

Xpert[®] C. *difficile*

REF GXCDIFFICILE-CE-10

Instruções de utilização

IVD CE

Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright

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[®], o logótipo da Cepheid, GeneXpert[®], e Xpert[®] 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.

© 2011–2023 Cepheid.

Consulte uma descrição das alterações na Secção 27 Histórico de revisões.

Xpert[®] C. difficile

Para utilização em diagnóstico *in vitro*.

1 Nome proprietário

Xpert[®] C. difficile

2 Nome comum ou usual

Teste Xpert C. difficile

3 Utilização prevista

O teste Xpert C. difficile, realizado nos GeneXpert[®] Instrument Systems da Cepheid, é um teste qualitativo de diagnóstico *in vitro* concebido para a identificação e diferenciação rápidas de toxina B e toxina binária, a partir de amostras fecais apropriadas colhidas de doentes sob suspeita de infeção por *Clostridioides difficile* (CDI). O teste utiliza a reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real automatizada para detetar C. difficile produtor de toxina, que está associado a CDI. O teste Xpert C. difficile destina-se a ser utilizado como auxiliar no diagnóstico de CDI. Apenas são necessários testes concomitantes se for necessária tipagem suplementar.

4 Resumo e explicação

O *Clostridioides difficile* (C. difficile) é um bacilo Gram-positivo, anaeróbio, formador de esporos, que foi associado a doença, pela primeira vez, em 1978.¹ A infeção por *Clostridioides difficile* (CDI) varia de diarreia até colite pseudomembranosa potencialmente fatal.² A flora bacteriana madura do cólon de um adulto saudável é geralmente resistente à colonização por C. difficile.³ Contudo, se a flora normal do cólon estiver alterada, há perda de resistência à colonização. O fator de risco mais comum é a exposição a antibióticos.⁴ Os fatores de virulência primários do C. difficile são a enterotoxina A e a citotoxina B.⁵ Os genes que codificam a toxina A (*tcdA*) e a toxina B (*tcdB*) fazem parte do locus de patogenicidade (PaLoc).^{6,7} 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.⁸ 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 (*cdtA* e *cdtB*) e está localizado fora do PaLoc.⁹⁻¹¹ Nos últimos anos têm ocorrido surtos de CDI causados por estirpes “hipervirulentas” e resistentes às fluoroquinolonas pertencentes ao ribotipo 027 por PCR, ao tipo NAP1 por PFGE (eletroforese de gel em campo pulsado) e ao tipo B1 por REA (análise por endonucleases de restrição).^{8,12} Estas estirpes apresentam aumento da produção de toxinas, o que está a ser atribuído a deleções no gene regulador *tcdC*.^{13,14}

O Centro Europeu de Prevenção e Controlo das Doenças (ECDC) tem identificado uma necessidade urgente de testes de diagnóstico rápido que apresentem um melhor desempenho do que os testes atualmente disponíveis para C. difficile.¹² O diagnóstico de C. difficile baseia-se, habitualmente, na deteção das toxinas A ou B. O trabalhoso teste de citotoxicidade celular ainda é considerado o “padrão ouro” devido à sua elevada especificidade.^{15,16} Foram desenvolvidos vários imunoenaios enzimáticos rápidos para a deteção das toxinas A e B. Contudo, estes testes têm uma sensibilidade e especificidade reduzidas comparativamente ao teste de citotoxicidade celular. Recentemente, desenvolveram-se métodos de PCR para a deteção da toxina A e/ou toxina B com elevada sensibilidade e especificidade quando comparados com os ensaios de citotoxicidade celular e os imunoenaios. No entanto, não há testes de PCR padronizados para a deteção das toxinas A e B atualmente disponíveis no mercado.¹⁷

5 Princípio do procedimento

O GeneXpert Instrument Systems automatiza e integra a preparação de amostras, a extração de ácidos nucleicos, a amplificação e a detecção das sequências-alvo em amostras simples ou complexas, utilizando testes de RT-PCR e PCR em tempo real. O sistema consiste num instrumento, computador e software pré-carregado para realizar os testes nas amostras colhidas e ver os 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 de ADN e PCR. 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* adequado.

O teste Xpert *C. difficile* inclui reagentes para a detecção de *C. difficile* produtor de toxina e *C. difficile* produtor de toxina, presumíveis de 027/NAP1/BI, respetivamente, assim como um controlo de processamento da amostra (Sample Processing Control, SPC). O SPC está presente para controlar o processo adequado de amplificação e para monitorizar a presença de inibidores na reação PCR. O controlo de verificação da sonda (Probe Check Control — PCC) verifica a reidratação dos reagentes, o enchimento do tubo de PCR no cartucho e a presença e a funcionalidade de todos os componentes da reação no cartucho, incluindo sondas e corantes.

Os primers e as sondas no teste Xpert *C. difficile* detetam sequências nos genes para a toxina B (*tdcB*), toxina binária (*cdt*) e deleção de *tdcC* no nt 117 (*tdcCΔ117*).

6 Materiais fornecidos

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

O kit contém o seguinte:

Xpert <i>C. difficile</i> Cartuchos de teste com tubos de reação integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> Esfera 1, Esfera 2 e Esfera 3 (liofilizadas) Reagente 1 Reagente 2 (Hidróxido de sódio) 	<ul style="list-style-type: none"> 1 de cada por cartucho 3,0 ml por cartucho 3,0 ml por cartucho
Bolsas de reagente do Xpert <i>C. difficile</i>	10
<ul style="list-style-type: none"> Reagente de amostra (tiocianato de guanidina) 	<ul style="list-style-type: none"> 10 x 2,0 ml por bolsa
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> Ficheiros de definição do teste (Assay Definition Files, ADF) Instruções para importar o ADF para o software GeneXpert Instruções de utilização (folheto informativo) 	

Nota As fichas de dados de segurança (FDS) estão disponíveis em www.cepheid.com ou 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.

7 Conservação e manuseamento

- Conserve o kit Xpert *C. difficile* entre 2 °C e 28 °C até ao prazo de validade indicado no rótulo.
- 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 utilizar um cartucho molhado ou com fuga.
- O reagente de amostra é um líquido transparente e incolor. Não utilize o reagente de amostra se este ficar turvo ou descolorido.

8 Materiais necessários, mas não fornecidos

- GeneXpert Dx System ou GeneXpert Infinity System (o número de catálogo varia consoante a configuração): Instrumento GeneXpert, computador (com software GeneXpert patentado), lápis ótico para leitura de códigos de barras e manual do utilizador.
- Para GeneXpert Dx System: Versão de software 4.3 ou superior.

Impressora: Caso necessite de uma impressora, contacte a assistência técnica da Cepheid para tratar da aquisição de uma impressora recomendada.

- Agitador vórtex
- Pipetas de transferência estéreis, descartáveis
- Zaragatoa seca para transferência da amostra fecal, dispositivo de colheita de amostras da Cepheid, número de catálogo 900-0370 (cultura Copan Venturi Transystem®, 139CFA) ou zaragatoa descartável de utilização única da Cepheid, número de catálogo SDPS-120 (Copan 138CS01.PH).

9 Declarações de atenção 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, devem ser todas tratadas com as precauções predefinidas. 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)^{18,19}.
- Siga os procedimentos de segurança da sua instituição para trabalhar com produtos químicos e manusear amostras biológicas.
- A execução do teste Xpert *C. difficile* fora dos intervalos de temperatura e tempo recomendados pode produzir resultados erróneos ou inválidos.
- Não agite o cartucho. Agitar ou deixar cair o cartucho após a abertura da respetiva tampa pode produzir resultados inválidos.
- Não coloque o rótulo de ID da amostra na tampa do cartucho nem na etiqueta de código de barras do cartucho. Não utilize um cartucho que tenha uma etiqueta de código de barras danificada.
- O teste Xpert *C. difficile* não fornece resultados de suscetibilidade. É necessário tempo adicional para cultura e para realizar testes de suscetibilidade.
- Não substitua os reagentes Xpert *C. difficile* por outros reagentes.
- Não abra a tampa do cartucho Xpert *C. difficile*, exceto ao adicionar a amostra e reagentes ou ao realizar um novo teste.
- Não utilize um cartucho que tiver caído depois de o ter retirado da embalagem.
- Não utilize um cartucho que tenha um tubo de reação danificado.
- Cada cartucho Xpert *C. difficile* de utilização única é utilizado para processar um teste. Não reutilizar cartuchos processados.
- Use batas e luvas limpas. Troque de luvas entre o processamento de cada amostra.
- Na eventualidade da contaminação da área de trabalho ou do equipamento com amostras ou controlos, limpe minuciosamente a área contaminada com uma diluição de 1:10 de lixívia de cloro doméstica e depois repita a limpeza da área de trabalho com etanol desnaturado a 70%. Secar as superfícies de trabalho e aguardar até secarem completamente antes de prosseguir.
- 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 sua 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).
- Não abra a tampa do cartucho até estar pronto para realizar o teste.

10 Riscos químicos^{20,21}

- Pictograma de perigo GHS da ONU: 
- 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 no presente rótulo).
 - 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.

11 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.

12 Procedimento

12.1 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.

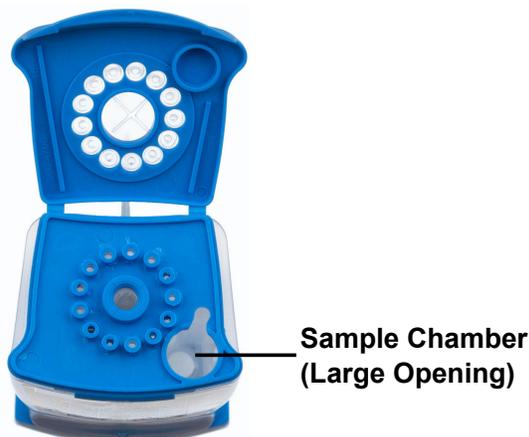


Figura 1. Cartucho (vista de cima)

12.2 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.

13 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.

14 Controlo de qualidade

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

- **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 um bolo seco de esporos que está incluído em cada cartucho para verificar o processamento adequado das bactérias da amostra. O SPC verifica se ocorreu lise das bactérias de *C. difficile* esporos, se os organismos estiverem presentes e se o processamento da amostra for adequado. Adicionalmente, este controlo deteta a inibição do ensaio de PCR em tempo real associada à amostra. 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 PCR, o sistema GeneXpert 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.

15 Interpretação dos resultados

Os resultados são interpolados pelo sistema do instrumento GeneXpert através da medição de sinais fluorescentes e algoritmos de cálculo integrados, sendo mostrados na janela **Ver resultados (View Results)**. Os resultados possíveis são:

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

Resultado	Interpretação
<p>POSITIVO para <i>C. diff</i> toxigénico, PRESUMÍVEL NEGATIVO PARA 027 (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE NEG)</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"> <i>C. difficile</i> produtor de toxina — o(s) alvo(s) de <i>C. difficile</i> produtor de toxina (toxina B ou toxina B e toxina binária ou deleção de <i>tcdC</i> no nt 117) tem(têm) um limite de ciclo (Cycle Threshold, Ct) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima 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 Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<p>POSITIVO para <i>C. diff</i> toxigénico, PRESUMÍVEL POSITIVO PARA 027 (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POS)</p> <p>Ver Figura 3</p>	<p>São detetadas sequências presumíveis de ADN-alvo 027/NAP1/BI de <i>C. difficile</i> produtor de toxina.</p> <ul style="list-style-type: none"> <i>C. difficile</i> produtor de toxina, presumível de 027/NAP1/BI — todos os alvos de <i>C. difficile</i> produtor de toxina, presumíveis de 027/NAP1/BI (toxina B, toxina binária e deleção de <i>tcdC</i> no nt 117) têm Ct dentro do intervalo válido e um ponto final superior à definição mínima. 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. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<p>NEGATIVO para <i>C. diff</i> toxigénico, PRESUMÍVEL NEGATIVO PARA 027 (Toxigenic <i>C. diff</i> NEGATIVE; 027 PRESUMPTIVE NEG)</p> <p>Ver Figura 4</p>	<p>Não são detetadas sequências de ADN-alvo do <i>C. difficile</i> (toxina B).</p> <p>NEGATIVO (NEGATIVE) — As sequências de ADN de <i>C. difficile</i> produtor de toxina (toxina B) não são detetadas; não são detetados outros ADN-alvo de <i>C. difficile</i> toxigénico (toxina binária e deleção de <i>tcdC</i> no nt 117). O SPC preenche os critérios de aceitação.</p> <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO (NEGATIVE) — Não é detetado ADN-alvo de <i>C. difficile</i>. SPC — APROVADO (SPC — PASS); o SPC tem um Ct (limiar de ciclo) dentro do intervalo válido e um endpoint (ponto final) superior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.
<p>INVÁLIDO (INVALID)</p> <p>Ver Figura 5</p>	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. 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"> INVÁLIDO (INVALID) — A presença ou ausência de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada. SPC — FALHO (SPC — FAIL); o resultado do alvo do SPC é negativo, o Ct do SPC não está dentro do intervalo válido e o ponto final é inferior à definição mínima. Verificação da sonda — APROVADO (PASS); todos os resultados de verificação da sonda são aprovados.

Resultado	Interpretação
ERRO (ERROR)	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. 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 porque os limites de pressão máxima foram excedidos.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxina B (<i>tcdB</i>) — SEM RESULTADO [Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT] • Toxina binária (<i>cdt</i>) — SEM RESULTADO [Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT] • <i>tcdC</i>Δ117 — SEM RESULTADO (<i>tcdC</i> Δ117 — NO RESULT) • *SPC — SEM RESULTADO (SPC — NO RESULT) <p>Verificação da sonda — FALHOU (FAIL)^a; todos ou um dos resultados da verificação da sonda falharam.</p>
SEM RESULTADO (NO RESULT)	<p>A presença ou ausência de sequências de ADN-alvo de <i>C. difficile</i> não pode ser determinada; repita o teste de acordo com as instruções da secção Procedimento de repetição do teste abaixo. 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"> • Toxina B (<i>tcdB</i>) — SEM RESULTADO [Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT] • Toxina binária (<i>cdt</i>) — SEM RESULTADO [Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT] • <i>tcdC</i>Δ117 — SEM RESULTADO (<i>tcdC</i> Δ117 — NO RESULT) • SPC — SEM RESULTADO (NO RESULT) • Verificação da sonda — NA (NA) (não aplicável)

^a Se a verificação da sonda foi aprovada, o erro é causado pela falha de um dos componentes do sistema.

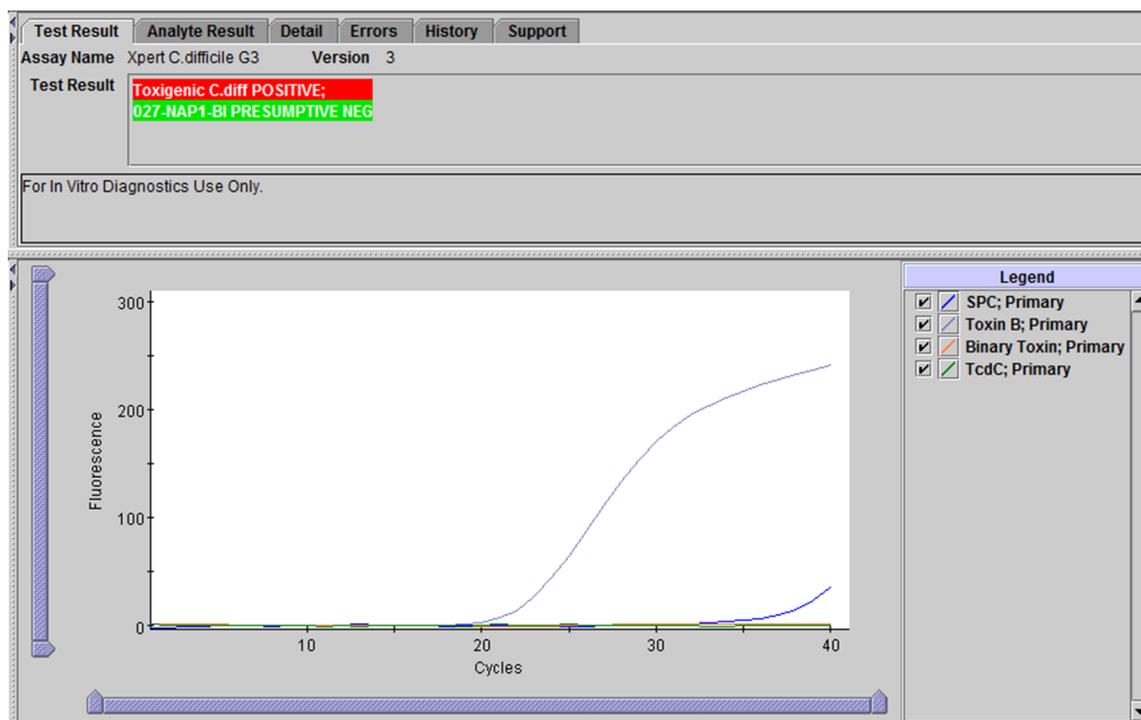


Figura 2. Exemplo de resultados positivo para Xpert *C. difficile* e presumível negativo para 027

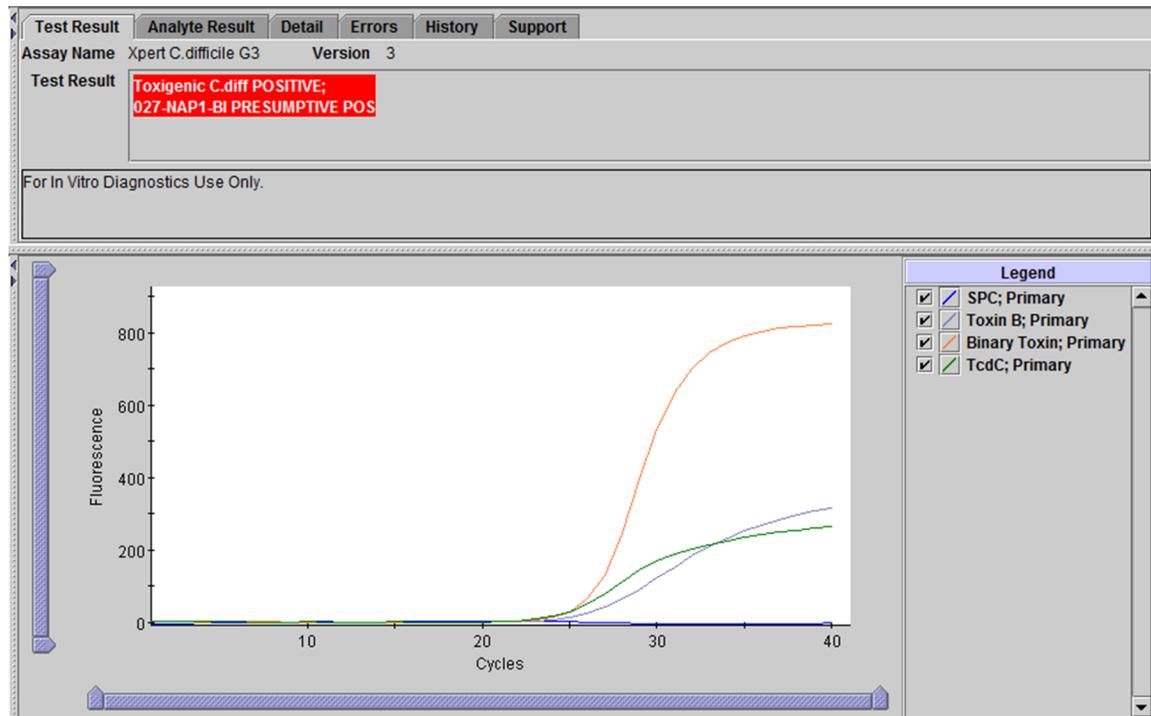


Figura 3. Exemplo de resultados positivo para Xpert C. difficile e presumível positivo para 027

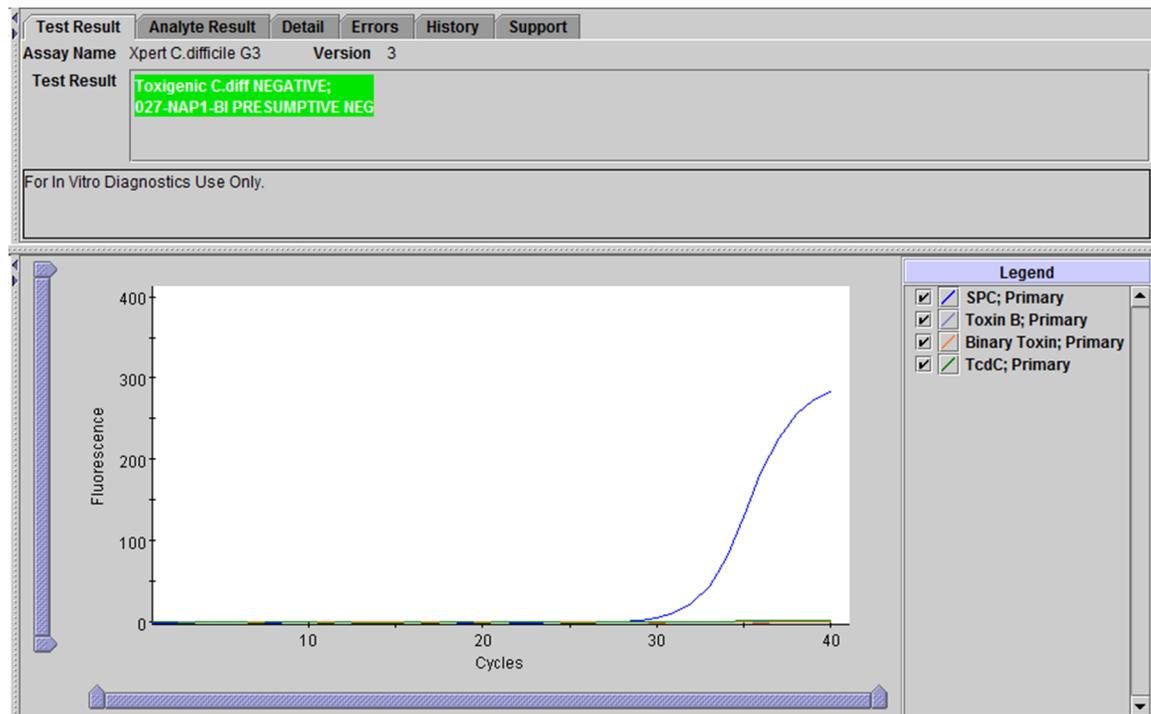


Figura 4. Exemplo de resultados negativo para Xpert C. difficile e presumível negativo para 027

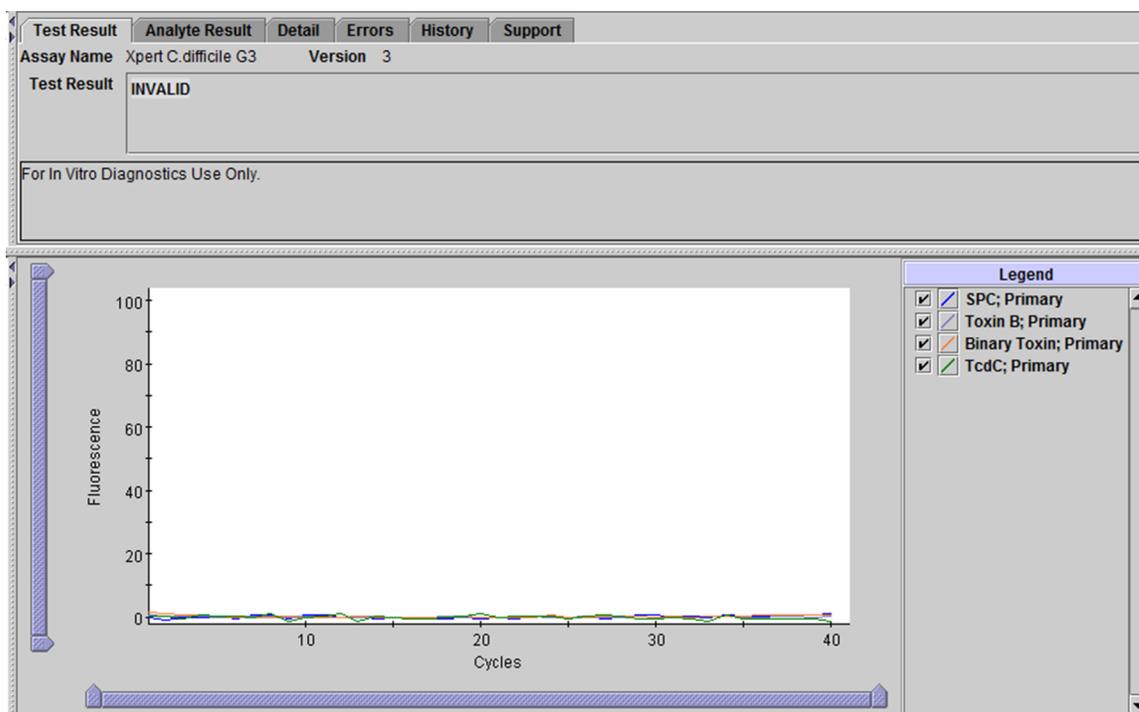


Figura 5. Exemplo de um resultado inválido

16 Motivos para repetir o ensaio

16.1 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 16.2.

- 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.

16.2 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.

17 Limitações

Isolados não 027/NAP1/BI, representando o toxinotipo XIV, serão apresentados como **POSIT. para C. diff toxigénico; PRESUMÍVEL POSITIVO para 027 (Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** utilizando o teste Xpert *C. difficile*.

Ocasionalmente, isolados não 027/NAP1/BI, representando os toxinotipos IV, V e X, serão indicados como **POSIT. para C. diff toxigénico; PRESUMÍVEL POSITIVO para 027 (Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** utilizando o teste Xpert *C. difficile*.

O desempenho do teste Xpert *C. difficile* 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* 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 microrganismos na amostra é demasiado baixo para ser detetado pelo teste. Para se evitar resultados incorretos, é necessária uma cuidadosa conformidade com as instruções deste folheto.

Como a deteção de *C. difficile* depende do número de organismos presentes na amostra, os resultados fidedignos dependem da correta colheita, manuseamento e conservação da amostra.

Devido ao fator de diluição associado ao procedimento de repetição do teste, é possível que as amostras positivas para *C. difficile* muito próximas ou em cima do limite de deteção (LoD) do teste *C. difficile* possam originar um resultado falso negativo na repetição do teste.

Voltar a executar o teste Xpert *C. difficile* quando os resultados são **INVÁLIDO (INVALID)**, **ERRO (ERROR)** e **SEM RESULTADO (NO RESULT)** dependerá das práticas e políticas de cada instalação. Deverão estar disponíveis procedimentos alternativos. Para cultura, as restantes amostras de zaragatoa deverão ser colocadas em sistemas de transporte adequados e a cultura deverá ser efetuada dentro de 4 dias.

Um resultado de teste positivo não indica necessariamente a presença de organismo viável. Presume-se, no entanto, a presença de *C. difficile*.

Estirpes distintas da 027/NAP1/BI podem causar surtos de CDI.

A deteção de ácido nucleico de *C. difficile* nas fezes confirma a presença destes organismos em pacientes com diarreia, mas pode não indicar que os *C. difficile* são os agentes etiológicos da diarreia.

As características do desempenho deste teste só foram estabelecidas com o tipo de amostra indicado na secção Utilização prevista. Não se avaliou o desempenho deste teste com outros tipos de amostras.

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.

18 Substâncias que interferem

Substâncias potencialmente inibidoras incluem sangue, fezes excessivas e muco. As substâncias foram testadas em réplicas de três com a estirpe bacteriana 027/NAP1/BI de *C. difficile* adicionada perto do limite de deteção (~3x LoD) e superior (~50x LoD). O material fecal excessivo foi avaliado com amostras clínicas reais num estudo de investigação multicêntrico. O efeito inibidor é observado ocasionalmente na presença de fezes excessivas na zaragatoa. Não se observaram efeitos inibidores significativos na presença de sangue ou muco.

19 Características do desempenho

As características do desempenho do teste Xpert *C. difficile* foram determinadas num estudo de investigação prospetiva em dois centros na Europa, comparando o teste Xpert *C. difficile* no sistema GeneXpert (teste Xpert *C. difficile*) através de cultura toxigénica seguida de ribotipagem por PCR de amostras de cultura positiva. Para serem incluídas no estudo, as amostras tinham de ser provenientes de indivíduos cujas culturas eram indicadas e/ou encomendadas, de acordo com as práticas institucionais.

19.1 Resultados globais

Foi testado um total de 285 amostras para *C. difficile* pelo teste Xpert *C. difficile*, que foram comparadas com o método de cultura direta (consulte a tabela abaixo).

Tabela 2. Características do desempenho do teste Xpert *C. difficile* em comparação com cultura direta

		Cultura toxigénica				
		<i>C. difficile</i>	027/NAP1/BI pos	Negativo		
Xpert <i>C. difficile</i>	Toxina B+	34	0	16	Sensibilidade	100%
	027/NAP1/BI	0	0	1	Especificidade	93%
	Negativo	0	0	234		

20 Características do desempenho da 027/NAP1/BI

Para determinar as características do desempenho da estirpe 027/NAP1/BI, foram avaliadas internamente amostras clínicas utilizando o Xpert *C. difficile*, métodos de cultura e ribotipagem por PCR. Os dados do estudo são apresentados na tabela abaixo. Neste caso, negativo significa que as estirpes de *C. difficile* toxigénico não são 027/NAP1/BI.

Tabela 3. Características do desempenho do teste Xpert *C. difficile* em comparação com ribotipagem por PCR

		Cultura toxigénica e ribotipagens por PCR			
		027/NAP1/BI Pos	027/NAP1/BI Neg		
Xpert <i>C. difficile</i>	027/NAP1/BI Pos	14	1	Sensibilidade	100%
	027/NAP1/BI Neg	0	10	Especificidade	91%

21 Especificidade analítica

Num estudo de reatividade cruzada, foram testadas culturas da American Type Culture Collection (ATCC) e da Coleção de Culturas da Universidade de Gotemburgo (CCUG) representando organismos fortemente relacionados com *C. difficile*, assim como flora retal normal e patogénica. Foram testadas duas estirpes de *C. difficile* não produtoras de toxina utilizando o teste Xpert *C. difficile*. Os organismos testados foram representados por 24 espécies aeróbicas, 14 espécies anaeróbicas e duas espécies microaerófilas. Foram testadas três réplicas de cada isolado, a uma concentração de, pelo menos, 10⁹ UFC por reação. Nas condições do estudo, todos os isolados foram classificados como *C. difficile* toxigénico negativo; nenhum dos isolados foi detetado pelo teste Xpert *C. difficile*. Foram incluídos no estudo controlos positivos e negativos. A especificidade analítica foi de 100%.

22 Sensibilidade analítica

Foram realizados estudos adicionais para determinar o intervalo de confiança de 95% para o limite de deteção analítico (LoD) deste teste. O limite de deteção é definido como o menor número de unidades formadoras de colónias (UFC) por amostra que pode ser distinguido com reprodutibilidade das amostras negativas com 95% de confiança. Foram avaliadas réplicas de 20 em seis concentrações (100, 300, 600, 1200, 2400 e 4800 UFC/amostra).

Nas condições do estudo e utilizando uma definição máxima de Ct válido de 37, para *tdcB* e *cdt* e de 40 para *tdcC*, os resultados indicam que a estimativa do ponto de LoD é de 1657 UFC/zaragatoa para *C. difficile* toxigénico, com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 1157 UFC/zaragatoa e 3561 UFC/zaragatoa, e de 2058 UFC/amostra para a estirpe 027/NAP1/BI de *C. difficile* toxigénico, com um intervalo de confiança de 95% compreendido entre 1581 UFC/zaragatoa e 3441 UFC/zaragatoa.

23 Referências

1. Larson HE, Price AB, Honour P, Borriello SP. *Clostridium difficile* and the aetiology of pseudomembranous colitis, Lancet 1978; 1:1063-1066.
2. Bartlett JG. Clinical practice. Antibiotic-associated diarrhea. N Engl J Med 2002; 31:334-339
3. Borriello SP. The influence of the normal flora on *Clostridium difficile* colonization of the gut. Ann Med 1990; 22:61-67
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. J Hosp Infect 1998; 40:1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. N Engl J Med 1994; 330:257-262.
6. Braun 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, Lysterly 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 *TedC* 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, Lysterly 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). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar a edição mais recente).
20. 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.
21. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Locais das sedes da Cepheid

Sede empresarial

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede europeia

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

25 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

Estados Unidos da América

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

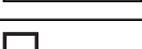
França

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

Termos e Condições da Cepheid podem ser encontrados em www.cepheid.com/en/support/support/order-management.

26 Tabela de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Não reutilizar
	Código de lote
	Consultar as instruções de utilização
	Cuidado
	Fabricante
	País de fabrico
	Conteúdo suficiente para n testes
	Controlo
	Prazo de validade
	Marcação CE — Conformidade Europeia
	Limites de temperatura
	Riscos biológicos
	Mandatário na Suíça
	Importador



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden

Tel: +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 Histórico de revisões

Descrição das alterações: 300-9291, Rev. G a Rev. H

Finalidade: Correção da parte gráfica e alinhamento com os requisitos do regulamento (UE) 2017/746

Secção	Descrição da alteração
Declarações relativas a marcas registadas, patentes e copyright	Atualização das informações legais de acordo com as normas legais atuais da Cepheid.
12	Atualização do texto da secção Procedimento para consistência entre as Instruções de utilização da Cepheid.
15	Ordenação de figuras para corresponder à ordem dos resultados na Tabela 1.
16,2	Atualização do texto da secção Procedimento de repetição do teste para consistência entre as Instruções de utilização da Cepheid.
26	Adição do símbolo do CH REP e do importador, bem como definições na tabela de símbolos. Adição da informação do CH REP e do importador, incluindo o endereço na Suíça.
27	Atualização da tabela relativa ao histórico de revisões.
Em todo o documento	Ocorrências consistentes de “ensaio” utilizado como nome de marca alteradas para “teste”.