

Xpert[®] *C.difficile/Epi*

REF GXCDIFF/EPI-10

REF GXCDIFF/EPI-120

For Information Only - Not A Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

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

Copyright © Cepheid 2020. All rights reserved.

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

Cepheid[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques de commerce de Cepheid.
Windows[®] est une marque de commerce de Microsoft Corporation.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHETEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE. 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.

Copyright © Cepheid 2020. Tous droits réservés.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
États-Unis

Xpert[®] C.difficile/Epi

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.



1 Nom de marque déposée

Xpert[®] C.difficile/Epi

2 Nom commun ou usuel

Test Xpert C. difficile/Epi

3 Utilisation prévue

Le test Cepheid Xpert[®] C. difficile/Epi est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* pour la détection rapide des séquences du gène de la toxine B et pour l'identification présomptive des souches 027/NAP1/BI de *Clostridium difficile* toxigène à partir de prélèvements de selles non moulées (liquides ou molles) provenant de patients chez lesquels une infection à *C. difficile* (ICD) est suspectée. L'identification présomptive des souches 027/NAP1/BI de *C. difficile* s'effectue par la détection de séquences du gène de la toxine binaire (CDT) et de la délétion d'une seule paire de bases au nucléotide 117 dans le gène *tcdC*. Le gène *tcdC* code pour un régulateur négatif de la production de toxine chez le *C. difficile*. Le test est effectué avec le système GeneXpert Dx de Cepheid et utilise une méthode de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter les séquences du gène de la toxine associées au *C. difficile* toxigène. Le test Xpert C. difficile/Epi est prévu comme aide au diagnostic des ICD. La détection des souches 027/NAP1/BI de *C. difficile* par le test Xpert C. difficile/Epi est présomptive et prévue uniquement à des fins épidémiologiques. Elle n'est pas prévue pour orienter ou surveiller le traitement des infections à *C. difficile*. Des cultures concomitantes sont nécessaires uniquement pour effectuer un typage supplémentaire ou récupérer des organismes.

4 Résumé 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 *Clostridium 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. difficile*³. Si la flore colique normale est altérée, la résistance à la colonisation est cependant perdue. Le facteur de risque le plus fréquent est l'exposition aux antibiotiques⁴. Le principal facteur de virulence de *C. difficile* est la cytotoxine B⁵. Les gènes codant pour la toxine A (*tcdA* ; l'entérotoxine) et la toxine B (*tcdB*) font partie du locus de pathogénicité (PaLoc)⁶. 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.

Au cours des dernières années, des flambées épidémiques d'ICD ont été attribuées à un certain nombre de souches émergentes « hypervirulentes », notamment des souches résistantes aux fluoroquinolones appartenant au PCR-ribotype 027, au type NAP1 par PFGE et au type BI par REA^{8,12}. Les souches 027/NAP1/BI présentent une production accrue de toxine, attribuée à des délétions sur le gène de régulation *tcdC*, et on pense qu'elles produisent davantage de spores, ce qui entraîne une persistance accrue dans l'environnement^{13,14}. Un résultat 027/NAP1/BI positif ou négatif présumé peut aider à identifier les sources possibles d'une flambée épidémique 027/NAP1/BI.

En règle générale, le diagnostic de *C. difficile* est fondé sur la détection de la toxine A ou B. La procédure de culture laborieuse, suivie des tests de cytotoxicité cellulaire sur les isolats, et le test de cytotoxicité cellulaire réalisé sur les prélèvements de selles, sont encore considérés comme la norme d'excellence en raison de leur 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 immunoanalyses¹⁷.

5 Principe de la procédure

Le GeneXpert Dx System automatise et intègre la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes, par PCR en temps réel et PCR après transcription inverse en temps réel (RT-PCR). (La RT-PCR en temps réel est utilisée pour les tests de détection de l'ARN. Xpert C. difficile/Epi Assay utilise la PCR en temps réel pour détecter l'ARN.) Le système se compose d'un instrument, d'un ordinateur personnel et d'un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Le système exige l'utilisation de cartouches jetables à usage unique qui contiennent les réactifs PCR et qui hébergent le processus de PCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les échantillons est éliminée. Pour une description complète du système, consulter le *manuel d'utilisation du GeneXpert Dx System*.

Xpert C. difficile/Epi Assay (Epi signifie « épidémiologique ») inclut des réactifs pour la détection de C. difficile toxigène et la détection présomptive de séquences trouvées dans les souches 027/NAP1/BI. Un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) est aussi inclus. Le CTE est présent pour confirmer le traitement adéquat de la bactérie cible et surveiller la présence d'inhibiteurs lors de la réaction PCR. Le contrôle de vérification de la sonde (CVS) confirme la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant.

Cepheid Xpert C. difficile/Epi Assay est un test automatisé rapide de diagnostic *in vitro* pour la détection qualitative de *Clostridium difficile* toxigène directement à partir de prélèvements de selles non moulées (liquides ou molles) provenant de patients chez lesquels une infection à *Clostridium difficile* (ICD) est suspectée. Le test détecte le gène de la toxine B (*tcdB*), le gène de la toxine binaire (CDT), et la délétion d'une seule paire de bases au nucléotide 117 dans le gène codant pour un régulateur négatif de la production de toxine (*tcdCA117*). La présence combinée des gènes codant pour la toxine B et la toxine binaire et la délétion *tcdCA117* du a été associée à une souche hypervirulente de C. difficile appelée 027/NAP1/BI, elle-même associée à des épidémies graves dans les établissements de santé à l'échelle mondiale.^{12,13,15} Le test est accompli avec le Cepheid GeneXpert Dx System.

6 Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



Le kit de test Xpert C. difficile/Epi (GXCDIFF/EPI-10) contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 prélèvements ou échantillons de contrôle qualité. Le kit de test Xpert C. difficile/Epi (GXCDIFF/EPI-120) contient suffisamment de réactifs pour traiter 120 prélèvements ou échantillons de contrôle qualité.

Les kits contiennent les éléments suivants :

	10	120
Cartouches de test Xpert C. difficile/Epi avec tubes réactionnels intégrés		
• Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées)	• 1 de chaque par cartouche	• 1 de chaque par cartouche
• Réactif 1	• 3,0 ml par cartouche	• 3,0 ml par cartouche
• Réactif 2 (hydroxyde de sodium)	• 3,0 ml par cartouche	• 3,0 ml par cartouche
Sachet de réactif de test Xpert C. difficile/Epi	1 par kit	1 par kit
• Réactif échantillon (thiocyanate de guanidinium)	• 10 x 2,0 ml par flacon	• 120 x 2,0 ml par flacon
CD	1 par kit	1 par kit
• Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)		
• Instructions pour importer l'ADF dans le logiciel GX		
• Mode d'emploi (notice d'utilisation)		

Remarque

Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com sous l'onglet **ASSISTANCE (SUPPORT)**.

Remarque

La sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée à partir de plasma bovin provenant exclusivement 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 Matériel requis mais non fourni

- Système GeneXpert Dx (le numéro de référence varie en fonction de la configuration) : Instrument GeneXpert, ordinateur avec logiciel propriétaire GeneXpert version 4.3 ou ultérieure, lecteur de codes-barres manuel et *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx*
- Imprimante : Si une imprimante est requise, contacter le service d'assistance technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Agitateur à Vortex
- 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 Single-Use Disposable Swab numéro de référence SDPS-120 (Copan 138CS01.PH)
- Pipettes de transfert jetables

8 Matériel disponible mais non fourni

Écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIK™ de MicroBioLogics, n° de réf. 0329 (*C. difficile* toxigène) comme contrôle positif, et n° de réf. 0527 (*C. difficile* non toxigène) et n° de réf. 0331 (*C. sordelli*) comme contrôles négatifs.


Des souches de *C. difficile* de l'ATCC n° de réf. 9689 (*C. difficile* toxigène sauvage) et n° de réf. BAA-1870 (*C. difficile* NAPI/027) comme contrôles positifs, et n° de réf. 700057 (*C. difficile* non toxigène) comme contrôle négatif sont aussi disponibles.

De plus, des souches peuvent être obtenues auprès des Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies), Division of Healthcare Quality Promotion (Division pour la promotion de la qualité des soins).

9 Avertissements et mises en garde

- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Utilisation uniquement sur ordonnance.
- Les résultats des tests Xpert *C. difficile/Epi* ne sont PAS prévus pour orienter le traitement des infections à *C. difficile*²¹.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées et les réactifs, 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)¹⁹ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire)²⁰ tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Réaliser le test Xpert *C. difficile/Epi* en dehors des plages de température et de durée de conservation recommandées peut produire des résultats erronés ou non valides.
- Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies pour les patients âgés de < 2 ans.
- Le test Xpert *C. difficile/Epi* ne donne pas de résultats de sensibilité. Une aliquote de prélèvement supplémentaire et du temps supplémentaire sont requis pour la culture et les tests de sensibilité.
- Ne pas substituer les réactifs du test Xpert *C. difficile/Epi* par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert *C. difficile/Epi*, sauf pour l'ajout de l'échantillon et des réactifs, ou pour retester.
- 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 de test Xpert *C. difficile/Epi* à usage unique doit être utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les consignes environnementales d'élimination des déchets établies par l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. 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].

10 Risques chimiques^{23,24}

- 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 oculaire 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 Conservation et manipulation



- Stocker le kit de test Xpert C. difficile/Epi à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.



- Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches après leur date d'expiration.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.

12 Collecte et transport des échantillons

1. Recueillir le prélèvement de 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 d'identification de l'échantillon et envoyer au laboratoire.
3. Conserver 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.



13 Procédure

13.1 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. Placer brièvement un écouvillon dans l'échantillon de selles non formées. Il n'est pas nécessaire de saturer complètement l'écouvillon.
3. Introduire l'écouvillon dans le flacon 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 flacon, sortir l'écouvillon de quelques millimètres pour l'éloigner du fond du tube puis appuyer la tige contre le bord du flacon 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 (non fournie), transférer tout le contenu du réactif échantillon dans la chambre échantillon de la cartouche de test Xpert C. difficile/Epi.
7. Fermer le couvercle de la cartouche.

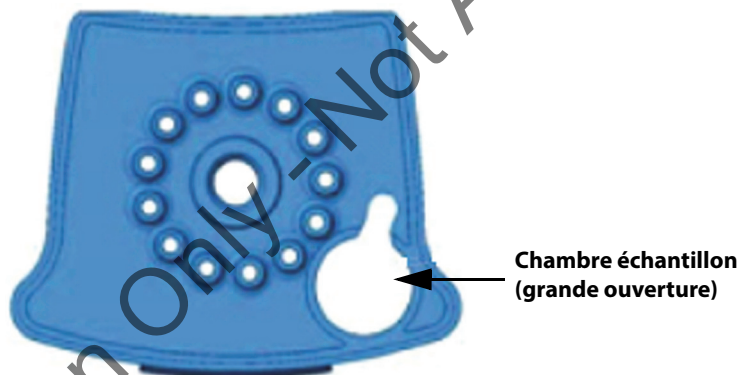


Figure 1. Cartouche Xpert C. difficile/Epi (vue de dessus)

13.2 Démarrage du test

Important Avant de démarrer le test, s'assurer que le fichier de définition du test Xpert C. difficile/Epi est importé dans le logiciel GeneXpert.

Cette section indique les étapes par défaut dans l'utilisation du système GeneXpert. Pour des instructions détaillées, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx*.

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

1. Allumer l'instrument GeneXpert Dx puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®.
2. Se connecter au logiciel du système GeneXpert Dx en entrant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
3. Dans la fenêtre du système GeneXpert Dx, cliquer sur **Créer un test (Create Test)**. La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche.
4. Lire le N° Id du patient (Patient ID) (facultatif). 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 indiqué dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**.

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 N° Id de l'échantillon (Sample ID) est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**.
6. Scanner le code barres sur la cartouche de test Xpert C. difficile/Epi. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), N° du lot (Reagent Lot ID), N° de série de la cartouche (Cartridge S/N) et Date d'expiration (Expiration Date).

Remarque S'il est impossible de scanner le code barres de la cartouche du test Xpert C. difficile/Epi, répéter le test avec une nouvelle cartouche.

7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. Dans la boîte de dialogue qui s'affiche, saisir le mot de passe.
8. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
9. Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
10. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
11. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour prélèvements approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

CONTROL

14 Affichage et impression des résultats

Pour des instructions détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx*.

15 Contrôle qualité

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

Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) — Assure le traitement correct de l'échantillon. 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 *C. difficile* s'est produite, que les organismes sont présents et que le traitement du prélèvement est adéquat. En outre, ce contrôle détecte 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 de la sonde (CVS) — Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert Dx 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 colorant. La vérification de la sonde réussit si elle répond aux critères d'acceptation attribués.

Contrôles externes — Selon les bonnes pratiques de laboratoire, des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.

16 Interprétation des résultats

Les résultats sont interprétés par le système GeneXpert Dx à partir de signaux fluorescents mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés, puis sont affichés dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**. Les résultats possibles sont résumés au Tableau 1 ; plus de détails sont fournis dans le tableau suivant.

Tableau 1. Résultats possibles avec le test Xpert C. difficile/Epi

Résultats				Interprétations	Exemple ^a
Toxine B	Toxine binaire	tcdC	CTE		
+	+	+	+/-	Toxigenic C.diff POSITIF; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE POSITIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE POSITIVE)	Figure 2
+	+	-	+/-	Toxigenic C.diff POSITIF; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NEGATIVE)	Figure 3
	-	+	+/-		
	-	-	+/-		
-	+	+	+	Toxigenic C.diff NÉGATIF; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff NEGATIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NEGATIVE)	Figure 4
	+	-	+		
	-	+	+		
	-	-	+		

- a. Des exemples de capture d'écran correspondent à des résultats positifs et négatif pour C. difficile/Epi et à un résultat NON VALIDE (INVALID). Voir Figure 2 à Figure 5 Aucun exemple de résultat ERROR (ERREUR) ou PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) n'est illustré.

Tableau 2. Résultats et interprétation du test Xpert C. difficile/Epi

Résultat	Interprétation
Toxigenic C.diff POSITIF; 027 PRESUMPTIVE POSITIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE) (Figure 2)	<p>Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> toxigène et présomptives de 027/NAP1/BI sont détectées.</p> <ul style="list-style-type: none"> La cible <i>C. difficile</i> toxigène (toxine B) ET les deux cibles présomptives de 027/NAP1/BI (toxine binaire et <i>tcdCΔ117</i>) ont des valeurs Ct (cycle seuil) dans la plage valide et des points finaux supérieurs à la valeur minimum définie. CTE – SO (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de la cible <i>C. difficile</i> risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Remarque: Les isolats non 027/NAP1/BI représentant les toxinotypes XIV et occasionnellement les toxinotypes IV, V et X seront rapportés comme « Toxigenic C. diff POSITIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE POSITIVE » (POSITIF à <i>C. diff</i> toxigène ; POSITIF PRÉSOMPTIF DE 027-NAP1-BI) avec Xpert <i>C. difficile/Epi</i> Assay.</p>
Toxigenic C.diff POSITIF; 027 PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE NEGATIVE) (Figure 3)	<p>Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> toxigène sont détectées.</p> <ul style="list-style-type: none"> La cible <i>C. difficile</i> toxigène (toxine B) ET une seule ou aucune des cibles présomptives de 027/NAP1/BI (toxine binaire et <i>tcdCΔ117</i>) ont des valeurs Ct (cycle seuil) dans la plage valide et des points finaux supérieurs à la valeur minimum définie. CTE – SO (sans objet) ; le CTE est ignoré, car l'amplification de la cible <i>C. difficile</i> risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
Toxigenic C.diff NÉGATIF; 027 PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff NEGATIVE; 027 PRESUMPTIVE NEGATIVE) (Figure 4)	<p>Les séquences d'ADN de la cible <i>C. difficile</i> toxigène ne sont pas détectées.</p> <ul style="list-style-type: none"> La cible <i>C. difficile</i> toxigène (toxine B) n'est pas détectée (indépendamment de la détection de la toxine binaire et/ou de <i>tcdCΔ117</i>). CTE – RÉUSSITE (PASS) ; le CTE a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
NON VALIDE (INVALID) (Figure 5)	<p>La présence ou l'absence d'ADN cible de <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.</p> <ul style="list-style-type: none"> CTE – ÉCHEC (FAIL) ; le résultat de la cible de CTE est négatif et la valeur Ct (cycle seuil) du CTE n'est pas dans la plage valide et le point final est inférieur à la valeur minimum définie. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
ERREUR (ERROR)	<p>La présence ou l'absence d'ADN cible de <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous.</p> <ul style="list-style-type: none"> Cibles <i>C. difficile</i> toxigène — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) Toxine binaire (CDT) — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) <i>tcdCΔ117</i> — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) <p>Vérification de la sonde — ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de plusieurs résultats de vérification de la sonde.</p> <p>*Si la vérification de la sonde a réussi, l'erreur est due à une pression maximale dépassant la plage acceptable.</p>

Tableau 2. Résultats et interprétation du test Xpert C. difficile/Epi (Suite)

Résultat	Interprétation
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<p>La présence ou l'absence d'ADN cible de <i>C. difficile</i> est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Cibles <i>C. difficile</i> toxigène — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Toxine binaire (CDT) — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • <i>tcdC</i>Δ117 — PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification de la sonde — SO (sans objet)

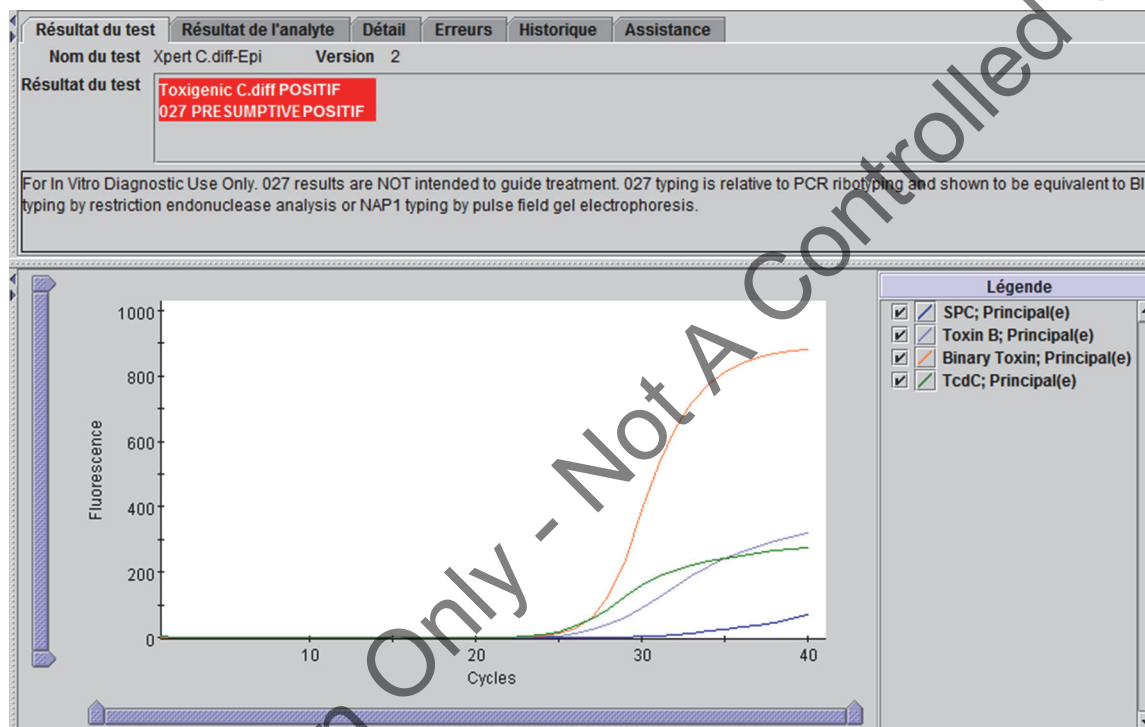


Figure 2. Exemple de résultat Toxigenic C.diff POSITIF; 027 PRESUMPTIVE POSITIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)

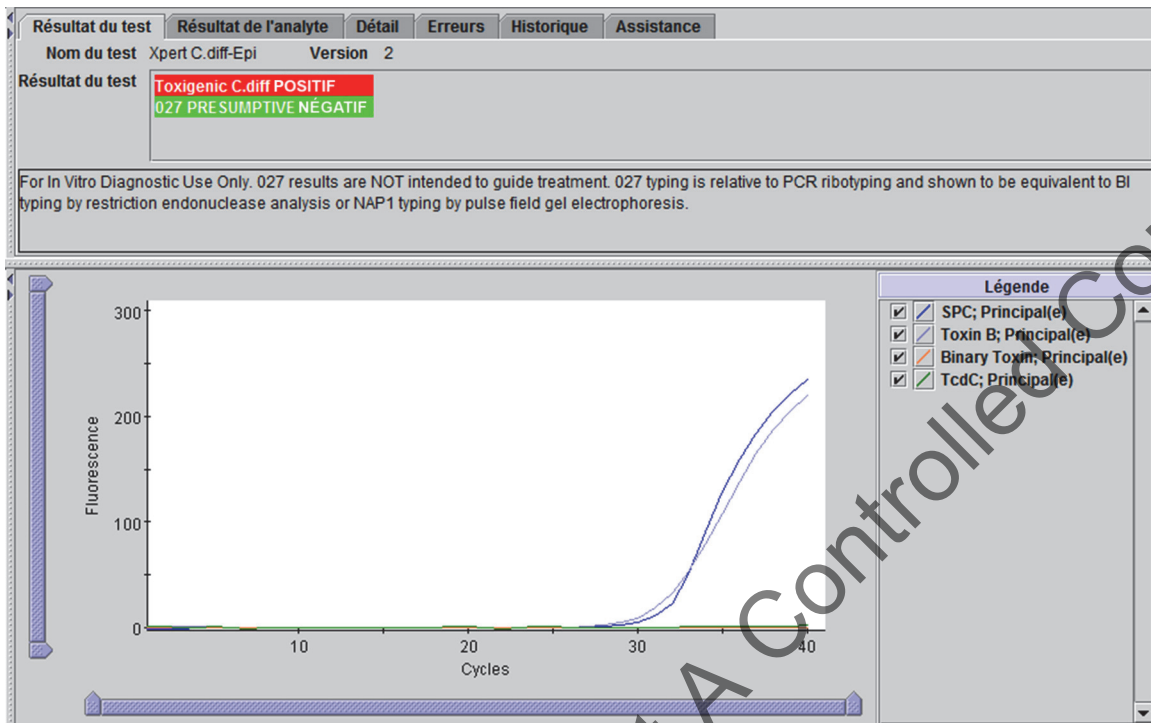


Figure 3. Exemple de résultat Toxigenic C.diff POSITIF; 027 PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE NEGATIVE)

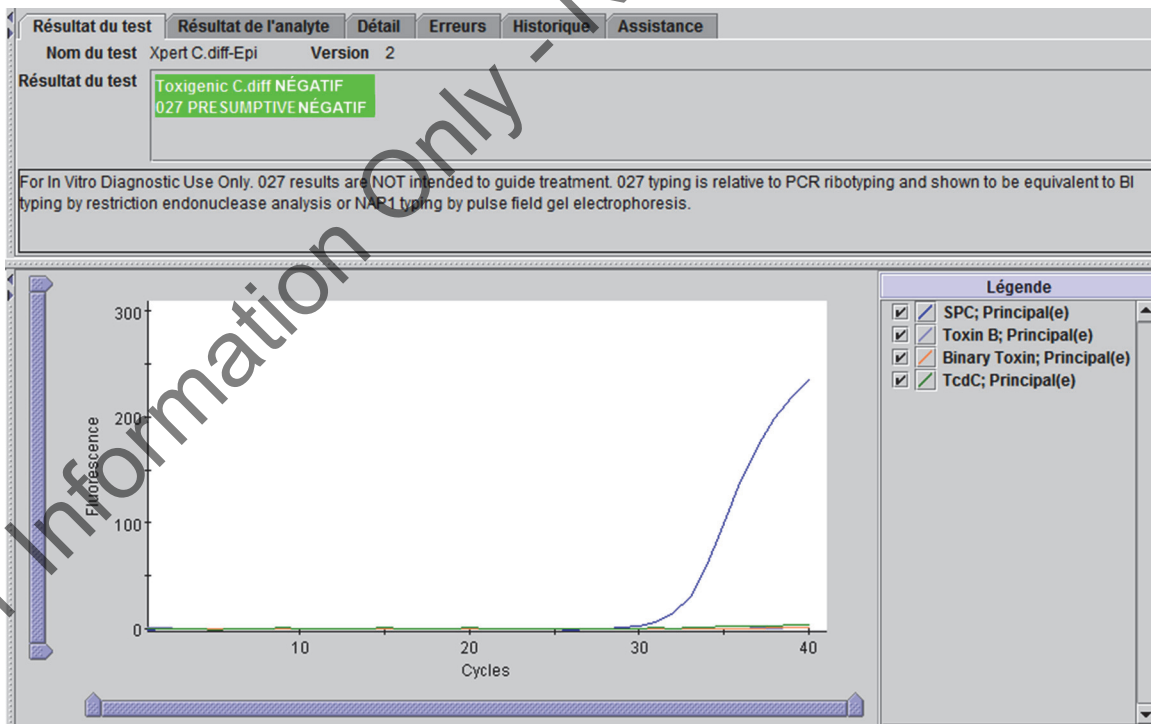


Figure 4. Exemple de résultat Toxigenic C.diff NÉGATIF; 027 PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff NEGATIVE; 027 PRESUMPTIVE NEGATIVE)

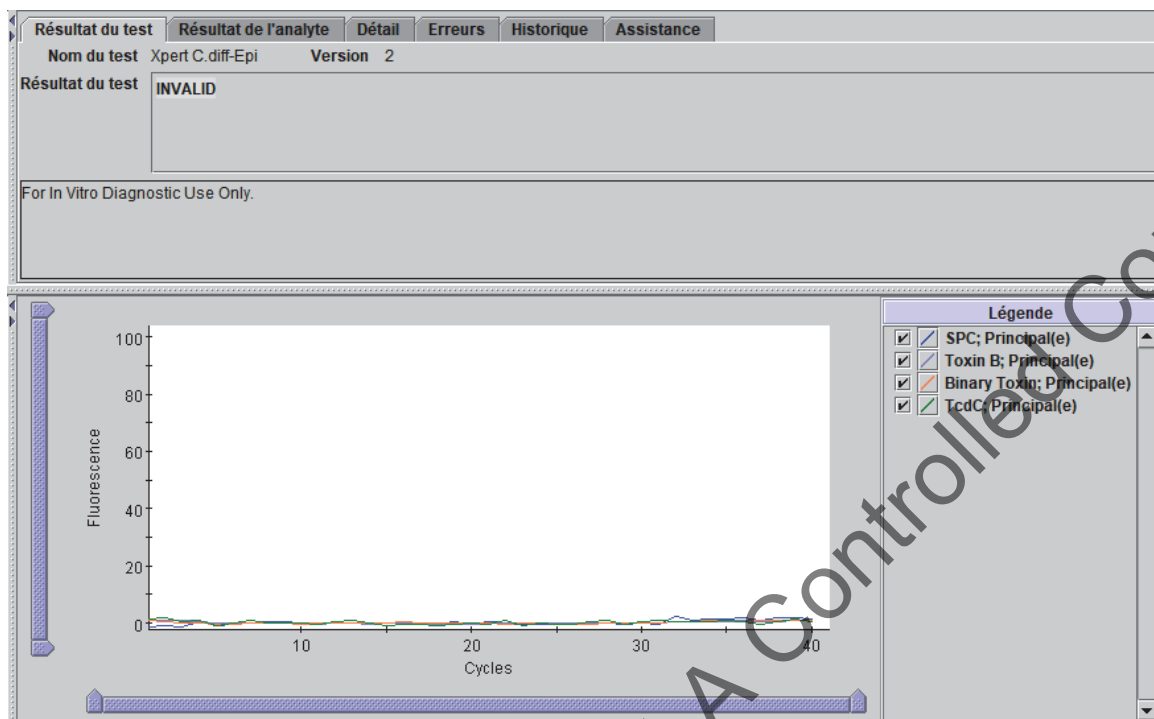


Figure 5. Exemple d'un résultat NON VALIDE (INVALID)

17 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 ci-dessous sur la procédure pour retester.

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 de la sonde a échoué et que le test a été annulé. Les causes possibles comprennent les suivantes : remplissage incorrect du tube réactionnel ; détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif ; ou dépassement des limites de pression maximale.

Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

17.1 Procédure de répétition du test

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

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

Si le nouveau test est réalisé plus de 3 heures suivant un résultat indéterminé, répéter le test avec un nouveau prélèvement par écouvillon.

18 Limites

- Les isolats non 027/NAP1/BI représentant le toxinotype XIV seront rapportés comme **Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** avec le test Xpert C. difficile/Epi.
- Occasionnellement, les isolats non 027/NAP1/BI représentant les toxinotypes IV, V et X seront rapportés comme **Toxigenic C. diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027 PRESUMPTIVE POSITIVE)** avec le test Xpert C. difficile/Epi.
- Les performances du test Xpert C. difficile/Epi ont été validées en utilisant uniquement les procédures fournies dans cette notice. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test.
- Des résultats positifs observés chez des patients pédiatriques immunodéprimés peuvent refléter un portage asymptomatique de C. difficile/Epi.
- 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 résultats du test Xpert C. difficile/Epi 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 d'échantillon incorrect, 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 d'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.
- En raison du facteur de dilution associé à la procédure pour retester, il est possible que des prélèvements positifs à C. difficile, très proches ou à la limite de détection (LDD) du test C. difficile/Epi, produisent un résultat faussement négatif lorsqu'ils sont retestés.
- Une inhibition du test Xpert C. difficile/Epi a été observée en présence des substances suivantes : pommade d'oxyde de zinc et crème Vagisil®.
- Une épidémie d'ICD peut être provoquée par des souches autres que 027/NAP1/BI.
- 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.

19 Valeurs attendues

Dans l'étude clinique sur le test Xpert *C. difficile*/Epi, 2293 prélèvements de selles non moulées provenant de sept centres aux États-Unis et au Canada ont été inclus au total. Le nombre et le pourcentage de cas positifs à *C. difficile* toxigène par culture, calculés par tranche d'âge et par sexe, sont présentés respectivement au Tableau 3 et au Tableau 4.

Tableau 3. Prévalence observée de *C. difficile* toxigène par tranche d'âge^a

Tranches d'âge	N	Prévalence de <i>C. difficile</i> toxigène (comprend la souche 027/NAP1/BI)	Prévalence de 027/NAP1/BI
2-5	16	37,5 % (6/16)	12,5 % (2/16)
6-21	105	12,4 % (13/105)	0,9 % (1/105)
22-59	898	16,4 % (147/898)	3,3 % (30/898)
>60	1274	20,7 % (264/1274)	7,2 % (92/1274)
Total	2293	18,8 % (430/2293)	5,5 % (125/2293)

a. Prévalence en fonction des résultats Xpert.

Tableau 4. Prévalence observée de *C. difficile* toxigène par sexe^a

Sexe	N	Prévalence de <i>C. difficile</i> toxigène (comprend la souche 027/NAP1/BI)	Prévalence de 027/NAP1/BI
Masculin	1072	18,2 % (195/1072)	5,0 % (54/1072)
Féminin	1221	19,2 % (235/1221)	5,8 % (71/1221)
Total	2293	18,8 % (430/2293)	5,5 % (125/2293)

a. Prévalence en fonction des résultats Xpert.

20 Caractéristiques de performance

20.1 Performances cliniques

Les caractéristiques de performance du test Xpert *C. difficile*/Epi ont été déterminées lors d'une étude expérimentale prospective multicentrique réalisée dans sept centres aux États-Unis et au Canada, en comparant le test Xpert *C. difficile*/Epi à la culture de référence, suivie de tests de cytotoxicité cellulaire sur les isolats et du typage des souches toxigènes par PCR-ribotypage, par gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE) et par analyse des endonucléases de restriction (REA)²².

Les sujets comprenaient des patients dont les soins routiniers exigeaient des tests de *C. difficile*. Une portion de chaque prélèvement restant de selles non moulées a été obtenue en vue d'être testée avec le test Xpert *C. difficile*/Epi. Le reste de l'échantillon non utilisé a été envoyé à un laboratoire central pour culture de référence et tests de cytotoxine B. Chaque prélèvement de selles a été inoculé dans une gélose CCFA-D (cyclosérine-céfoxitine-fructose-agar) pré-réduite et un bouillon cyclosérine-céfoxitine-mannitol avec taurocholate-lysozyme-cystéine (CCMB-TAL). Après 24 heures, le milieu CCMB-TAL était mis en sous-culture sur une deuxième gélose CCFA-E (CCFA- enrichie). Cette méthode de culture directement enrichie est désignée ci-après par « culture de référence ».

Si *C. difficile* était isolé de la gélose CCFA-D et que l'isolat était positif par test de cytotoxicité cellulaire, le prélèvement était classé « positif à *C. difficile* toxigène » et la gélose CCFA-E n'était pas testée davantage. Si aucun *C. difficile* n'était isolé de la gélose CCFA-D ou si l'isolat était négatif par test de cytotoxicité cellulaire, la gélose CCFA-E était testée davantage.

Si la gélose CCFA-E était positive à *C. difficile* et que l'isolat était positif par test de cytotoxicité cellulaire, le prélèvement était classé « positif à *C. difficile* toxigène ». Le prélèvement était rapporté comme « négatif » si la gélose CCFA-E était négative à *C. difficile* ou que l'isolat était négatif par test de cytotoxicité cellulaire.

Après les tests par la culture de référence, les isolats positifs à *C. difficile* toxigène étaient envoyés à un deuxième groupe de laboratoires de référence pour l'identification des souches par REA, PFGE et PCR-ribotypage.

Les performances du test Xpert *C. difficile/Epi* étaient calculées par rapport aux résultats de la culture directe avec typage de la souche, pour chacune des trois méthodes de typage, et par rapport aux résultats de la culture de référence avec typage de la souche, pour chacune des trois méthodes de typage.

20.2 Résultats généraux

Au total, 2293 prélèvements ont été testés avec le test Xpert *C. difficile/Epi*, par culture et par typage de souche.

20.3 Performances versus la culture directe

Par rapport à la culture directe avec typage de souche par REA, le test Xpert *C. difficile/Epi* a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxinogène de 98,72 % et 90,86 %. Le test Xpert *C. difficile/Epi* a également démontré une concordance positive de 98,55 % et une concordance négative de 97,65 % pour BI (Tableau 5).

Tableau 5. Performances du test Xpert *C. difficile/Epi* versus la culture directe et le typage REA

Culture directe et typage REA					
		Toxine B+ BI+	Toxine B+ BI-	NÉG	Total ^a
Xpert <i>C. diff</i> / Epi ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	68	5	47	120
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	1	158	140	299
	NÉG	0	3	1860	1863
	Total	69	166	2047	2282
		<i>C. difficile</i> toxinogène		<i>C. difficile</i> toxinogène / 027/NAP1/BI	
		Sensibilité :	98,72 % (232/235)	Concordance pos. :	98,55 % (68/69)
		Spécificité :	90,86 % (1860/2047)	Concordance nég. :	97,65 % (2161/2213)
		Exactitude :	91,67 % (2092/2282)	Exactitude :	97,68 % (2229/2282)
		VPP ^c :	55,37 % (232/419)	VPP :	56,67 % (68/120)
		VPN ^d :	99,84 % (1860/1863)	VPN :	99,95 % (2161/2162)

- 11 prélèvements étaient positifs en culture, mais les souches n'ont pas été typées pour les raisons suivantes : digestion incomplète des endonucléases de restriction ; ou l'isolat n'a pas été envoyé. Ces 11 prélèvements ne sont pas inclus dans les caractéristiques de performance ci-dessus.
- Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
- Valeur prédictive positive
- Valeur prédictive négative

Par rapport à la culture directe avec typage de souche par PFGE, le test Xpert *C. difficile*/Epi a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxinogène de 98,76 % et 90,86 %. Le test Xpert *C. difficile*/Epi a également démontré une concordance positive de 100 % et une concordance négative de 97,61 % pour NAP1 (Tableau 6).

Tableau 6. Performances du test Xpert C. difficile/Epi versus la culture directe et le typage PFGE

Culture directe et typage PFGE					
		Toxine B+ NAP1+	Toxine B+ NAP1-	NÉG	Total ^a
Xpert C. diff/Epi ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	71	6	47	124
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	0	161	140	301
	NÉG	0	3	1860	1863
	Total	71	169	2047	2288
		C. difficile toxinogène		C. difficile toxinogène / 027/NAP1/BI	
		Sensibilité : 98,76 % (238/241)		Concordance pos. : 100 % (71/71)	
		Spécificité : 90,86 % (1860/2047)		Concordance nég. : 97,61 % (2163/2216)	
		Exactitude : 91,70 % (2098/2288)		Exactitude : 97,68 % (2234/2288)	
		VPP ^c : 56,00 % (238/425)		VPP : 57,26 % (71/124)	
		VPN ^d : 99,84 % (1860/1863)		VPN : 100 % (2164/2164)	

- a. 5 prélèvements étaient positifs en culture, mais les souches n'ont pas été typées pour les raisons suivantes : digestion incomplète des endonucléases de restriction; absence de croissance ; ou contamination. Ces 5 prélèvements ne sont pas inclus dans les caractéristiques de performance ci-dessus.
- b. Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
- c. Valeur prédictive positive
- d. Valeur prédictive négative

Par rapport à la culture directe avec PCR-ribotypage, le test Xpert *C. difficile/Epi* a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxinogène de 98,78 % et 90,86 %. Le test Xpert *C. difficile/Epi* a également démontré une concordance positive de 100 % et une concordance négative de 97,70 % pour 027 (Tableau 7).

Tableau 7. Performances du test Xpert *C. difficile/Epi* versus la culture directe et le PCR-ribotypage

Culture directe et PCR-ribotypage						
		Toxine B+ 027+	Toxine B+ 027-	NÉG	Total ^a	
Xpert <i>C. diff/Epi</i> ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	74	4	47	125	
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	0	164	140	304	
	NÉG	0	3	1860	1863	
	Total	74	171	2047	2292	
			<i>C. difficile</i> toxinogène		<i>C. difficile</i> toxinogène / 027/NAP1/BI	
			Sensibilité :	98,78 % (242/245)	Concordance pos. :	100 % (74/74)
			Spécificité :	90,86 % (1860/2047)	Concordance nég. :	97,70 % (2167/2218)
			Exactitude :	91,71 % (2102/2292)	Exactitude :	97,77 % (2241/2292)
			VPP ^c :	56,41 % (242/429)	VPP :	59,20 % (74/125)
			VPN ^d :	99,84 % (1860/1863)	VPN :	100 % (2218/2218)

- a. Un isolat n'a pas pu être typé en raison d'une contamination ; ce prélèvement n'est pas inclus dans les statistiques de performance.
 b. Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
 c. Valeur prédictive positive
 d. Valeur prédictive négative

20.4 Performances versus la culture de référence

La culture de référence (enrichie) est une méthode de détection plus sensible de *C. difficile* chez les patients symptomatiques : elle améliore, par exemple, la détection des organismes présents en faible nombre dans les échantillons en raison d'une antibiothérapie préalable ou de la diminution potentielle de la viabilité en raison du transport du prélèvement.

Par rapport à la culture de référence avec typage de souche par REA, le test Xpert *C. difficile*/Epi a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxigène de 93,35 % et 94,02 %. Le test Xpert *C. difficile*/Epi a également démontré une concordance positive de 96,51 % et une concordance négative de 98,31 % pour BI (Tableau 8).

Tableau 8. Performances du test Xpert *C. difficile*/Epi versus la culture de référence et le typage REA

Culture de référence et typage REA					
		Toxine B+ BI+	Toxine B+ BI-	NÉG	Total ^a
Xpert <i>C. diff</i> /Epi ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	83	6	31	120
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	2	204	86	292
	NÉG	1	20	1841	1862
	Total	86	230	1958	2274
		<i>C. difficile</i> toxigène		<i>C. difficile</i> toxigène / 027/NAP1/BI	
		Sensibilité :	93,35 % (295/316)	Concordance pos. :	96,51 % (83/86)
		Spécificité :	94,02 % (1841/1958)	Concordance nég. :	98,31 % (2151/2188)
		Exactitude :	93,93 % (2136/2274)	Exactitude :	98,24 % (2234/2274)
		VPP ^c :	71,60 % (295/412)	VPP :	69,17 % (83/120)
		VPN ^d :	98,87 % (1841/1862)	VPN :	99,86 % (2151/2154)

- a. 19 prélèvements étaient positifs en culture, mais les souches n'ont pas été typées pour les raisons suivantes : digestion incomplète des endonucléases de restriction ; ou l'isolat n'a pas été envoyé. Ces 19 prélèvements ne sont pas inclus dans les caractéristiques de performance ci-dessus.
- b. Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
- c. Valeur prédictive positive
- d. Valeur prédictive négative

Par rapport à la culture de référence avec typage de souche par PFGE, le test Xpert *C. difficile*/Epi a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxinogène de 93,60 % et 94,02 %. Le test Xpert *C. difficile*/Epi a également démontré une concordance positive de 97,73 % et une concordance négative de 98,27 % pour NAP1 (Tableau 9).

Tableau 9. Performances du test Xpert *C. difficile*/Epi versus la culture de référence et le typage PFGE

Culture de référence et typage PFGE					
		Toxine B+ NAP1+	Toxine B+ NAP1-	NÉG	Total ^a
Xpert <i>C. diff</i> /Epi ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	86	7	31	124
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	1	213	86	300
	NÉG	1	20	1841	1862
	Total	88	240	1958	2286
		<i>C. difficile</i> toxinogène		<i>C. difficile</i> toxinogène / 027/NAP1/BI	
		Sensibilité :	93,60 % (307/328)	Concordance pos. :	97,73 % (86/88)
		Spécificité :	94,02 % (1841/1958)	Concordance nég. :	98,27 % (2160/2198)
		Exactitude :	93,96 % (2148/2286)	Exactitude :	98,25 % (2246/2286)
		VPP ^c :	72,41 % (307/424)	VPP :	69,35 % (86/124)
		VPN ^d :	98,87 % (1841/1862)	VPN :	99,91 % (2160/2162)

- a. 7 prélèvements étaient positifs en culture, mais les souches n'ont pas été typées pour les raisons suivantes : digestion incomplète des endonucléases de restriction; absence de croissance; ou contamination. Ces 7 prélèvements ne sont pas inclus dans les caractéristiques de performance ci-dessus.
- b. Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
- c. Valeur prédictive positive
- d. Valeur prédictive négative

Par rapport à la culture de référence avec PCR-ribotypage, le test Xpert *C. difficile/Epi* a démontré une sensibilité et une spécificité respectives pour *C. difficile* toxinogène de 93,39 % et 94,02 %. Le test Xpert *C. difficile/Epi* a également démontré une concordance positive de 98,89 % et une concordance négative de 98,36 % pour 027 (Tableau 10).

Tableau 10. Performances du test Xpert C. difficile/Epi versus la culture de référence et le PCR-ribotypage

Culture de référence et PCR-ribotypage					
		Toxine B+ 027 +	Toxine B+ 027 -	NÉG	Total ^a
Xpert <i>C. diff/Epi</i> ^b	Toxine B+ 027/NAP1/BI+	89	5	31	125
	Toxine B+ 027/NAP1/BI-	0	217	86	303
	NÉG	1	21	1841	1863
	Total	90	243	1958	2291
		C. difficile toxinogène		C. difficile toxinogène / 027/NAP1/BI	
		Sensibilité : 93,39 % (311/333)		Concordance pos. : 98,89 % (89/90)	
		Spécificité : 94,02 % (1841/1958)		Concordance nég. : 98,36 % (2165/2201)	
		Exactitude : 93,93 % (2152/2291)		Exactitude : 98,38 % (2254/2291)	
		VPP ^c : 72,66 % (311/428)		VPP : 71,20 % (89/125)	
		VPN ^d : 98,82 % (1841/1863)		VPN : 99,95 % (2165/2166)	

- a. 2 prélèvements étaient positifs en culture, mais les souches n'ont pas pu être typées en raison d'une contamination et ne sont pas incluses dans les caractéristiques de performance ci-dessus.
- b. Les résultats Xpert sont pour la première ou la deuxième tentative. Environ 3,2 % des prélèvements étaient indéterminés à la première tentative.
- c. Valeur prédictive positive
- d. Valeur prédictive négative

21 Prise d'antibiotiques

Parmi les 2293 cas inclus dans le groupe principal, 1630 sujets ont rapporté une prise d'antibiotiques dans les 2 mois précédant le prélèvement, et 570 sujets ont confirmé n'avoir pris aucun antibiotique ; la présence d'une antibiothérapie était inconnue dans 93 cas. La prise d'antibiotiques n'a produit aucune différence statistiquement significative dans les performances du test.

22 Spécificité analytique

Cinquante-cinq (55) souches ont été recueillies, quantifiées et testées avec le test Xpert *C. difficile/Epi*. Les souches étaient obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), la Culture Collection, Université de Göteborg (CCUG), la German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ), les Centers for Disease Control and Prevention (CDC), l'Institute of Public Health, Maribor, Slovénie et le Swedish Institute for Infectious Disease Control (SMI).

Parmi les espèces testées, dix (10) souches de *C. difficile* non toxinogène et onze (11) espèces de Clostridium non *C. difficile* étaient incluses. Les organismes testés ont été identifiés comme étant soit Gram positifs (37), soit Gram négatifs (18). Les organismes ont aussi été classés comme aérobies (24), anaérobies (29) ou microaérobies (2).

Chaque souche a été testée en triple à des concentrations allant de $1,1 \times 10^8$ à $2,2 \times 10^{10}$ UFC/écouvillon. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. Dans les conditions de l'étude, tous les isolats ont été rapportés comme **Toxigenic C.diff NÉGATIF; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NÉGATIF (Toxigenic C.diff NEGATIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE NEGATIVE)**.

La spécificité analytique était de 100 %.

23 Sensibilité analytique

Des études ont été réalisées pour déterminer les intervalles de confiance à 95 % pour la limite de détection (LDD) analytique de *C. difficile* dilué dans une matrice fécale d'origine humaine pouvant être détecté par le test Xpert *C. difficile/Epi*. La matrice fécale se composait de selles liquides humaines (négatives à *C. difficile* par le test Xpert *C. difficile/Epi*) diluées dans du PBS avec 15 % de glycérol. La LDD est définie comme le plus petit nombre d'unités formant colonie (UFC) par écouvillon pouvant être différencié de façon reproductible des échantillons négatifs avec une confiance de 95 %.

20 réplicats ont été évalués à chaque concentration de *C. difficile* testée (UFC/écouvillon) pour 7 souches différentes de *C. difficile* représentant les toxinotypes 0 (deux souches), III (deux souches), IV, V et VIII (une de chaque souche).

L'estimation et les intervalles de confiance ont été déterminés par régression logistique avec des données (nombre de résultats positifs par nombre de réplicats à chaque niveau) couvrant la gamme des UFC testées. Les intervalles de confiance ont été déterminés en utilisant des estimations de probabilité maximale sur les paramètres du modèle logistique en utilisant la grande matrice de variance-covariance des échantillons. Les estimations du point de LDD et les intervalles de confiance supérieur et inférieur à 95 % pour chaque toxinotype de *C. difficile* testé sont résumés au Tableau 11.

Tableau 11. Intervalles de confiance à 95 % pour la LDD analytique – *C. difficile*

ID de souche	Toxinotype	LDD _{95 %} (UFC/ écouvillon)	IC inférieur à 95 %	IC supérieur à 95 %
VPI 10463 (CCUG19126)	0	255	190	632
90556-M6S (ATCC9689)	0	460	419	587
LUMC-1 (027/NAP1/BI) ^a	III	23	19	31
LUMC-5 (027/NAP1/BI) ^a	III	75	45	176
LUMC-7	V	45	34	104
LUMC-6	VIII	60	50	74
9101	XII	41	34	49

^aPar PCR-ribotypage/gel d'électrophorèse en champ pulsé/analyse des endonucléases de restriction

Les résultats de cette étude indiquent que le test Xpert *C. difficile/Epi* produira un résultat positif à *C. difficile* 95 % du temps pour un échantillon fécal contenant 460 UFC/écouvillon, et un résultat positif présomptif de 027/NAP1/BI 95 % du temps pour un écouvillon contenant 75 UFC.

Outre la détermination de la LDD, dix-huit souches de *C. difficile* représentant les toxinotypes 0 plus 12 variantes de toxinotypes, y compris quatre isolats 027/NAP1/BI de toxinotype III, ont été testés avec le test Xpert *C. difficile/Epi*. Les souches de *C. difficile* ont été sélectionnées pour représenter la majorité des toxinotypes de *C. difficile* observés en pratique. Des souches de collection ont été préparées par suspension de la croissance bactérienne des géloses dans du tampon PBS contenant 15 % de glycérol. La concentration de chaque souche de collection a été ajustée à 1,4-5,9 unités McFarland. Toutes les souches ont été diluées en série à environ 900 UFC/écouvillon et testées en triple.

Dans les conditions de cette étude, le test Xpert *C. difficile/Epi* a correctement identifié les 18 souches testées comme **Toxigenic C.diff POSITIF (Toxigenic C. diff POSITIVE)**. Le panel comprenait 8 toxinotypes rapportés comme positifs pour la production de toxine binaire (CDT) également. Tous étaient positifs à CDT avec le test Xpert *C. difficile*. Les quatre isolats de 027/NAP1/BI représentant le toxinotype III ont été correctement identifiés comme **Toxigenic C.diff POSITIF; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE POSITIF (Toxigenic C.diff POSITIVE; 027-NAP1-BI PRESUMPTIVE POSITIVE)**.

24 Substances interférentes

Vingt-et-une (21) substances biologiques et chimiques occasionnellement utilisées ou trouvées dans les prélèvements de selles ont été testées pour leur interférence potentielle avec le test Xpert *C. difficile/Epi*. Les substances potentiellement interférentes comprennent, entre autres, la crème Vagisil et la pommade d'oxyde de zinc (voir Section 18, Limites). Les 19 substances qui figurent au Tableau 12 n'ont montré aucune interférence détectable avec le test Xpert *C. difficile/Epi*.

Tableau 12. Substances testées ne montrant aucune interférence avec le test

Substance	Substance
Sang total Karolinska University Hospital	K-Y Jelly/Gelée® McNeil-PPC
Mucine (porcine) Sigma	Vaseline Unilever
Kaopectate® Chattem	Dulcolax® Boehringer Ingelheim Pharmaceuticals
Imodium® McNeil-PPC	Lingettes Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare
Pepto-Bismol® Procter & Gamble	Film contraceptif vaginal Apothecus Pharmaceutical
Preparation H® Wyeth Consumer Healthcare	Vancomycine Fluka
Fleet® CB Fleet Company	Métronidazole Actavis
Graisses fécales Karolinska University Hospital	Anusol® Plus TM Warner-Lambert Company
Monistat® McNeil-PPC	Sulfate de baryum de haute densité E-Z-HDTM pour suspension E-Z-EM Canada
Crème à base d'hydrocortisone Longs Drugs	

25 Reproductibilité

Un panel comprenant 7 prélèvements avec des concentrations variées de *C. difficile* toxigène et de *C. difficile*, 027/NAP1/BI a été testé pendant 10 jours différents par deux opérateurs différents dans chacun des trois sites (7 prélèvements x 2 opérateurs / jour x 10 jours x 3 sites). Un lot de test Xpert *C. difficile*/Epi a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert *C. difficile*/Epi ont été réalisés conformément à la procédure du test Xpert *C. difficile*/Epi. Les résultats sont résumés au Tableau 13 et au Tableau 14.

Tableau 13. Résumé des résultats de reproductibilité (tous)

N° Id de l'échantillon	% de concordance ^a			% de concordance globale par échantillon
	Site 1	Site 2	Site 3	
Négatif	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Négatif élevé à <i>C. difficile</i> toxigène	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Positif bas à <i>C. difficile</i> toxigène	100 % (20/20)	85 % (17/20)	85 % (17/20)	90,0 % (54/60)
Positif moyen à <i>C. difficile</i> toxigène	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Négatif élevé à 027/NAP1/BI	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
Positif bas à 027/NAP1/BI	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,7 % (58/60)
Positif moyen à 027/NAP1/BI	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
% de concordance globale par site	100 % (140/140)	97,1 % (136/140)	97,1 % (136/140)	98,1 % (412/420)

- a. Pour les échantillons négatifs et négatifs élevés, le % de concordance = (nbre de résultats négatifs/total des échantillons testés) ; pour les échantillons positifs bas et moyens, le % de concordance = (nbre de résultats positifs/total des échantillons testés).

Tableau 14. Résumé des résultats de valeur Ct par niveau d'échantillon et par sonde

CTE			
Niveau	Moy.	Écart-type	CV
Nég. élevé à <i>C. diff</i> toxinogène	32,17	0,59	1,83 %
Pos. bas à <i>C. diff</i> toxinogène	32,14	0,53	1,66 %
Pos. moy. à <i>C. diff</i> toxinogène	31,98	0,47	1,47 %
Nég. élevé à 027/NAP1/BI	32,11	0,65	2,03 %
Pos. bas à 027/NAP1/BI	31,93	0,72	2,26 %
Pos. moy. à 027/NAP1/BI	31,96	0,61	1,90 %
Nég.	32,26	0,72	2,22 %
<i>tcdB</i> (toxine B)			
Niveau	Moy.	Écart-type	CV
Nég. élevé à <i>C. diff</i> toxinogène	39,59	0,70	1,77 %
Pos. bas à <i>C. diff</i> toxinogène	35,88	0,81	2,24 %
Pos. moy. à <i>C. diff</i> toxinogène	32,17	0,45	1,39 %
Nég. élevé à 027/NAP1/BI	39,11	0,98	2,50 %
Pos. bas à 027/NAP1/BI	35,49	0,58	1,65 %
Pos. moy à 027/NAP1/BI	32,10	0,63	1,97 %

Un panel supplémentaire comprenant 6 prélèvements, dont trois étaient négatifs et trois négatifs élevés à *C. difficile* toxinogène, a été testé pendant 5 jours différents par deux opérateurs différents dans chacun des trois sites (6 prélèvements x 2 opérateurs / jour x 5 jours x 3 sites). Les échantillons négatifs élevés étaient préparés à une concentration inférieure à la LDD, de sorte qu'il était attendu qu'ils produisent un résultat négatif 20 à 80 % du temps. Un lot de test Xpert *C. difficile*/Epi a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert *C. difficile*/Epi ont été réalisés conformément à la procédure du test Xpert *C. difficile*/Epi. Les résultats sont résumés dans le Tableau 15.

Tableau 15. Résumé des résultats de reproductibilité des échantillons supplémentaires

N° Id de l'échantillon	% de concordance ^a			% de concordance globale par échantillon
	Site 1	Site 2	Site 3	
Négatif	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (30/30)	100 % (90/90)
Négatif élevé à <i>C. difficile</i> toxinogène ^b	60,0 % (18/30) ^b	60,0 % (18/30) ^b	53,3 % (16/30) ^b	57,8 % (52/90) ^b

a. (Nbre de résultats négatifs/total d'échantillons négatifs élevés testés)

b. Concordance attendue de 20 à 80 % pour un échantillon négatif élevé

26 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;22:61-67.
4. Bignardi GE. Risk factors for *Clostridium difficile* infection. *J Hosp Infect.* 1998; 40:1-15.
5. Kelly CP, Pothoulakis C, Lamont JT. *Clostridium difficile* colitis. *N Engl J Med* 1994; 330:257-262.
6. Braun V, Hundsberger T, Leukel P, et al. Definition of the single integration site of the pathogenicity locus of *Clostridium difficile*. 1996; *Gene.* 181:29-38.
7. Hammond GA, Johnson JL. The toxigenic element of *Clostridium difficile* strain VPI 10463. *Microb Pathog.* 1995;19:203-213.
8. Sambol SP, Merrigan MM, Lyerly D, et al. Toxin gene analysis of a variant strain of *Clostridium difficile* that causes human clinical disease. *Infect. Immun.* 2000;68:5480-5487.
9. Gonçalves C, Decré D, Barbut F, et al. Prevalence and characterization of a binary toxin (actin-specific ADP-ribosyltransferase) from *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* 2004;42:1933-1939
10. Stubbs S, Rupnik M, Gibert M, et al. Production of actin-specific ADP-ribosyltransferase (binary toxin) by strains of *Clostridium difficile*. *FEMS Microbiol Lett.* 2000;186:307-312.
11. Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, Boquet P. Action-specific ADP-ribotransferase produced by a *Clostridium difficile* strain. *Infect Immun.* 1988;56:2299-2306.
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; 12 Suppl 6:2-18.
13. Curry SR, Marsh JW, Muto CA, et al. *tcdC* genotypes associated with severe *TcdC* truncation in an epidemic clone and other strains of *Clostridium difficile*. *J Clin Microbiol.* 2007 Jan;45:215-221. Erratum in: *J Clin Microbiol.* 2007 Jun;45(6):2103.
14. Weiss K, Boisvert A, Chagnon M, et al. Multipronged Intervention Strategy to Control an Outbreak of *Clostridium difficile* Infection (CDI) and Its Impact on the Rates of CDI from 2002 to 2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009;30(2):156-162.
15. MacCannell DR, Louie TJ, Gregson DB, et al. Molecular analysis of *Clostridium difficile* PCR ribotype 027 isolates from Eastern and Western Canada. *J Clin Microbiol.* 2006;44:2147-2152.
16. Wilkins TD, Lyerly DM. *Clostridium difficile* testing: after 20 years, still challenging. *Clin Microbiol.* 2003 Feb;41:531-534.
17. Delmee M. Laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* disease. *Clin Microbiol Infect.* 2001;7:411-416.
18. Poutanen SM, Simor AE. *Clostridium difficile*-associated diarrhea in adults. *CMAJ.* 2004;171:51-58.
19. 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.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
21. Cohen SH, Gerding D, Johnson S, et al. SHEA-IDSA Guideline: Clinical Practice Guidelines for *Clostridium difficile* Infection in Adults: 2010 Update by the Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) and the Infectious Diseases Society of America (IDSA). *Infect Control Hosp Epidemiol* 2010;31:431-455.
22. Killgore G, Thompson A, Johnson S, et al. Comparison of seven techniques for typing international epidemic strains of *Clostridium difficile*: restriction endonuclease analysis, pulsed-field gel electrophoresis, PCR-ribotyping, multilocus sequence typing, multilocus variable-number tandem-repeat analysis, amplified fragment length polymorphism, and surface layer protein A gene sequence typing. *J Clin Microbiol* 2008;46:431-437.
23. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
24. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

27 Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
États-Unis
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

28 Assistance technique

Avant de contacter le service d'assistance technique de Cepheid, recueillir les informations suivantes :

- 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)
















Informations de contact

États-Unis
Téléphone : + 1 888 838 3222
Email: techsupport@cepheid.com

France
Téléphone : + 33 563 825 319
Email: support@cepheideurope.com

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

29 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser
	N° de lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Mise en garde
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Utilisation uniquement sur ordonnance
	Limite de température
	Risques biologiques
	Attention



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089
 États-Unis

