

Xpert[®] *C. difficile*

REF GXCDIFFICILE-CE-10

Instrucciones de uso

IVD CE

Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual

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[®], el logotipo de Cepheid, GeneXpert[®] y Xpert[®] son marcas comerciales de Cepheid, registradas en los EE. UU. y otros países.

Las restantes marcas comerciales pertenecen a sus respectivos propietarios.

LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO OTORGA AL COMPRADOR EL DERECHO INTRANSFERIBLE DE UTILIZARLO SEGÚN ESTAS INSTRUCCIONES DE USO. NO SE OTORGA NINGÚN OTRO DERECHO DE FORMA EXPRESA, IMPLÍCITA O POR IMPEDIMENTO LEGAL. LA COMPRA DE ESTE PRODUCTO TAMPOCO OTORGA NINGÚN DERECHO DE REVENTA.

© 2011–2023 Cepheid.

Consulte el Apartado 27, Historial de revisiones, para obtener una descripción de los cambios.

Xpert[®] C. difficile

Para uso diagnóstico *in vitro*.

1 Nombre patentado

Xpert[®] C. difficile

2 Denominación común o habitual

Prueba Xpert C. difficile

3 Indicaciones

La prueba Xpert C. difficile realizada en los GeneXpert[®] Instrument Systems de Cepheid es una prueba cualitativa de diagnóstico *in-vitro* para la identificación y diferenciación rápidas de la toxina B y la toxina binaria de muestras de heces adecuadas obtenidas de pacientes con sospecha de infección por *Clostridium difficile* (ICD). La prueba utiliza la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real automatizada para detectar C. difficile productoras de toxinas, que se asocian a la ICD. La prueba Xpert C. difficile está concebida como una ayuda para el diagnóstico de la ICD. Las pruebas concomitantes solo son necesarias si se requiere una tipificación adicional.

4 Resumen y explicación

Clostridium difficile (C. difficile) es un bacilo anaerobio grampositivo formador de esporas que se asoció a enfermedades por primera vez en 1978.¹ La infección por *Clostridium-difficile* (ICD) causa desde diarrea a colitis pseudomembranosa grave y potencialmente mortal.² La flora bacteriana colónica madura en un adulto sano es normalmente resistente a la colonización por C. difficile.³ Sin embargo, si se altera la flora normal del colon, se pierde la resistencia a la colonización. El factor de riesgo más habitual es la exposición a antibióticos.⁴ Los factores de virulencia principales de C. difficile son la enterotoxina A y la citotoxina B.⁵ Los genes que codifican para la toxina A (*tcdA*) y la toxina B (*tcdB*) forman parte del locus de patogenicidad (LocPa).^{6,7} La mayoría de las cepas patógenas son cepas positivas para la toxina A y la toxina B (A+B+), aunque se han identificado aislados variantes negativos para la toxina A y positivos para la toxina B (A-B+) como patógenos.⁸ Algunas cepas de C. difficile producen también una ADP ribosiltransferasa específica de actina, llamada CDT o toxina binaria. El locus de la toxina binaria contiene dos genes (*cdtA* y *cdtB*) y está situado fuera de LocPa.⁹⁻¹¹ En los últimos años, han habido brotes de ICD causados por cepas «hipervirulentas» y cepas resistentes a la fluoroquinolona pertenecientes al ribotipo PCR 027, PFGE tipo NAP1 y REA tipo B1.^{8,12} Estas cepas muestran una mayor producción de toxinas, que se atribuye a eliminaciones en el gen regulador *tcdC*.^{13,14}

El Centro europeo para la prevención y el control de enfermedades (ECDC) ha identificado una necesidad urgente de pruebas de diagnóstico rápidas con un mejor rendimiento que los ensayos disponibles actualmente para C. difficile.¹² El diagnóstico de C. difficile se basa generalmente en la detección de la toxina A o B. El laborioso ensayo de citotoxicidad celular se sigue considerando el «método de referencia» debido a su elevada especificidad.^{15,16} Se han desarrollado varios enzoinmunoanálisis rápidos para la detección de las toxinas A y B. Sin embargo, estas pruebas tienen una menor sensibilidad y especificidad que el ensayo de citotoxicidad celular. Recientemente se han desarrollado métodos de PCR para la detección de las toxinas A y B; estos métodos muestran una alta sensibilidad y especificidad en comparación con la citotoxicidad celular y el inmunoanálisis. No obstante, en la actualidad no se dispone de ensayos de PCR comerciales normalizados para la detección de las toxinas A y B.¹⁷

5 Principio del procedimiento

Los GeneXpert Instrument Systems automatizan e integran la preparación de muestras, la extracción de ácidos nucleicos, la amplificación y la detección de la secuencia diana en muestras simples o complejas mediante ensayos de RT-PCR y PCR en tiempo real. Los sistemas están formados por un instrumento, ordenador, y software precargado para realizar las pruebas en las muestras recogidas y ver los resultados. Los sistemas requieren el uso de cartuchos GeneXpert desechables de un solo uso, que contienen los reactivos de PCR y alojan los procesos de extracción de ADN y PCR. Como los cartuchos son autónomos, el riesgo de contaminación cruzada entre muestras es mínimo. Para obtener una descripción completa de los sistemas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual* (Manual del operador del sistema GeneXpert Dx) adecuado o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual* (Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity).

La prueba Xpert *C. difficile* incluye reactivos para la detección de *C. difficile* productor de toxina y *C. difficile* productor de toxina, presunto 027/NAP1/BI, respectivamente, así como el control de procesamiento de muestras (SPC). El SPC está presente para controlar un proceso de amplificación adecuado y para comprobar la presencia de inhibidores en la reacción PCR. El control de comprobación de la sonda (PCC) verifica la rehidratación de los reactivos, el llenado del tubo de PCR en el cartucho, y la presencia y funcionalidad en el cartucho de todos los componentes de la reacción, lo que incluye las sondas y los colorantes.

Los cebadores y sondas de la prueba Xpert *C. difficile* detectan secuencias en los genes para la toxina B (*tcdB*), la toxina binaria (*cdt*) y la delección de *tcd* en nt 117 (*tcdC117*).

6 Materiales suministrados

El kit de Xpert *C. difficile* contiene reactivos suficientes para procesar 10 muestras de pacientes o de control de calidad.

El kit contiene lo siguiente:

Xpert <i>C. difficile</i> Cartuchos de la prueba con tubos de reacción integrados	10
<ul style="list-style-type: none"> • Microesfera 1, microesfera 2 y microesfera 3 (liofilizadas) • Reactivo 1 • Reactivo 2 (hidróxido sódico) 	<ul style="list-style-type: none"> • 1 de cada por cartucho • 3,0 ml por cartucho • 3,0 ml por cartucho
Bolsas de reactivos Xpert <i>C. difficile</i>	10
<ul style="list-style-type: none"> • Reactivo para muestras (tiocianato de guanidinio) 	<ul style="list-style-type: none"> • 10 x 2,0 ml por bolsa
CD	1 por kit
<ul style="list-style-type: none"> • Archivos de definición del ensayo (ADF) • Instrucciones para importar los ADF en el software GeneXpert • Instrucciones de uso (prospecto) 	

Nota Las fichas de datos de seguridad (FDS) están disponibles en www.cepheid.com o www.cepheidinternational.com, en el apartado ASISTENCIA (SUPPORT).

Nota La albúmina sérica bovina (BSA) del interior de las microesferas de este producto se obtuvo y se fabricó exclusivamente a partir de plasma bovino originario de Estados Unidos. Los animales no fueron alimentados con proteínas de rumiantes ni con otras proteínas animales; los animales superaron las pruebas ante y post mórtem. Durante el procesamiento, no hubo mezcla del material con otros materiales de origen animal.

7 Conservación y manipulación

- Conserve los contenidos del kit Xpert *C. difficile* a una temperatura de 2 °C – 28 °C hasta la fecha de caducidad indicada en la etiqueta.
- No utilice el reactivo para muestras ni los cartuchos después de la fecha de caducidad indicada.

- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.
- No utilice cartuchos húmedos o que presenten fugas.
- El reactivo para muestras es un líquido transparente incoloro. No utilice el reactivo para muestras si se ha vuelto turbio o ha cambiado de color.

8 Materiales requeridos pero no suministrados

- GeneXpert Dx System o GeneXpert Infinity System (el número de catálogo varía según la configuración): Instrumento GeneXpert, ordenador con el software GeneXpert patentado, lápiz lector de códigos de barras y manual del operador.
- Para GeneXpert Dx System: Software versión 4.3 o posterior.

Impresora: Si se requiere una impresora, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid para organizar la compra de una impresora recomendada.

- Agitadora vorticial
- Pipetas de transferencia estériles desechables
- Hisopo seco para la transferencia de la muestra de heces, dispositivo de recogida de muestras de Cepheid, número de catálogo 900-0370 (cultivo Copan Venturi Transystem®, 139CFA) o el hisopo desechable de un solo uso de Cepheid, número de catálogo SDPS-120 (Copan 138CS01.PH).

9 Declaraciones de atención y precaución

- Trate todas las muestras biológicas, incluidos los cartuchos y los reactivos usados, como si pudieran transmitir agentes infecciosos. Con frecuencia es imposible saber qué muestras podrían ser infecciosas, por lo que todas las muestras biológicas deben tratarse tomando las precauciones habituales. Las directrices para la manipulación de las muestras están disponibles en los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (Centers for Disease Control and Prevention) y el Instituto de Normas Clínicas y de Laboratorio (Clinical and Laboratory Standards Institute) de Estados Unidos ^{18,19}.
- Siga los procedimientos de seguridad de su centro para trabajar con productos químicos y manipular muestras biológicas.
- Si la prueba Xpert *C. difficile* se realiza fuera de los intervalos de tiempo y temperatura de conservación recomendados, es posible que se obtengan resultados erróneos o no válidos.
- No agite el cartucho. Si el cartucho se agita o se deja caer después de haber abierto su tapa, es posible que se obtengan resultados no válidos.
- No coloque la etiqueta de identificación de la muestra sobre la tapa del cartucho ni sobre la etiqueta del código de barras del cartucho. No utilice cartuchos con etiquetas de código de barras dañadas.
- La prueba Xpert *C. difficile* no proporciona resultados de sensibilidad. Se requiere tiempo adicional para realizar el cultivo y las pruebas de sensibilidad.
- No sustituya los reactivos de la prueba Xpert *C. difficile* por otros reactivos.
- No abra la tapa del cartucho de Xpert *C. difficile* excepto cuando vaya a añadir la muestra y los reactivos, o a repetir la prueba.
- No utilice cartuchos que se hayan caído después de extraerlos del empaquetado.
- No utilice un cartucho que tenga un tubo de reacción dañado.
- Cada cartucho de un solo uso de la prueba Xpert *C. difficile* se utiliza para procesar una sola prueba. No reutilice los cartuchos procesados.
- Use guantes y bata de laboratorio limpios. Cámbiese los guantes entre la manipulación de una muestra y la de la siguiente.
- En caso de que la zona o el equipo de trabajo resulten contaminados con las muestras o los controles, limpie minuciosamente la zona contaminada con una dilución 1:10 de lejía doméstica y, a continuación, vuelva a limpiar la zona de trabajo con etanol desnaturalizado al 70 %. Limpie y seque por completo las superficies de trabajo antes de continuar.
- Las muestras biológicas, los dispositivos de transferencia y los cartuchos usados deben ser considerados capaces de transmitir agentes infecciosos, y requieren las precauciones habituales. Siga los procedimientos medioambientales de eliminación de desechos de su centro para la eliminación adecuada de los cartuchos usados y los reactivos no utilizados. Estos materiales pueden presentar características propias de los residuos químicos peligrosos, que requieren procedimientos específicos de eliminación de carácter nacional o regional. Si las normativas nacionales o regionales no proporcionan instrucciones claras en cuanto a los procedimientos de eliminación adecuados, las muestras biológicas

y los cartuchos usados deben desecharse de conformidad con las directrices de la OMS (Organización Mundial de la Salud) relativas a la manipulación y eliminación de desechos médicos.

- No abra la tapa del cartucho hasta el momento de realizar la prueba.

10 Peligros químicos^{20,21}

- Pictograma de peligro del SGA de la ONU: 
- Palabra de advertencia: ATENCIÓN
- **Declaraciones de peligro del SGA de la ONU**
 - Nocivo en caso de ingestión
 - Provoca irritación cutánea
 - Provoca irritación ocular grave
- **Declaraciones de precaución del SGA de la ONU**
 - **Prevención**
 - Lavarse concienzudamente tras la manipulación.
 - No comer, beber ni fumar cuando se utilice este producto.
 - Evitar su liberación al medio ambiente.
 - Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección
 - **Respuesta**
 - EN CASO DE CONTACTO CON LA PIEL: Lavar con agua y jabón abundantes.
 - Quitarse las prendas contaminadas y lavarlas antes de volver a usarlas.
 - Se necesita un tratamiento específico; ver información adicional de medidas de primeros auxilios.
 - En caso de irritación cutánea: Consultar a un médico
 - EN CASO DE CONTACTO CON LOS OJOS: Aclarar cuidadosamente con agua durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto, si lleva y resulta fácil. Seguir aclarando.
 - Si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico
 - EN CASO DE INGESTIÓN: Llamar inmediatamente a un CENTRO DE INFORMACIÓN TOXICOLÓGICA o a un médico en caso de malestar.
 - Enjuagarse la boca.
 - **Conservación/eliminación**
 - Eliminar el contenido o el recipiente en conformidad con los reglamentos locales, regionales, nacionales e internacionales.

11 Recogida, transporte y conservación de las muestras

1. Recoja las heces informes en un recipiente limpio. Siga las directrices de su centro para la recogida de muestras para las pruebas de *C. difficile*.
2. Etiquete la muestra con la ID del paciente y envíela al laboratorio para su análisis.
3. Conserve la muestra a una temperatura entre 2 °C y 8 °C. La muestra es estable un máximo de 5 días cuando se conserva a entre 2 °C y 8 °C. Las muestras también pueden mantenerse a temperatura ambiente (20 °C a 30 °C) durante un máximo de 24 horas.

12 Procedimiento

12.1 Preparación del cartucho

Importante Inicie la prueba antes de que transcurran 30 minutos desde que añadió la muestra al cartucho.

Para añadir la muestra al cartucho:

1. Extraiga el cartucho y el reactivo para muestras del envase.

2. Meta brevemente el hisopo entero en la muestra de heces informe. No es necesario que el hisopo esté completamente empapado.
3. Introduzca el hisopo en el tubo que contiene el reactivo para muestras.

Nota Utilice una gasa estéril para reducir al mínimo los riesgos de contaminación.

4. Sujete el hisopo por el vástago cerca del borde del tubo, levante el hisopo unos milímetros del fondo del tubo y presione el vástago contra el borde del tubo para romperlo. Asegúrese de que el hisopo sea lo suficiente corto para que la tapa pueda cerrarse bien.
5. Cierre la tapa y agite en la agitadora vorticial a alta velocidad durante 10 segundos.
6. Abra la tapa del cartucho. Con una pipeta de transferencia limpia, transfiera todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del cartucho.
7. Cierre la tapa del cartucho.



Figura 1. Cartucho (vista superior)

12.2 Inicio de la prueba

Importante Si está utilizando un sistema *GeneXpert Dx*, antes de iniciar la prueba, asegúrese de que el sistema esté ejecutando el software *GeneXpert Dx* versión 4.7b o posterior, y de que se haya importado el archivo de definición del ensayo correcto al software.

Importante Si está utilizando un sistema *GeneXpert Infinity*, antes de iniciar la prueba, asegúrese de que el sistema esté ejecutando el software *Xpertise* versión 6.4b o posterior, y de que se haya importado el archivo de definición del ensayo correcto al software.

Este apartado describe los pasos básicos para realizar la prueba. Para ver instrucciones detalladas, consulte el *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Dx)* o el *GeneXpert Infinity System Operator Manual (Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity)*, según el modelo que se esté utilizando.

Nota Los pasos que debe seguir pueden ser diferentes si el administrador del sistema cambió el flujo de trabajo predeterminado del sistema.

1. Encienda el instrumento GeneXpert:

- Si está utilizando el instrumento *GeneXpert Dx*, encienda primero el instrumento *GeneXpert Dx* y, a continuación, encienda el ordenador. El software *GeneXpert* se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software *GeneXpert Dx* en el escritorio de Windows®.
- o
- Si está utilizando el instrumento *GeneXpert Infinity*, ponga en marcha el instrumento. El software *Xpertise* se iniciará automáticamente. Si no lo hace, haga doble clic en el icono de acceso rápido al software *Xpertise* en el escritorio de Windows®.

2. Inicie sesión en el software del sistema GeneXpert con su nombre de usuario y su contraseña.

3. En la ventana del **sistema GeneXpert**, haga clic en **Crear prueba (Create Test)** (GeneXpert Dx) o en **Solicitudes (Orders)** y **Solicitar prueba (Order test)** (Infinity). Se abre la ventana **Crear prueba (Create Test)**. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. del paciente (Scan Patient ID barcode)**.
4. Escanee o escriba la Id. paciente (Patient ID). Si escribe la Id. paciente (Patient ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. paciente (Patient ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de Id. de la muestra (Scan Sample ID barcode)**.
5. Escanee o escriba la Id. muestra (Sample ID). Si escribe la Id. muestra (Sample ID), asegúrese de escribirla correctamente. La Id. muestra (Sample ID) se asocia a los resultados de la prueba, y se muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)** y en todos los informes. Se abre el cuadro de diálogo **Escanear código de barras de cartucho (Scan Cartridge Barcode)**.
6. Escanee el código de barras del cartucho. El software utiliza la información del código de barras para rellenar automáticamente los cuadros de los campos siguientes: Seleccionar ensayo (Select Assay), Id. del lote (Reagent Lot ID), N° de serie del cartucho (Cartridge S/N) y Fecha de caducidad (Expiration Date).

Nota

Si el código de barras del cartucho no se escanea, repita la prueba con un cartucho nuevo. Si ha escaneado el código de barras del cartucho en el software y el archivo de definición del ensayo no está disponible, aparecerá una pantalla que indica que el archivo de definición del ensayo no está cargado en el sistema. Si aparece esta pantalla, póngase en contacto con el servicio técnico de Cepheid.

7. Haga clic en **Iniciar prueba (Start Test)** (GeneXpert Dx) o en **Enviar (Submit)** (Infinity). En el cuadro de diálogo que aparece, introduzca su contraseña, si es necesario.
8. En el *sistema GeneXpert Infinity*, coloque el cartucho en la cinta transportadora. El cartucho se cargará automáticamente, se realizará la prueba y el cartucho usado se colocará en el recipiente de residuos.

o

En el *instrumento GeneXpert Dx*:

- a) Abra la puerta del módulo del instrumento que tiene la luz verde intermitente y cargue el cartucho.
- b) Cierre la puerta. La prueba se inicia y la luz verde deja de parpadear. Una vez finalizada la prueba, la luz se apaga.
- c) Espere hasta que el sistema desbloquee la puerta del módulo antes de abrirla. A continuación, extraiga el cartucho.
- d) Elimine los cartuchos usados en los recipientes de residuos de muestras adecuados de acuerdo con las prácticas habituales de su centro.

13 Visualización e impresión de los resultados

Este apartado describe los pasos básicos para ver e imprimir los resultados. Para obtener instrucciones detalladas sobre cómo ver e imprimir los resultados, consulte el *Manual del operador del sistema GeneXpert Dx* o el *Manual del operador del sistema GeneXpert Infinity*, dependiendo del modelo que esté utilizando.

1. Haga clic en el icono **Ver resultados (View Results)** para ver los resultados.
2. Una vez finalizada la prueba, haga clic en el botón **Informe (Report)** de la ventana Ver resultados (View Results) para ver o generar un archivo de informe en formato PDF.

14 Control de calidad

Cada prueba incluye un control de procesamiento de muestras (Sample Processing Control, SPC) y un control de comprobación de la sonda (Probe Check Control, PCC).

- **Control de procesamiento de muestras (SPC):** Confirma que la muestra se procesó correctamente. El SPC contiene esporas de *Bacillus globigii* en forma de una torta de esporas secas que se incluye en cada cartucho para verificar el procesamiento adecuado de las bacterias de la muestra. El SPC confirma que se ha producido la lisis de las bacterias de *C. difficile* y esporas si los microorganismos están presentes, y verifica que el procesamiento de la muestra es adecuado. Aparte de lo anterior, este control detecta la inhibición asociada a las muestras del ensayo de PCR en tiempo real. El SPC debe ser positivo en una muestra negativa, y puede ser negativo o positivo en una muestra positiva. El SPC se considera superado si cumple los criterios de aceptación validados.
- **Control de comprobación de la sonda (PCC) :** antes de iniciar la reacción de PCR, el sistema GeneXpert mide la señal de fluorescencia de las sondas para comprobar la rehidratación de las microesferas, el llenado del tubo de reacción, la integridad de las sondas y la estabilidad de los colorantes. La comprobación de la sonda se considera superada si cumple los criterios de aceptación asignados.

15 Interpretación de los resultados

El sistema GeneXpert interpola los resultados a partir de las señales fluorescentes medidas y los algoritmos de cálculo incorporados, y los muestra en la ventana **Ver resultados (View Results)**. Los resultados posibles son:

Tabla 1. Xpert *C. difficile* Resultados e interpretación de

Resultado	Interpretación
Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVO, 027 PRESUMPTIVE NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027 PRESUMPTIVE NEG) Consulte la Figura 2	Se detectan secuencias de ADN diana de <i>C. difficile</i> productor de toxinas <ul style="list-style-type: none"> <i>C. difficile</i> productor de toxinas: las dianas de <i>C. difficile</i> productor de toxinas (toxina B o toxina B más toxina binaria o <i>tcdC</i> deleción nt 117) tiene un valor Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado SPC – N/A (SPC — NA, no aplicable); el SPC se ignora ya que la amplificación de la diana de <i>C. difficile</i> podría competir con este control. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVO, 027 PRESUMPTIVE POS (Toxigenic <i>C. diff</i> POSITIVE, 027 PRESUMPTIVE POS) Consulte la Figura 3	Se detectan secuencias de ADN diana de <i>C. difficile</i> productor de toxinas, presuntamente 027/NAP1/BI. <ul style="list-style-type: none"> <i>C. difficile</i> productor de toxinas, presunto 027/NAP1/BI: Todas las dianas de <i>C. difficile</i> productor de toxinas, presunto 027/NAP1/BI (toxina B, toxina binaria y <i>tcdC</i> deleción nt 117) tienen valores Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo configurado. SPC – N/A (SPC — NA, no aplicable); el SPC se ignora ya que la amplificación de la diana de <i>C. difficile</i> podría competir con este control. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
Toxigenic <i>C. diff</i> NEGATIVO, 027 PRESUMPTIVE NEG (Toxigenic <i>C. diff</i> NEGATIVE, 027 PRESUMPTIVE NEG) Consulte la Figura 4	No se detectan secuencias de ADN diana (toxina B) de <i>C. difficile</i> . NEGATIVO: No se detectan las secuencias de ADN de <i>C. difficile</i> productor de toxinas (toxina B); no se detectan otros ADN diana para <i>C. diff</i> toxinógeno (toxina binaria y <i>tcdC</i> deleción nt 117). El SPC satisface los criterios de aceptación. <ul style="list-style-type: none"> NEGATIVO: No se detecta ADN diana de <i>C. difficile</i>. SPC – SUPERADO (PASS); el SPC tiene un Ct dentro del rango válido y un valor extremo por encima del valor mínimo del valor extremo. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.
NO VÁLIDO (INVALID) Consulte la Figura 5	No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>C. difficile</i> ; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba, más adelante. El SPC no satisface los criterios de aceptación, la muestra no se procesó correctamente o la PCR se ha inhibido. <ul style="list-style-type: none"> NO VÁLIDO (INVALID); no puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>C. difficile</i>. SPC – NO SUPERADO (FAIL); el resultado de la diana del SPC es negativo y el Ct del SPC no está dentro del rango válido y el valor extremo está por debajo del valor mínimo configurado. Comprobación de la sonda—SUPERADO (PASS); todos los resultados de comprobación de la sonda superan la comprobación.

Resultado	Interpretación
ERROR	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>C. difficile</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba, más adelante. El control de comprobación de la sonda falló, probablemente porque el tubo de reacción no se llenó bien, se detectó un problema con la integridad de las sondas o se excedieron los límites máximos de presión.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxina B (<i>tcdB</i>) — SIN RESULTADO [Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT] • Toxina binaria (<i>cdt</i>) — SIN RESULTADO [Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT] • <i>tcdCA117</i> — SIN RESULTADO (<i>tcdCA117</i> — NO RESULT) • *SPC — SIN RESULTADO (SPC — NO RESULT) <p>Comprobación de la sonda — NO SUPERADO (Probe Check — FAIL)^a; no se ha superado uno o todos los resultados de comprobación de la sonda.</p>
SIN RESULTADO (NO RESULT)	<p>No puede determinarse la presencia o ausencia de ADN diana de <i>C. difficile</i>; repita la prueba de acuerdo con las instrucciones del apartado Procedimiento de repetición de la prueba, más adelante. No se obtuvieron suficientes datos para producir un resultado de la prueba (por ejemplo, si el usuario detuvo una prueba que estaba en curso).</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toxina B (<i>tcdB</i>) — SIN RESULTADO [Toxin B (<i>tcdB</i>) — NO RESULT] • Toxina binaria (<i>cdt</i>) — SIN RESULTADO [Binary Toxin (<i>cdt</i>) — NO RESULT] • <i>tcdCA117</i> — SIN RESULTADO (<i>tcdCA117</i> — NO RESULT) • SPC — SIN RESULTADO (SPC — NO RESULT) • Comprobación de la sonda—N/A (no aplicable) (Probe Check—NA [not applicable])

^a Si la comprobación de sondas se superó, el error se debe a un fallo en los componentes del sistema.

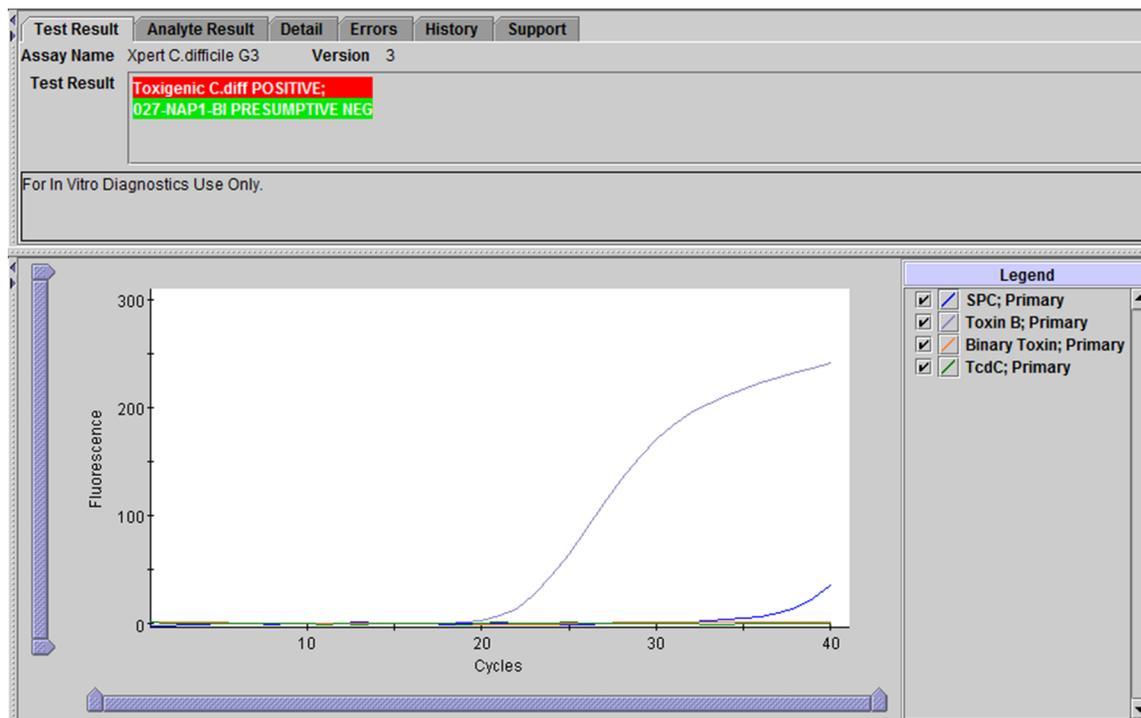


Figura 2. Ejemplo de un resultado Xpert C. difficile positivo y 027 presunto negativo

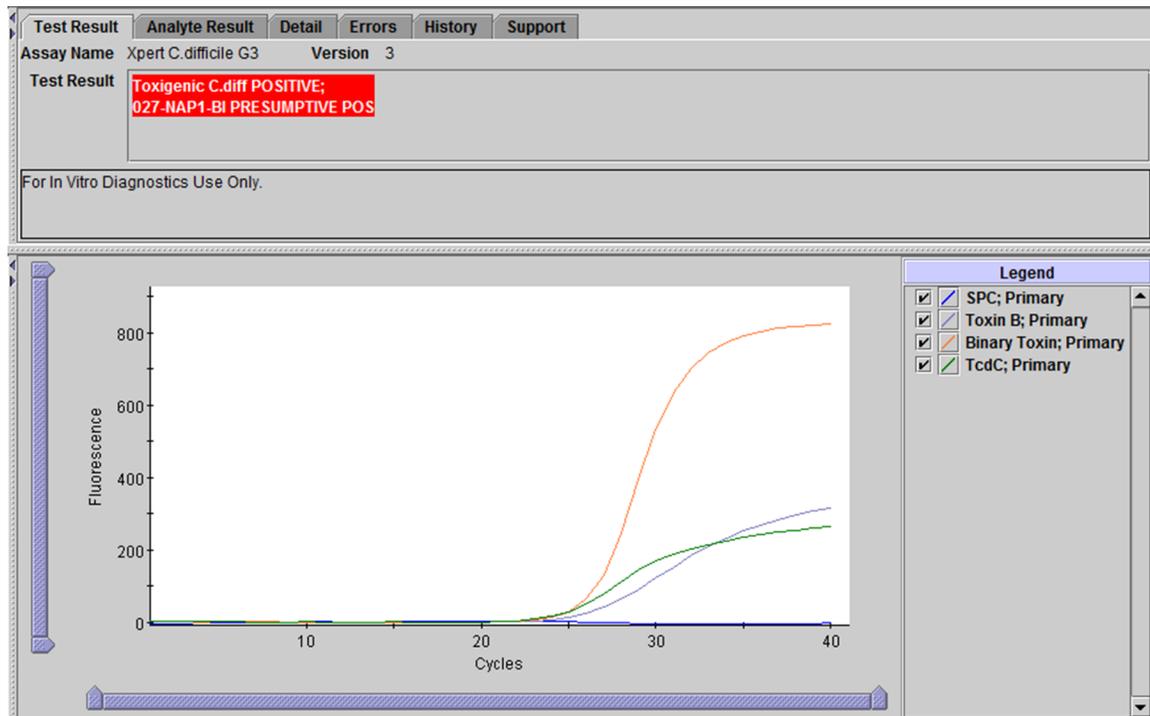


Figura 3. Ejemplo de un resultado Xpert C. difficile positivo y 027 presunto positivo

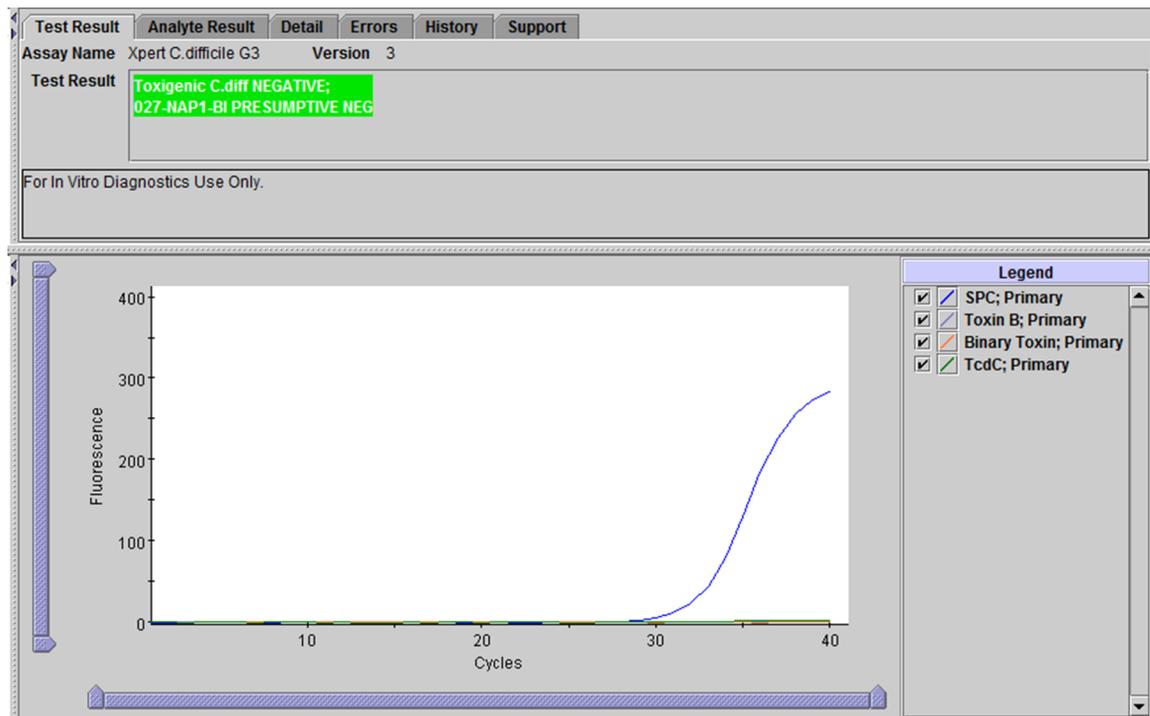


Figura 4. Ejemplo de un resultado C. difficile negativo y 027 presunto negativo

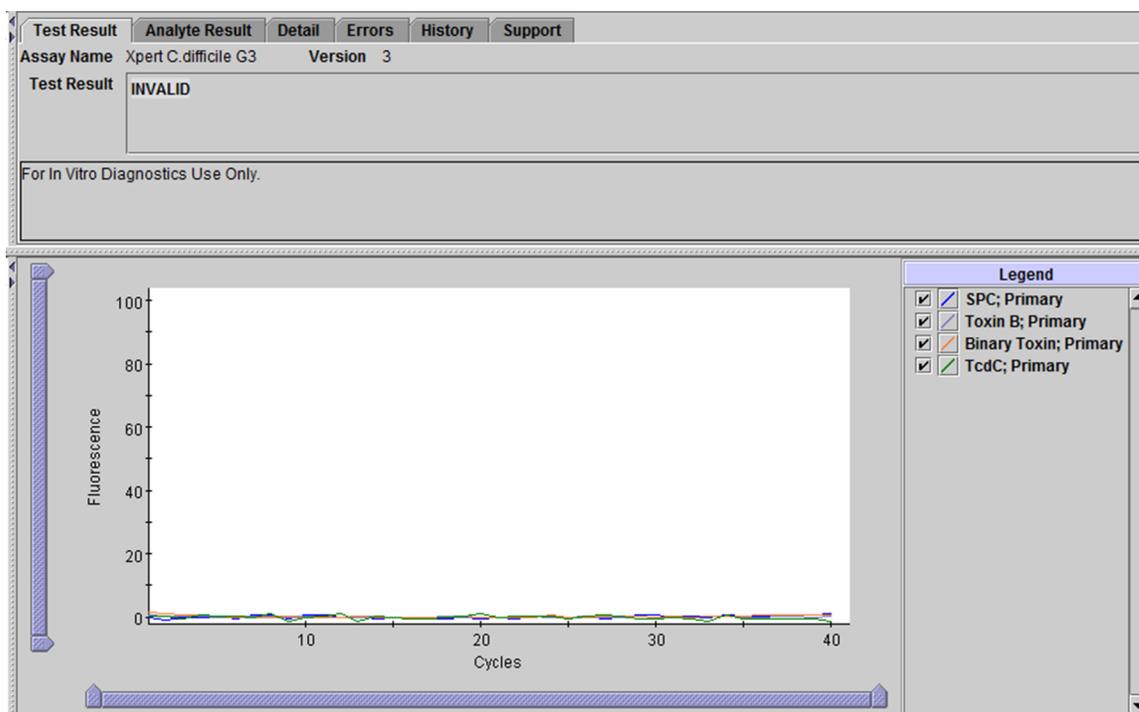


Figura 5. Ejemplo de un resultado no válido

16 Motivos para repetir el ensayo

16.1 Razones para repetir la prueba

Si se obtiene alguno de los resultados de la prueba que se mencionan a continuación, repita la prueba una vez de acuerdo con las instrucciones del Apartado 16.2.

- Un resultado **NO VÁLIDO (INVALID)** indica que el control SPC falló. La muestra no se procesó correctamente o la PCR se inhibió.
- Un resultado de **ERROR** indica que el control de comprobación de la sonda podría haber fallado y la prueba se interrumpió posiblemente debido a que el tubo de reacción no se llenó bien, a que se detectó un problema de integridad de la sonda de reactivo, a que se excedieron los límites máximos de presión o a que se detectó un error de posición de una válvula.
- **SIN RESULTADO (NO RESULT)** indica que no se han recogido suficientes datos. Por ejemplo, si el operador detuvo una prueba en curso.

16.2 Procedimiento de repetición de la prueba

Para repetir la prueba antes de 3 horas de haber obtenido un resultado indeterminado, utilice un cartucho nuevo (no vuelva a utilizar el cartucho) y reactivos nuevos.

1. Saque un cartucho nuevo del kit.
2. Transfiera el contenido restante de la cámara de muestras a un nuevo vial de reactivo para muestras con una pipeta de transferencia desechable.
3. Agite en la agitadora vorticial y añada todo el contenido del reactivo para muestras a la cámara de muestras del nuevo cartucho del Xpert *C. difficile*.
4. Cierre la tapa e inicie la nueva prueba.

Para repetir la prueba después de 3 horas de haber obtenido un resultado indeterminado, repita la prueba con una nueva muestra recogida con hisopo de la muestra del paciente original.

17 Limitaciones

Los aislados distintos del 027/NAP1/BI que representan el toxinotipo XIV se notifican como **Toxigenic C. diff POSITIVO, 027 PRESUMPTIVE POS (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** con la prueba Xpert *C. difficile*.

Ocasionalmente, los aislados distintos del 027/NAP1/BI que representan los toxinotipos IV, V y X se notifican como **Toxigenic C. diff POSITIVO, 027 PRESUMPTIVE POS (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** con la prueba Xpert *C. difficile*.

La eficacia de la prueba Xpert *C. difficile* se validó únicamente mediante los procedimientos descritos en este prospecto. Las modificaciones de estos procedimientos pueden afectar a la eficacia de la prueba. Los resultados de la prueba Xpert *C. difficile* deben interpretarse junto con otros datos de laboratorio y clínicos de los que disponga el médico.

Pueden obtenerse resultados erróneos de la prueba debido a la recogida incorrecta de la muestra, a no seguirse los procedimientos recomendados para la recogida, manipulación y conservación de las muestras, a un error técnico, a la confusión de la muestra o a que el número de microorganismos en la muestra sea demasiado bajo para detectarse mediante la prueba. El estricto cumplimiento de las instrucciones de este prospecto es necesario para evitar resultados erróneos.

Debido a que la detección de *C. difficile* depende del número de microorganismos presentes en la muestra, los resultados fiables dependerán de la recogida, manipulación y conservación correctas de las muestras.

Debido al factor de dilución asociado con el procedimiento de repetición de la prueba, es posible que muestras positivas de *C. difficile*, muy próximas o en el límite de detección (LD) de la prueba *C. difficile*, puedan dar un resultado falso negativo al repetir la prueba.

La repetición de la prueba Xpert *C. difficile* en caso de resultados **NO VÁLIDO (INVALID), ERROR o SIN RESULTADO (NO RESULT)** dependerá de las prácticas y políticas de cada centro. Se debe disponer de procedimientos alternativos. Para el cultivo, las muestras de hisopo restantes deberán colocarse en sistemas de transporte adecuados y cultivarse en un plazo de 4 días.

Un resultado positivo de la prueba no indica necesariamente la presencia de un microorganismo viable. Sin embargo, se presupone la presencia de *C. difficile*.

Los brotes de ICD pueden estar causados por cepas distintas a la 027/NAP1/BI.

La detección de ácido nucleico de *C. difficile* en las heces confirma la presencia de estos microorganismos en pacientes diarreicos, pero este hallazgo no es necesariamente indicativo de que *C. difficile* sea el agente etiológico de la diarrea.

La eficacia diagnóstica de esta prueba se ha determinado solamente con el tipo de muestra especificado en el apartado Indicaciones. No se ha evaluado la eficacia de esta prueba con otros tipos de muestra.

Pueden obtenerse resultados negativos falsos cuando el microorganismo infectante tiene mutaciones, inserciones, deleciones o reorganizaciones genómicas, o cuando la prueba se realiza en una fase muy precoz de la enfermedad.

18 Sustancias interferentes

Las posibles sustancias inhibitoras analizadas incluyeron sangre, exceso de heces y moco. Las sustancias se analizaron por triplicado con la cepa bacteriana 027/NAP1/BI de *C. difficile* añadida cerca del límite de detección analítico (~3x LD) y más (~50x LD). El exceso de materia fecal se evaluó con muestras clínicas reales en un estudio de investigación multicéntrico. En ocasiones, se observa un efecto inhibitor en presencia de un exceso de heces en el hisopo. No se observaron efectos inhibidores importantes en presencia de sangre o moco.

19 Eficacia diagnóstica

La eficacia diagnóstica de la prueba Xpert *C. difficile* se determinó en un estudio de investigación prospectivo en dos centros europeos, comparando la prueba Xpert *C. difficile* en el sistema GeneXpert (prueba Xpert *C. difficile*) con el cultivo toxínogeno seguido de la ribotipificación por PCR de las muestras de cultivo positivas. Para ser incluidas en el estudio, las muestras debían proceder de personas para las que estaba indicado el cultivo o se había solicitado siguiendo las prácticas del centro.

19.1 Resultados generales

Se analizó un total de 285 muestras para la detección de *C. difficile* con la prueba Xpert *C. difficile*, y se comparó con el método de cultivo directo (consulte la tabla a continuación).

Tabla 2. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert *C. difficile* en comparación con el cultivo directo

		Cultivo toxinógeno				
		<i>C. difficile</i>	027/NAP1/ BI pos	Negativo		
Xpert <i>C. difficile</i>	Toxina B+	34	0	16	Sensibilidad	100 %
	027/NAP1/BI	0	0	1	Especificidad	93 %
	Negativo	0	0	234		

20 Eficacia diagnóstica de 027/NAP1/BI

Para determinar la eficacia diagnóstica de la cepa 027/NAP1/BI, se evaluaron internamente muestras clínicas con la prueba Xpert *C. difficile* por cultivo y por ribotipificación con PCR. Los datos del estudio se muestran en la tabla a continuación. En este caso, negativo se refiere a cepas de *C. difficile* toxinógeno que no sean 027/NAP1/BI.

Tabla 3. Eficacia diagnóstica de la prueba Xpert *C. difficile* en comparación con la ribotipificación con PCR

		Cultivo toxinógeno y ribotipificación con PCR			
		027/NAP1/ BI Pos	027/NAP1/ BI Neg		
Xpert <i>C. difficile</i>	027/NAP1/ BI Pos	14	1	Sensibilidad	100 %
	027/NAP1/ BI Neg	0	10	Especificidad	91 %

21 Especificidad analítica

En un estudio de reactividad cruzada se analizaron cultivos de la Colección Estadounidense de Cultivos Tipo (ATCC) y la Colección de cultivos, Universidad de Göteborg (CCUG) que representaban microorganismos estrechamente relacionados con *C. difficile*, así como flora rectal normal y patógena. Se analizaron dos cepas de *C. difficile* no toxinógenas con la prueba Xpert *C. difficile*. Los microorganismos analizados representaban 24 especies aerobias, 14 anaerobias y dos microaerófilas. Cada aislado se analizó por triplicado a una concentración de al menos 10⁹ UFC por reacción. En las condiciones del estudio, todos los aislados se notificaron como negativos para *C. difficile* toxinógeno; ninguno de los aislados fue detectado por la prueba Xpert *C. difficile*. Se incluyeron en el estudio controles positivos y negativos. La especificidad analítica fue del 100 %.

22 Sensibilidad analítica

Se llevaron a cabo estudios adicionales para determinar el intervalo de confianza del 95 % para el límite de detección (LD) analítico de este ensayo. El límite de detección se define como el número mínimo de unidades formadoras de colonias (UFC) por muestra que puede distinguirse de forma reproducible de las muestras negativas con una confianza del 95 %. Se evaluaron 20 réplicas de seis concentraciones (100, 300, 600, 1200, 2400 y 4800 UFC/muestra).

En las condiciones del estudio y utilizando un valor de Ct válido máximo de 37 (para *tdcB* y *cdt*) y de 40 para *tdcC*, los resultados indican que la estimación puntual del LD para *C. difficile* toxinógeno es de 1657 UFC/hisopo, con un intervalo de confianza del 95 % entre 1157 UFC/hisopo y 3561 UFC/hisopo, y para la cepa 027/NAP1/BI de *C. difficile* toxinógeno, de 2058 UFC/muestra, con un intervalo de confianza del 95 % entre 1581 UFC/hisopo y 3441 UFC/hisopo.

23 Bibliografía

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, 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. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* 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). Número de publicación del HHS (CDC) 93-8395.
19. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consultar la última edición).
20. REGLAMENTO (CE) N.º 1272/2008 DEL PARLAMENTO EUROPEO Y DEL CONSEJO de 16 de diciembre de 2008 sobre la clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas que modifica y anula la Lista de Declaraciones de Precaución, Directivas 67/548/CEE y 1999/45/CE (que modifica la normativa (CE) N.º 1907/2006).
21. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 de marzo de 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

24 Oficinas centrales de Cepheid

Sede central corporativa

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Sede central europea

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

25 Asistencia técnica

Antes de ponerse en contacto con nosotros

Antes de ponerse en contacto con el servicio técnico de Cepheid, reúna la información siguiente:

- Nombre del producto
- Número de lote
- Número de serie del instrumento
- Mensajes de error (si los hubiera)
- Versión de software y, si corresponde, «Número de servicio técnico» (Service Tag) del ordenador

Estados Unidos

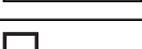
Teléfono: + 1 888 838 3222
Correo electrónico: techsupport@cepheid.com

Francia

Teléfono: + 33 563 825 319
Correo electrónico: support@cepheideurope.com

La información de contacto de todas las oficinas del servicio técnico de Cepheid está disponible en nuestro sitio
web: www.cepheid.com/en/support/contact-us

26 Tabla de símbolos

Símbolo	Significado
	Número de catálogo
	<i>Producto sanitario para diagnóstico in vitro</i>
	No reutilizar
	Código de lote
	Consultar las instrucciones de uso
	Precaución
	Fabricante
	País de fabricación
	Contiene cantidad suficiente para n pruebas
	Control
	Fecha de caducidad
	Marca CE: conformidad europea
	Límites de temperatura
	Riesgos biológicos
	Representante autorizado en Suiza
	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 Historial de revisiones

Descripción de los cambios: 300-9291, Rev. G a Rev. H

Propósito: Corrección de gráficos y alinearse con los requisitos del Reglamento (UE) 2017/746

Apartado	Descripción del cambio
Declaraciones sobre marcas comerciales, patentes y derechos de propiedad intelectual	Información legal actualizada a los estándares legales actuales de Cepheid.
12	Se ha actualizado el texto de los apartados de Procedimiento para que haya coherencia con las instrucciones de uso de Cepheid.
15	Se han ordenado las figuras para que coincida con el orden de los resultados en la tabla 1.
16.2	Se ha actualizado el texto del apartado Procedimiento de repetición de la prueba para que haya coherencia con las instrucciones de uso de Cepheid.
26	Se añadieron los símbolos y definiciones de CH REP a la tabla de símbolos. Se añadió la información de CH REP e importador con la dirección en Suiza.
27	Se actualizó la tabla de Historial de revisiones.
En todo el documento	Las apariciones de «ensayo» utilizado como nombre de marca han cambiado a «prueba».