

Xpert[®] C. difficile

REF GXCDIFFICILE-CE-10

Notice d'utilisation

IVD CE

Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®], and Xpert[®] 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.

© 2011–2023 Cepheid.

See Section 27, Revision History for a description of changes.

Cepheid[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques commerciales de Cepheid enregistrées aux États-Unis et dans d'autres pays.

Toutes les autres marques commerciales sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE D'UTILISATION. AUCUN AUTRE DROIT N'EST CONCÉDÉ QUE CE SOIT EXPRESSÉMENT, DE FAÇON IMPLICITE OU PAR PRÉCLUSION. DE PLUS, AUCUN DROIT DE REVENTE N'EST CONCÉDÉ AVEC L'ACHAT DE CE PRODUIT.

© 2011–2023 Cepheid.

Voir Historique des révisions Section 27 pour une description des modifications.

Xpert[®] C. difficile

Réservé au diagnostic *in vitro*.

1 Nom de marque déposée

Xpert[®] C. difficile

2 Nom commun ou usuel

Test Xpert C. difficile

3 Utilisation prévue

Le test Xpert C. difficile effectué sur le Cepheid GeneXpert[®] Instrument Systems est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* pour l'identification et la différenciation rapides de la toxine B et de la toxine binaire à partir de prélèvements de selles appropriés provenant de patients chez lesquels une infection à *Clostridioïde difficile* (ICD) est suspectée. Le test utilise une méthode de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter le C. difficile toxigène, qui est associé aux ICD. Le test Xpert C. difficile est prévu comme aide au diagnostic des ICD. Des analyses concomitantes sont nécessaires uniquement si un typage supplémentaire est requis.

4 Synthèse et description

Clostridium difficile (C. difficile) est un bacille anaérobie sporulé Gram positif, dont la responsabilité étiologique a été établie en 1978¹. Les symptômes d'une infection à *Clostridioïde difficile* (ICD) vont de la diarrhée à la colite pseudo-membraneuse grave, qui peut être mortelle². Chez l'adulte en bonne santé, la flore bactérienne mature du côlon est en général résistante à la colonisation par C. difficile³. Si la flore colique normale est altérée, la résistance à la colonisation est cependant perdue. Le facteur de risque le plus courant est la prise d'antibiotiques.⁴ Les principaux facteurs de virulence de C. difficile sont l'entérotoxine A et la cytotoxine B⁵. Les gènes codant pour la toxine A (*tcdA*) et la toxine B (*tcdB*) font partie du locus de pathogénicité (PaLoc)^{6,7}. La plupart des souches pathogènes sont positives à la toxine A et à la toxine B (A+B+), même si des isolats de variants négatifs à la toxine A et positifs à la toxine B (A-B+) ont été identifiés comme étant pathogènes⁸. Certaines souches de C. difficile produisent également une ADP-ribosyltransférase spécifique de l'actine désignée CDT ou toxine binaire. Le locus de la toxine binaire contient deux gènes (*cdtA* et *cdtB*) et se situe en dehors du PaLoc⁹⁻¹¹. Depuis quelques années, des épidémies d'ICD ont été provoquées par des souches « hypervirulentes » et résistantes aux fluoroquinolones appartenant au PCR-ribotype 027, PFGE type NAP1 et REA type B1^{8,12}. Ces souches présentent une production de toxine accrue attribuée aux délétions dans le gène régulateur *tedC*^{13,14}.

Le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (CEPCM) a identifié un besoin urgent de tests de diagnostic rapide avec de meilleures performances que les tests actuellement disponibles pour C. difficile¹². En règle générale, le diagnostic de C. difficile est fondé sur la détection de la toxine A ou B. La procédure laborieuse des tests de cytotoxicité cellulaire est encore considérée comme le test de référence en raison de sa spécificité élevée^{15,16}. Plusieurs immunoanalyses enzymatiques rapides ont été développées pour la détection des toxines A et B. Ces tests ont cependant une sensibilité et une spécificité réduites par comparaison au test de cytotoxicité cellulaire. Récemment, des méthodes de PCR pour la détection de la toxine A et/ou B ont été développées avec une sensibilité et une spécificité élevées par comparaison au test de cytotoxicité cellulaire et aux immunoanalyses. Cependant, aucun test PCR standardisé n'est actuellement commercialisé pour la détection de la toxine A et de la toxine B¹⁷.

5 Principe de la procédure

Le GeneXpert Instrument Systems automatise et intègre la préparation des échantillons, l'extraction de l'acide nucléique, l'amplification et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes par PCR et RT-PCR en temps réel. Les systèmes se composent d'un instrument, d'un ordinateur et d'un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests sur les échantillons prélevés et l'affichage des résultats. Les systèmes nécessitent l'utilisation des cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs pour la PCR et hébergent les processus d'extraction de l'ADN et de PCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les échantillons est réduite au minimum. Pour une description complète du système, voir le *GeneXpert Dx System Operator Manual* et/ou le *GeneXpert Infinity System Operator Manual* approprié.

Le test Xpert C. difficile comprend les réactifs nécessaires pour la détection de C. difficile toxigène, la détection de C. difficile toxigène présumé 027/NAP1/BI ainsi que pour le contrôle du traitement de l'échantillon (CTE). Le CTE est présent pour confirmer le traitement d'amplification adéquat et surveiller la présence d'inhibiteurs lors de la réaction de PCR. Le contrôle de vérification des sondes (CVS) confirme la réhydratation des réactifs et le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche et que tous les réactifs, y compris les sondes et les fluorochromes, sont présents et fonctionnels dans la cartouche.

Les amorces et les sondes du test Xpert C. difficile détectent des séquences sur les gènes codant pour la toxine B (*tcdB*), la toxine binaire (*cdt*) et la délétion *tcdC* au nt 117 (*tcdCΔ117*).

6 Matériel fourni

Le kit Xpert C. difficile contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons cliniques ou échantillons de contrôle qualité.

Le kit contient les éléments suivants :

Xpert C. difficile Cartouches de test avec tubes réactionnels intégrés	10
<ul style="list-style-type: none"> • Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées) • Réactif 1 • Réactif 2 (hydroxyde de sodium) 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 de chaque par cartouche • 3,0 ml par cartouche • 3,0 ml par cartouche
Sachets de réactif Xpert C. difficile	10
<ul style="list-style-type: none"> • Réactif échantillon (thiocyanate de guanidinium) 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 x 2,0 ml par sachet
CD	1 par kit
<ul style="list-style-type: none"> • Fichiers de définition du test (Assay Definition Files, ADF) • Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GeneXpert • Mode d'emploi (notice d'utilisation) 	

Remarque

Des fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com, dans l'onglet ASSISTANCE (SUPPORT).

Remarque

La sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

7 Conservation et manipulation

- Stocker le kit Xpert C. difficile entre 2 °C et 28 °C jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette.
- Ne pas utiliser le réactif échantillon ou les cartouches après leur date de péremption.

- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est humide ou a fui.
- Le réactif échantillon est un liquide limpide et incolore. Ne pas utiliser le réactif échantillon s'il est devenu trouble ou s'il est décoloré.

8 Matériel requis mais non fourni

- GeneXpert Dx System ou GeneXpert Infinity System (numéro de référence différent selon la configuration) : Système GeneXpert, ordinateur avec logiciel exclusif GeneXpert, lecteur de code-barres et manuel d'utilisation.
- Pour GeneXpert Dx System: logiciel version 4.3 ou ultérieure.

Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le Support Technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.

- Agitateur à vortex
- Pipettes de transfert jetables stériles
- Écouvillon sec pour le transfert du prélèvement de selle, Cepheid Sample Collection Device numéro de référence 900-0370 (Copan Venturi Transystem® Culture, 139CFA) ou Cepheid SingleUse Disposable Swab numéro de référence SDPS-120 (Copan 138CS01.PH).

9 Avertissements et mises en garde

- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches et les réactifs usagés, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard puisqu'il est souvent impossible de déterminer ceux qui pourraient être infectieux. Les Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies) et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons ^{18,19}.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Réaliser le test Xpert C. difficile en dehors des plages recommandées de température et de durée de stockage peut produire des résultats erronés ou non valides.
- Ne pas agiter la cartouche. L'agitation ou la chute de la cartouche après l'ouverture de son couvercle peut conduire à des résultats non valides.
- Ne pas placer l'étiquette du n° Id de l'échantillon sur le couvercle ou sur l'étiquette à code-barres de la cartouche. Ne pas utiliser une cartouche dont l'étiquette à code-barres est endommagée.
- Le test Xpert C. difficile ne fournit pas de résultats de sensibilité. La culture et les tests de sensibilité nécessitent du temps supplémentaire.
- Ne pas remplacer les réactifs du test Xpert C. difficile par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert C. difficile, sauf pour l'ajout de l'échantillon et des réactifs ou pour répéter un test.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir retirée de son emballage.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Chaque cartouche Xpert C. difficile à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Porter une blouse de laboratoire propre et des gants. Changer de gants entre chaque échantillon.
- En cas de contamination de la zone de travail ou de l'équipement avec des échantillons ou des contrôles, nettoyer minutieusement la zone contaminée avec une dilution d'eau de Javel domestique au 1/10, puis répéter le nettoyage de la zone de travail avec de l'éthanol dénaturé à 70 %. Essuyer et laisser sécher complètement les surfaces de travail avant de poursuivre.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être

éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].

- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.

10 Risques chimiques^{20,21}

- Pictogramme de danger SGH ONU: 
- Mention d'avertissement : ATTENTION
- **Mentions de danger SGH ONU**
 - Nocif en cas d'ingestion
 - Provoque une irritation cutanée
 - Provoque une sévère irritation des yeux
- **Conseils de prudence SGH ONU**
 - **Prévention**
 - Se laver soigneusement après manipulation.
 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.
 - Éviter le rejet dans l'environnement.
 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
 - **Réponse**
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon.
 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
 - Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
 - Si l'irritation des yeux persiste : consulter un médecin.
 - EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
 - Rincer la bouche.
 - **Stockage/Mise au rebut**
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

11 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

1. Recueillir les selles non moulées dans un récipient propre. Observer les directives de l'établissement pour le recueil des échantillons pour les tests *C. difficile*.
2. Étiqueter avec le numéro Id du patient et envoyer au laboratoire pour analyse.
3. Stocker l'échantillon entre 2 °C et 8 °C. L'échantillon est stable pendant une période maximale de 5 jours lorsqu'il est conservé entre 2 °C et 8 °C. Les échantillons peuvent aussi être conservés à température ambiante (entre 20 °C et 30 °C) pendant une période maximale de 24 heures.

12 Procédure

12.1 Préparation de la cartouche

Important Démarrer le test dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche.

Pour ajouter l'échantillon à la cartouche:

1. Retirer la cartouche et le réactif échantillon de l'emballage.

2. Immerger brièvement un écouvillon dans l'échantillon de selles non formées. Il n'est pas nécessaire de tremper complètement l'écouvillon.
3. Introduire l'écouvillon dans le tube qui contient le réactif échantillon.

Remarque Utiliser un tampon de gaze stérile pour réduire au minimum le risque de contamination.

4. Tenir l'écouvillon par la tige à proximité du bord du tube, sortir l'écouvillon de quelques millimètres pour l'éloigner du fond du tube puis appuyer la tige contre le bord du tube pour la casser. S'assurer que l'écouvillon est suffisamment court pour permettre au capuchon d'être bien refermé.
5. Fermer le couvercle et mélanger au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes.
6. Ouvrir le couvercle de la cartouche. À l'aide d'une pipette de transfert propre, transférer tout le contenu du réactif échantillon dans la chambre échantillon de la cartouche.
7. Fermer le couvercle de la cartouche.



Figure 1. Cartouche (vue de dessus)

12.2 Démarrage du test

Important Si un système *GeneXpert Dx* est utilisé, avant de démarrer le test, vérifier qu'il utilise le logiciel *GeneXpert Dx* version 4.7b ou ultérieure et que le fichier de définition du test correct est importé dans le logiciel.

Important Si un système *GeneXpert Infinity* est utilisé, avant de démarrer le test, vérifier que le logiciel *Xpertise* version 6.4b ou ultérieure est installé sur le système et que le fichier de définition du test correct est importé dans le logiciel.

Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour des instructions détaillées, consulter le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*, selon le modèle utilisé.

Remarque Les étapes à suivre peuvent être différentes si l'administrateur du système a modifié le schéma opérationnel par défaut du système.

1. Mettre le système *GeneXpert* sous tension :
 - Si l'instrument *GeneXpert Dx* est utilisé, commencer par mettre l'instrument *GeneXpert Dx* sous tension, puis allumer l'ordinateur. Le logiciel *GeneXpert* démarrera automatiquement. Si ce n'est pas le cas, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel *GeneXpert Dx* sur le bureau Windows®.
 - ou
 - Si l'instrument *GeneXpert Infinity* est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel *Xpertise* démarrera automatiquement. Si ce n'est pas le cas, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel *Xpertise* sur le bureau Windows®.
2. Se connecter au logiciel du système *GeneXpert* en saisissant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
3. Dans la fenêtre du système *GeneXpert*, cliquer sur **Créer un test (Create Test)** (*GeneXpert Dx*) ou sur **Commandes (Orders)** et sur **Commander test (Order Test)** (*Infinity*). La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id du patient (Scan Patient ID Barcode)** s'ouvre.

4. Lire ou saisir l'ID patient (N° Id du patient). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id du patient (Patient ID). Le N° Id du patient (Patient ID) est associé aux résultats du test et est affiché dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**, ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id de l'échantillon (Scan Sample ID Barcode)** s'affiche.
5. Lire ou saisir le n° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID). Le numéro d'identification de l'échantillon est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres de la cartouche (Scan Cartridge Barcode)** s'ouvre.
6. Scannez le code-barres sur la cartouche. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), n° du lot de réactif (Reagent Lot ID), n° de série de la cartouche (Cartridge S/N) et Date de péremption (Expiration Date).

Remarque

S'il n'est pas possible de scanner le code-barres sur la cartouche, refaire le test avec une nouvelle cartouche. Une fois le code-barres de la cartouche scanné dans le logiciel, si le fichier de définition du test n'est pas disponible, un écran indiquant que le fichier de définition du test n'est pas chargé sur le système s'affiche. Si l'écran apparaît, contacter le service du Support Technique de Cepheid.

7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)** (GeneXpert Dx) ou sur **Soumettre (Submit)** (Infinity). Dans la boîte de dialogue qui s'affiche, saisir le mot de passe, le cas échéant.
8. Pour le système *GeneXpert Infinity*, placer la cartouche sur le tapis roulant. La cartouche sera automatiquement chargée, le test sera exécuté et la cartouche usagée sera placée dans le conteneur à déchets.

ou

Pour l'instrument GeneXpert Dx :

- a) Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
- b) Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
- c) Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir. Puis, enlever la cartouche.
- d) Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

13 Affichage et impression des résultats

Cette section énumère les étapes de base pour l'affichage et l'impression des résultats. Pour des instructions plus détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*, selon le modèle utilisé.

1. Cliquer sur l'icône **Afficher les résultats (View Results)** pour afficher les résultats.
2. Une fois le test terminé, cliquer sur le bouton **Rapport (Report)** de la fenêtre Afficher les résultats (View Results) pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format pdf.

14 Contrôle qualité

Chaque test comprend un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) et un contrôle de vérification des sondes (CVS).

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)** – S'assure que l'échantillon a été traité correctement. Le CTE comprend des spores *Bacillus globigii* sous la forme d'un biscuit sec de spores qui est placé dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat de la bactérie de l'échantillon. Le CTE vérifie que la lyse de la bactérie et des spores de *C. difficile* s'est produite, si les organismes sont présents, et que le traitement de l'échantillon est adéquat. Ce contrôle détecte également l'inhibition associée à l'échantillon du test de PCR en temps réel. Le CTE doit être positif dans un échantillon négatif et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le CTE est réussi s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- **Contrôle de vérification des sondes (CVS)** – Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. La vérification des sondes réussit si elle répond aux critères d'acceptation attribués.

15 Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés par le système GeneXpert à partir de signaux de fluorescence mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés, et seront affichés dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**. Les résultats possibles sont :

Tableau 1. Xpert *C. difficile* Résultats et interprétation pour

Résultat	Interprétation
Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIF, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE NÉG (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE NEG Voir Figure 2	Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> toxigène sont détectées. <ul style="list-style-type: none"> <i>C. difficile</i> toxigène – La ou les cibles de <i>C. difficile</i> toxigène (toxine B ou toxine B plus soit toxine binaire, soit délétion <i>tcdC</i> au nt 117) a une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur à la valeur minimum définie. CTE – SO (sans objet) (SPC – NA (not applicable)) ; le CTE est ignoré car l'amplification de la cible <i>C. difficile</i> risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIF, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE POS (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE POS Voir Figure 3	Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> toxigène et présomptives de 027/NAP1/BI sont détectées. <ul style="list-style-type: none"> <i>C. difficile</i> toxigène, 027/NAP1/BI présumé – Toutes les cibles <i>C. difficile</i> toxigène, 027/NAP1/BI présumé (toxine B, toxine binaire et délétion <i>tcdC</i> au nt 117) ont une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur à la valeur minimum définie. CTE – SO (NA) (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de la cible <i>C. difficile</i> risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
Toxigenic <i>C. diff</i> NÉGATIF, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE NÉG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEGATIVE, 027-NAP-BI PRESUMPTIVE NEG Voir Figure 4	Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> (toxine B) ne sont pas détectées. NÉGATIF (NEGATIVE) – Les séquences d'ADN du <i>C. difficile</i> toxigène (toxine B) ne sont pas détectées, les autres cibles ADN du <i>C. diff.</i> toxigène (toxine binaire et délétion <i>tcdC</i> au nt 117) ne sont pas détectées. Le CTE répond aux critères d'acceptation. <ul style="list-style-type: none"> NÉGATIF (NEGATIVE) – L'ADN de la cible <i>C. difficile</i> n'est pas détecté. CTE – RÉUSSITE (PASS) ; le CTE a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage de validation et un point final supérieur à la valeur minimum définie. Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
NON VALIDE (INVALID) Voir Figure 5	La présence ou l'absence d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été correctement traité ou la PCR est inhibée. <ul style="list-style-type: none"> NON VALIDE (INVALID) – La présence ou l'absence d'ADN cible de <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer. CTE – ÉCHEC (FAIL) ; le résultat de la cible de CTE est négatif, la valeur Ct du CTE n'est pas dans la plage de validation et le point final est inférieur à la valeur minimum définie. Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.

Résultat	Interprétation
ERREUR (ERROR)	<p>La présence ou l'absence d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Le contrôle de vérification des sondes a échoué, probablement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde ou d'un dépassement des limites de pression maximale.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxine B (<i>tcdB</i>) – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Toxine binaire (<i>cdt</i>) – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • <i>tcdC</i>Δ117 – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • *CTE – PAS DE RÉSULTAT (SPC – NO RESULT) <p>Vérification des sondes – ÉCHEC (Probe Check – FAIL)^a ; un ou tous les résultats de vérification des sondes n'ont pas réussi</p>
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<p>La présence ou l'absence d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test (par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxine B (<i>tcdB</i>) – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Toxine binaire (<i>cdt</i>) – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • <i>tcdC</i>Δ117 – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE – PAS DE RÉSULTAT (SPC – NO RESULT) • Vérification des sondes – SO (sans objet) (Probe Check – NA (not applicable))

^a Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due à une défaillance d'un composant du système.

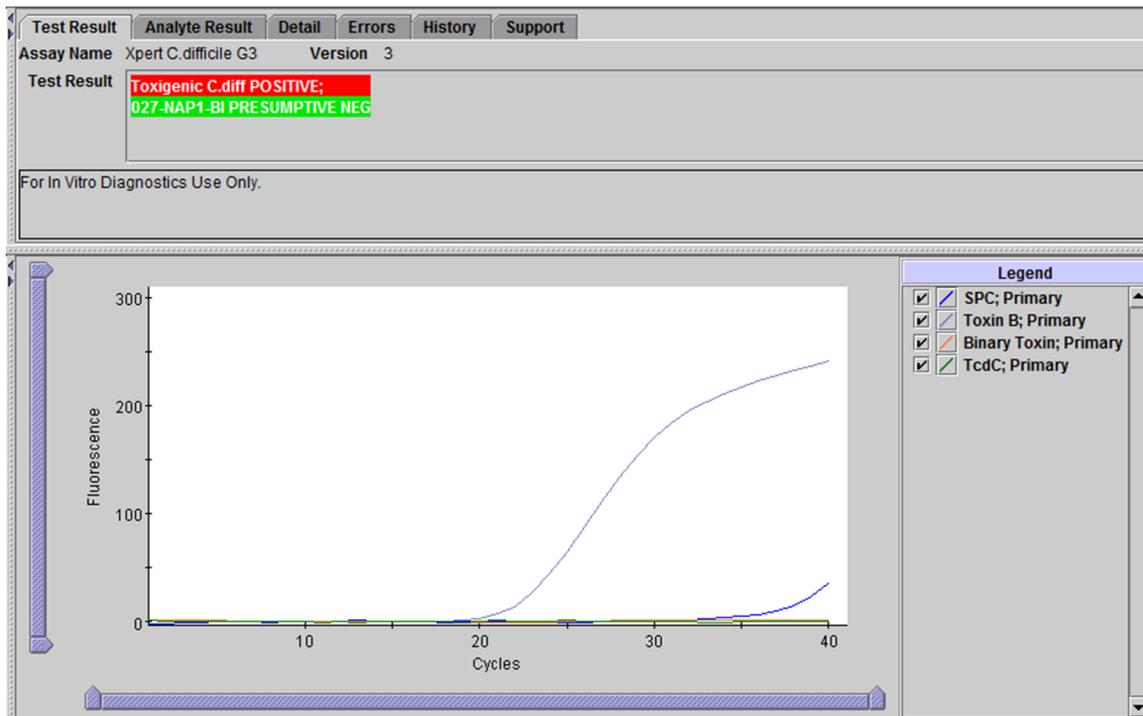


Figure 2. Exemple de résultat Xpert positif pour *C. difficile* et négatif pour 027 présumé

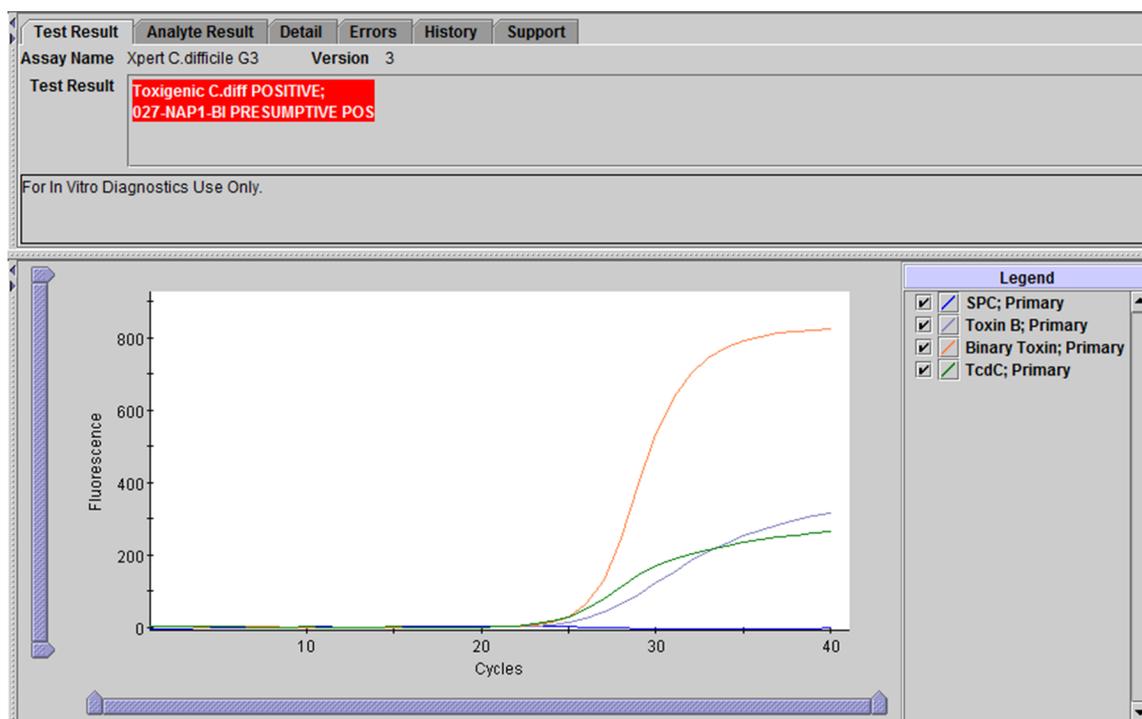


Figure 3. Exemple de résultat Xpert positif pour C. difficile et positif pour 027 présumé

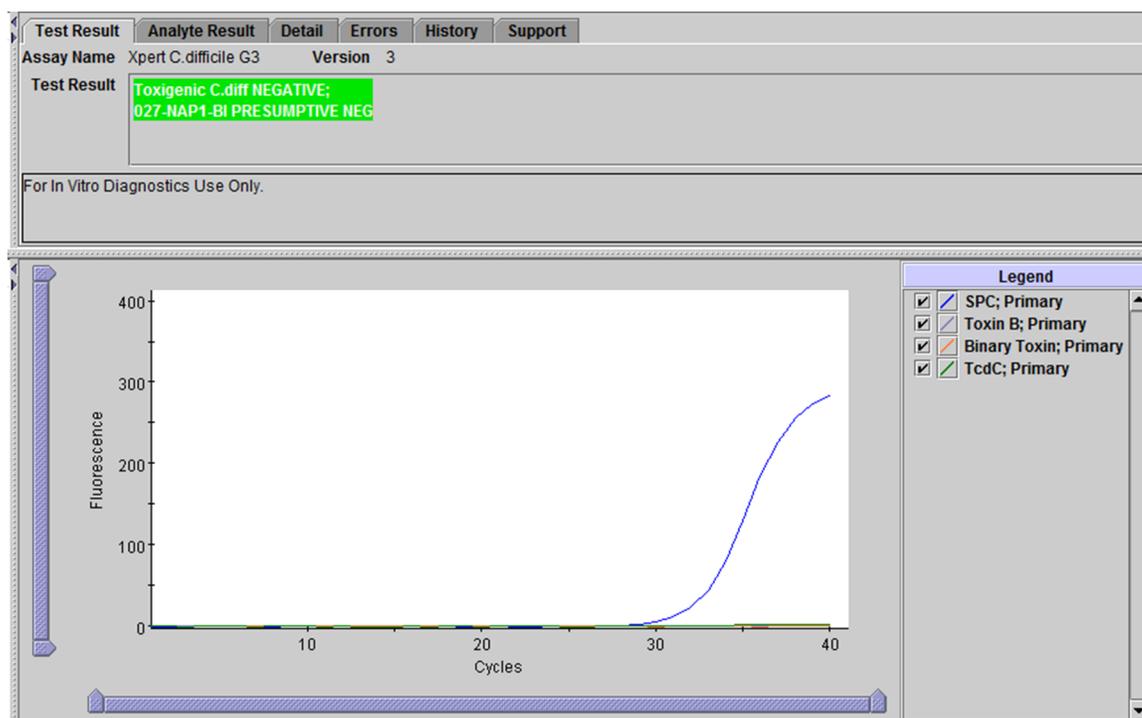


Figure 4. Exemple de résultat négatif pour C. difficile et négatif pour 027 présumé

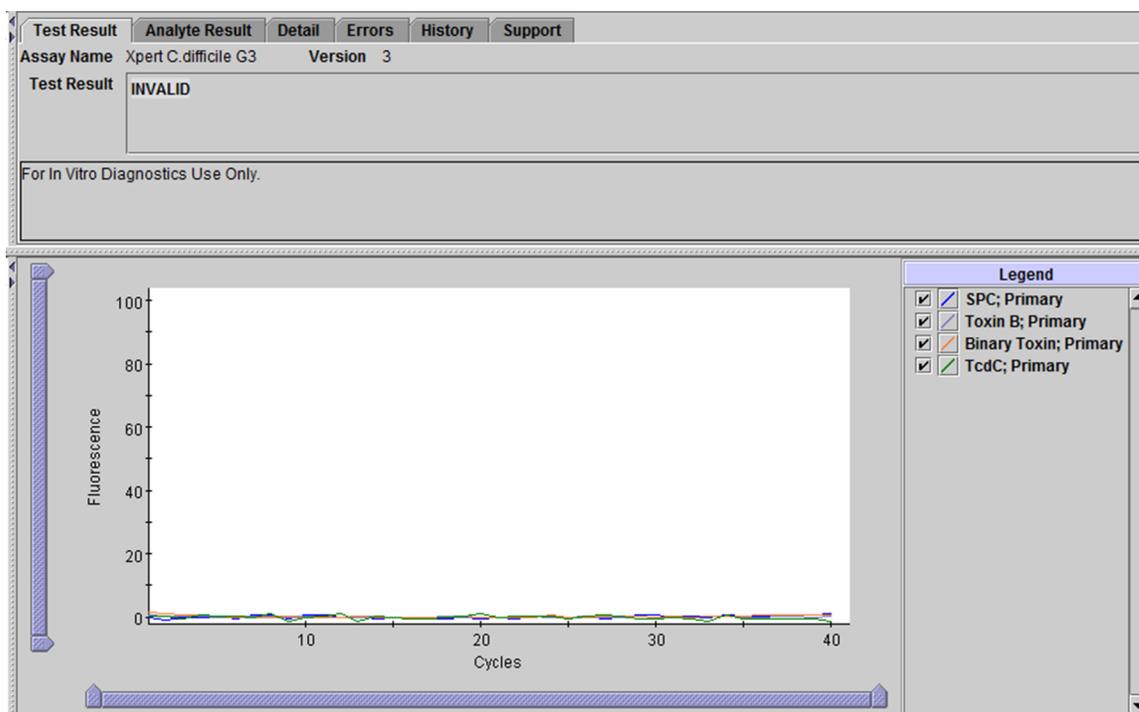


Figure 5. Exemple d'un résultat non valide

16 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

16.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Si l'un des résultats de test cités ci-dessous se produit, répéter le test conformément aux instructions données dans la Section 16.2.

- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique que le CTE a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le contrôle de vérification des sondes peut avoir échoué et que le test a été annulé, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde du réactif, d'un dépassement des limites de pression maximale ou de la détection d'une erreur de positionnement de vanne.
- Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

16.2 Procédure de répétition du test

Si le nouveau test est accompli dans les 3 heures suivant un résultat indéterminé, utiliser une nouvelle cartouche (ne pas réutiliser la cartouche) et de nouveaux réactifs.

1. Sortir une nouvelle cartouche du kit.
2. Transférer tout le contenu restant de la chambre échantillon vers un nouveau flacon de réactif échantillon en utilisant une pipette de transfert jetable.
3. Mélanger au vortex et ajouter tout le contenu du réactif échantillon à la chambre échantillon de la nouvelle cartouche Xpert C. difficile.
4. Fermer le couvercle et démarrer le nouveau test.

Si le nouveau test est accompli plus de 3 heures suivant un résultat indéterminé, répéter le test avec un nouvel échantillon sur écouvillon de l'échantillon patient d'origine.

17 Limites

Les isolats non Non-027/NAP1/BI représentant le toxinotype XIV sont rendus en **C. diff toxigène POSITIF ; 027 POSITIF PRÉSUMÉ (Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** avec le test Xpert *C. difficile*.

Occasionnellement, les isolats non 027/NAP1/BI représentant les toxinotypes IV, V et X sont rendus en **C. diff toxigène POSITIF ; 027 POSITIF PRÉSUMÉ (Toxigenic C. diff POS; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** avec le test Xpert *C. difficile*.

Les performances du test Xpert *C. difficile* ont été validées en utilisant uniquement les procédures indiquées dans cette notice d'utilisation. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test. Les résultats du test Xpert *C. difficile* doivent être interprétés ensemble avec d'autres données biologiques et cliniques à la disposition du clinicien.

Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement incorrect de l'échantillon, du non-respect des procédures recommandées pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration de micro-organismes dans l'échantillon trop basse pour être détectée par le test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.

Comme la détection de *C. difficile* dépend du nombre d'organismes présents dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables repose sur l'adéquation de la collecte, de la manipulation et du stockage de l'échantillon.

En raison du facteur de dilution associé à la procédure de répétition du test, il est possible que des échantillons positifs à *C. difficile*, très proches ou à la limite de détection (LDD) du test *C. difficile*, produisent un résultat faussement négatif lorsqu'ils sont retestés.

La décision de répéter le test Xpert *C. difficile* quand les résultats sont **NON VALIDE (INVALID), ERREUR (ERROR)** ou **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** doit dépendre des pratiques et réglementations de chaque établissement. D'autres procédures doivent être disponibles. Pour la culture, les échantillons sur écouvillon qui restent doivent être placés dans des systèmes de transport appropriés et mis en culture dans un délai de 4 jours.

Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence de *C. difficile*.

Une épidémie d'ICD peut être provoquée par des souches autres que 027/NAP1/BI.

La détection de l'acide nucléique de *C. difficile* dans les selles confirme la présence de ces organismes chez les patients diarrhéiques mais n'indique pas nécessairement que les *C. difficile* sont les agents étiologiques de la diarrhée.

Les caractéristiques des performances de ce test ont été établies uniquement avec le type d'échantillon indiqué dans la section Utilisation prévue. Les performances de ce test n'ont pas été évaluées sur d'autres types de spécimens ou d'échantillons.

Des résultats faussement négatifs peuvent se produire quand l'organisme infectant présente des mutations, insertions, délétions ou réorganisations génomiques, ou quand le test est effectué très tôt dans le cours de la maladie.

18 Substances interférentes

Les substances potentiellement inhibitrices testées comprennent le sang, l'excès de selles et le mucus. Les substances ont été testées en triple avec la souche bactérienne de *C. difficile* 027/NAP1/BI ensemencée à une concentration proche de la limite analytique de détection (~3 x LDD) et à une concentration plus élevée (~50 x LDD). Les matières fécales en excès ont été évaluées sur des échantillons cliniques réels dans une étude expérimentale multicentrique. Un effet inhibiteur est parfois observé en présence d'un excès de selles sur l'écouvillon. Aucun effet inhibiteur significatif n'a été observé en présence de sang ou de mucus.

19 Caractéristiques des performances

Les caractéristiques des performances du test Xpert *C. difficile* ont été déterminées lors d'une étude expérimentale prospective menée sur deux sites en Europe en comparant le test Xpert *C. difficile* sur le système GeneXpert (test Xpert *C. difficile*) à une culture de la bactérie toxigène suivie d'un PCR-ribotypage des échantillons positifs en culture. Pour être inclus dans l'étude, les échantillons devaient provenir de personnes dont les cultures étaient indiquées et/ou commandées selon les pratiques de l'établissement.

19.1 Résultats généraux

Au total, 285 échantillons ont été testés pour *C. difficile* par le test Xpert *C. difficile* et ont été comparés à la méthode par culture directe (voir le tableau ci-dessous).

Tableau 2. Caractéristiques des performances du test Xpert *C. difficile* par rapport à la culture directe

		Culture de bactérie toxigène				
		C. difficile	027/NAP1/BI pos	Négatif		
Xpert <i>C. difficile</i>	Toxine B+	34	0	16	Sensibilité	100 %
	027/NAP1/BI	0	0	1	Spécificité	93 %
	Négatif	0	0	234		

20 Caractéristiques des performances du test 027/NAP1/BI

Pour déterminer les caractéristiques des performances sur la souche 027/NAP1/BI, des échantillons cliniques ont été évalués en interne avec le test Xpert *C. difficile*, mis en culture et analysés par PCR-ribotypage. Les données de l'étude sont présentées dans le tableau ci-dessous. Dans ce contexte, un résultat négatif signifie que les souches de *C. difficile* toxigènes n'étaient pas 027/NAP1/BI.

Tableau 3. Caractéristiques des performances du test Xpert *C. difficile* par rapport au PCR-ribotypage

		Culture des bactéries toxigènes et PCR-ribotypage			
		027/NAP1/BI Pos	027/NAP1/BI Nég		
Xpert <i>C. difficile</i>	027/NAP1/BI Pos	14	1	Sensibilité	100 %
	027/NAP1/BI Nég	0	10	Spécificité	91 %

21 Spécificité analytique

Des cultures de l'American Type Culture Collection (ATCC) et de la collection de cultures de l'université de Göteborg (CCUG) représentant des organismes étroitement apparentés à *C. difficile* ainsi que la flore rectale normale et pathogène ont été testées dans une étude de réactivité croisée. Deux souches de *C. difficile* non toxigène ont été testées sur le test Xpert *C. difficile*. Les organismes testés représentaient 24 espèces aérobies, 14 anaérobies et deux microaérophiles. Trois répliquats de chaque isolat ont été testés à une concentration d'au moins 10⁹ UFC par réaction. Dans les conditions de l'étude, tous les isolats ont été rapportés comme négatifs pour *C. difficile* toxigène. Aucun des isolats n'a été détecté par le test Xpert *C. difficile*. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. La spécificité analytique était de 100 %.

22 Sensibilité analytique

Des études supplémentaires ont été réalisées afin de déterminer l'intervalle de confiance à 95 % de la limite de détection (LDD) analytique de ce test. La limite de détection est définie comme le nombre le plus bas d'unités formant colonie (UFC) par échantillon qui peut être différencié de manière reproductible des échantillons négatifs avec un niveau de confiance de 95 %. Vingt répliquats de 20 ont été évalués à six concentrations (100, 300, 600, 1 200, 2 400 et 4 800 UFC/échantillon).

Dans les conditions de l'étude et en utilisant un paramètre de Ct maximal valide de 37 pour *tdcB* et *cdt* et de 40 pour *tdcC*, les résultats indiquent que l'estimation ponctuelle de la LDD pour *C. difficile* toxigène est de 1 657 UFC/écouvillon avec un intervalle de confiance à 95 % allant de 1 157 UFC/écouvillon à 3 561 UFC/écouvillon et pour la souche de *C. difficile* toxigène 027/NAP1/BI de 2 058 UFC/échantillon avec un intervalle de confiance à 95 % allant de 1 581 UFC/écouvillon à 3 441 UFC/écouvillon.

23 Bibliographie

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; 22:61-7
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 VT, Hundsberger P, Leukel M, Sauerborn and C. von Eichel-Striber. 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 SPMM, Merrigan D, Lyerly DN, Gerding, Johnson S. 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, Burghoffer B, Petit JC. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP-ribosyl-transferase) from *Clostridium difficile*. J Clin Microbiol 2004;42:1933-9
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, Brazier J, Duerden B, Popoff M. 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;56:2299-306.
12. 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; Oct;12 Suppl 6:2-18. Review.
13. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, O'Leary MM, Pasculle AW, Harrison LH. *tdcC* genotypes associated with severe *TdcC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*, J Clin Microbiol. 2007 Jan;45(1):215-21. Epub 2006 Oct 11. Erratum in: J Clin Microbiol. 2007 Jun;45(6):2103.
14. MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, Laverdiere M, Labbe AC, Laing F, Henwick S. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada, J Clin Microbiol. 2006 Jun;44(6):2147-52.
15. Wilkins TD, Lyerly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. Clin Microbiol. 2003 Feb;41(2):531-4. Review.
16. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. Clin Microbiol Infect. 2001 Aug;7(8):411-6. Review.
17. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. CMAJ. 2004 Jul 6;171(1):51-8. Review.
18. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). N° de document HHS (CDC) 93-8395.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consulter l'édition la plus récente).
20. RÈGLEMENT (CE) n° 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL DU 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, liste des conseils de prudence, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE (modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006).
21. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 mars 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

25 Assistance technique

Avant de nous contacter

Recueillir les informations suivantes avant de contacter le Support Technique de Cepheid :

- Nom du produit
- Numéro de lot
- Numéro de série de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)

États-Unis

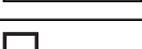
Téléphone : + 1 888 838 3222
E-mail : techsupport@cepheid.com

France

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

Les coordonnées de tous les bureaux du service support technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en/support/contact-us

26 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser
	Numéro de lot
	Consulter la notice d'utilisation
	Mise en garde
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <i>n</i> tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Marquage CE – Conformité européenne
	Limites de température
	Risques biologiques
	Mandataire en Suisse
	Importateur



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

Tél. : +46 8 6843 7000

Fax : +46 8 6843 7010



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



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



27 Historique des révisions

Description des modifications : De 300-9291, Rév. G à Rév. H

But : correction des graphiques et respect des exigences du règlement (UE) 2017/746

Section	Description des modifications
Déclarations sur les marques de commerce, les brevets et le droit d'auteur	Mise à jour des informations juridiques aux normes juridiques actuelles de Cepheid.
12	Mise à jour de la formulation des sections de la Procédure pour assurer la cohérence entre les notices d'utilisation Cepheid.
15	Classement des figures pour correspondre à l'ordre des résultats dans le tableau 1.
16.2	Mise à jour de la formulation de la section Procédure de répétition du test pour assurer la cohérence entre les notices d'utilisation Cepheid.
26	Ajout des symboles CH REP et importateur et de leurs définitions dans le Tableau des symboles. Ajout des informations CH REP et importateur avec l'adresse en Suisse.
27	Mise à jour du tableau Historique des révisions.
Dans l'intégralité du document	Les occurrences du mot « assay » utilisé comme dénomination commerciale ont été remplacées par « test ».