

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

**REF** GXCDIFFBT-CE-10

Istruzioni per l'uso

CE **IVD**

## **Dichiarazioni relative a marchi di fabbrica, brevetti e copyright**

### **Trademark, Patents and Copyright Statements**

Cepheid<sup>®</sup>, the Cepheid logo, GeneXpert<sup>®</sup>, and Xpert<sup>®</sup> are trademarks of Cepheid, registered in the U.S. and other countries.

All other trademarks are the property of their respective owners.

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

**© 2016-2024 Cepheid.**

See Revision History for a detailed list of changes.

Cepheid<sup>®</sup>, il logo Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup> e Xpert<sup>®</sup> sono marchi di fabbrica di Cepheid, registrati negli USA e in altri Paesi. Tutti gli altri marchi di fabbrica sono di proprietà dei rispettivi titolari.

L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO CONCEDE ALL'ACQUIRENTE IL DIRITTO NON TRASFERIBILE DI USARLO IN ACCORDO ALLE PRESENTI ISTRUZIONI PER L'USO. NESSUN ALTRO DIRITTO VIENE CONCESSO ESPRESSAMENTE, IMPLICITAMENTE O PER PRECLUSIONE. INOLTRE, CON L'ACQUISTO DI QUESTO PRODOTTO NON VIENE CONCESSO ALCUN DIRITTO ALLA RIVENDITA.

**© 2016-2024 Cepheid.**

Per una descrizione delle modifiche apportate, vedere Sezione 25Cronologia delle revisioni.

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

---

Dispositivo medico diagnostico *in vitro*

## 1 Nome registrato

Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

## 2 Nome comune o usuale

Test Xpert C. difficile BT

## 3 Destinazione d'uso

Il test Cepheid Xpert C. difficile BT, eseguito su Cepheid, è un test diagnostico qualitativo *in vitro* previsto per il rilevamento rapido di *C. difficile tcdB* (gene della tossina B), *cdt* (gene della tossina binaria) e della delezione di un nucleotide alla posizione 117 del gene *tcdC*, da campioni fecali informi (liquidi o semi-liquidi) raccolti da pazienti con sospetta infezione da *Clostridium difficile* (CDI). Il test Xpert C. difficile BT è previsto come ausilio nella diagnosi delle CDI e nel rilevamento dei ceppi potenzialmente associati agli stati patologici più gravi. Il test utilizza la reazione a catena della polimerasi (PCR) automatica e in tempo reale per il rilevamento di *tcdB*, di *cdt* e della delezione di *tcdC* alla posizione 117 associati al ceppo ribotipo 027. La tossina binaria viene prodotta da un numero limitato di ceppi di *C. difficile*, incluso il ceppo 027. Il rilevamento della tossina binaria unitamente a *tcdB* è spesso indice della presenza di uno stato patologico più grave o di una recidiva della malattia. Isolati di *C. difficile* negativi per *tcdB* ma contenenti geni della tossina binaria da soli, possono provocare sintomi simili a quelli dei ceppi tossigenici di *C. difficile*; tuttavia, il significato clinico di tali ceppi è tuttora incerto. Una coltura concomitante è necessaria solo laddove sia richiesta un'ulteriore tipizzazione o il recupero degli organismi.

## 4 Riepilogo e spiegazione

*C. difficile* è un bacillo anaerobico Gram-positivo sporulante, che è stato associato per la prima volta a una condizione patologica nel 1978.<sup>1</sup>

Le infezioni da CDI vanno dalla diarrea lieve a coliti pseudomembranose potenzialmente letali.<sup>2</sup> La flora batterica colonica matura negli adulti sani è generalmente resistente alla colonizzazione del *C. difficile*.<sup>3</sup> In caso di alterazioni della normale flora colonica, però, la resistenza alla colonizzazione da parte di altre specie di batteri come ad esempio *C. difficile*, si affievolisce. Il fattore di rischio più comune per la contrazione di CDI è l'esposizione agli antibiotici.<sup>4</sup> Il fattore di virulenza primario di *C. difficile* è la citotossina B.<sup>5</sup> I geni che codificano per la tossina A (*tcdA*, l'enterotossina) e la tossina B (*tcdB*) fanno parte del locus di patogenicità (PaLoc).<sup>6,7</sup> Per la maggior parte, i ceppi patogeni sono ceppi positivi per la tossina A, positivi per la tossina B (A+B+); sono state tuttavia riconosciute come patogene anche varianti isolate negative per la tossina A, positive per la tossina B (A-B+).<sup>8</sup> Alcuni ceppi di *C. difficile* producono anche una ADP-ribosiltransferasi che ha come bersaglio specifico l'actina, detta CDT o tossina binaria. Il locus della tossina binaria contiene due geni separati (*cdtA* e *cdtB*) ed è situato esternamente al PaLoc.<sup>9,10,11</sup>

La diagnosi di CDI è tradizionalmente basata sul rilevamento della tossina B direttamente nelle feci (test di neutralizzazione di citotossicità in colture cellulari [CCCN]) o sulla coltura dell'organismo seguita dalla determinazione della produzione di tossina B da parte dell'isolato (coltura tossigenica). Sia il test CCCN sia la coltura tossigenica sono metodi impegnativi ma sono ancora considerati come metodi di riferimento grazie alla specificità del primo e alla sensibilità del secondo.<sup>12,13</sup> Sono stati sviluppati diversi test immunoenzimatici rapidi per il rilevamento delle tossine A e B; tuttavia, questi test dimostrano,

rispetto al test CCCN, una sensibilità e una specificità ridotte. Sono stati sviluppati metodi PCR per il rilevamento dei geni associati alla produzione di tossina A e/o tossina B caratterizzati da specificità e sensibilità elevate rispetto alla coltura tossigenica.<sup>14</sup>

Oltre alle tossine A e B, la recente letteratura specializzata suggerisce una correlazione tra la produzione di tossina binaria e la gravità e l'esito della malattia. Bauer et al.<sup>15</sup> ha dimostrato la presenza di geni della tossina binaria negli isolati tossigenici nel 23% dei casi europei di CDI. La tossina binaria prodotta dai geni *cdt* è spesso osservata nei ceppi di *C. difficile* associati ai casi di CDI più gravi. La tossina binaria appartiene alla famiglia delle tossine ADP-ribosilanti e consiste di geni *cdtA*, ADP-ribosil transferasi enzimatica che modifica l'actina, e *cdtB*, che si lega alle cellule ospite e trasferisce il prodotto della *cdtA* nel citosol. Svariati studi clinici indicano un'associazione tra la presenza di geni della tossina binaria in *C. difficile* e un aumento della mortalità a 30 giorni secondaria alla CDI indipendentemente dal PCR-ribotipo. Esiste inoltre letteratura specializzata che dimostra che i soggetti affetti da CDI grave, colite fulminante e/o CDI ricorrente sono infettati con maggior frequenza da ribotipi di *C. difficile* portatori dei geni atti alla produzione della tossina binaria (*cdtA/cdtB*) rispetto ai soggetti senza queste complicazioni.<sup>16,17</sup>

Un sottogruppo degli isolati in grado di produrre la tossina binaria presenta mutazioni nel gene regolatore dell'espressione della tossina negativa (*tcdC*), ovvero una delezione in corrispondenza del nucleotide 117 (*tcdC*Δ117) coerente con i ceppi del ribotipo 027. L'infezione causata dai ceppi 027/NAP1/BI può essere associata a tassi di mortalità e morbilità superiori, inclusi ricoveri anche prolungati in unità di terapia intensiva. L'analisi multivariata ha dimostrato una significativa associazione tra la gravità della malattia e la presenza di ribotipi portatori del gene della tossina binaria con o senza la delezione in corrispondenza del nucleotide 117. Negli ultimi anni, si sono verificate focolai epidemici di CDI attribuiti a diversi ceppi "ipervirulenti" emergenti che includono i ceppi resistenti ai fluorochinoloni appartenenti al PCR-ribotipo 027 (noti anche come elettroforesi su gel in campo pulsato tipo NAP1 e analisi di restrizione delle endonucleasi tipo BI).<sup>8,18</sup> Ceppi di 027 possono mostrare un aumento della produzione di tossina, imputabile alle delezioni nel gene regolatore *tcdC* e possono produrre più spore, dando luogo a una maggiore persistenza nell'ambiente.<sup>19,20</sup> Un risultato presunto positivo per 027 può essere utile nell'identificazione dei possibili focolai epidemici di 027.

Infine, ulteriori studi hanno segnalato casi di pazienti con diarrea e sospetta infezione da *C. difficile* dovuta a tossinotipo XI/PCR-ribotipo 033, o ceppi simili allo 033 positivi per la tossina binaria ma negativi per le tossine A e B.<sup>21,22</sup> Il significato clinico di questi ceppi positivi per la tossina binaria e negativi per la tossina B non è tuttora chiaramente definito.

## 5 Principio della procedura

Il consente di automatizzare e integrare la preparazione dei campioni, la purificazione e l'amplificazione degli acidi nucleici e il rilevamento delle sequenze bersaglio in campioni semplici o complessi, utilizzando i test di PCR real time. I sistemi sono costituiti da uno strumento, un personal computer e un software già installato per l'esecuzione dei test sui campioni di analisi e la visualizzazione dei risultati. I sistemi richiedono l'uso di cartucce GeneXpert monouso contenenti i reagenti per la PCR e all'interno delle quali hanno luogo i processi di estrazione del DNA, amplificazione e rilevamento degli ampliconi. Grazie alle cartucce isolate ermeticamente nel contenuto, il rischio di contaminazione crociata tra i campioni è ridotto al minimo. Per una descrizione completa del sistema, consultare l'appropriato *GeneXpert Dx System Operator Manual* e/o *GeneXpert Infinity System Operator Manual*.

Il saggio Xpert *C. difficile* BT include i reagenti per il rilevamento del *C. difficile* in grado di produrre tossine oltre a un controllo per il trattamento dei campioni (SPC). L'SPC indica l'adeguato trattamento dei batteri bersaglio e monitora la presenza di sostanze inibitrici nella reazione PCR. Il controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC) verifica la reidratazione dei reagenti, il riempimento della provetta PCR nella cartuccia, l'integrità della sonda e la stabilità del colorante.

I primer e le sonde del test Xpert *C. difficile* BT rilevano sequenze geniche per la tossina B (*tcdB*), la tossina binaria (*cdt*) e per *tcdC*Δ117.

## 6 Reagenti e strumenti

### 6.1 Materiali in dotazione

Il kit Xpert *C. difficile* BT contiene reagenti sufficienti per il trattamento di 10 campioni di analisi o campioni di controllo qualità.

Il contenuto del kit è il seguente:

**Xpert C. difficile BT Cartucce con provette di reazione integrate**

- |  |  |
|--|--|
| • Microsfera 1, microsfera 2 e microsfera 3 (liofilizzate) | <b>10</b><br>1 di ciascuno per cartuccia |
| • Reagente 1   | 3,0 ml per cartuccia                     |
| • Reagente 2 (idrossido di sodio)                          | 3,0 ml per cartuccia                     |

**Sacche di reagente Xpert C. difficile BT**

- |   |                                    |
|---|------------------------------------|
| • Reagente per il campione (guanidina tiocianato) | <b>10</b><br>10 x 2,0 ml per sacca |
|---|------------------------------------|

**CD****1 per kit**

- File di definizione del saggio (ADF)
- Istruzioni per l'importazione di ADF nel software
- Istruzioni per l'uso (foglietto illustrativo)

**Nota** Le schede dati di sicurezza (SDS) sono disponibili nel sito [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) o [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) sotto la scheda **SUPPORTO (SUPPORT)**.

**Nota** Lo stabilizzatore proteico presente nelle microsfele di questo prodotto è stato ricavato esclusivamente da plasma bovino di origine statunitense. Gli animali non sono stati nutriti con proteine di ruminanti o altre proteine animali; gli animali hanno superato i test ante e post mortem. Durante la lavorazione, il materiale non è stato miscelato con altro materiale animale.

## 6.2 Conservazione e manipolazione

- Conservare il kit Xpert C. difficile BT a 2–28 °C.
- Non utilizzare il reagente per il campione o le cartucce dopo la data di scadenza.
- Aprire il coperchio della cartuccia solo immediatamente prima di eseguire il test.
- Non utilizzare il reagente per il campione se appare torbido o scolorito.
- Non utilizzare cartucce che presentano perdite.

## 6.3 Materiali necessari ma non forniti

- o (il numero di catalogo varia a seconda della configurazione): strumento GeneXpert, computer con software proprietario GeneXpert versione 4.3 o successiva, lettore di codici a barre e manuale dell'operatore.
- Stampante: Se è necessaria una stampante, rivolgersi al rappresentante commerciale di Cepheid per predisporre l'acquisto di una stampante consigliata.
- Miscelatore vortex
- Pipette di trasferimento monouso pulite
- Tampone secco per il trasferimento dei campioni di analisi, come il tampone presente in Cepheid Sample Collection Device (numero di catalogo Cepheid: 900-0370), Cepheid Single-Use Disposable Swab (numero di catalogo Cepheid: SDPS-120) oppure Copan Dual Swab and Transport Systems (139C LQ STUART).

## 7 Avvertenze e precauzioni

- Tutti i campioni biologici di analisi, comprese le cartucce e i reagenti usati, devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi. Poiché, nella maggior parte dei casi, è impossibile distinguere i potenziali veicoli di infezione, tutti i campioni biologici di analisi devono essere trattati attenendosi alle precauzioni standard. Le linee guida per il trattamento dei campioni di analisi sono disponibili presso l'ente statunitense per la prevenzione e il controllo delle malattie (U.S. Centers for Disease Control and Prevention) e l'istituto per gli standard clinici e di laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute).<sup>23,24</sup>
- Durante il trattamento di sostanze chimiche e la manipolazione di campioni biologici, rispettare le procedure di sicurezza previste dalla struttura sanitaria di appartenenza.
- Indossare camice da laboratorio e guanti puliti. Cambiare i guanti quando si passa da un campione all'altro durante il trattamento dei campioni.
- Non sostituire i reagenti del test Xpert C. difficile BT con altri reagenti.

- Non aprire il coperchio della cartuccia Xpert C. difficile BT se non per l'aggiunta di campioni e reagenti o per l'estrazione del campione dalla cartuccia originale a scopo di ripetizione del test con una cartuccia nuova.
- Non utilizzare una cartuccia che sia caduta dopo essere stata estratta dalla confezione.
- Non agitare la cartuccia. Se la cartuccia viene agitata o cade dopo l'apertura del coperchio, si possono ottenere risultati non validi.
- Non utilizzare una cartuccia la cui provetta di reazione è danneggiata.
- Non applicare l'etichetta dell'ID campione (Sample ID) sul coperchio della cartuccia o sull'etichetta del codice a barre.
- Ciascuna cartuccia Xpert C. difficile BT monouso serve per l'esecuzione di un singolo test. Non riutilizzare le cartucce usate.
- I campioni biologici di analisi, i dispositivi di trasferimento e le cartucce usate devono essere trattati come potenziali veicoli di agenti infettivi adottando le precauzioni standard. Attenersi alle procedure di smaltimento dei rifiuti ambientali del proprio istituto per il corretto smaltimento delle cartucce usate e dei reagenti non utilizzati. Questi materiali potrebbero essere considerati rifiuti chimici pericolosi per il cui smaltimento sarà necessario attenersi a specifiche procedure nazionali o regionali. Se i regolamenti nazionali o regionali non forniscono istruzioni chiare sul corretto smaltimento, i campioni biologici di analisi e le cartucce usate devono essere smaltiti in base alle linee guida dell'OMS (Organizzazione Mondiale della Sanità) sulla manipolazione e lo smaltimento dei rifiuti medici.
- Nel caso in cui l'area di lavoro o le apparecchiature vengano contaminate dai campioni o dai controlli, pulire a fondo le superfici interessate con una soluzione in rapporto 1:10 di candeggina per uso domestico; ripetere quindi la pulizia con una soluzione di etanolo al 70%. Asciugare completamente le superfici di lavoro prima di continuare.

## 8 Pericoli chimici<sup>25,26</sup>

- Parola: ATTENZIONE
- **Indicazioni di pericolo UN GHS:**
  - Nocivo se ingerito.
  - Provoca irritazione cutanea.
  - Provoca grave irritazione oculare.
- **Frase di prudenza UN GHS:**
  - **Prevenzione**
    - Lavare accuratamente dopo l'uso.
    - Non mangiare, né bere, né fumare durante l'uso.
    - Non disperdere nell'ambiente.
    - Indossare guanti/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/il viso.
  - **Risposta**
    - IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE: lavare abbondantemente con acqua e sapone.
    - Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente.
    - Trattamento specifico (vedere le informazioni supplementari di pronto soccorso).
    - In caso di irritazione della pelle: consultare un medico.
    - IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare.
    - Se l'irritazione degli occhi persiste: consultare un medico.
    - IN CASO DI INGESTIONE: in caso di malessere, contattare un CENTRO ANTIVELENI o un medico immediatamente.
    - Sciacquare la bocca.
- **Stoccaggio/Smaltimento**
  - Smaltire il prodotto e/o il recipiente in conformità con le normative locali, regionali, nazionali e/o le normative internazionali.

## 9 Prelievo, trasporto e conservazione dei campioni di analisi

1. Raccogliere il campione di feci informi in un contenitore pulito. Attenersi alle linee guida del proprio presidio per la raccolta dei campioni per il test del C. difficile.

2. Etichettare il contenitore con l'ID paziente (Patient ID) e inviarlo al laboratorio per l'analisi.
3. I campioni di analisi possono essere conservati alla temperatura di 2–8 °C. Quando conservati a questa temperatura, i campioni di analisi rimangono stabili per un massimo di 5 giorni. In alternativa, i campioni di analisi possono essere conservati a temperatura ambiente (20–30 °C) per un massimo di 24 ore.

## 10 Procedura

### 10.1 Preparazione della cartuccia

**Importante** Iniziare il test entro 30 minuti dall'introduzione del campione nella cartuccia.

Per inserire il campione nella cartuccia, procedere nel modo seguente:

1. Estrarre la cartuccia e il reagente per il campione dalla confezione.
2. Immergere per qualche istante un tampone nel campione di materia fecale informe. Non è necessario che il tampone sia completamente saturo.
3. Inserire il tampone nella provetta contenente il reagente per il campione.

**Nota** Usare una garza sterile per ridurre al minimo il rischio di contaminazione.

4. Tenere il tampone dallo stelo vicino al bordo della provetta, sollevare il tampone di alcuni millimetri dal fondo della provetta, quindi spezzare lo stelo spingendolo contro il bordo della provetta. Accertarsi che il tampone sia sufficientemente corto da consentire di chiudere bene il tappo.
5. Chiudere il coperchio e miscelare in vortex ad alta velocità per 10 secondi.
6. Aprire il coperchio della cartuccia. Usando una pipetta di trasferimento pulita, trasferire l'intero contenuto del reagente per il campione nella camera del campione della cartuccia.
7. Chiudere il coperchio della cartuccia.



Figura 1. Cartuccia (vista dall'alto)

### 10.2 Avvio del test

**Importante** Se si sta utilizzando un sistema GeneXpert Dx, prima di iniziare il test verificare che il sistema stia eseguendo il software GeneXpert Dx versione 4.7b o superiore e che nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

**Importante** Se si sta utilizzando un sistema GeneXpert Infinity, prima di iniziare il test verificare che il sistema stia eseguendo il software Xpertise versione 6.4b o superiore e che nel software sia stato importato il file di definizione del saggio corretto.

In questa sezione sono elencati i passaggi principali di esecuzione del test. Per istruzioni dettagliate, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello utilizzato.

**Nota** I passaggi da seguire possono variare se l'amministratore del sistema modifica il flusso di lavoro predefinito del sistema.

1. Accendere lo strumento GeneXpert.
  - Se si utilizza lo *strumento GeneXpert Dx*, accendere prima lo strumento e poi il computer. Il software GeneXpert si avvia automaticamente. Se ciò non dovesse accadere, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software GeneXpert Dx sul desktop di Windows®.
  - oppure
  - Se si utilizza lo *strumento GeneXpert Infinity*, accenderlo. Il software Xpertise si avvia automaticamente. Se non si avvia, fare doppio clic sull'icona del collegamento del software Xpertise sul desktop di Windows®.
2. Connettersi al software del sistema di strumentazione GeneXpert usando il proprio nome utente e la password.
3. Nella finestra del **sistema GeneXpert**, fare clic su **Crea analisi (Create Test)** (GeneXpert Dx) o **Ordini (Orders)** e **Ordina analisi (Order Test)** (Infinity). Viene visualizzata la finestra **Crea analisi (Create Test)**. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID paziente (Scan Patient ID Barcode)**.
4. Eseguire la scansione dell'ID paziente (Patient ID) o digitarlo. Se l'ID paziente (Patient ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID paziente (Patient ID) è associato ai risultati del test e viene visualizzato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e in tutti i rapporti. Verrà visualizzata la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre dell'ID campione (Scan Sample ID Barcode)**.
5. Inserire l'ID campione (Sample ID) tramite scansione o manualmente. Se l'ID campione (Sample ID) viene digitato, assicurarsi che sia digitato correttamente. L'ID del campione sarà associato ai risultati del test e riportato nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** e su tutti i rapporti. Si aprirà la finestra di dialogo **Esegui scansione del codice a barre della cartuccia (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia. Utilizzando le informazioni contenute nel codice a barre, il software compila automaticamente le caselle relative ai seguenti campi: Seleziona saggio (Select Assay), ID lotto reagente (Reagent Lot ID), N/S cartuccia (Cartridge S/N) e Data di scadenza (Expiration Date).

**Nota** Se non si riesce a eseguire la scansione del codice a barre della cartuccia, ripetere il test con una cartuccia nuova. Se è stata eseguita la scansione del codice a barre della cartuccia nel software e il file di definizione del saggio non è disponibile, apparirà una schermata in cui si indica che il file di definizione del saggio non è stato caricato nel sistema. Se compare tale schermata, contattare il Supporto Tecnico di Cepheid.

7. Fare clic su **Avvia analisi (Start Test)** (GeneXpert Dx) o **Inoltra (Submit)** (Infinity). Se richiesto, digitare la propria password nella finestra di dialogo visualizzata.
8. Per il *sistema GeneXpert Infinity*, posizionare la cartuccia sul nastro trasportatore. La cartuccia viene caricata automaticamente, il test viene eseguito e la cartuccia usata viene quindi collocata nel contenitore dei rifiuti.

oppure

Per lo *strumento GeneXpert Dx*:

- a) Aprire lo sportello del modulo dello strumento con la spia verde lampeggiante e caricare la cartuccia.
- b) Chiudere lo sportello. Il test viene avviato e la spia verde smette di lampeggiare. Al termine del test, la spia si spegne.
- c) Attendere che il sistema abbia sbloccato lo sportello del modulo prima di aprirlo. Quindi rimuovere la cartuccia.
- d) Smaltire le cartucce usate negli appositi contenitori dei rifiuti di campioni di analisi attenendosi alla prassi standard del proprio presidio.

## 11 Visualizzazione e stampa dei risultati

In questa sezione sono elencati i passaggi principali per la visualizzazione e la stampa dei risultati. Per istruzioni più dettagliate su come visualizzare e stampare i risultati, consultare il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Dx* o il *Manuale dell'operatore del sistema GeneXpert Infinity*, a seconda del modello utilizzato.

1. Per visualizzare i risultati, fare clic sull'icona **Visualizza risultati (View Results)**.
2. Una volta completato il test, fare clic sul pulsante **Rapporto (Report)** nella finestra **Visualizza risultati (View Results)** per visualizzare e/o generare un file di rapporto in formato PDF.

## 12 Controllo qualità

Ciascun test comprende un controllo per il trattamento dei campioni (Sample Processing Control, SPC) e un controllo per la verifica della sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Controllo per il trattamento dei campioni (SPC):** Assicura che il campione sia stato analizzato correttamente. Il controllo SPC contiene spore di *Bacillus globigii* sotto forma di microsferi essiccate, presenti in ogni cartuccia per verificare il corretto trattamento del campione. Il controllo SPC accerta l'avvenuta lisi dei batteri del *C. difficile* e di una spora, qualora gli organismi siano presenti, e verifica che il trattamento dei campioni di analisi sia adeguato. Questo controllo rileva inoltre l'inibizione del test di PCR in tempo reale associata al campione, garantisce che le condizioni di reazione della PCR (temperatura e durata) siano adeguate alla reazione di amplificazione e che i reagenti PCR siano funzionali. L'SPC deve essere positivo in un campione negativo e può essere negativo o positivo in un campione positivo. L'SPC si considera superato se soddisfa i criteri di accettazione convalidati.
- **Controllo per la verifica della sonda (PCC):** prima che inizi la reazione di PCR, il sistema GeneXpert misura il segnale di fluorescenza emesso dalle sonde, allo scopo di monitorare la reidratazione delle microsferi, il riempimento delle provette di reazione, l'integrità delle sonde e la stabilità dei coloranti. La verifica della sonda si considera riuscita qualora siano soddisfatti i criteri di accettazione assegnati.

## 13 Interpretazione dei risultati

I risultati vengono interpretati dal a partire dai segnali fluorescenti misurati e dagli algoritmi di calcolo incorporati e vengono visualizzati nella finestra **Visualizza risultati (View Results)**. I risultati possibili sono riportati nella tabella seguente.

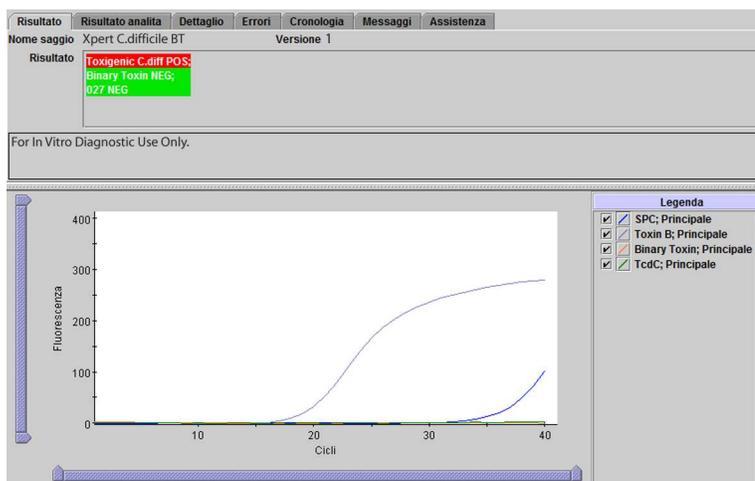
**Tabella 1. Risultati di Xpert C. difficile BT e interpretazione**

Risultato	Interpretazione
<p><b>POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), NEG per tossina binaria (Binary Toxin NEG), NEG per 027 (027 NEG)</b></p> <p>Vedere la Figura 2.</p>	<p>Sono state rilevate sequenze di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> tossigenico.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>C. difficile</i> tossigenico — il bersaglio di <i>C. difficile</i> tossigenico (gene della tossina B) ha un Ct entro il range di validità e un endpoint superiore al valore minimo.</li> <li>• Il gene della tossina binaria e la delezione <i>tcdC</i> in corrispondenza del nucleotide 117 non vengono rilevati.</li> <li>• SPC — NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del bersaglio per <i>C. difficile</i> può competere con questo controllo</li> <li>• Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<p><b>POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)</b></p> <p>Vedere la Figura 3.</p>	<p>Sono state rilevate sequenze di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> tossigenico.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• I bersagli di <i>C. difficile</i> tossigenico (gene della tossina B e gene della tossina binaria) hanno entrambi Ct entro il range di validità ed endpoint superiori al valore minimo; la delezione <i>tcdC</i> in corrispondenza del nucleotide 117 non viene rilevata.</li> <li>• SPC — NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del bersaglio di <i>C. difficile</i> può competere con questo controllo.</li> <li>• Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<p><b>POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), PRESUNTO POS per 027 (027 PRESUMPTIVE POS)</b></p> <p>Vedere la Figura 4.</p>	<p>Sono state rilevate sequenze di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> tossigenico e sequenze presunte di 027.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>C. difficile</i> tossigenico, bersagli presunti di 027 (tossina B, tossina binaria e delezione <i>tcdC</i> in corrispondenza del nucleotide 117) hanno tutti Ct entro il range di validità ed endpoint superiori al valore minimo.</li> <li>• SPC — NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del bersaglio di <i>C. difficile</i> può competere con questo controllo.</li> <li>• Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>

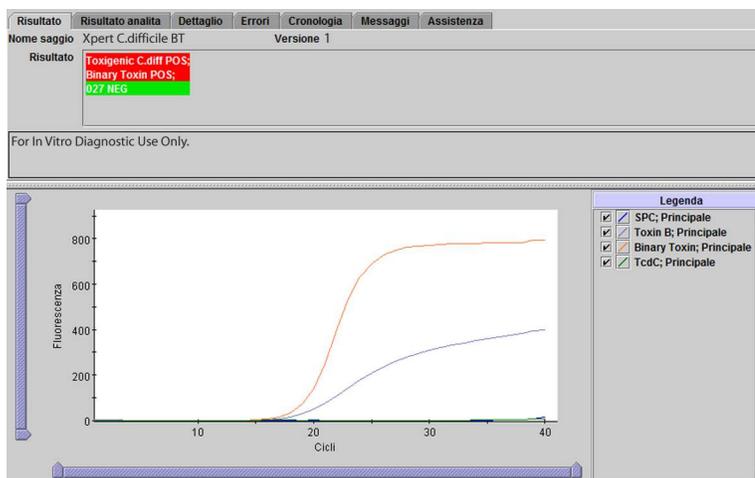
Risultato	Interpretazione
<p><b>NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)</b></p> <p>Vedere la Figura 5.</p>	<p><i>Non sono state rilevate sequenze del gene della tossina B di C. difficile;</i> tuttavia, è stato rilevato un altro DNA bersaglio (gene della tossina binaria), con un Ct entro il range di validità e un endpoint superiore al valore minimo. Il significato clinico degli isolati positivi solo per la tossina binaria non è ancora stato determinato.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● SPC — NA (non applicabile); l'SPC viene ignorato poiché l'amplificazione del bersaglio di <i>C. difficile</i> può competere con questo controllo.</li> <li>● Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<p><b>NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), NEG per tossina binaria (Binary Toxin NEG), NEG per 027 (027 NEG)</b></p> <p>Vedere la Figura 6.</p>	<p><i>Non sono state rilevate sequenze di DNA bersaglio di C. difficile (gene della tossina B, gene della tossina binaria).</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Non sono state rilevate sequenze di geni di <i>C. difficile</i> tossigenico (gene della tossina B e gene della tossina binaria); non sono stati rilevati altri DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> tossigenico (delezione <i>tcdC</i> in corrispondenza del nucleotide 117).</li> <li>● SPC — AMMESSO (PASS); il controllo SPC presenta un Ct entro il range di validità e un endpoint al di sopra del valore minimo.</li> <li>● Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<p><b>NON VALIDO (INVALID)</b></p> <p>Vedere la Figura 7.</p>	<p>La presenza o l'assenza di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 15. L'SPC non soddisfa i criteri di accettazione, il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● NON VALIDO (INVALID) — La presenza o l'assenza di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> non può essere determinata.</li> <li>● SPC — NON RIUSCITO (SPC — FAIL); il risultato del bersaglio SPC è negativo, il Ct per SPC non rientra nel range di validità e l'endpoint è inferiore al valore minimo.</li> <li>● Verifica della sonda — AMMESSO (PASS). Tutti i risultati della verifica della sonda sono validi.</li> </ul>
<p><b>ERRORE (ERROR)</b></p>	<p>La presenza o l'assenza di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 15. Il controllo per la verifica della sonda non ha funzionato, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda o del superamento dei limiti massimi di pressione.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Tossina B — NESSUN RISULTATO (Toxin B — NO RESULT)</li> <li>● Tossina binaria — NESSUN RISULTATO (Binary Toxin — NO RESULT)</li> <li>● <i>Delezione tcdC</i> al nucleotide 117 — NESSUN RISULTATO (<i>tcdC</i> deletion at nt 117 — NO RESULT)</li> <li>● *SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>● Verifica della sonda — NON RIUSCITO* (Probe Check — FAIL): uno o tutti i risultati della verifica della sonda non sono validi.</li> </ul> <p>* Se la verifica della sonda ha avuto esito positivo, l'errore è dovuto a un guasto di un componente del sistema.</p>

Risultato	Interpretazione
<b>NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</b>	<p>La presenza o l'assenza di DNA bersaglio di <i>C. difficile</i> non può essere determinata. Ripetere il test secondo le istruzioni riportate nella Sezione 15. La quantità di dati raccolta non è sufficiente per generare i risultati del test (l'operatore, per esempio, ha interrotto l'esecuzione di un test).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Tossina B (<i>tcdB</i>) — NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• Tossina binaria (<i>cdt</i>) — NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• <i>tcdC</i>Δ117 — NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• SPC — NESSUN RISULTATO (NO RESULT)</li> <li>• Verifica della sonda — NA (NON APPLICABILE)</li> </ul>

**Nota** Le schermate mostrate nella presente sezione (Figura 2, Figura 3, Figura 4, Figura 5, Figura 6 e Figura 7) sono tratte da uno dotato di software .



**Figura 2. Esempio di risultati Positivo per *C. difficile* tossigenico (Toxigenic C. diff Positive), Negativo per tossina binaria (Binary Toxin Negative) e Negativo per 027 (027 Negative)**



**Figura 3. Esempio di risultati Positivo per *C. difficile* tossigenico (Toxigenic C. diff Positive), Positivo per tossina binaria (Binary Toxin Positive) e Negativo per 027 (027 Negative)**

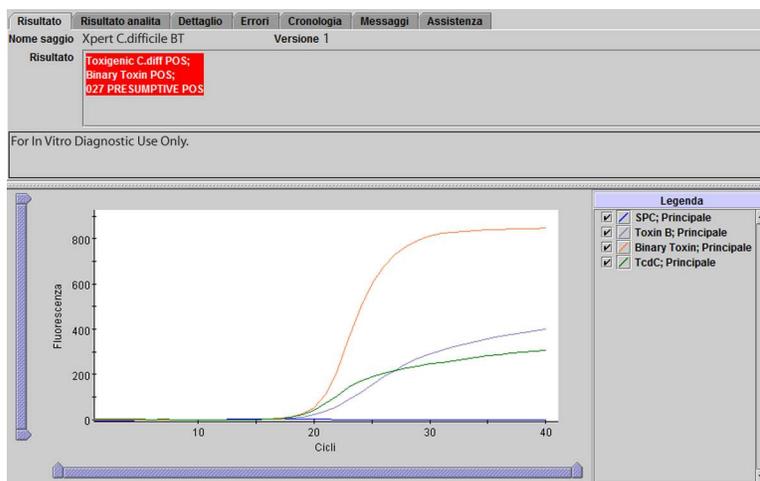


Figura 4. Esempio di risultati Positivo per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff Positive), Positivo per tossina binaria (Binary Toxin Positive) e Presunto positivo per 027 (027 Presumptive Positive)

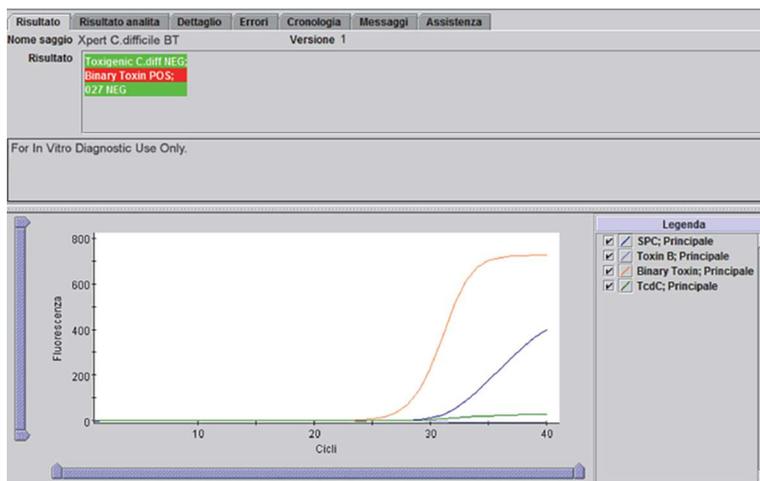


Figura 5. Esempio di risultati Negativo per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff Negative), Positivo per tossina binaria (Binary Toxin Positive) e Negativo per 027 (027 Negative)

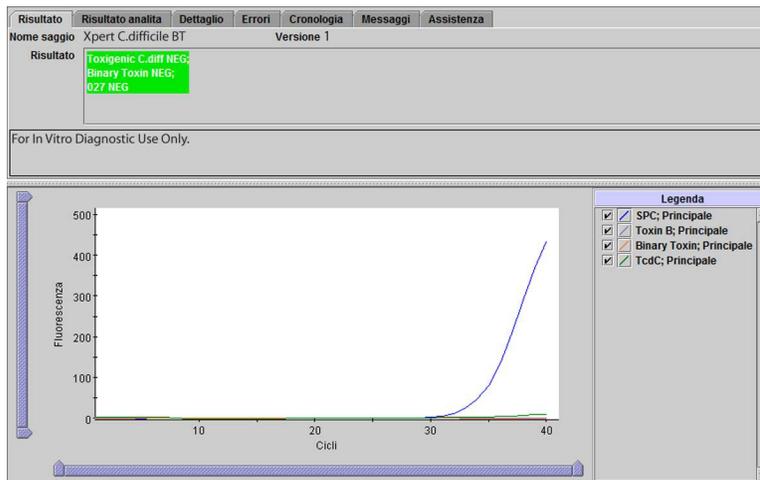


Figura 6. Esempio di risultati Negativo per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff Negative), Negativo per tossina binaria (Binary Toxin Negative) e Negativo per 027 (027 Negative)

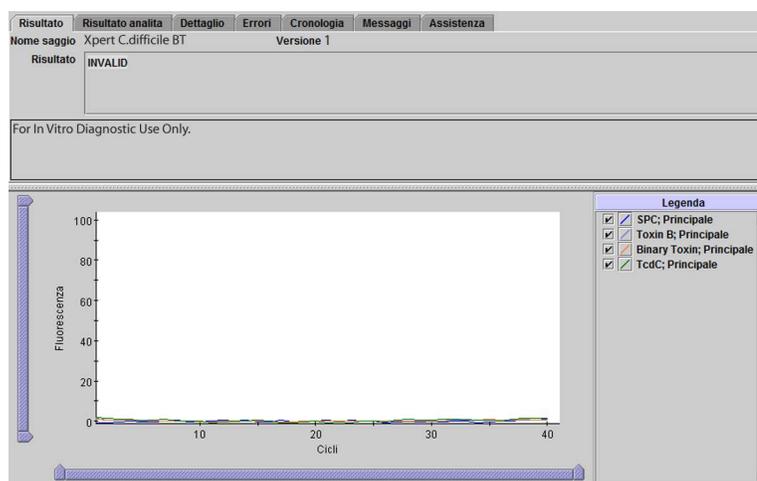


Figura 7. Esempio di risultato non valido

## 14 Motivi per ripetere il test

Se si ottiene uno dei risultati descritti qui di seguito, ripetere il test attenendosi alle istruzioni riportate nella Sezione 15.

- Un risultato **NON VALIDO (INVALID)** indica che l'SPC non è stato superato. Il campione non è stato trattato correttamente o la PCR è stata inibita.
- Il risultato **ERRORE (ERROR)** indica che il controllo per la verifica della sonda può non aver funzionato e che il test è stato interrotto, probabilmente a causa del riempimento inadeguato della provetta di reazione, dell'individuazione di un problema a livello di integrità della sonda del reagente, del superamento dei limiti massimi di pressione o dell'individuazione di un errore di posizionamento della valvola.
- **NESSUN RISULTATO (NO RESULT)** indica che i dati raccolti sono insufficienti. Ad esempio, l'operatore ha interrotto un test in corso.

## 15 Procedura di ripetizione del test

Per la ripetizione del test entro 3 ore da un risultato indeterminato, usare una nuova cartuccia (non riutilizzare le cartucce) e nuovi reagenti.

1. Estrarre la nuova cartuccia dal kit.
2. Trasferire tutto il contenuto rimanente dalla camera del campione in un nuovo flaconcino di reagente per il campione, usando una pipetta di trasferimento monouso.
3. Miscelare in vortex e aggiungere l'intero contenuto del reagente per il campione alla camera del campione della nuova cartuccia Xpert C. difficile.
4. Chiudere il coperchio e iniziare il nuovo test.

Per la ripetizione del test a 3 ore da un risultato indeterminato, utilizzare un nuovo campione prelevato mediante tampone dal campione di analisi originale del paziente.

## 16 Limitazioni

- Gli isolati non 027 rappresentativi del tossinotipo XIV verranno segnalati come **POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS); POS per tossina binaria (Binary Toxin POS); PRESUNTO POS per 027 (027 PRESUMPTIVE POS)** usando il test Xpert C. difficile BT.
- Risultati segnalati come **NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG); POS per tossina binaria (Binary Toxin POS); PRESUNTO NEG per 027 (027 PRESUMPTIVE NEG)** usando Xpert C. difficile BT possono contenere il gene della tossina B e/o la delezione *tcdC* a valori inferiori al limite di rilevamento (LoD) del test.
- Occasionalmente, gli isolati non 027 rappresentativi dei tossinotipi IV, V e X verranno segnalati come **POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS); POS per tossina binaria (Binary Toxin POS); PRESUNTO POS per 027 (027 PRESUMPTIVE POS)** usando il test Xpert C. difficile BT.

- Le prestazioni del test Xpert C. difficile BT sono state convalidate solo tramite le procedure fornite nel presente foglietto illustrativo. Qualsiasi modifica apportata a queste procedure può alterare le prestazioni del test.
- I risultati del test Xpert C. difficile BT devono essere interpretati in concomitanza con altri dati di laboratorio o clinici a disposizione del medico.
- Si possono ottenere risultati del test erronei come conseguenza di una raccolta dei campioni di analisi inadeguata, della mancata osservanza delle procedure consigliate per la raccolta, la manipolazione e la conservazione dei campioni, di errori tecnici, di commistione dei campioni o a causa di una presenza di microrganismi nel campione di analisi troppo esigua per essere rilevata dal test. La rigorosa osservanza delle istruzioni del presente foglietto illustrativo è necessaria per evitare risultati erronei.
- Data l'associazione del fattore di diluizione alla procedura di ripetizione del test, è possibile che i campioni positivi per C. difficile prossimi o equivalenti al limite di rilevamento (LoD) del test Xpert C. difficile BT diano risultati falsi negativi in occasione della ripetizione del test.
- Con le seguenti sostanze è stata osservata inibizione del test Xpert C. difficile BT: Pasta di ossido di zinco e crema Vagisil®.
- Epidemie di CDI possono essere causate da ceppi diversi da 027.
- Sono possibili risultati falsi negativi quando l'organismo infettante presenta mutazioni, inserimenti, delezioni o ridistribuzioni genetiche oppure quando il test viene effettuato in una fase troppo precoce della malattia.
- Risultati positivi ottenuti da pazienti immunocompromessi possono indicare che i soggetti siano portatori asintomatici di C. difficile.
- Il rilevamento dell'acido nucleico di C. difficile nelle feci conferma la presenza degli organismi nei pazienti affetti da diarrea ma può non indicare C. difficile come la causa della diarrea.
- Le caratteristiche prestazionali del test non sono state definite per pazienti di età <2 anni.
- Mutazioni o polimorfismi nelle regioni che si legano ai primer o alle sonde possono compromettere il rilevamento dei tipi di C. difficile bersaglio e generare di conseguenza un risultato falso negativo.

## 17 Valori attesi

Nello studio clinico sul test Xpert C. difficile BT è stato incluso un totale di 2.293 campioni fecali informi provenienti da 7 diversi centri situati in territorio statunitense e canadese. Il numero e la percentuale di casi positivi per C. difficile tossigenico per coltura, calcolati per fasce di età e sesso, sono riportati nelle tabelle sotto.

**Tabella 2. Prevalenza osservata di C. difficile tossigenico per fasce di età<sup>a</sup>**

Fascia di età	N	Prevalenza di C. difficile tossigenico (include 027)	Prevalenza di tossina binaria	027 Prevalenza di
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)
<b>Totale</b>	<b>2293</b>	<b>18,8% (430/2293)</b>	<b>7,2% (165/2293)</b>	<b>5,5% (125/2293)</b>

<sup>a</sup> Prevalenza basata sui risultati Xpert.

Tabella 3. Prevalenza osservata di *C. difficile* tossigenico per sesso<sup>a</sup>

Sesso	N	Prevalenza di <i>C. difficile</i> tossigenico (include 027)	Prevalenza di tossina binaria	027 Prevalenza di
Maschile	1072	18,2% (195/1072)	6,3% (68/1072)	5,0% (54/1072)
Femminile	1221	19,2% (235/1221)	7,9% (97/1221)	5,8% (71/1221)
<b>Totale</b>	<b>2293</b>	<b>18,8% (430/2293)</b>	<b>7,2% (165/2293)</b>	<b>5,5% (125/2293)</b>

<sup>a</sup> Prevalenza basata sui risultati Xpert.

## 18 Caratteristiche prestazionali

### 18.1 Prestazioni cliniche

Le caratteristiche prestazionali del test Xpert *C. difficile* BT sono state determinate nel corso di uno studio analitico prospettico multi-centrico, articolato su sette centri statunitensi e canadesi, confrontando il test Xpert *C. difficile* BT con la coltura di riferimento, seguita da test CCCN degli isolati e da tipizzazione dei ceppi tossigenici mediante PCR-ribotipizzazione.

Tra i soggetti sono stati inclusi individui per i quali era previsto come trattamento di routine il test per *C. difficile*. Una parte di ciascun campione fecale informe è stata ottenuta per l'analisi con il test Xpert *C. difficile* BT. I campioni di analisi residui sono stati inviati al laboratorio centrale per essere testati con la coltura di riferimento e la citotossina B. Ogni campione fecale è stato inoculato su una piastra di cicloserina-cefoxitina-fruttosio-agar diretta (CCFA-D) pre-ridotta e brodo di mannitolo-cefoxitina-cicloserina con cisteina-lisozima-taurocolato (CCMB-TAL). Dopo 24 ore, il CCMB-TAL è stato sottocolturato su una seconda piastra CCFA-E (CCFA-arricchita). Il metodo di arricchimento diretto della coltura verrà definito in seguito "coltura di riferimento".

Se il *C. difficile* è stato isolato dalla piastra CCFA-D e l'isolato è risultato positivo al test CCCN, il campione di analisi è stato classificato come "Positivo per *C. difficile* tossigenico (toxigenic *C. difficile* positive)" e la piastra CCFA-E non è stata sottoposta a ulteriore analisi. Se dalla piastra CCFA-D non è stato isolato il *C. difficile* o se l'isolato è risultato negativo al test CCCN, la piastra CCFA-E è stata sottoposta a ulteriori analisi.

Se la piastra CCFA-E è risultata positiva per il *C. difficile* e l'isolato è risultato positivo al test CCCN, il campione di analisi è stato classificato come "Positivo per *C. difficile* tossigenico (toxigenic *C. difficile* positive)". Il campione di analisi è stato segnalato come "negativo" se la piastra CCFA-E è risultata negativa per il *C. difficile* o se l'isolato è stato segnalato come negativo dal test CCCN.

Dopo il test della coltura di riferimento, gli isolati positivi per *C. difficile* tossigenico sono stati inviati a un secondo gruppo di laboratori di riferimento per l'identificazione dei ceppi mediante PCR-ribotipizzazione.

Le prestazioni del test Xpert *C. difficile* BT sono state calcolate in relazione ai risultati della coltura diretta e della coltura di riferimento, entrambe con tipizzazione dei ceppi.

### 18.2 Risultati complessivi

Un totale di 2293 campioni è stato testato con il test Xpert *C. difficile* BT, la coltura e la tipizzazione dei ceppi.

#### 18.2.1 Confronto di prestazioni tra risultati del saggio e della coltura diretta

Rispetto alla coltura diretta con PCR-ribotipizzazione, il test Xpert *C. difficile* BT ha dimostrato una sensibilità e una specificità per il *C. difficile* tossigenico, rispettivamente, del 98,78% e del 90,86%. Il test Xpert *C. difficile* BT ha inoltre dimostrato una concordanza positiva del 100% e una concordanza negativa del 97,70% per 027 (vedere la tabella sotto).

**Tabella 4. Xpert C. difficile BT Confronto tra prestazioni del test e coltura diretta con PCR-ribotipizzazione**

Coltura diretta con PCR-ribotipizzazione					
		Tossina B+ 027+	Tossina B+ 027-	NEG	Totale
<b>Xpert C. difficile BT<sup>b</sup></b>	<b>Tossina B+ 027+</b>	74	4	47	125
	<b>Tossina B+ 027-</b>	0	164	140	304 <sup>a</sup>
	<b>NEG</b>	0	3	1860	1863
	<b>Totale</b>	74	171	2047	2292 <sup>a</sup>
		<b>C. difficile tossigenico</b>		<b>C. difficile tossigenico / 027</b>	
		Sensibilità: 98,78% (242/245) Specificità: 90,86% (1860/2047) Accuratezza: 91,71% (2102/2292) PPV <sup>c</sup> : 56,41% (242/429) NPV <sup>d</sup> : 99,84% (1860/1863)		Concordanza pos.: 100% (74/74) Concordanza neg.: 97,70% (2167/2218) Accuratezza: 97,77% (2241/2292) PPV: 59,20% (74/125) NPV: 100% (2218/2218)	

a. Un isolato non ha potuto essere tipizzato a causa di contaminazione; il campione di analisi in questione non è stato incluso nelle statistiche prestazionali.

b. I risultati del saggio Xpert mostrati si riferiscono al primo o al secondo tentativo. Il 3,2% circa dei campioni di analisi è risultato indeterminato al primo tentativo.

c. Valore predittivo positivo

d. Valore predittivo negativo

### 18.2.2 Confronto tra prestazioni del saggio e coltura di riferimento

Rispetto alla coltura di riferimento con PCR-ribotipizzazione, il test Xpert C. difficile BT ha dimostrato una sensibilità e una specificità per il C. difficile tossigenico, rispettivamente, del 93,39% e del 94,02%. Il test Xpert C. difficile BT ha inoltre dimostrato una concordanza positiva del 98,89% e una concordanza negativa del 98,36% per 027 (vedere Tabella 5).

**Tabella 5. Confronto tra prestazioni del test Xpert C. difficile BT e coltura di riferimento con PCR-ribotipizzazione**

Coltura di riferimento con PCR-ribotipizzazione					
		Tossina B+ 027+	Tossina B+ 027-	NEG	Totale
<b>Xpert C. difficile BT<sup>b</sup></b>	<b>Tossina B+ 027+</b>	89	5	31	125
	<b>Tossina B+ 027-</b>	0	217	86	303 <sup>a</sup>
	<b>NEG</b>	1	21	1841	1863
	<b>Totale</b>	90	243	1958	2291 <sup>a</sup>
		<b>C. difficile tossigenico</b>		<b>C. difficile tossigenico / 027</b>	

	Sensibilità: 93,39% (311/333) Specificità: 94,02% (1841/1958) Accuratezza: 93,93% (2152/2291) PPV <sup>c</sup> : 72,66% (311/428) NPV <sup>d</sup> : 98,82% (1841/1863)	Concordanza pos.: 98,89% (89/90) Concordanza neg.: 98,36% (2165/2201) Accuratezza: 98,38% (2254/2291) PPV: 71,20% (89/125) NPV: 99,95% (2165/2166)
--	---	--

a. Due isolati non hanno potuto essere tipizzati a causa di contaminazione; i campioni di analisi in questione non sono stato incluso nelle statistiche prestazionali.

b. I risultati del saggio Xpert mostrati si riferiscono al primo o al secondo tentativo. Il 3,2% circa dei campioni di analisi è risultato indeterminato al primo tentativo.

c. Valore predittivo positivo.

d. Valore predittivo negativo.

### 18.2.3 Riepilogo

La tabella sotto elenca il numero complessivo di campioni di analisi in base ai diversi risultati dei test eseguiti sui 2293 campioni inclusi nell'analisi dei dati relativi alle prestazioni cliniche.

**Tabella 6. Prestazioni complessive del test Xpert C. difficile BT**

Risultato dell'analisi	N
POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), NEG per tossina binaria (Binary Toxin NEG), NEG per 027 (027 NEG)	272
POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)	36
POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), PRESUNTO POS per 027 (027 PRESUMPTIVE POS)	122
NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)	7 <sup>a</sup>
NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), NEG per tossina binaria (Binary Toxin NEG), NEG per 027 (027 NEG)	1856
<b>Totale</b>	<b>2293</b>

<sup>a</sup> Nell'ambito di ulteriori analisi, 4 di 7 ceppi hanno dimostrato di ospitare il gene della tossina B.

### 18.2.4 Assunzione di antibiotici

Tra i 2.293 casi del set di dati principale, 1.630 hanno segnalato l'uso di antibiotici nei 2 mesi precedenti la raccolta dei campioni, mentre nessun antibiotico è stato assunto da 570 soggetti; in 93 casi non è stato possibile accertare l'assunzione o meno di antibiotici. L'assunzione di antibiotici non ha comportato differenze statisticamente significative nelle prestazioni del test.

## 19 Prestazioni analitiche

### 19.1 Specificità analitica

Cinquantacinque (55) ceppi sono stati raccolti, quantificati e analizzati usando il test Xpert *C. difficile* BT. I ceppi provenivano dall'ATCC (American Type Culture Collection), dalla CCUG (Culture Collection, Università di Göteborg, Svezia), dalla DSMZ (Deutsche Sammlung Von Mikroorganismen und Zellkulturen, Germania), dai CDC (Centers for Disease Control and Prevention), dall'Istituto di Salute Pubblica di Maribor (Slovenia) e dal SMI (Istituto svedese per il controllo delle malattie infettive).

Tra le specie batteriche analizzate, sono stati inclusi dieci (10) ceppi di *C. difficile* non tossigenico e undici (11) specie di *Clostridium* diverse dal *C. difficile*. Gli organismi testati sono stati identificati come Gram-positivi (37) o Gram-negativi (18). Gli organismi sono poi stati ulteriormente classificati come aerobici (24), anaerobici (29) o microaerobici (2).

Tutti i ceppi sono stati testati in triplicato con concentrazioni comprese tra  $1,1 \times 10^8$  e  $2,2 \times 10^{10}$  CFU/tampone. Nello studio sono stati inclusi controlli positivi e negativi.

In base alle condizioni dello studio, tutti gli isolati sono stati segnalati come **NEG per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff NEG); NEG per tossina binaria (Binary Toxin NEG); NEG per 027 (027 NEG)** (vedere Tabella 7). La specificità analitica è stata del 100%.

Un'ulteriore serie di specie di *Clostridium* non difficili è stata testata per dimostrare la specificità del dosaggio della tossina binaria.

**Tabella 7. Risultati dello studio di specificità per il gene della tossina binaria**

Genere	Specie	N. di campioni analizzati	Tossina A/B	Tossina binaria
<i>Clostridium</i>	<i>aldenense</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>simile ad aminovalericum</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>	clostridioforme	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

Genere	Specie	N. di campioni analizzati	Tossina A/B	Tossina binaria
<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>simile a mayombei</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
<i>Clostridium</i>	<i>perfringens tipo E</i>	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>	<i>specie</i>	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>gruppo subterminale</i>	3	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>symbiosum</i>	2	neg	neg
<i>Clostridium</i>	<i>tertium</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 RT 027</i>	5	+	+
<i>Clostridium</i>	<i>difficile RT 078</i>	2	+	+

Tutti gli isolati non contenenti la tossina binaria sono risultati negativi con il test Xpert *C. difficile* BT.

## 19.2 Sensibilità analitica

Sono stati condotti studi per determinare gli intervalli di confidenza del 95% per il limite di rilevamento analitico (LoD) del *C. difficile* diluito in una matrice fecale di origine umana, rilevabile con il test Xpert *C. difficile* BT. La matrice fecale consisteva di feci umane liquide (negative per *C. difficile* al test Xpert *C. difficile* BT) diluite in PBS con il 15% di glicerolo. Il limite di rilevamento (LoD) viene definito come il minor numero di unità formanti colonia (CFU) per tampone che possono essere distinte in modo riproducibile dai campioni negativi, con un livello di confidenza del 95%.

Replicati di 20 sono stati valutati a tutte le concentrazioni di *C. difficile* testate (CFU/tampone) per 7 diversi ceppi di *C. difficile* rappresentativi dei tossinotipi 0 (due ceppi), III (due ceppi), IV, V e VIII (uno per ciascun ceppo).

Le stime e gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando la regressione logistica con i dati (numero di risultati positivi per numero di replicati a ogni livello) nell'intera gamma di CFU testate. Gli intervalli di confidenza sono stati determinati usando le stime di probabilità massima dei parametri del modello logistico usando la matrice grande di varianza e covarianza dei campioni. Le stime del punto corrispondente al LoD e gli intervalli di confidenza del 95% superiore e inferiore per ogni tossinotipo di *C. difficile* testato sono riepilogati nella tabella sotto.

Tabella 8. Intervalli di confidenza del 95% per il LoD analitico – C. difficile

ID ceppo	Tossinotipo	LoD <sub>95%</sub> (CFU/ tampone)	IC al 95% inferiore	IC al 95% superiore
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027) <sup>a</sup>	III	23	19	31
LUMC-5 (027) <sup>a</sup>	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

<sup>a</sup> Mediante PCR-ribotipizzazione

I risultati di questo studio indicano che il test Xpert C. difficile BT genererà risultati positivi per C. difficile nel 95% dei casi per i campioni fecali contenenti 460 CFU/tampone e risultati positivi presuntivi per 027 nel 95% dei casi per i tamponi contenenti 75 CFU.

Oltre che per la determinazione del LoD, il saggio Xpert C. difficile BT è stato utilizzato per l'analisi di diciotto ceppi di C. difficile rappresentativi del tossinotipo 0 e di 12 tossinotipi varianti, tra cui quattro isolati del tossinotipo III del ceppo 027. I ceppi del C. difficile sono stati selezionati per rappresentare ampiamente la maggioranza dei tossinotipi di C. difficile rilevati sul campo. Sono state preparate colture tipizzate di microorganismi sospendendo la crescita batterica delle piastre di agar in un tampone di PBS contenente il 15% di glicerolo. La concentrazione delle singole colture è stata regolata su 1,4-5,9 unità McFarland. Tutti i ceppi sono stati diluiti serialmente a circa 900 CFU/tampone e testati in triplicato.

In base alle condizioni di questo studio, il saggio Xpert C. difficile BT ha identificato correttamente tutti i 18 ceppi testati come POS per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff POS). Nel pannello sono stati inclusi 8 tossinotipi segnalati come positivi anche per la produzione della tossina binaria (CDT). Tutti sono risultati positivi per CDT con il saggio Xpert C. difficile BT. Tutti e quattro gli isolati 027 rappresentativi del tossinotipo III sono stati segnalati correttamente come POS per C. difficile tossigenico (Toxigenic C. diff POS); POS per tossina binaria (Binary Toxin POS); PRESUNTO POS PER 027 (027 PRESUMPTIVE POS).

Sette isolati di C. difficile del PCR-ribotipo 033 e tre ulteriori isolati di C. difficile di PCR-ribotipo correlato che sono risultati negativi per tcdA e tcdB ma che hanno prodotto tossina binaria (CDT),<sup>22</sup> sono stati testati con il saggio Xpert C. difficile BT. Tutti e 10 gli isolati hanno dato risultati positivi solo per la tossina binaria (vedere Tabella 9), a conferma della capacità del saggio di rilevare gli isolati Tossina A-, Tossina B-, Tossina binaria+).

Tabella 9. Analisi degli organismi che producono solo tossina binaria (Tossina A-, Tossina B-) mediante il saggio Xpert C. difficile BT

Organismo	ID ceppo	PCR- ribotipo	Risultato del test
C. difficile	CD12-066	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
C. difficile	CD12-203	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
C. difficile	CD13-022	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
C. difficile	06-08-02	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)

Organismo	ID ceppo	PCR- ribotipo	Risultato del test
<i>C. difficile</i>	06-20-01	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	NT077	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	AI-0016	238	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	WA-0012	239	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	ES-0145	288	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)
<i>C. difficile</i>	R-0010	033	NEG per C. diff tossigenico (Toxigenic C. diff NEG), POS per tossina binaria (Binary Toxin POS), NEG per 027 (027 NEG)

### 19.3 Sostanze interferenti

Sono state testate ventuno (21) sostanze chimiche e biologiche occasionalmente utilizzate o presenti nei campioni fecali, allo scopo di rilevare eventuali interferenze con il test Xpert *C. difficile* BT. Tra le sostanze potenzialmente interferenti si possono includere, senza limitazioni, Vagisil crema e pasta di ossido di zinco (vedere Sezione 16, Limitazioni). Le 19 sostanze elencate nella tabella sotto non hanno manifestato alcuna interferenza rilevabile con il test Xpert *C. difficile* BT.

**Tabella 10. Sostanze testate risultate non interferenti con il test**

Sostanza	Sostanza
Sangue intero Karolinska University Hospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucina (porcina) Sigma	Vaselina Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Immodium® McNeil-PPC	Preparazione H in salviettine Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Proctor & Gamble	Film contraccettivo vaginale (VCF) Apothecus Pharmaceutical
Preparazione H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomicina Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Metronidazolo Actavis

Sostanza	Sostanza
Grassi fecali Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	Solfato di bario per sospensione ad alta densità E-Z HDTM E-Z EM Canada
Idrocortisone in crema Longs Drugs	

## 20 Riproducibilità

Un pannello di 7 campioni di analisi con diverse concentrazioni di *C. difficile* tossigenico e *C. difficile* ribotipo 027 è stato testato in 10 diversi giorni da 2 diversi operatori presso ciascuno dei 3 centri (7 campioni di analisi x 2 operatori/giorno x 10 giorni x 3 centri). Un lotto del test Xpert C. difficile BT è stato utilizzato in ciascuno dei 3 centri del test. I test Xpert C. difficile BT sono stati eseguiti in conformità con la procedura del test Xpert C. difficile BT. I risultati sono riassunti nelle due tabelle seguenti.

**Tabella 11. Riepilogo dei risultati di riproducibilità (tutti)**

ID campione di analisi	% concordanza <sup>a</sup>			% concordanza totale per campione
	Centro 1	Centro 2	Centro 3	
Negativo	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Negativo alto per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic <i>C. difficile</i> High Negative)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Positivo basso per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic <i>C. difficile</i> Low Positive)	100% (20/20)	85% (17/20)	85% (17/20)	90% (54/60)
Positivo moderato per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic <i>C. difficile</i> Moderate Positive)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Negativo alto per <i>C. difficile</i> tossigenico ribotipo 027 (Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 High Negative)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
Positivo basso per <i>C. difficile</i> tossigenico ribotipo 027 (Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 Low Positive)	100% (20/20)	95% (19/20)	95% (19/20)	96,7% (58/60)
Positivo moderato per <i>C. difficile</i> tossigenico ribotipo 027 (Toxigenic <i>C. difficile</i> Ribotype 027 Moderate Positive)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (20/20)	100% (60/60)
% concordanza totale per sito	100% (140/140)	97,1% (136/140)	97,1% (136/140)	98,1% (412/420)

<sup>a</sup> Per i campioni negativi e negativi alti, % concordanza = (nr. risultati negativi/totale campioni analizzati); per i campioni positivi moderati e bassi, % concordanza = (nr. risultati positivi/totale campioni analizzati).

Tabella 12. Riepilogo dei risultati dei valori Ct per livello del campione e sonda

SPC			
Livello	Media	Dev. std	CV
Negativo alto per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff high neg)	32,17	0,59	1,83%
Positivo basso per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff low pos)	32,14	0,53	1,66%
Positivo moderato per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff mod pos)	31,98	0,47	1,47%
negativo alto per 027	32,11	0,65	2,03%
positivo basso per 027	31,93	0,72	2,26%
positivo moderato per 027	31,96	0,61	1,90%
Neg	32,26	0,72	2,22%
tcdB (tossina B)			
Livello	Media	Dev. std	CV
Negativo alto per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff high neg)	39,59	0,70	1,77%
Positivo basso per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff low pos)	35,88	0,81	2,24%
Positivo moderato per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. diff mod pos)	32,17	0,45	1,39%
negativo alto per 027	39,11	0,98	2,50%
positivo basso per 027	35,49	0,58	1,65%
positivo moderato per 027	32,10	0,63	1,97%

Un ulteriore pannello di 6 campioni di analisi, con 3 negativi e 3 negativi alti per *C. difficile* tossigenico, è stato testato in 5 diversi giorni da 2 diversi operatori in ciascuno dei 3 centri (6 campioni di analisi x 2 operatori/giorno x 5 giorni x 3 centri). I campioni di analisi negativi alti sono stati preparati con concentrazioni inferiori al LoD, il che lasciava prevedere un risultato negativo dal 20% all'80% dei casi. Un lotto del test Xpert *C. difficile* BT è stato utilizzato in ciascuno dei 3 centri del test. I test Xpert *C. difficile* BT sono stati eseguiti in conformità con la procedura del test Xpert *C. difficile* BT. I risultati sono riepilogati nella tabella sotto.

Tabella 13. Riepilogo dei risultati di riproducibilità dei campioni di analisi aggiuntivi

ID campione di analisi	% concordanza <sup>a</sup>			% concordanza totale per campione
	Centro 1	Centro 2	Centro 3	
Negativo	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (30/30)	100% (90/90)
Negativo alto per <i>C. difficile</i> tossigenico (Toxigenic C. difficile High Negative) <sup>b</sup>	60% (18/30)	60% (18/30)	53,3% (16/30)	57,8% (52/90)

<sup>a</sup> (nr. risultati negativi/totale campioni alti negativi analizzati)

<sup>b</sup> 20-80% di concordanza prevista per i campioni negativi alti

## 21 Riferimenti bibliografici

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, Lysterly D, et al. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. Infect. Immun 2000;68:5480-5487.
9. Goncalves C, Decre D, Barbut F, et al. Prevalence 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, Lysterly 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. Errata corrigé: 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 (fare riferimento all'ultima edizione).
25. REGOLAMENTO (CE) N. 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO del 16 dicembre 2008 relativo alla classificazione, all'etichettatura e all'imballaggio delle sostanze e delle miscele che modifica e abroga, Elenco delle frasi di rischio, direttive 67/548/CEE e 1999/45/CE (che reca modifica al regolamento (CE) n. 1907/2006).
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 Ubicazione delle sedi Cepheid

### Corporate Headquarters

Cepheid  
904 Caribbean Drive  
Sunnyvale, CA 94089  
USA

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

### European Headquarters

Cepheid Europe SAS  
Vira Solelh  
81470 Maurens-Scopont  
France

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

## 23 Assistenza tecnica

### Prima di contattarci

Prima di contattare il Supporto Tecnico di Cepheid, raccogliere le seguenti informazioni:

- Nome del prodotto
- Numero di lotto
- Numero di serie dello strumento
- Messaggi di errore (se presenti)
- Versione del software e, se pertinente, codice riportato sull'etichetta di servizio (Service Tag) del computer

### Supporto Tecnico negli Stati Uniti d'America

Telefono: + 1 888 838 3222 E-mail: techsupport@cepheid.com

### Supporto tecnico in Francia

Telefono: + 33 563 825 319 E-mail: support@cepheideurope.com

Le informazioni di contatto di tutti gli uffici di Supporto tecnico di Cepheid sono disponibili nel sito: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

## 24 Tabella dei simboli

Simbolo	Significato
	Numero di catalogo
	Dispositivo medico diagnostico <i>in vitro</i>
	Non riutilizzare
	Codice lotto
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Avviso
	Fabbricante
	Paese di fabbricazione
	Contenuto sufficiente per $n$ test
	Controllo
	Data di scadenza
	Marchio CE - Conformità europea
	Limiti di temperatura
	Rischi biologici
	Attenzione
	Mandatario in Svizzera
	Importatore



Cepheid AB  
Röntgenvägen 5  
SE-171 54 Solna,  
Sweden



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



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



## 25 Cronologia delle revisioni

Descrizione delle modifiche: 301-6190-IT, dalla Rev. D alla Rev. E

Sezione	Descrizione della modifica
Sensibilità analitica	Correzione errore nella sezione "Sensibilità analitica".
Tabella dei simboli	Correzione errore nella sezione "Tabella dei simboli".