

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

**REF** GXCDIFFBT-CE-10

Instruções de utilização

CE **IVD**

## **Declarações relativas a marcas registadas, patentes 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>, o logótipo da Cepheid, GeneXpert<sup>®</sup>, e Xpert<sup>®</sup> são marcas comerciais da Cepheid, registadas nos EUA e noutros países.

Todas as restantes marcas comerciais pertencem aos respetivos proprietários.

A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO ATRIBUI AO COMPRADOR O DIREITO NÃO TRANSFERÍVEL DE O UTILIZAR DE ACORDO COM ESTAS INSTRUÇÕES DE UTILIZAÇÃO. NENHUNS OUTROS DIREITOS SÃO ATRIBUÍDOS EXPRESSAMENTE, POR IMPLICAÇÃO OU POR PRECLUSÃO. ALÉM DISSO, NÃO SE CONFEREM NENHUNS DIREITOS DE REVENDA COM A AQUISIÇÃO DESTE PRODUTO.

© 2016-2024 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações na Secção 25 Histórico de revisões.

# Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

---

Dispositivo médico para diagnóstico *in vitro*

## 1 Nome proprietário

Xpert<sup>®</sup> C. difficile BT

## 2 Nome comum ou usual

Teste Xpert C. difficile BT

## 3 Utilização prevista

O teste Xpert C. difficile BT da Cepheid, realizado nos da Cepheid, é um teste de diagnóstico qualitativo *in vitro* para a detecção rápida de *C. difficile tcdB* (gene de toxina B), *cdt* (gene de toxina binária) e deleção de um nucleótido na posição 117 do gene *tcdC*, a partir de amostras fecais não formadas (líquidas ou moles) colhidas de doentes suspeitos de terem infecção por *Clostridium difficile* (CDI). O teste Xpert C. difficile BT destina-se a auxiliar no diagnóstico de CDI e na detecção de estirpes potencialmente associadas a doença mais grave. O teste utiliza reação em cadeia da polimerase (PCR) automática em tempo real para detetar *tcdB*, *cdt* e a deleção de *tcdC* na base 117 associada à estirpe de ribotipo 027. A toxina binária é produzida por um número limitado de estirpes de *C. difficile*, incluindo a estirpe 027. A toxina binária, juntamente com a detecção de *tcdB*, é frequentemente um indicador de doença mais grave ou recidivante. Os isolados de *C. difficile* que são negativos para *tcdB*, mas contêm apenas genes de toxina binária podem produzir sintomas semelhantes a estirpes de *C. difficile* toxigénico, mas desconhece-se atualmente a relevância clínica de tais estirpes. Apenas é necessária cultura concomitante se for necessária tipagem ou colheita de organismos suplementares.

## 4 Resumo e explicação

O *C. difficile* é um bacilo anaeróbio Gram-positivo formador de esporos que foi associado pela primeira vez a doença em 1978.<sup>1</sup>

A CDI varia de diarreia ligeira a colite pseudomembranosa grave e potencialmente fatal.<sup>2</sup> A flora bacteriana colonial madura num adulto saudável é geralmente resistente à colonização por *C. difficile*.<sup>3</sup> Contudo, se a flora colonial normal for alterada, perde-se a resistência à colonização por outras espécies bacterianas, como o *C. difficile*. O fator de risco mais comum para o desenvolvimento de CDI é a exposição a antibióticos.<sup>4</sup> O fator de virulência primário do *C. difficile* é a citotoxina B.

<sup>5</sup> Os genes que codificam a toxina A (*tcdA*; a enterotoxina) e a toxina B (*tcdB*) fazem parte do locus de patogenicidade (PaLoc).<sup>6,7</sup> A maioria das estirpes patogénicas é positiva para a toxina A e para a toxina B (A+B+), embora variantes de isolados negativos para a toxina A e positivos para a toxina B (A-B+) tenham sido reconhecidas como patogénicas.<sup>8</sup> Algumas estirpes de *C. difficile* também produzem uma ADP-ribosiltransferase específica da actina, denominada CDT ou toxina binária. O locus da toxina binária contém dois genes distintos (*cdtA* e *cdtB*) e está localizado fora do PaLoc.<sup>9,10,11</sup>

Tradicionalmente, o diagnóstico de CDI tem-se baseado na detecção da toxina B diretamente nas fezes (teste de neutralização de citotoxicidade de cultura celular [CCCN]) ou em cultura do organismo seguida por determinação da produção de toxina B pelo isolado (cultura toxigénica). Tanto o teste de CCCN como a cultura toxigénica são procedimentos trabalhosos, mas ainda são considerados como “padrão-ouro” devido à especificidade do primeiro e à sensibilidade do último.<sup>12,13</sup> Desenvolveram-se diversos ensaios enzimáticos rápidos para a detecção das toxinas A e B; contudo, estes testes têm sensibilidade e especificidade reduzidas quando comparados com o teste de CCCN. Foram desenvolvidos métodos de PCR para detecção dos genes associados à produção de toxina A e/ou toxina B que demonstraram ter sensibilidade e especificidade elevadas quando comparados com o procedimento de cultura toxigénica.<sup>14</sup>

Para além da toxina A e B, há literatura recente que sugere uma ligação entre a produção de toxina binária e tanto a gravidade como o resultado da doença. Bauer et al.<sup>15</sup> demonstraram a presença de genes de toxina binária em isolados toxigénicos para 23% dos casos de CDI na Europa. A toxina binária produzida por genes *cdt* é frequentemente observada em estirpes de *C. difficile* associadas a um aumento da gravidade da CDI. A toxina binária pertence à família de toxinas com ADP-ribosilação, consistindo em genes *cdtA*, ADP-ribosiltransferase enzimática, que modifica a actina, e *cdtB*, que se liga a células hospedeiras e procede à translocação do produto de *cdtA* para dentro do citosol. Há vários estudos clínicos que indicam uma associação entre a presença de genes de toxina binária em *C. difficile* e o aumento da mortalidade em 30 dias devido a CDI, independentemente do ribotipo de PCR. Há também literatura que demonstra que os sujeitos com CDI grave, colite fulminante e/ou CDI recidivante são infetados mais frequentemente por ribotipos de *C. difficile* que transportam os genes para produção de toxina binária (*cdtA/cdtB*) do que os sujeitos sem estas complicações.<sup>16,17</sup>

Existe um subconjunto de isolados produtores de toxina binária que têm mutações no gene regulador de toxina negativa (*tcdC*), isto é, uma deleção no nucleótido 117 (*tcdCΔ117*) consistente com estirpes de ribotipo 027. A infeção provocada por estirpes 027/NAP1/BI pode estar associada a uma taxa de mortalidade e morbilidade mais elevada, incluindo internamento em unidade de cuidados intensivos (UCI) e internamento prolongado. Uma análise multivariada demonstrou uma associação significativa entre gravidade da doença e a presença de ribotipos transportadores do gene de toxina binária, com ou sem deleção no nucleótido 117. Nas últimas duas décadas, têm havido surtos de CDI atribuídos a várias estirpes “hipervirulentas” emergentes que incluem estirpes resistentes a fluoroquinolona pertencentes ao ribotipo de PCR 027 (também conhecidas como grupo NAP1 de electroforese de gel em campo pulsado e tipo BI de ensaio por endonuclease de restrição).<sup>8,18</sup> As estirpes de 027 poderão apresentar produção de toxina aumentada, que é atribuída a deleções no gene regulador *tcdC*, e poderão produzir mais esporos, levando a maior persistência no ambiente.<sup>19,20</sup> Um resultado 027 presumível positivo poderá ajudar na identificação das possíveis origens de um surto de 027.

Finalmente, há estudos adicionais que indicaram casos de pacientes com diarreia e suspeita de infeção por *C. difficile* devido ao toxinótipo XI/ribotipo de PCR 033 ou estirpes semelhantes a 033 positivas para toxina binária, mas negativas para toxina A e B.<sup>21,22</sup> Não se compreende inteiramente a relevância clínica de tais estirpes positivas para toxina binária e negativas para toxina B.

## 5 Princípio do procedimento

Os automatizam e integram a preparação de amostras, a purificação e amplificação de ácidos nucleicos e a deteção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando ensaios de PCR em tempo real. Os sistemas são constituídos por um instrumento, um computador pessoal e software pré-instalado para execução dos testes em amostras clínicas e visualização dos resultados. Os sistemas requerem a utilização de cartuchos GeneXpert descartáveis de utilização única, que contêm os reagentes para PCR e onde decorrem os processos de extração, amplificação e deteção do produto da amplificação de ADN. Dado que os cartuchos são independentes, é minimizada a contaminação cruzada entre amostras. Para obter uma descrição completa dos sistemas, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual* e/ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual* relevantes.

O teste Xpert *C. difficile* BT inclui reagentes para a deteção de *C. difficile* produtor de toxina e um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC). O SPC indica o processamento adequado das bactérias-alvo e monitoriza a presença de inibidores na reação PCR. O controlo de verificação da sonda (PCC — Probe Check Control) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho, a integridade da sonda e a estabilidade do corante.

Os iniciadores e as sondas no teste Xpert *C. difficile* BT detetam sequências nos genes para a toxina B (*tcdB*), toxina binária (*cdt*) e *tcdCΔ117*.

## 6 Reagentes e Instrumentos

### 6.1 Materiais fornecidos

O kit do Xpert C. difficile BT contém reagentes em quantidade suficiente para o processamento de 10 espécimes ou amostras para controlo de qualidade.

O kit contém o seguinte:

|   |  |
|---|--|
| <b>Xpert C. difficile BT Cartuchos com tubos de reação integrados</b>   | <b>10</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas)</li> <li>• Reagente 1</li> <li>• Reagente 2 (hidróxido de sódio)</li> </ul>   | <ul style="list-style-type: none"> <li>1 por cartucho</li> <li>3,0 ml por cartucho</li> <li>3,0 ml por cartucho</li> </ul> |
| <b>Bolsas de reagente do Xpert C. difficile BT</b>  | <b>10</b>  |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Reagente de amostra (tiocianato de guanidina)</li> </ul>   | 10 x 2,0 ml por bolsa  |
| <b>CD</b>   | <b>1 por kit</b>   |
| <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ficheiros de definição do ensaio (ADF — assay definition files)</li> <li>• Instruções para importar o ADF para o software</li> <li>• Instruções de utilização (folheto informativo)</li> </ul> |  |

**Nota** As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em [www.cepheid.com](http://www.cepheid.com) ou [www.cepheidinternational.com](http://www.cepheidinternational.com) no separador **ASSISTÊNCIA (SUPPORT)**.

**Nota** A seroalbumina bovina (Bovine Serum Albumin, BSA), presente nas esferas deste produto foi produzida e fabricada a partir de plasma bovino proveniente exclusivamente dos EUA. Os animais não foram alimentados com nenhuma proteína de ruminante ou outra proteína animal e foram aprovados nos testes ante- e post-mortem. Durante o processamento, não houve mistura do material com outros materiais de origem animal.

### 6.2 Conservação e manuseamento

- Conserve o kit Xpert C. difficile BT a 2–28 °C.
- Não utilize reagentes de amostra ou cartuchos que tenham ultrapassado o prazo de validade.
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.
- Não utilize um reagente de amostra que esteja turvo ou descolorado.
- Não utilize um cartucho com fuga.

### 6.3 Materiais necessários mas não fornecidos

- ou (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador com o software exclusivo GeneXpert versão 4.3 ou posterior, leitor de código de barras e manual do utilizador.
- Impressora: caso necessite de uma impressora, contacte o Representante de Vendas da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.
- Agitador vórtex
- Pipetas de transferência limpas e descartáveis
- Zaragatoa seca para transferência da amostra, tal como a encontrada no dispositivo de colheita de amostras da Cepheid (número de catálogo da Cepheid 900-0370), na zaragatoa descartável de utilização única da Cepheid (número de catálogo da Cepheid SDPS-120) ou nos sistemas de zaragatoa dupla e transporte da Copan (139C LQ STUART)

## 7 Advertências e precauções

- Trate todas as amostras biológicas, incluindo os cartuchos e reagentes usados, como sendo capazes de transmitir agentes infecciosos. Dado que é frequentemente impossível saber quais as amostras biológicas que poderão ser infecciosas, todas

devem ser tratadas aplicando as precauções padrão. Orientações para o manuseamento de amostras estão disponíveis nos Centers for Disease Control and Prevention (Centros de Controlo e Prevenção de Doenças) dos EUA e no Clinical and Laboratory Standards Institute (Instituto de Normas Clínicas e Laboratoriais).<sup>23,24</sup>

- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição quando trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Não substitua os reagentes Xpert *C. difficile* BT por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho do Xpert *C. difficile* BT, exceto ao adicionar a amostra e os reagentes ou ao remover a amostra do cartucho original para repetir um teste num cartucho novo.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho ou no rótulo do código de barras.
- Cada cartucho Xpert *C. difficile* BT de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilize um cartucho usado.
- Amostras biológicas, dispositivos de transferência e cartuchos usados devem ser considerados como tendo potencial de transmissão de agentes infecciosos que exigem precauções padrão. Siga os procedimentos relativos a resíduos ambientais da vossa instituição relativamente à eliminação correta de cartuchos usados e reagentes não usados. Estes materiais podem apresentar características de resíduos químicos perigosos que exigem procedimentos de eliminação nacionais ou regionais específicos. Se as regulamentações nacionais ou regionais não disponibilizarem uma indicação clara sobre a eliminação correta, as amostras biológicas e os cartuchos usados devem ser eliminados de acordo com as diretrizes relativas ao manuseamento e à eliminação de resíduos médicos da OMS (Organização Mundial de Saúde).
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com a amostra ou controlos, limpe bem a área contaminada com uma solução de lixívia de cloro doméstica com diluição 1:10 e depois repita a limpeza da área de trabalho com etanol a 70%. Secar as superfícies de trabalho até secarem completamente antes de prosseguir.

## 8 Riscos químicos<sup>25,26</sup>

- Palavra-sinal: ATENÇÃO
- **Advertências de perigo GHS da ONU:**
  - Nocivo por ingestão.
  - Provoca irritação cutânea.
  - Provoca irritação ocular grave.
- **Recomendações de prudência GHS da ONU:**
  - **Prevenção**
    - Lavar cuidadosamente após manuseamento.
    - Não comer, beber ou fumar durante a utilização deste produto.
    - Evitar a libertação para o ambiente.
    - Usar luvas de proteção/vestuário de proteção/proteção ocular/proteção facial.
  - **Resposta**
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM A PELE: lavar com sabonete e água abundantes.
    - Retirar a roupa contaminada e lavá-la antes de a voltar a usar.
    - Tratamento específico, ver informação de primeiros socorros suplementar.
    - Em caso de irritação cutânea: consulte um médico.
    - SE ENTRAR EM CONTACTO COM OS OLHOS: enxaguar cuidadosamente com água durante vários minutos. Se usar lentes de contacto, retire-as, se tal lhe for possível. Continuar a enxaguar.
    - Caso a irritação ocular persista: consulte um médico.
    - EM CASO DE INGESTÃO: caso sinta indisposição, contacte imediatamente um CENTRO DE INFORMAÇÃO ANTIVENENOS ou um médico.
    - Enxaguar a boca.
- **Conservação/Eliminação**
  - Eliminar o conteúdo e/ou recipiente de acordo com a regulamentação local, regional, nacional e/ou internacional.

## 9 Colheita, transporte e conservação de amostras

1. Faça a colheita da amostra fecal não formada num recipiente limpo. Siga as orientações da sua instituição para a colheita de amostras para testes de *C. difficile*.
2. Rotule com a ID do paciente e envie para o laboratório para testes.
3. Conserve a amostra entre 2 °C e 8 °C. A amostra permanece estável durante até 5 dias quando armazenada entre 2 °C e 8 °C. Como alternativa, as amostras podem ser armazenadas à temperatura ambiente (20 °C a 30 °C) durante até 24 horas.

## 10 Procedimento

### 10.1 Preparação do cartucho

**Importante** Iniciar o teste dentro de 30 minutos após a adição da amostra ao cartucho.

Para adicionar a amostra ao cartucho:

1. Retire o cartucho e o reagente de amostra da embalagem.
2. Submerja brevemente a zaragatoa na amostra fecal não formada. A zaragatoa não precisa de ficar completamente saturada.
3. Insira a zaragatoa no tubo contendo o reagente de amostra.

**Nota** Utilize gaze estéril para minimizar os riscos de contaminação.

4. Segure na zaragatoa pela haste perto do bordo do tubo, levante a zaragatoa a alguns milímetros do fundo do tubo e empurre a haste contra o bordo do tubo para a quebrar. Certifique-se de que a zaragatoa é suficientemente curta para permitir que a tampa fique bem apertada.
5. Feche a tampa e coloque no agitador de vórtice na velocidade máxima durante 10 segundos.
6. Abra a tampa do cartucho. Utilizando uma pipeta de transferência limpa, transfira todos os conteúdos do reagente de amostra para a câmara de amostra do cartucho.
7. Feche a tampa do cartucho.

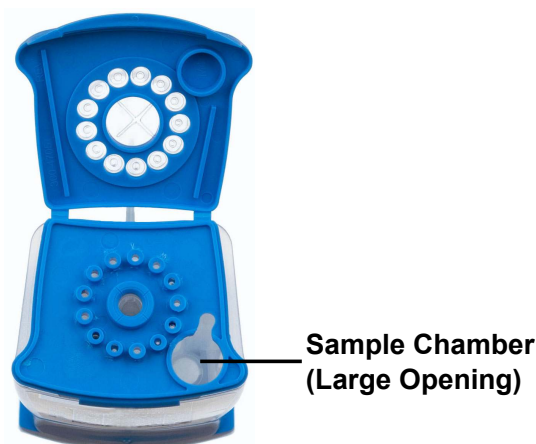


Figura 1. Cartucho (vista de cima)

### 10.2 Iniciar o teste

**Importante** Se estiver a utilizar um sistema GeneXpert Dx, antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está a executar o software GeneXpert Dx versão 4.7b ou posterior e de que o ficheiro de definição do teste correto é importado para o software.

**Importante** Se estiver a utilizar um sistema *GeneXpert Infinity*, antes de iniciar o teste, certifique-se de que o sistema está a executar o software Xpertise versão 6.4b ou posterior e de que o ficheiro de definição do teste correto é importado para o software.

Esta secção indica as etapas básicas para a execução do teste. Para obter instruções detalhadas, consulte o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx* ou o *Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity*, dependendo do modelo que estiver a utilizar.

**Nota** Os passos a seguir poderão ser diferentes se o administrador do sistema tiver alterado o fluxo de trabalho predefinido do sistema.

1. Ligue o instrumento GeneXpert:

- Se estiver a utilizar o *instrumento GeneXpert Dx*, comece por ligar o instrumento GeneXpert Dx e, de seguida, o computador. O software GeneXpert arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software GeneXpert Dx no ambiente de trabalho do Windows®.
- ou
- Se estiver a utilizar o *instrumento GeneXpert Infinity*, ative o instrumento. O software Xpertise arranca automaticamente. Se não arrancar, faça duplo clique no ícone de atalho do software Xpertise no ambiente de trabalho do Windows®.

2. Inicie sessão no software do sistema do instrumento GeneXpert utilizando o seu nome de utilizador e palavra-passe.

3. Na janela do sistema GeneXpert, clique em **Criar teste (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou em **Encomendas (Orders)** e **Encomendar teste (Order Test)** (Infinity). A janela **Criar teste (Create Test)** abre-se. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras da ID do doente (Scan Patient ID)**.

4. Leia ou introduza a ID do doente (Patient ID). Se digitar a ID do doente (Patient ID), assegure-se de que digita a ID do doente correta. A ID do doente (Patient ID) é associada aos resultados do teste e é apresentada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. A caixa de diálogo **Ler código de barras da ID da amostra (Scan Sample ID Barcode)** abre-se.

5. Leia ou introduza a ID da amostra (Sample ID). Se digitar a ID da amostra (Sample ID), assegure-se de que digita a ID da amostra correta. A ID da amostra é associada aos resultados do teste e é visualizada na janela **Ver resultados (View Results)** e em todos os relatórios. Abre-se a caixa de diálogo **Ler código de barras do cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.

6. Leia o código de barras do cartucho. Utilizando as informações do código de barras, o software preenche automaticamente as caixas para os seguintes campos: Selecionar teste (Select Assay), ID lote de reagente (Reagent Lot ID), N/S do cartucho (Cartridge SN) e Prazo de validade (Expiration Date).

**Nota** Se o código de barras no cartucho não puder ser lido digitalmente, repita o teste com um novo cartucho. Se tiver lido o código de barras do cartucho no software e o ficheiro de definição do teste não estiver disponível, aparecerá um ecrã que indica que o ficheiro de definição do teste não está carregado no sistema. Se este ecrã aparecer, contacte a assistência técnica da Cepheid.

7. Clique em **Iniciar teste (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou **Enviar (Submit)** (Infinity). Introduza a sua palavra-passe na caixa de diálogo que aparece, caso seja necessário.

8. Para o sistema *GeneXpert Infinity*, coloque o cartucho no tapete rolante. O cartucho será automaticamente carregado, o teste será executado e o cartucho usado será colocado no recipiente para resíduos.

ou

No caso do *instrumento GeneXpert Dx*:

- a) Abra a porta do módulo do instrumento com a luz verde a piscar e carregue o cartucho.
- b) Feche a porta. O teste começa e a luz verde para de piscar. Quando o teste termina, a luz desliga-se.
- c) Espere até que o sistema destranque o fecho da porta antes de abrir a porta do módulo. De seguida, remova o cartucho.
- d) Elimine os cartuchos usados no recipiente apropriado para resíduos de amostras, de acordo com as práticas padrão da sua instituição.



## 11 Visualização e impressão de resultados

Esta secção discrimina os passos básicos para a visualização e a impressão dos resultados. Para obter instruções mais detalhadas sobre como visualizar e imprimir os resultados, consulte o *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual do utilizador do sistema GeneXpert Dx)* ou o *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual do utilizador do sistema GeneXpert Infinity)*, dependendo do modelo utilizado.

1. Clique no ícone **Ver resultados (View Results)** para visualizar os resultados.
2. Após a conclusão do teste, clique no botão **Relatório (Report)** da janela **Ver resultados (View Results)** para visualizar e/ou gerar um relatório em ficheiro PDF.

## 12 Controlo de qualidade

Cada teste inclui um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC) e um controlo de verificação da sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Controlo de processamento da amostra (SPC – Sample Processing Control):** Assegura que a amostra foi corretamente processada. O SPC contém esporos de *Bacillus globigii*, sob a forma de uma esfera seca que está incluída em cada cartucho para verificar o processamento adequado da amostra. O SPC verifica se ocorreu lise das bactérias de *C. difficile*, que ocorreram esporos se os organismos estão presentes e se o processamento da amostra é adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do teste de PCR em tempo real associada à amostra, assegura que as condições da reação de PCR (temperatura e tempo) são adequadas para a reação de amplificação e que os reagentes de PCR estão funcionais. O SPC deve ser positivo em amostras negativas e pode ser negativo ou positivo em amostras positivas. O SPC é aprovado se preencher os critérios de aceitação validados.
- **Controlo de verificação da sonda (PCC):** antes do início da reação de PCR, o GeneXpert System mede o sinal de fluorescência das sondas para monitorizar a reidratação da esfera, o enchimento do tubo de reação, a integridade da sonda e a estabilidade do corante. A verificação da sonda é aprovada se corresponder aos critérios de aceitação atribuídos.

## 13 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpretados pelo através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela **Ver resultados (View Results)**. Os resultados possíveis são apresentados na tabela a seguir.

Tabela 1. Resultados e interpretação do Xpert *C. difficile* BT

| Resultado   | Interpretação  |
|---|--|
| <p><b>C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS), toxina binária NEGAT. (Binary Toxin NEG), 027 NEGAT. (027 NEG)</b></p> <p>Ver Figura 2.</p>                        | <p>São detetadas sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> produtor de toxina.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <i>C. difficile</i> produtor de toxina — o alvo de <i>C. difficile</i> produtor de toxina (gene de toxina B) tem um limite de ciclo (Cycle Threshold, Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.</li> <li>• O gene de toxina binária e a deleção de <i>tcdC</i> no nt 117 não são detetados.</li> <li>• SPC — NA (não aplicável); o SPC é ignorado, dado que a amplificação-alvo de <i>C. difficile</i> poderá competir com este controlo.</li> <li>• Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul> |
| <p><b>C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS), Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS), 027 NEGAT. (027 NEG)</b></p> <p>Ver Figura 3.</p>                        | <p>São detetadas sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> produtor de toxina.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Os alvos de <i>C. difficile</i> produtor de toxina (gene de toxina B e gene de toxina binária) têm Cts dentro do intervalo válido e endpoints (pontos finais) superiores à definição mínima; a deleção de <i>tcdC</i> no nt 117 não é detetada.</li> <li>• SPC — NA (não aplicável) [SPC — NA (not applicable)]; o SPC é ignorado, dado que a amplificação-alvo de <i>C. difficile</i> poderá competir com este controlo.</li> <li>• Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>   |
| <p><b>C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS), Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS), 027 PRESUMÍVEL POSIT. (027 PRESUMPTIVE POS)</b></p> <p>Ver Figura 4.</p> | <p>São detetadas sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> produtor de toxina e presumíveis de 027.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Todos os alvos de <i>C. difficile</i> produtor de toxina e presumíveis de 027 (gene de toxina B, gene de toxina binária e deleção de <i>tcdC</i> no nt 117) têm Cts dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.</li> <li>• SPC — NA (não aplicável) [SPC — NA (not applicable)]; o SPC é ignorado, dado que a amplificação-alvo de <i>C. difficile</i> poderá competir com este controlo.</li> <li>• Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>                                  |
| <p><b>C. diff toxigénico NEGAT. (Toxigenic C. diff NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG)</b></p> <p>Ver Figura 5.</p>                        | <p>As sequências do gene de toxina B de <i>C. difficile</i> não são detetadas; contudo, é detetado outro ADN-alvo (gene de toxina binária) que tem um Ct dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Ainda não se determinou a relevância clínica de isolados apenas positivos para toxina binária.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SPC — NA (não aplicável) [SPC — NA (not applicable)]; o SPC é ignorado, dado que a amplificação-alvo de <i>C. difficile</i> poderá competir com este controlo.</li> <li>• Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>   |
| <p><b>C. diff toxigénico NEGAT. (Toxigenic C. diff NEG), Toxina binária NEGAT. (Binary Toxin NEG), 027 NEGAT. (027 NEG)</b></p> <p>Ver Figura 6.</p>                        | <p>Não são detetadas sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> (gene de toxina B, gene de toxina binária).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• As sequências de genes de <i>C. difficile</i> produtor de toxina (gene de toxina B e gene de toxina binária) não são detetadas; não são detetados outros ADN-alvo de <i>C. difficile</i> toxigénico (deleção de <i>tcdC</i> no nt 117).</li> <li>• SPC — APROVADO (PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima.</li> <li>• Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>   |

| Resultado  | Interpretação  |
|--|--|
| <p><b>INVÁLIDO (INVALID)</b><br/>Ver Figura 7.</p> | <p>A presença ou ausência de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 15. O SPC não cumpre os critérios de aceitação, a amostra não foi processada adequadamente ou a PCR está inibida.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● INVÁLIDO (INVALID) — A presença ou ausência de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada.</li> <li>● SPC — FALHOU (FAIL); O resultado do alvo do SPC é negativo, o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o endpoint (ponto final) é inferior à definição mínima.</li> <li>● Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.</li> </ul>  |
| <p><b>ERRO (ERROR)</b></p>                         | <p>A presença ou ausência de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 15. O controlo de verificação da sonda falhou, provavelmente porque o tubo de reação não foi enchido adequadamente, foi detetado um problema de integridade da sonda ou os limites de pressão máxima foram excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Toxina B — SEM RESULTADO (Toxin B — NO RESULT)</li> <li>● Toxina binária — SEM RESULTADO (Binary Toxin — NO RESULT)</li> <li>● Deleção de <i>tcdC</i> no nt 117 — SEM RESULTADO (<i>tcdC</i> deletion at nt 117 — NO RESULT)</li> <li>● *SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT)</li> <li>● Verificação da sonda — FALHOU (Probe Check — FAIL)*; todos ou um dos resultados de verificação da sonda falharam.</li> </ul> <p>* Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.</p> |
| <p><b>SEM RESULTADO (NO RESULT)</b></p>            | <p>A presença ou ausência de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada. Repita o teste de acordo com as instruções da Secção 15. Não foram recolhidos dados suficientes para produzir um resultado de teste (por exemplo, o utilizador parou um teste que estava em curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>● Toxina B (<i>tcdB</i>) — SEM RESULTADO [Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT]</li> <li>● Toxina binária (<i>cdt</i>) — SEM RESULTADO [Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT]</li> <li>● <i>tcdC</i>Δ117 — SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>● SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT)</li> <li>● Verificação da sonda — NA (NA) (não aplicável)</li> </ul>   |

**Nota** Os ecrãs mostrados nesta secção (Figura 2, Figura 3, Figura 4, Figura 5, Figura 6 e Figura 7) são provenientes de um a executar software .

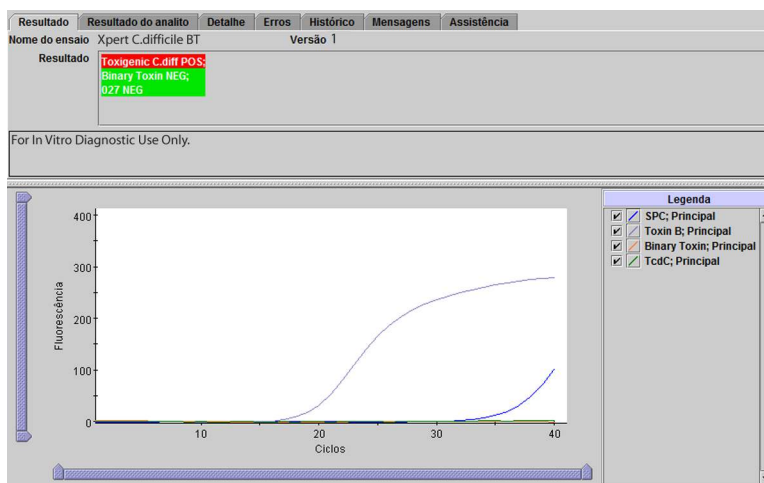


Figura 2. Exemplo de resultados C. diff toxigénico Positivo (Toxigenic C. diff Positive), Toxina binária Negativo (Binary Toxin Negative) e 027 Negativo (027 Negative)

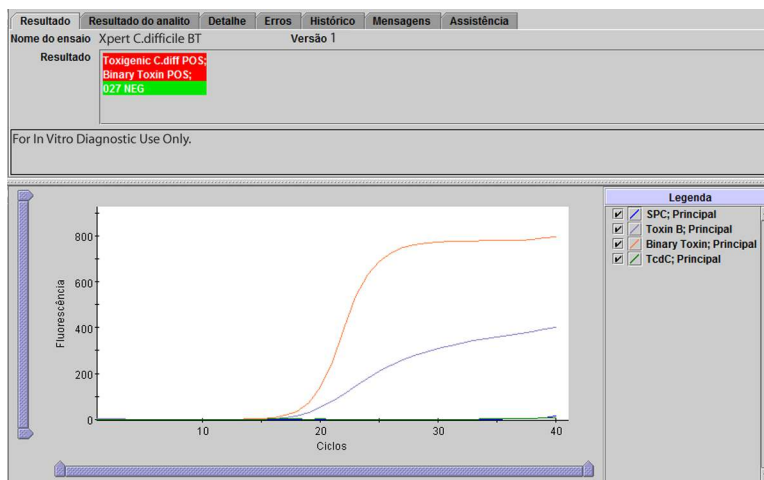


Figura 3. Exemplo de resultados C. diff toxigénico Positivo (Toxigenic C. diff Positive), Toxina binária Positivo (Binary Toxin Positive) e 027 Negativo (027 Negative)

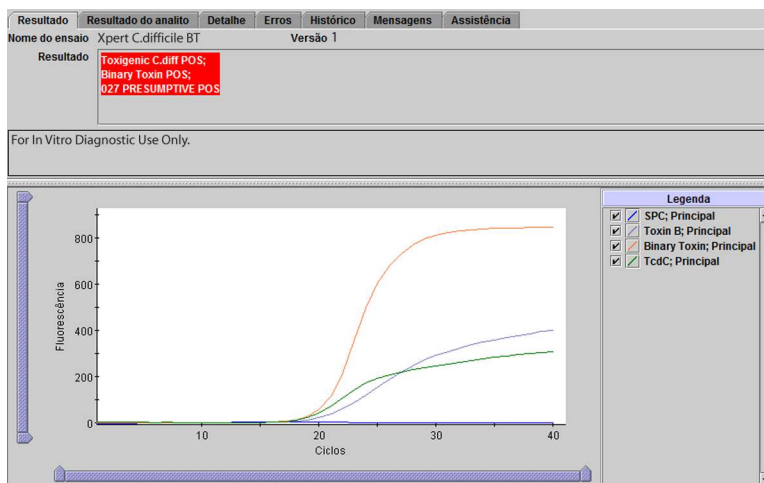
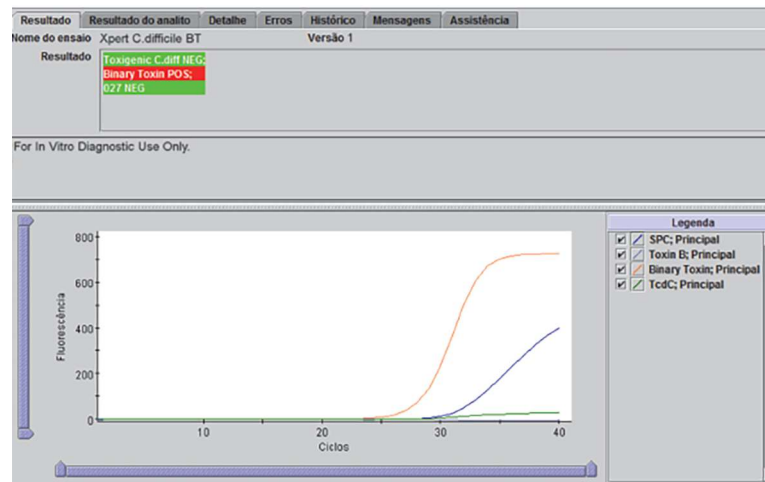
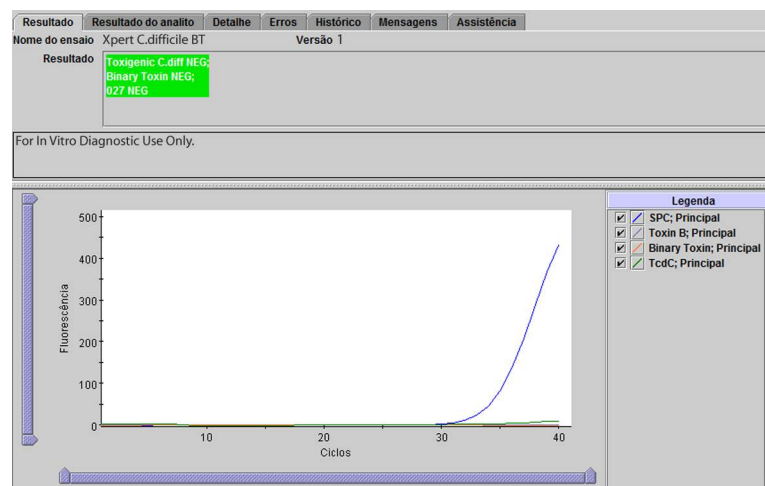


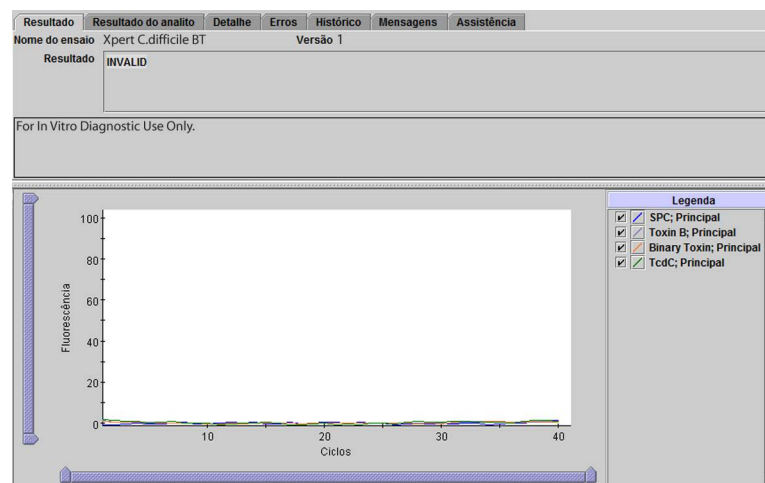
Figura 4. Exemplo de resultados C. diff toxigénico Positivo (Toxigenic C. diff Positive), Toxina binária Positivo (Binary Toxin Positive) e 027 Presumível positivo (027 Presumptive Positive)



**Figura 5. Exemplo de resultados C. diff toxigénico Negativo (Toxigenic C. diff Negative), Toxina binária Positivo (Binary Toxin Positive) e 027 Negativo (027 Negative)**



**Figura 6. Exemplo de resultados C. diff toxigénico Negativo (Toxigenic C. diff Negative), Toxina binária Negativo (Binary Toxin Negative) e 027 Negativo (027 Negative)**



**Figura 7. Exemplo de um resultado inválido**

## 14 Motivos para repetir o teste

Se ocorrer algum dos resultados de teste mencionados abaixo, repita o teste uma vez de acordo com as instruções da Secção 15.

- Um resultado **INVÁLIDO (INVALID)** indica que o SPC falhou. A amostra não foi processada adequadamente ou a PCR foi inibida.
- Um resultado **ERRO (ERROR)** indica que o controlo de verificação da sonda pode ter falhado e que o teste foi abortado, possivelmente devido ao tubo de reação não ter sido adequadamente enchido, à deteção de um problema de integridade da sonda de reagente, a terem sido excedidos os limites de pressão máxima, ou ter sido detetado um erro de posicionamento da válvula.
- **SEM RESULTADO (NO RESULT)** indica que foram colhidos dados insuficientes. Por exemplo, o utilizador parou um teste que estava a decorrer.

## 15 Procedimento de repetição do teste

Para uma repetição de teste dentro de 3 horas da obtenção de um resultado indeterminado, utilize um novo cartucho (não reutilize o cartucho) e novos reagentes.

1. Retire um novo cartucho do kit.
2. Transfira todos os conteúdos restantes da câmara de amostra para um novo frasco de reagente de amostra utilizando uma pipeta de transferência descartável.
3. Coloque no agitador de vórtice e adicione a totalidade do conteúdo do reagente de amostra à câmara de amostra do novo cartucho Xpert *C. difficile*.
4. Feche a tampa e inicie o novo teste.

Para uma repetição de teste após 3 horas da obtenção de um resultado indeterminado, repita o teste com uma nova amostra de zaragatoa da amostra do paciente original.

## 16 Limitações

- Isolados não 027 representando o toxinotipo XIV serão indicados como **C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 PRESUMÍVEL POSIT. (027 PRESUMPTIVE POS)** utilizando o teste Xpert *C. difficile* BT.
- **C. diff toxigénico NEGAT. (Toxigenic C. diff NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 PRESUMÍVEL NEGAT. (027 PRESUMPTIVE NEG)** indicados pelo Xpert *C. difficile* BT poderão significar que o gene de toxina B e/ou a deleção de *tcdC* estão abaixo do limite de deteção (Limit of Detection, LoD) do teste.
- Ocasionalmente, isolados não 027 representando os toxinotipos IV, V e X serão indicados como **C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 PRESUMÍVEL POSIT. (027 PRESUMPTIVE POS)** utilizando o teste Xpert *C. difficile* BT.
- O desempenho do teste Xpert *C. difficile* BT foi validado utilizando apenas os procedimentos detalhados neste folheto informativo. Qualquer modificação destes procedimentos pode alterar o desempenho do teste.
- Os resultados do teste Xpert *C. difficile* BT devem ser interpretados em conjunto com outros dados laboratoriais e clínicos de que o médico disponha.
- Resultados de teste incorretos podem ser originados por uma incorreta colheita de amostras, incumprimento dos procedimentos recomendados para colheita, manuseamento e conservação de amostras, erro técnico, troca de amostras ou porque o número de micro-organismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitarem resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.
- Devido ao fator de diluição associado ao procedimento de repetição de teste, é possível que as amostras positivas para *C. difficile* muito próximas do, ou equivalentes ao, limite de deteção (LoD) do teste Xpert *C. difficile* BT possam originar um resultado falso negativo na repetição do teste.
- Foi observada inibição do teste Xpert *C. difficile* BT na presença das seguintes substâncias: pasta de óxido de zinco e creme Vagisil®.
- Estirpes distintas da 027 podem causar surtos de CDI.
- Podem ocorrer resultados falsos negativos quando o organismo infetante tiver mutações genómicas, inserções, deleções ou rearranjos ou quando o teste é realizado muito cedo no curso da doença.
- Resultados positivos obtidos com doentes imunocomprometidos podem ser sinal de serem portadores de *C. difficile* assintomática.

- A detecção de ácido nucleico de *C. difficile* nas fezes confirma a presença destes organismos em pacientes com diarreia, mas pode não indicar que *C. difficile* é o agente etiológico da diarreia.
- Não foram estabelecidas características de desempenho para pacientes com idade < 2 anos.
- Mutações ou polimorfismos nas regiões de ligação do iniciador ou da sonda podem afetar a detecção dos serótipos de *C. difficile* alvo, originando resultados falsos negativos.

## 17 Valores esperados

Foi incluído no estudo clínico do teste Xpert *C. difficile* BT um total de 2293 amostras fecais não formadas de sete centros dos EUA e do Canadá. O número e a percentagem de casos positivos de *C. difficile* toxigénico por cultura, calculados por grupo etário e género, são apresentados nas tabelas abaixo.

**Tabela 2. Prevalência observada de *C. difficile* toxigénico por grupo etário<sup>a</sup>**

| Grupo etário | N           | Prevalência de <i>C. difficile</i> toxigénico (incluindo 027) | Prevalência de toxina binária | Prevalência de 027     |
|--------------|-------------|---|-------------------------------|------------------------|
| 2-5          | 16          | 37,5% (6/16)  | 12,5% (2/96)                  | 12,5% (2/96)           |
| 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>Total</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> Prevalência com base nos resultados do Xpert.

**Tabela 3. Prevalência observada de *C. difficile* toxigénico por sexo<sup>a</sup>**

| Sexo         | N           | Prevalência de <i>C. difficile</i> toxigénico (incluindo 027) | Prevalência de toxina binária | Prevalência de 027     |
|--------------|-------------|---|-------------------------------|------------------------|
| Masculino    | 1072        | 18,2% (195/1072)  | 6,3% (68/1072)                | 5,0% (54/1072)         |
| Feminino     | 1221        | 19,2% (235/1221)  | 7,9% (97/1221)                | 5,8% (71/1221)         |
| <b>Total</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> Prevalência com base nos resultados do Xpert.

## 18 Características do desempenho

### 18.1 Desempenho clínico

As características do desempenho do teste Xpert *C. difficile* BT foram determinadas num estudo multicêntrico de investigação prospetiva em sete instituições dos EUA e do Canadá, comparando o teste Xpert *C. difficile* BT com a cultura de referência, seguindo-se testes de CCCN dos isolados e tipagem de estirpe das estirpes toxigénicas através de ribotipagem por PCR.

Os sujeitos incluíram indivíduos cujos cuidados habituais exigiam testes *C. difficile*. Foi obtida uma porção de cada amostra fecal não formada restante para teste no teste Xpert *C. difficile* BT. A restante amostra excedente foi enviada para um laboratório central para cultura de referência e teste de citotoxina B. Cada amostra fecal foi inoculada em placa de ágar direta pré-reduzida de cicloserina-cefoxitina-frutose (CCFA-D) e meio líquido de cicloserina-cefoxitina-manitol com taurocolato lisoizima cisteína (CCMB-TAL). Após 24 horas, foi realizada subcultura do CCMB-TAL numa segunda placa de CCFA-E (enriquecida com CCFA). Este método de cultura enriquecida direta é designado doravante como “cultura de referência”.

Se o *C. difficile* era isolado da placa CCFA-D e o isolado era positivo no teste de CCCN, a amostra era classificada como “positiva para *C. difficile* toxigénico” e não era feita análise suplementar da placa CCFA-E. Se o *C. difficile* não era isolado da placa CCFA-D ou se o isolado era negativo no teste de CCCN, era feita análise suplementar da placa CCFA-E.

Se a CCFA-E era positiva para *C. difficile* e o isolado era positivo no teste de CCCN, a amostra era classificada como “positiva para *C. difficile* toxigénico”. A amostra era indicada como “negativa” se a CCFA-E era negativa para *C. difficile* ou se o isolado apresentava um resultado negativo no teste de CCCN.

Depois do teste de cultura de referência, os isolados positivos para *C. difficile* toxigénico eram enviados para um segundo conjunto de laboratórios de referência para identificação da estirpe através de ribotipagem por PCR.

O desempenho do teste Xpert *C. difficile* BT foi calculado em relação aos resultados da cultura direta com tipagem de estirpes e da cultura de referência com tipagem de estirpe.

## 18.2 Resultados globais

Foi testado um total de 2293 amostras utilizando o teste Xpert *C. difficile* BT, cultura e tipagem de estirpe.

### 18.2.1 Resultados do desempenho vs. cultura direta

Em relação à cultura direta com ribotipagem por PCR, o teste Xpert *C. difficile* BT demonstrou ter uma sensibilidade e especificidade para *C. difficile* toxigénico de 98,78% e 90,86%, respetivamente. O teste Xpert *C. difficile* BT também demonstrou ter uma concordância positiva de 100% e uma concordância negativa de 97,70% para 027 (ver tabela abaixo).

**Tabela 4. Xpert *C. difficile* BT Desempenho do teste vs. Cultura direta e ribotipagem por PCR**

| Cultura direta e ribotipagem por PCR            |                        |   |                |   |                   |
|---|------------------------|---|----------------|---|-------------------|
|   |                        | Toxina B + 027+   | Toxina B+ 027- | NEG   | Total             |
| <b>Xpert <i>C. difficile</i> BT<sup>b</sup></b> | <b>Toxina B + 027+</b> | 74  | 4              | 47  | 125               |
|   | <b>Toxina B+ 027-</b>  | 0   | 164            | 140   | 304 <sup>a</sup>  |
|   | <b>NEG</b>             | 0   | 3              | 1860  | 1863              |
|   | <b>Total</b>           | 74  | 171            | 2047  | 2292 <sup>a</sup> |
|   |                        | <b><i>C. difficile</i> toxigénico</b>   |                | <b><i>C. difficile</i> toxigénico / 027</b>   |                   |
|   |                        | Sensibilidade: 98,78% (242/245)<br>Especificidade: 90,86% (1860/2047)<br>Exatidão: 91,71% (2102/2292)<br>VPP <sup>c</sup> : 56,41% (242/429)<br>VPN <sup>d</sup> : 99,84% (1860/1863) |                | Concordância pos.: 100% (74/74)<br>Concordância neg.: 97,70% (2167/2218)<br>Exatidão: 97,77% (2241/2292)<br>VPP: 59,20% (74/125)<br>VPN: 100% (2218/2218) |                   |

a. Não pôde ser feita a tipagem de um isolado devido a contaminação; esta amostra não está incluída nas estatísticas do desempenho.

b. Os resultados Xpert mostrados referem-se à primeira ou à segunda tentativa. Aproximadamente 3,2% das amostras apresentaram resultado indeterminado na primeira tentativa.

c. Valor preditivo positivo

d. Valor preditivo negativo



### 18.2.2 Desempenho vs. cultura de referência

Em relação à cultura de referência com ribotipagem por PCR, o teste Xpert *C. difficile* BT demonstrou ter uma sensibilidade e especificidade para *C. difficile* toxigênico de 93,39% e 94,02%, respectivamente. O teste Xpert *C. difficile* BT também demonstrou ter uma concordância positiva de 98,89% e uma concordância negativa de 98,36% para 027 (ver Tabela 5).

**Tabela 5. Desempenho do teste Xpert *C. difficile* BT vs. cultura de referência e ribotipagem por PCR**

| Cultura de referência e ribotipagem por PCR     |                        |   |                |   |                   |
|---|------------------------|---|----------------|---|-------------------|
|   |                        | Toxina B + 027+   | Toxina B+ 027- | NEG   | Total             |
| <b>Xpert <i>C. difficile</i> BT<sup>b</sup></b> | <b>Toxina B + 027+</b> | 89  | 5              | 31  | 125               |
|   | <b>Toxina B+ 027-</b>  | 0   | 217            | 86  | 303 <sup>a</sup>  |
|   | <b>NEG</b>             | 1   | 21             | 1841  | 1863              |
|   | <b>Total</b>           | 90  | 243            | 1958  | 2291 <sup>a</sup> |
|   |                        | <b><i>C. difficile</i> toxigênico</b>   |                | <b><i>C. difficile</i> toxigênico / 027</b>   |                   |
|   |                        | Sensibilidade: 93,39% (311/333)<br>Especificidade: 94,02% (1841/1958)<br>Exatidão: 93,93% (2152/2291)<br>VPP <sup>c</sup> : 72,66% (311/428)<br>VPN <sup>d</sup> : 98,82% (1841/1863) |                | Concordância pos.: 98,89% (89/90)<br>Concordância neg.: 98,36% (2165/2201)<br>Exatidão: 98,38% (2254/2291)<br>VPP: 71,20% (89/125)<br>VPN: 99,95% (2165/2166) |                   |

a. Não pôde ser feita a tipagem de dois isolados devido a contaminação; as amostras não estão incluídas nas estatísticas do desempenho.

b. Os resultados Xpert mostrados referem-se à primeira ou à segunda tentativa. Aproximadamente 3,2% das amostras apresentaram resultado indeterminado na primeira tentativa.

c. Valor preditivo positivo.

d. Valor preditivo negativo.

### 18.2.3 Resumo

A tabela abaixo lista o número total de amostras para cada resultado de teste diferente nas 2293 amostras incluídas na análise de dados do desempenho clínico.

**Tabela 6. Xpert *C. difficile* BT Desempenho global do teste**

| Resultado do teste   | N              |
|--|----------------|
| C. diff toxigênico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária NEGAT. (Binary Toxin NEG); 027 NEGAT. (027 NEG)                        | 272            |
| C. diff toxigênico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG)                        | 36             |
| C. diff toxigênico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 PRESUMÍVEL POSIT. (027 PRESUMPTIVE POS) | 122            |
| C. diff toxigênico NEGAT. (Toxigenic C. diff NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG)                        | 7 <sup>a</sup> |

| Resultado do teste  | N           |
|---|-------------|
| <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária NEGAT. (Binary Toxin NEG); 027 NEGAT. (027 NEG) | 1856        |
| <b>Total</b>  | <b>2293</b> |

<sup>a</sup> Testes adicionais mostraram que 4 das 7 estirpes apresentavam o gene de toxina B.

#### 18.2.4 Utilização de antibióticos

Dos 2293 casos incluídos no conjunto de dados principal, a utilização de antibióticos nos 2 meses anteriores à colheita da amostra foi relatada em 1630, tendo a não-utilização de antibióticos sido confirmada em 570; desconhece-se o estado da toma de antibióticos em 93 casos. A utilização de antibióticos não provocou nenhuma diferença estatisticamente significativa no desempenho do teste.

## 19 Desempenho analítico

### 19.1 Especificidade analítica

Foram recolhidas, quantificadas e testadas cinquenta e cinco (55) estirpes utilizando o teste Xpert *C. difficile* BT. As estirpes foram obtidas através da American Type Culture Collection (ATCC), da Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo (CCUG), da Coleção Alemã de Micro-organismos e Culturas Celulares (DSMZ), dos Centers for Disease Control and Prevention (CDC) dos EUA, do Instituto de Saúde Pública (Maribor, Eslovénia) e do Instituto Sueco para Controlo de Doenças Infecciosas (SMI).

Das espécies bacterianas testadas, foram incluídas dez (10) estirpes de *C. difficile* não toxigénico e onze (11) espécies de *Clostridium* não *C. difficile*. Os organismos testados foram identificados como Gram-positivos (37) ou Gram-negativos (18). Os organismos foram ainda classificados como aeróbios (24), anaeróbios (29) ou micro aeróbios (2).

Cada estirpe foi testada em triplicado em concentrações que variaram entre  $1,1 \times 10^8$  e  $2,2 \times 10^{10}$  UFC/zaragatoa. Incluíram-se no estudo controlos positivos e negativos.

Nas condições do estudo, todos os isolados foram indicados como ***C. diff* toxigénico NEGAT. (Toxigenic *C. diff* NEG); Toxina binária NEGAT. (Binary Toxin NEG); 027 NEGAT. (027 NEG)** (ver Tabela 7). A especificidade analítica foi de 100%.

Uma série adicional de espécies de *Clostridium* não difíceis foi testada para demonstrar a especificidade do ensaio de toxina binária.

**Tabela 7. Resultados do estudo de especificidade do gene de toxina binária**

| Género             | Espécie                            | Número testado | Toxina A/B   | Toxina binária |
|--------------------|------------------------------------|----------------|--------------|----------------|
| <i>Clostridium</i> | <i>aldenense</i>                   | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>semelhante a aminovalericum</i> | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>baratii</i>                     | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>bartletti</i>                   | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>bifermantans</i>                | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>bolteae</i>                     | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>butyricum</i>                   | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>cadaveris</i>                   | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>celerescens</i>                 | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>citroniae</i>                   | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |

| Género             | Espécie                      | Número testado | Toxina A/B   | Toxina binária |
|--------------------|------------------------------|----------------|--------------|----------------|
| Clostridium        | clostridioforme              | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>cochlearium</i>           | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>colicanis</i>             | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>disporicum</i>            | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>fallax</i>                | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>glycolicum</i>            | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>hastiforme</i>            | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>hathewayi</i>             | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>hylemonae</i>             | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>innocuum</i>              | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>lactatifermentans</i>     | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>lavalense</i>             | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>limosum</i>               | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>mangenotii</i>            | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>semelhante a mayombei</i> | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>novyi</i>                 | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>paraputrificum</i>        | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>perfringens</i>           | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>perfringens tipo E</i>    | 3              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>ramosum</i>               | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>sardiniense</i>           | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>scindens</i>              | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>septicum</i>              | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>sordellii</i>             | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>espécie</i>               | 19             | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>spiroforme</i>            | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>sporogenes</i>            | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>grupo subterminale</i>    | 3              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>symbiosum</i>             | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>tertium</i>               | 2              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>tetani</i>                | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>xylano/aerotolerans</i>   | 1              | negat. (neg) | negat. (neg)   |
| <i>Clostridium</i> | <i>difficile RT 027</i>      | 5              | +            | +              |
| <i>Clostridium</i> | <i>difficile RT 078</i>      | 2              | +            | +              |

Obteve-se um resultado negativo para todos os isolados que não continham toxina binária no teste Xpert *C. difficile* BT.

## 19.2 Sensibilidade analítica

Realizaram-se estudos para determinar os intervalos de confiança de 95% para o limite de deteção (LoD) analítico de *C. difficile* diluído numa matriz fecal de origem humana que pode ser detetado pelo teste Xpert *C. difficile* BT. A matriz fecal consistiu em fezes humanas líquidas (negativas para *C. difficile* no teste Xpert *C. difficile* BT) diluídas em PBS com 15% de glicerol. O LoD é definido como o número mais baixo de unidades formadoras de colónias (UFC) por zaragatoa que pode ser continuamente reproduzido e distinguido de amostras negativas com 95% de confiança.

Réplicas de 20 foram avaliadas em cada concentração de *C. difficile* testada (UFC/zaragatoa) para 7 estirpes diferentes de *C. difficile* representando os toxinótipos 0 (duas estirpes), III (duas estirpes), IV, V e VIII (um de cada estirpe).

A estimativa e os intervalos de confiança foram determinados utilizando regressão logística com dados (número de resultados positivos por número de réplicas em cada nível) da gama de UFC testadas. Os intervalos de confiança foram determinados utilizando estimativas de probabilidade máxima nos parâmetros do modelo logístico, utilizando a matriz de variância-covariância para amostras grandes. As estimativas do ponto do LoD e dos intervalos de confiança de 95% superior e inferior para cada toxinótipo de *C. difficile* testado são apresentadas resumidamente na tabela abaixo.

**Tabela 8. Intervalos de confiança de 95% para o LoD analítico — *C. difficile***

| ID da estirpe             | Toxinotipo | LoD <sub>95%</sub> (UFC/zaragatoa) | IC de 95% inferior | IC de 95% superior |
|---------------------------|------------|------------------------------------|--------------------|--------------------|
| 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> por ribotipagem por PCR

Os resultados deste estudo indicam que o teste Xpert *C. difficile* BT produzirá um resultado positivo para *C. difficile* 95% das vezes para uma amostra fecal contendo 460 UFC/zaragatoa e um resultado presumível positivo para 027 95% das vezes para uma zaragatoa contendo 75 UFC.

Para além da determinação do LoD, foram testadas com o ensaio Xpert *C. difficile* BT dezoito estirpes de *C. difficile* representando os toxinótipos 0 e 12 toxinótipos variantes, incluindo quatro isolados do toxinótipo III de 027. As estirpes de *C. difficile* foram seleccionadas para representar geralmente a maioria dos toxinótipos de *C. difficile* encontrados na prática.

Foram preparadas culturas de stock através da suspensão do crescimento bacteriano de placas de ágar em tampão PBS contendo 15% de glicerol. A concentração de cada stock foi ajustada para 1,4 a 5,9 unidades McFarland. Todas as estirpes foram diluídas serialmente a aproximadamente 900 UFC/zaragatoa e testadas em triplicado.

Nas condições deste estudo, o ensaio Xpert *C. difficile* BT identificou correctamente todas as 18 estirpes testadas como **C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS)**. Também estiveram incluídos no painel 8 toxinótipos indicados como positivos para produção de toxina binária (CDT). Todos apresentaram resultado positivo para CDT utilizando o ensaio Xpert *C. difficile* BT. Todos os quatro isolados de 027 representando o toxinótipo III foram correctamente identificados como **C. diff toxigénico POSIT. (Toxigenic C. diff POS); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 PRESUMÍVEL POSIT. (027 PRESUMPTIVE POS)**.

Sete isolados de *C. difficile* de ribotipo de PCR 033 e três isolados adicionais de *C. difficile* de ribotipo de PCR relacionado que foram negativos para *tcdA* e *tcdB* mas produziram toxina binária (CDT)<sub>22</sub> foram testados com o ensaio Xpert *C. difficile* BT. Todos os 10 isolados apresentaram resultados positivos apenas para toxina binária (ver Tabela 9), confirmando que o ensaio consegue detectar isolados correspondentes a toxina A-, toxina B- e toxina binária +.

**Tabela 9. Teste de organismos produtores apenas de toxina binária (toxina A-, toxina B-) com o ensaio Xpert *C. difficile* BT**

| Organismo           | ID da estirpe | Ribotipo de PCR | Resultado do teste  |
|---------------------|---------------|-----------------|---|
| <i>C. difficile</i> | CD12-066      | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | CD12-203      | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | CD13-022      | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | 06-08-02      | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | 06-20-01      | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | NT077         | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | AI-0016       | 238             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | WA-0012       | 239             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | ES-0145       | 288             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |
| <i>C. difficile</i> | R-0010        | 033             | <i>C. diff</i> toxigénico NEGAT. (Toxigenic <i>C. diff</i> NEG); Toxina binária POSIT. (Binary Toxin POS); 027 NEGAT. (027 NEG) |

### 19.3 Substâncias que interferem

Foram testadas quanto a interferência com o teste Xpert *C. difficile* BT vinte e uma (21) substâncias biológicas e químicas ocasionalmente usadas ou encontradas em amostras fecais. As substâncias potencialmente interferentes incluem, entre outras, creme Vagisil e pasta de óxido de zinco (consulte a Secção 16, Limitações). As 19 substâncias listadas na tabela abaixo não mostraram qualquer interferência detetável com o teste Xpert *C. difficile* BT.

Tabela 10. Substâncias testadas e que não mostraram interferência

| Substância   | Substância   |
|--|--|
| Sangue total<br>Hospital universitário Karolinska    | K-Y Jelly/Gelée®<br>McNeil-PPC   |
| Mucina (porcina)<br>Sigma                            | Vaselina<br>Unilever   |
| Kaopectate®<br>Chattem                               | Dulcolax®<br>Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals                              |
| Immodium®<br>McNeil-PPC                              | Preparation H em toalhetes individuais<br>Wyeth Consumer Healthcare            |
| Pepto-Bismol®<br>Procter & Gamble                    | Vaginal Contraceptive Film (VCF)<br>Apothecus Pharmaceutical                   |
| Preparation H®<br>Wyeth Consumer Healthcare          | Vancomicina<br>Fluka   |
| Fleet®<br>CB Fleet Company                           | Metronidazol<br>Actavis  |
| Gorduras fecais<br>Hospital universitário Karolinska | Anusol® Plus<br>TM Warner-Lambert Company                                      |
| Monistat®<br>McNeil-PPC                              | Sulfato de bário E-Z HDTM de elevada densidade para suspensão<br>E-Z-EM Canada |
| Creme de hidrocortisona<br>Longs Drugs               |  |

## 20 Reprodutibilidade

Foi testado um painel de 7 amostras com concentrações variáveis de *C. difficile* toxigénico e *C. difficile* de ribotipo 027 em 10 dias diferentes, por 2 operadores diferentes, em cada um dos 3 locais (7 amostras x 2 operadores/dia x 10 dias x 3 locais). Foi utilizado um lote do teste Xpert *C. difficile* BT em cada um dos 3 locais de teste. Os testes Xpert *C. difficile* BT foram realizados de acordo com o procedimento do teste Xpert *C. difficile* BT. Os resultados são apresentados resumidamente nas duas tabelas que se seguem.

Tabela 11. Sumário dos resultados da reprodutibilidade (todos)

| ID da amostra  | % de concordância <sup>a</sup> |                    |                    | % de concordância total por amostra |
|--|--------------------------------|--------------------|--------------------|-------------------------------------|
|  | Local 1                        | Local 2            | Local 3            |                                     |
| Negativa   | 100%<br>(20/20)                | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(60/60)                     |
| <i>C. difficile</i> toxigénico negativo elevado                  | 100%<br>(20/20)                | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(60/60)                     |
| <i>C. difficile</i> toxigénico positivo baixo                    | 100%<br>(20/20)                | 85%<br>(17/20)     | 85%<br>(17/20)     | 90%<br>(54/60)                      |
| <i>C. difficile</i> toxigénico positivo moderado                 | 100%<br>(20/20)                | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(60/60)                     |
| <i>C. difficile</i> toxigénico de ribotipo 027 negativo elevado  | 100%<br>(20/20)                | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(60/60)                     |
| <i>C. difficile</i> toxigénico de ribotipo 027 positivo baixo    | 100%<br>(20/20)                | 95%<br>(19/20)     | 95%<br>(19/20)     | 96,7%<br>(58/60)                    |
| <i>C. difficile</i> toxigénico de ribotipo 027 positivo moderado | 100%<br>(20/20)                | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(20/20)    | 100%<br>(60/60)                     |
| % de concordância total por local                                | 100%<br>(140/140)              | 97,1%<br>(136/140) | 97,1%<br>(136/140) | 98,1%<br>(412/420)                  |

<sup>a</sup> Para amostras negativas e negativas elevadas, a % de concordância = (n.º de resultados negativos/total de amostras executadas); para amostras positivas baixas e moderadas, a % de concordância = (n.º de resultados positivos/total de amostras executadas).

Tabela 12. Sumário de resultados do valor Ct por nível de amostra e sonda

| SPC  |       |            |       |
|--|-------|------------|-------|
| Nível  | Méd.  | Desv. pad. | CV    |
| <i>C. difficile</i> toxigénico neg. elevado  | 32,17 | 0,59       | 1,83% |
| <i>C. difficile</i> toxigénico pos. baixo    | 32,14 | 0,53       | 1,66% |
| <i>C. difficile</i> toxigénico pos. moderado | 31,98 | 0,47       | 1,47% |
| 027 negat. elevado                           | 32,11 | 0,65       | 2,03% |
| 027 posit. baixo                             | 31,93 | 0,72       | 2,26% |
| 027 posit. moderado                          | 31,96 | 0,61       | 1,90% |
| Neg.   | 32,26 | 0,72       | 2,22% |
| tcdB (toxina B)                              |       |            |       |
| Nível  | Méd.  | Desv. pad. | CV    |
| <i>C. difficile</i> toxigénico neg. elevado  | 39,59 | 0,70       | 1,77% |
| <i>C. difficile</i> toxigénico pos. baixo    | 35,88 | 0,81       | 2,24% |
| <i>C. difficile</i> toxigénico pos. moderado | 32,17 | 0,45       | 1,39% |

|                     |       |      |       |
|---------------------|-------|------|-------|
| 027 negat. elevado  | 39,11 | 0,98 | 2,50% |
| 027 posit. baixo    | 35,49 | 0,58 | 1,65% |
| 027 posit. moderado | 32,10 | 0,63 | 1,97% |

Foi testado um painel adicional de 6 amostras, 3 negativas e 3 negativas elevadas para *C. difficile* toxigénico, em 5 dias diferentes, por 2 operadores diferentes, em cada um dos 3 locais (6 amostras x 2 operadores/dia x 5 dias x 3 locais). As amostras negativas elevadas foram preparadas numa concentração inferior ao LoD, esperando-se obter um resultado negativo 20 a 80% das vezes. Foi utilizado um lote do teste Xpert *C. difficile* BT em cada um dos 3 locais de teste. Os testes Xpert *C. difficile* BT foram realizados de acordo com o procedimento do teste Xpert *C. difficile* BT. Os resultados são apresentados resumidamente na tabela abaixo.

**Tabela 13. Sumário dos resultados adicionais da reprodutibilidade das amostras**

| ID da amostra  | % de concordância <sup>a</sup> |                 |                  | % de concordância total por amostra |
|--|--------------------------------|-----------------|------------------|-------------------------------------|
|  | Local 1                        | Local 2         | Local 3          |                                     |
| Negativa   | 100%<br>(30/30)                | 100%<br>(30/30) | 100%<br>(30/30)  | 100%<br>(90/90)                     |
| <i>C. difficile</i> toxigénico negativo elevado <sup>b</sup> | 60%<br>(18/30)                 | 60%<br>(18/30)  | 53,3%<br>(16/30) | 57,8%<br>(52/90)                    |

<sup>a</sup> (n.º de resultados negativos/total de amostras negativas elevadas processadas)

<sup>b</sup> 20-80% de concordância esperada para amostra negativa elevada

## 21 Referências

- 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
- Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
- Bignardi 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, 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.
- 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
- 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.
- Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. Infect Immun 1998;56:2299-2306.
- 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.
- Wilkins TD, Lysterly 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.
- Bauer MP, Notermans DW, van Benthem BH, Brazier JS, et al. *Clostridium difficile* infection in Europe: a hospital-based survey. Lancet. 2011;377:63-73.



16. Walker AS, Eyre DW, Wyllie DH, et al. Relationship between bacterial strain type, host biomarkers, and mortality in *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis*. 2013; 56:1589-1600.
17. See I, Mu Y, Cohen J, Beldavs ZG, et al. NAP1 strain type predicts outcomes from *Clostridium difficile* infection. *Clin Infect Dis* 2014;58:1394-1400.
18. Kuijper EJ, Coignard B, Tull P. ESCMID Study Group for *Clostridium difficile*; EU Member States; European Centre for Disease Prevention and Control. Emergence of *Clostridium difficile*-associated disease in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12 Suppl 6:2-18.
19. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, et al. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*, *J Clin Microbiol*. 2007 Jan;45:215-221. Erratum in: *J Clin Microbiol*. 2007 Jun;45(6):2103.
20. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2009;30(2):156-162.
21. Eckert C, Emirian A, Le Monnier A, et al. Prevalence and pathogenicity of binary toxin-positive *Clostridium difficile* strains that do not produce toxins A and B. *New Microbes New Infect*. 2014;8;3:12-7.
22. Androga GO, McGovern AM, Elliott B, et al. Evaluation of the Cepheid Xpert *C. difficile*/Epi and meridian bioscience illumigene *C. difficile* assays for detecting *Clostridium difficile* ribotype 033 strains. *J Clin Microbiol*. 2015;53:973-5
23. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
24. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Guideline aprovada. Document M29 (consultar a edição mais recente).
25. REGULAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DO PARLAMENTO EUROPEU E DO CONSELHO, de 16 de dezembro de 2008, relativo à classificação, rotulagem e embalagem de substâncias e misturas, que altera e revoga a lista de recomendações de prudência, as Diretivas 67/548/CEE e 1999/45/CE, e altera o Regulamento (CE) n.º 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 Locais das sedes da 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 Assistência técnica

### Antes de nos contactar

Antes de contactar a assistência técnica da Cepheid, reúna as seguintes informações:

- Nome do produto
- Número de lote
- Número de série do instrumento
- Mensagens de erro (se houver alguma)
- Versão de software e, caso se aplique, número de Etiqueta de serviço (Service Tag) do computador

### Assistência técnica nos Estados Unidos

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


















### Assistência técnica em França

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

As informações de contacto de todos os escritórios da assistência técnica da Cepheid estão disponíveis no nosso website: [www.cepheid.com/en/support/contact-us](http://www.cepheid.com/en/support/contact-us).

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em [www.cepheid.com/en/support/support/order-management](http://www.cepheid.com/en/support/support/order-management).

## 24 Tabela de símbolos

| Símbolo   | Significado   |
|---|---|
|    | Número de catálogo                                  |
|    | Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i> |
|    | Não utilizar mais de uma vez                        |
|    | Código do lote                                      |
|    | Consultar as instruções de utilização               |
|    | Cuidado   |
|    | Fabricante  |
|    | País de fabrico                                     |
|    | Contém suficiente para $n$ testes                   |
|  | Controlo  |
|  | Prazo de validade                                   |
|  | Marcação CE – Conformidade Europeia                 |
|  | Limites de temperatura                              |
|  | Riscos biológicos                                   |
|  | Atenção   |
|  | Mandatário na Suíça                                 |
|  | Importador  |



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 Histórico de revisões

: 301-6190-PT, Rev. D a Rev. E

| Secção                  | Descrição da alteração                                   |
|-------------------------|--|
| Sensibilidade analítica | Correção de um erro na secção "Sensibilidade analítica". |
| Tabela de símbolos      | Correção de um erro na secção "Tabela de símbolos".      |