芽孢桿菌加入人源糞便基質後，由本產品檢測，進行研究確立此檢測偵測極限（LoD）的95%信賴區間。糞便基質是由人體液體糞便組成（通過本產品檢測困難梭狀芽孢桿菌為陰性）稀釋於具有15％甘油的PBS中。LoD被定義為每個拭子菌落形成單位（CFU）最低的數量，有95％可信度能重複與陰性檢體區隔。測試針對7種不同的艱困難梭狀芽孢桿菌，每個困難梭狀芽孢桿菌濃度（CFU /拭子）重複進行20次，包含毒素型0（兩種菌株），III（兩種菌株），IV，V和VIII（每種菌株各一）。通過邏輯回歸確定估計值和信賴區間含括的CFU範圍（在每個濃度測試次數的陽性結果的數量）。使用在大樣品方差-協方差矩陣的邏輯模型參數上使用的最大似然估計值確定信賴區間。每種測試的困難梭狀芽孢桿菌毒素型其LoD點估計值和95%高低信賴區間於表10中總結描述。

菌株名稱	毒素型	LoD 95% (CFU/拭子)	低 95% 信賴區間	高 95% 信賴區間
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027/NAP1/BI)a	III	23	19	31
LUMC-5 (027/NAP1/BI)a	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

^a 通過PCR-核糖核酸分型/脈衝凝膠电泳/限制性核酸內切酶分析

研究的結果指出，95%每拭子中含有460 CFU困難梭狀芽孢桿菌的陽性糞便，與95%每拭子中含有75 CFU的陽性027 / NAP1 / BI可於本產品中測得。

除了LoD測定之外，使用本產品測試了毒素型0的12種變體毒素型的困難梭狀芽孢桿菌，其中包括4種027 / NAP1 / BI毒素型III分離株。選擇困難梭狀芽孢桿菌以廣泛地代表實際遇到的大多數困難梭狀芽孢桿菌毒素型。通過將瓊脂平板上的細菌調成含有15％甘油的PBS緩衝液的細菌懸浮液來製備培養物。每個原液調整到1.4-5.9 McFarland單位。將所有菌株連續稀釋至約每拭子900CFU並一式三份進行測試。

在本研究的條件下，本產品正確鑑定了所有18個測試為“產毒性艱難梭菌陽性”的菌株。包括在套組中的8種毒素也被報告為對二元毒素（CDT）產生也是陽性的。所有使用Xpert艱難梭菌分析的CDT陽性。代表毒素型III的所有四種027 / NAP1 / BI分離物被正確鑑定為“產毒困難梭狀芽孢桿菌; 027-NAP1-BI推斷陽性”。

干擾物質

21種可能偶爾使用或在糞便檢體中發現的生物和化學物質，與本產品進行了干擾測試。潛在的干擾物質包括但不僅限於Vagisil霜和氧化鋅糊劑（參見“限制”）。表11中列出的19種物質顯示對本產品測定沒有干擾。

參考培養 & PFGE					
		毒素 B+ NAP1 +	毒素 B+ NAP1 -	陰性	總和 ^b
Xpert C. diff/Epi^a	毒素B+ 027/NAP1/BI+	86	7	31	124
	毒素B+ 027/NAP1/BI-	1	213	86	300
	陰性	1	20	1841	1862
	總和	88	240	1958	2286
	產毒困難梭狀芽孢桿菌	產毒困難梭狀芽孢桿菌/027/NAP1/BI			
	靈敏度： 93.60% (307/328) 特异性： 94.02% (1841/1958) 精確度： 93.96% (2148/2286) PPV ^c : 72.41% (307/424) NPV ^d : 98.87% (1841/1862)	陽性一致性: 97.73% (86/88) 陰性一致性: 98.27% (2160/2198) 精確度： 98.25% (2246/2286) PPV: 69.35% (86/124) NPV: 99.91% (2160/2162)			

^a Xpert顯示是第一次或第二次嘗試的結果。大約3.2%的標本在第一次嘗試時不確定結果。

物質		物質			
全血	卡羅林斯卡大學醫院	K-Y Jelly/Gelée	McNeil-PPC		
黏蛋白(豬)	Sigma	凡士林	Unilever		
Kaopectate	Chattam	Dulcolax	Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals		
Imodium	McNeil-PPC	Preparation H	Portable Wipes	Wyeth	Consumer Healthcare
Pepto-Bismol	Procter & Gamble	Vaginal Contraceptive Film (VCF)	Apothecus Pharmaceutical		
Preparation H	Wyeth Consumer Healthcare	萬古黴素	Fluka		
Fleet	CB Fleet Company	甲硝唑	Actavis		
糞便脂肪	卡羅林斯卡大學醫院	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				

再現性

7個不同濃度的產毒困難梭狀芽孢桿菌和困難梭狀芽孢桿菌027 / NAP1 / BI的檢體，在三個地點兩個技術人員分別測試10天(7個樣本x2個操作員/天x10天x 3個地點)。在3個地點中的每一處都使用了同一批號的本產品。本產品根據本產品測定程序進行。結果總結在表12和表13中。

表12.再現性結果總結（全部）				
檢體名稱	一致性 ^a %			檢體總一致性%
	地點1	地點2	地點3	
陰性	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
產毒困難梭狀芽孢桿菌高陰性	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
產毒困難梭狀芽孢桿菌低陽性	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90.0% (54/60)
產毒困難梭狀芽孢桿菌中等陽性	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
027/NAP1/BI 高陰性	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
027/NAP1/BI 低陽性	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96.7% (58/60)
027/NAP1/BI 中等陽性	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
各地點總和一致性%	100% (140/140)	97.1% (136/140)	97.1% (136/140)	98.1% (412/420)

^a 對陰性及高陰性檢體，一致性% =(#陰性結果/總樣本運行)；對於低和中等陽性檢體，一致性% =(#陽性結果/總樣本運行)

表13.樣品探針的CI值結果總結				
SPC				
程度	平均	標準偏差	變異係數	
產毒困難梭狀芽孢桿菌高陰性	32.17	0.59	1.83%	
產毒困難梭狀芽孢桿菌低陽性	32.14	0.53	1.66%	
產毒困難梭狀芽孢桿菌中等陽性	31.98	0.47	1.47%	
027/NAP1/BI 高陰性	32.11	0.65	2.03%	
027/NAP1/BI 低陽性	31.93	0.72	2.26%	
027/NAP1/BI 中等陽性	31.96	0.61	1.90%	
陰性	32.26	0.72	2.22%	

tcdB (毒素B)				
程度	平均	標準偏差	變異係數	
產毒困難梭狀芽孢桿菌高陰性	39.59	0.70	1.77%	
產毒困難梭狀芽孢桿菌低陽性	35.88	0.81	2.24%	
產毒困難梭狀芽孢桿菌中等陽性	32.17	0.45	1.39%	
027/NAP1/BI 高陰性	39.11	0.98	2.50%	
027/NAP1/BI 低陽性	35.49	0.58	1.65%	
027/NAP1/BI 中等陽性	32.10	0.63	1.97%	

另外一組6個樣本，3個陰性和3個產毒困難梭狀芽孢桿菌高度陰性，在5個不同日期由兩個不同的操作者在三個實驗地點執行（6個檢體x2個操作員/天x5天x3個地點）。高陰性樣本的製備濃度低於LoD，因此預計它們會在20到80%的區間內出現陰性結果。在3個測試地點中的每一個處都使用了同一批號本產品。本產品根據本產品測定程序進行。結果總結在表14中。

表14.其他樣本再現性結果總結				
檢體名稱	一致性 ^a %			檢體總一致性%
	地點 1	地點 2	地點 3	
陰性	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
產毒困難梭狀芽孢桿菌高陰性 ^b	60.0% (18/30) ^b	60.0% (18/30) ^b	53.3% (16/30) ^b	57.8% (52/90) ^b

^a X(#陰性結果/總高陰性檢體運行)

^b 高陰性檢體預測達到20-80%的一致性

參考文獻

- Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. Clostridium difficile and the aetiology of pseudomembranous colitis. Lancet 1978;1:1063-1066.
- 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.
- Biguardi GE. Risk factors for Clostridium difficile infection. J Hosp Infect. 1998; 40:1-15.
- Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. Clostridium difficile colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
- 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.
- Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of Clostridium difficile strain VPI 10463. Microb Pathog. 1995;19:203-213.
- 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.
- Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a Clostridium difficile strain. Infect Immun. 1988;56:2299-2306.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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;44:2147-2152.
- Wilkins TD, Lyerly DM. Clostridium difficile testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41:531-534.
- Delmee M. Laboratory diagnosis of Clostridium difficile disease. Clin Microbiol Infect. 2001;7:411-416.
- Poutanen SM, Simor AE. Clostridium difficile-associated diarrhea in adults. CMAJ. 2004;171:51-58.
- 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.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
- Cohen SH, Gerding D, Johnson S, et al. SHEA-IDSA Guideline: Clinical Practice Guidelines for Clostridium difficile Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). Infect Control Hosp Epidemiol 2010;31:431-455.
- 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.

技術支援

在聯繫Cepheid技術支持之前，請收集以下信息：

- 產品名稱</