

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

REF GXMRSA/SABC-CE-10

Notice d'utilisation

CE **IVD**

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.

© 2019–2023 Cepheid.

See Section 23, for a description of changes.

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

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

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

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

© 2019-2023 Cepheid.

Voir la Section 23, pour une description des modifications.

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*

1 Nom de marque déposée

Xpert[®] MRSA/SA Blood Culture

2 Nom commun ou usuel

Xpert MRSA/SA Blood Culture ou Xpert MRSA/SA BC

3 Utilisation prévue

Le test Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture, effectué sur les systèmes GeneXpert[®], est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection rapide et simultanée de *Staphylococcus aureus* (SA) et de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans des hémocultures positives de patients de tous âges. Le test utilise une méthode de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter l'ADN de SARM/SA. Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture est destiné à aider à la détection et à l'identification de SARM/SA dans les flacons d'hémocultures positives. Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture est indiqué pour être utilisé avec d'autres analyses de laboratoire, comme la culture, et avec les données cliniques à la disposition du clinicien, pour la détection de SARM/SA dans des hémocultures positives de patients. La subculture des hémocultures positives est requise pour récupérer les microorganismes en vue d'effectuer des tests de sensibilité aux antibiotiques ou un typage épidémiologique. Le test Cepheid Xpert MRSA/SA Blood Culture n'est pas prévu pour surveiller le traitement des infections à SARM/SA.

4 Synthèse et description

Staphylococcus aureus (SA) est un pathogène humain qui est à l'origine de maladies diverses, dont la bactériémie, l'endocardite, l'ostéomyélite, le syndrome de choc toxique, les intoxications alimentaires, l'anthrax et les furoncles. Au début des années 1950, l'acquisition et la propagation de plasmides producteurs de bêta-lactamases ont entravé l'efficacité de la pénicilline pour le traitement des infections à SA. La méticilline, une pénicilline de synthèse, a été introduite en 1959. Peu de temps après, des souches de SA résistant à la méticilline (SARM) ont été identifiées. On sait à présent que cette résistance est conférée lors de l'acquisition par le SA du complexe du gène *mec*, qui contient le gène *mecA* et potentiellement d'autres variantes *mecA* telles que *mecA*_{LGA251} appelé *mecC*. Aujourd'hui, aux États-Unis, le SARM est responsable d'environ 25 % des infections nosocomiales, ce qui se traduit par une morbidité et une mortalité significatives.

Des mortalités importantes ont été rapportées pour des bactériémies imputables à SARM et à SA sensible à la méticilline (SASM). Actuellement, la culture *in vitro* est la méthode standard de détection du SA incluant le SARM dans des flacons d'hémoculture. La santé publique peut bénéficier d'une méthode rapide et sensible pour tester le SA, en incluant le SARM.^{1,2,3,4,5,6}

5 Principe de la procédure

Les systèmes GeneXpert automatisent et intègrent la préparation des échantillons, l'extraction et l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes par PCR en temps réel. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur personnel et un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Les systèmes exigent 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 réduite au minimum. Pour obtenir une description complète du système, consulter le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*.

Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture comprend les réactifs nécessaires pour la détection de SARM et de SA ainsi qu'un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE), pour confirmer le traitement adéquat de la bactérie cible et indiquer la présence d'inhibiteur(s) lors de la réaction PCR. Le CTE garantit aussi que les conditions de la réaction PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et que les réactifs PCR sont fonctionnels. Un contrôle interne supplémentaire, le contrôle de vérification des sondes (CVS), vérifie la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome.

Les amorces et les sondes du test Xpert MRSA/SA Blood Culture détectent les séquences codantes de la protéine A staphylococcique (*spa*), du gène responsable de la méticillino-résistance (*mecA*) et de la cassette chromosomique staphylococcique *mec* (*SCCmec*), qui est insérée dans le chromosome du SA sur le site *attB*. Les cibles sont utilisées individuellement ou en combinaison afin d'identifier et de différencier le SA et le SARM.

Pour les SARM présents dans un flacon d'hémoculture en l'absence d'autres espèces bactériennes, le test utilise des algorithmes fondés sur les règles dans lequel les valeurs du cycle seuil (Ct) des trois cibles (*spa*, *mecA* et *SCCmec*) sont comparées pour déterminer si les cibles sont dérivées du même microorganisme SARM. Le SARM est considéré comme étant présent lorsque : 1) les trois cibles ont des valeurs Ct dans la plage de validation et des point finaux supérieurs au seuil minimal défini., 2) en l'absence de *SCCmec*, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de *mecA* et *spa*, ou 3) en l'absence de *spa*, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de *mecA* et *SCCmec*.

6 Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni

Le kit Xpert MRSA/SA Blood Culture contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons de patients ou échantillons de contrôle qualité. V Le kit contient les éléments suivants :

Cartouches Xpert MRSA/SA Blood Culture avec tubes réactionnels intégrés	10
<ul style="list-style-type: none"> • Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées) • Réactif 1 • Réactif 2 (hydroxyde de sodium) 	1 de chaque par cartouche 3 ml par cartouche 3 ml par cartouche 10 x 2,0 ml
Réactif d'élution Xpert MRSA/SA Blood Culture (chlorhydrate de guanidinium et surfactants)	12
Pipettes de transfert à volume fixe (50 µl) jetables CD	1 par kit
<ul style="list-style-type: none"> • Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF) • Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GeneXpert • 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 exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem.

6.2 Conservation et manipulation

- Conserver les cartouches et réactifs du test Xpert MRSA/SA Blood Culture à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas utiliser les réactifs, les pipettes ou les cartouches après leur date de péremption.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la pipette ou de la cartouche avant d'être prêt à réaliser le test.

6.3 Matériel requis mais non fourni

- Système GeneXpert Dx ou GeneXpert Infinity (le numéro de référence varie selon la configuration) : Instrument GeneXpert, ordinateur, lecteur de codes barres à main et manuel d'utilisation
 - Pour le système GeneXpert Dx : Logiciel GeneXpert Dx version 5.3 ou ultérieure
 - Pour les systèmes GeneXpert Infinity-80 et Infinity-48s : Logiciel Xpertise version 6.8 ou ultérieure
- Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le Support Technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Agitateur à vortex
- Pipettes de transfert stériles à usage unique (pour transférer l'échantillon dans la cartouche)

6.4 Matériel disponible mais non fourni

Les écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIKs™ de Microbiologics, réf. 0158MRSA (SCC*mec* type II) et réf. 0360MSSA (*Staphylococcus aureus* ssp. *aureus*), peuvent être utilisés comme contrôles positifs externes, et les écouvillons réf. 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensible à la méticilline) peuvent être utilisés comme contrôle négatif externe.

7 Avertissements et mises en garde

- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, 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)⁸ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.⁸
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés capables de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé]. Consulter le personnel chargé des déchets environnementaux dans l'établissement pour les consignes concernant l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés.⁹
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture ne donne pas de résultats de susceptibilité antimicrobienne. Une sous-culture supplémentaire de toutes les hémocultures positives doit être réalisée pour les tests de sensibilité.
- Dans une culture mixte contenant le SARM/SA et d'autres organismes (par ex., bacilles Gram négatif, levures), les résultats peuvent être faussement négatifs ou variables selon la concentration de SARM/SA présente, particulièrement si la concentration de SARM/SA est proche de la limite de détection (LDD) du test.
- Ne pas remplacer les réactifs d'éluion du test Xpert MRSA/SA Blood Culture par d'autres réactifs.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.
- Ne pas utiliser une cartouche neuve qui a fui. La présence de liquide sur la partie extérieure d'une cartouche usagée peut indiquer un problème.
- Chaque cartouche de test Xpert MRSA/SA Blood Culture à usage unique doit être utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.

- Les milieux d'hémoculture suivants peuvent être utilisés pour le test Xpert MRSA/SA Blood Culture :
 - Milieu BACTEC™ PEDS PLUS™/F
 - Milieu BACTEC™ Plus Aerobic/F
 - Milieu BACTEC™ Plus Anaerobic/F
 - Milieu BACTEC™ Standard Anaerobic/F
 - Milieu BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
 - Flacons de culture BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
 - bioMérieux BacT/ALERT® SA aérobie standard
 - bioMérieux BacT/ALERT® SN anaérobie standard
 - VersaTREK™ REDOX™ 1R (aérobie)
 - VersaTREK™ REDOX™ 2R (anaérobie)
- Les milieux d'hémoculture contenant du charbon activé ne peuvent pas être utilisés avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture doit être utilisé uniquement pour tester des flacons d'hémoculture qui sont positifs pour une croissance microbienne et déterminés par coloration de Gram comme contenant des coques Gram positif en amas (GPCC) ou isolés (GPC).

8 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Remarque Les résultats d'hémoculture sont essentiels pour les soins des patients. Respecter les directives et réglementations établies du laboratoire ou de l'établissement pour rendre les résultats d'hémocultures positives (que ce soit verbalement, par écrit ou par voie électronique) aux prestataires de soins.

- Lorsque l'hémoculture est positive pour la croissance, retirer les flacons d'hémoculture de l'incubateur. Une coloration de Gram doit être réalisée à partir des hémocultures positives selon la procédure standard du laboratoire.
- Pour les flacons d'hémoculture positive révélant la présence de coques Gram positif en amas (GPCC) ou isolés (GPC) suite à une coloration de Gram, prélever environ 1 ml d'échantillon d'hémoculture positive et étiqueter chaque prélèvement avec le numéro d'identification de l'échantillon.
- Si l'échantillon doit être testé dans les 24 heures suivant son prélèvement, réfrigérer entre 2 et 8 °C ou conserver à température ambiante (15 °C à 30 °C). Si l'échantillon doit être testé plus de 24 heures après son prélèvement, réfrigérer entre 2 et 8 °C pendant trois jours maximum. Les échantillons ayant été conservés à température ambiante pendant plus de 24 heures ou réfrigérés entre 2 et 8 °C pendant plus de trois jours ne doivent pas être testés avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture.

9 Risques chimiques^{10, 11}

- 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.
 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
 - **Réponse**
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon.
 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
 - Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.

- EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
- Si l'irritation des yeux persiste : consulter un médecin.
- EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
- Rincer la bouche.
- **Stockage/Mise au rebut**
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

10 Procédure

10.1 Préparation de la cartouche

Important

Si un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans les 3 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon préparé dans la cartouche. Si un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le système, par le biais du logiciel Xpertise, de manière à ce que les tests soient initiés avant l'expiration de ces éléments, qui a lieu au bout de trois heures à bord.

Pour ajouter l'échantillon et le réactif d'élution à la cartouche :

1. Sortir la cartouche et le réactif d'élution du coffret.
2. Mélanger doucement, à la main, l'échantillon d'hémoculture positive. Ne pas mélanger au vortex.
3. À l'aide de la pipette de transfert à volume fixe (50 µl) fournie, transférer le contenu de la pipette à volume fixe contenant l'échantillon d'hémoculture positive dans le flacon de réactif d'élution en procédant comme suit :
 - a. Presser fermement la poire supérieure de la pipette.
 - b. Tout en pressant, placer l'embout de la pipette dans l'échantillon.
 - c. En gardant la pipette dans l'échantillon, libérer la pression sur la poire afin de remplir la pipette.
 - d. Placer l'embout de la pipette au-dessus de l'ouverture du flacon de réactif d'élution.
 - e. Presser fermement la poire supérieure afin de vider le contenu de la pipette dans le flacon de réactif d'élution. Il est normal qu'un excédent de liquide reste dans la poire de débordement.

Remarque

Utiliser un tampon de gaze stérile pour manipuler l'écouvillon et réduire au minimum le risque de contamination.

4. Fermer le capuchon du réactif d'élution et mélanger au Vortex à vitesse élevée pendant 10 secondes.
5. Ouvrir le couvercle de la cartouche. À l'aide d'une pipette de transfert (non fournie), transférer tout le contenu du réactif d'élution dans la chambre à échantillon de la cartouche de test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Voir la figure 1.
6. Fermer le couvercle de la cartouche et démarrer le test.



Figure 1. Cartouche de test MRSA/SA Blood Culture (vue de dessus)

10.2 Démarrage du test

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

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

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

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

1. Mettre le système *GeneXpert* sous tension :

- Si l'*instrument GeneXpert Dx* est utilisé, commencer par mettre l'instrument *GeneXpert Dx* sous tension, puis allumer l'ordinateur. Le logiciel *GeneXpert* démarrera automatiquement. Si ce n'est pas le cas, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel *GeneXpert Dx* sur le bureau Windows®.

ou

- Si l'*instrument GeneXpert Infinity* est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel *Xpertise* démarrera automatiquement. Si ce n'est pas le cas, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel *Xpertise* sur le bureau Windows®.

2. Se connecter au logiciel du système *GeneXpert* en saisissant le nom d'utilisateur et le mot de passe.

3. Dans la fenêtre du système *GeneXpert*, cliquer sur **Créer un test (Create Test)** (*GeneXpert Dx*) ou sur **Commandes (Orders)** et sur **Commander test (Order Test)** (*Infinity*). La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id du patient (Scan Patient ID Barcode)** s'ouvre.

4. Lire ou saisir l'ID patient (N° Id du patient). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id du patient (Patient ID). Le N° Id du patient (Patient ID) est associé aux résultats du test et est affiché dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**, ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id de l'échantillon (Scan Sample ID Barcode)** s'affiche.

5. Lire ou saisir le n° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID). Le numéro d'identification de l'échantillon est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres de la cartouche (Scan Cartridge Barcode)** s'ouvre.

6. Scannez le code-barres sur la cartouche. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), n° du lot de réactif (Reagent Lot ID), n° de série de la cartouche (Cartridge S/N) et Date de péremption (Expiration Date).

Remarque

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

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

ou

Pour l'instrument GeneXpert Dx :

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

10.3 Affichage et impression des résultats

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

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

11 Contrôle qualité

11.1 Contrôles qualité intégrés

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

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)** — Le CTE est conçu pour indiquer si l'échantillon a été traité dans les conditions de fonctionnement spécifiées. Le CTE comprend des spores de *Bacillus globigii* sous la forme d'une bille sèche qui est placée dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat de l'échantillon du test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le CTE vérifie que la lyse du SA s'est produite si les organismes sont présents et que le traitement de l'échantillon est adéquat. En outre, ce contrôle détecte l'inhibition associée à l'échantillon du test de PCR en temps réel et agit comme un contrôle positif interne. Le signal du 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. Le résultat du test sera Non valide (Invalid) si le CTE n'est pas détecté dans un échantillon négatif.
- **Contrôle de vérification des sondes (CVS)** – Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. La vérification des sondes réussit si elle répond aux critères d'acceptation attribués.

11.2 Contrôles externes

Des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux exigences des organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.

Des écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIK (Microbiologics, n° de réf. 0158 MRSA [SCC*mec* type II] et n° de réf. 0360 MSSA comme contrôles positifs, et n° de réf. 0371 MSSE comme contrôle négatif) peuvent être utilisés à des fins de formation et de CQ externe du système GeneXpert. Suivre la procédure de contrôle externe Microbiologics décrite ci-dessous :

1. Déchirer le sachet au niveau de l'encoche et retirer le KWIK-STIK.

2. Pincer le bas de l'ampoule dans le capuchon pour libérer le liquide d'hydratation.
3. Tenir à la verticale et tapoter pour faciliter l'écoulement du liquide par la tige dans le fond de l'unité qui contient la pastille.
4. Pour faciliter la dissolution de la pastille de cellules lyophilisées, écraser la pastille et la mélanger dans le liquide en la pinçant. Toucher les côtés du KWIK-STIK pour confirmer que la pastille n'est plus palpable.
5. Séparer le KWIK-STIK pour libérer l'écouvillon et introduire ce dernier dans le tube qui contient le réactif d'éluion (capuchon à vis).
6. Fermer le couvercle du réactif d'éluion et mélanger au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes.
7. Poursuivre avec les étapes ultérieures d'analyse à partir de l'étape 5 de la Section 10.1, Préparation de la cartouche.
8. Si le CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

12 Interprétation des résultats

Les systèmes GeneXpert génèrent les résultats à partir des signaux de fluorescence mesurés et des algorithmes de calculs utilisés par le logiciel des systèmes GeneXpert. Il est possible de voir les résultats dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results). Voir le tableau 1 et la figure 2, la figure 3, la figure 4 et la figure 5.

Pour les SARM présents dans un flacon d'hémoculture en l'absence d'autres espèces bactériennes, le test utilise des algorithmes fondés sur les règles dans lequel les valeurs du cycle seuil (Ct) des trois cibles (*spa*, *mecA* et *SCCmec*) sont comparées pour déterminer si les cibles sont dérivées du même microorganisme SARM.

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert MRSA/SA Blood Culture

Résultat	Interprétation
MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) (Figure 2)	POSITIF À SARM/POSITIF À SA (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) — Si l'une des conditions suivantes se produit : <ul style="list-style-type: none"> • toutes les cibles de SARM (<i>spa</i>, <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>) sont présentes, ou • <i>SCCmec</i> n'est pas présent, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de <i>mecA</i> et <i>spa</i>, ou • <i>spa</i> n'est pas présent, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>. • CTE — S.O. (sans objet) (SPC — NA (not applicable)) ; le signal du CTE ne fait pas partie de l'interprétation des résultats dans ce cas, car l'amplification du SARM peut entrer en compétition avec ce contrôle. • Vérification des sondes — RÉUSSITE (Probe Check — PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) (Figure 3)	NÉGATIF À SARM/POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) – Si l'une des conditions suivantes se produit : <ul style="list-style-type: none"> • <i>spa</i> est présent et <i>mecA</i> n'est pas présent, ou • <i>spa</i> n'est pas présent, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>, ou • <i>SCCmec</i> n'est pas présent, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de <i>mecA</i> et <i>spa</i>. • CTE — S.O. (sans objet) (SPC — NA (not applicable)) ; le signal du CTE ne fait pas partie de l'interprétation des résultats dans ce cas, car l'amplification du SA peut entrer en compétition avec ce contrôle. • Vérification des sondes — RÉUSSITE (Probe Check — PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
MRSA NÉGATIF/SA NÉGATIF (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) (Figure 4)	<ul style="list-style-type: none"> • NÉGATIF À SARM/NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) — la cible de SA (<i>spa</i>) n'est pas présente et si l'une des conditions suivantes se produit : <ul style="list-style-type: none"> • <i>mecA</i> n'est pas présent, ou • <i>SCCmec</i> n'est pas présent, ou • <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i> sont présents, les conditions de l'algorithme fondé sur les règles sont satisfaites pour les valeurs Ct de <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>. • CTE — RÉUSSITE (SPC — PASS) ; le CTE a une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. Ou, si un analyte cible est positif, le CTE est ignoré. • Vérification des sondes — RÉUSSITE (Probe Check — PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
NON VALIDE (INVALID) (Figure 5)	<ul style="list-style-type: none"> • La présence ou l'absence des séquences cibles de SARM/SA ne peut pas être déterminée ; répéter le test avec un nouvel échantillon. Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été correctement traité, ou la PCR a été inhibée. • NON VALIDE (INVALID) – La présence ou l'absence d'ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> est impossible à déterminer. • CTE – ÉCHEC (FAIL) – Le résultat de la cible de CTE est négatif, le CTE a une valeur qui n'est pas dans la plage de validation et un point final inférieur au réglage minimum. • Vérification des sondes — RÉUSSITE (Probe Check — PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.

Résultat	Interprétation
ERREUR (ERROR)	<ul style="list-style-type: none"> La présence ou l'absence de SARM/SA ne peut pas être déterminée ; répéter le test avec un nouvel échantillon. Une erreur peut être due au remplissage incorrect du tube réactionnel, à un problème d'intégrité de la sonde ou au dépassement des limites de pression maximales. SARM — PAS DE RÉSULTAT (MRSA — NO RESULT) SA — PAS DE RÉSULTAT (SA — NO RESULT) CTE — PAS DE RÉSULTAT (SPC — NO RESULT) Vérification des sondes – ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de plusieurs résultats de vérification des sondes. * Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due à la défaillance d'un composant du système ou au dépassement de la limite de pression maximale.
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<ul style="list-style-type: none"> La présence ou l'absence des séquences d'ADN de la cible SARM/SA est impossible à déterminer ; répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test. Par exemple, cela peut arriver si l'opérateur a interrompu un test en cours. SARM — PAS DE RÉSULTAT (MRSA — NO RESULT) SA — PAS DE RÉSULTAT (SA — NO RESULT) CTE — PAS DE RÉSULTAT (SPC — NO RESULT) Vérification des sondes — SO (sans objet) (Probe Check — NA (not applicable))

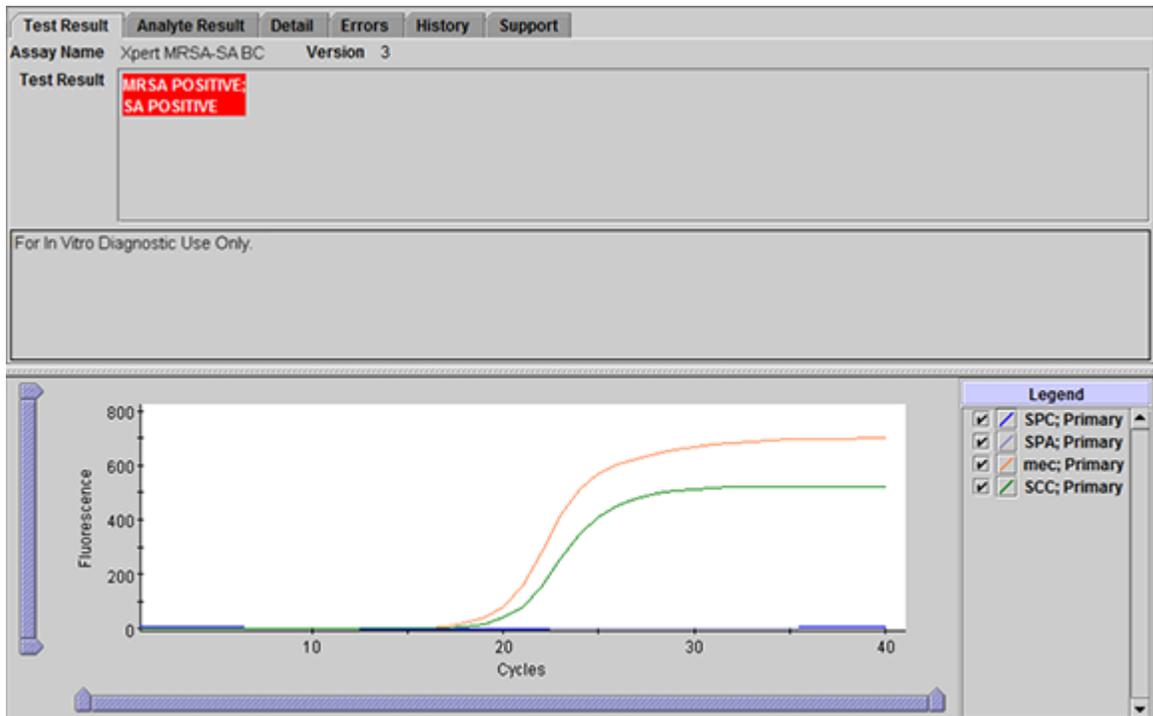


Figure 2. Exemple d'un résultat positif à SARM.

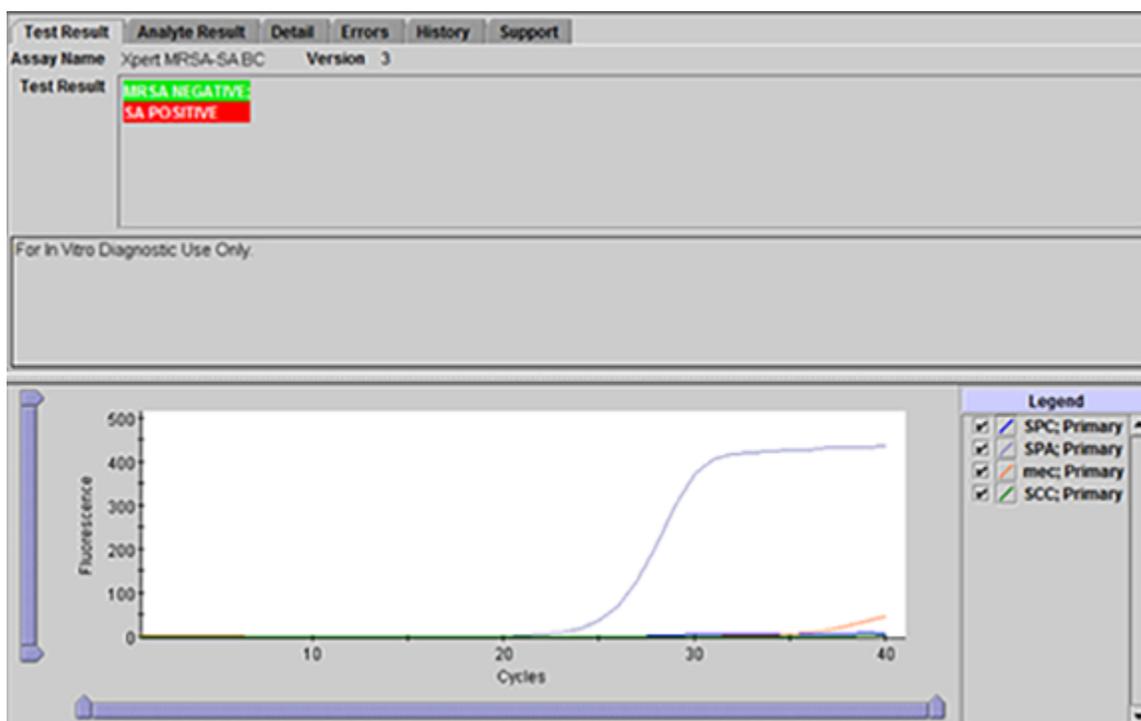


Figure 3. Exemple d'un résultat positif à SA

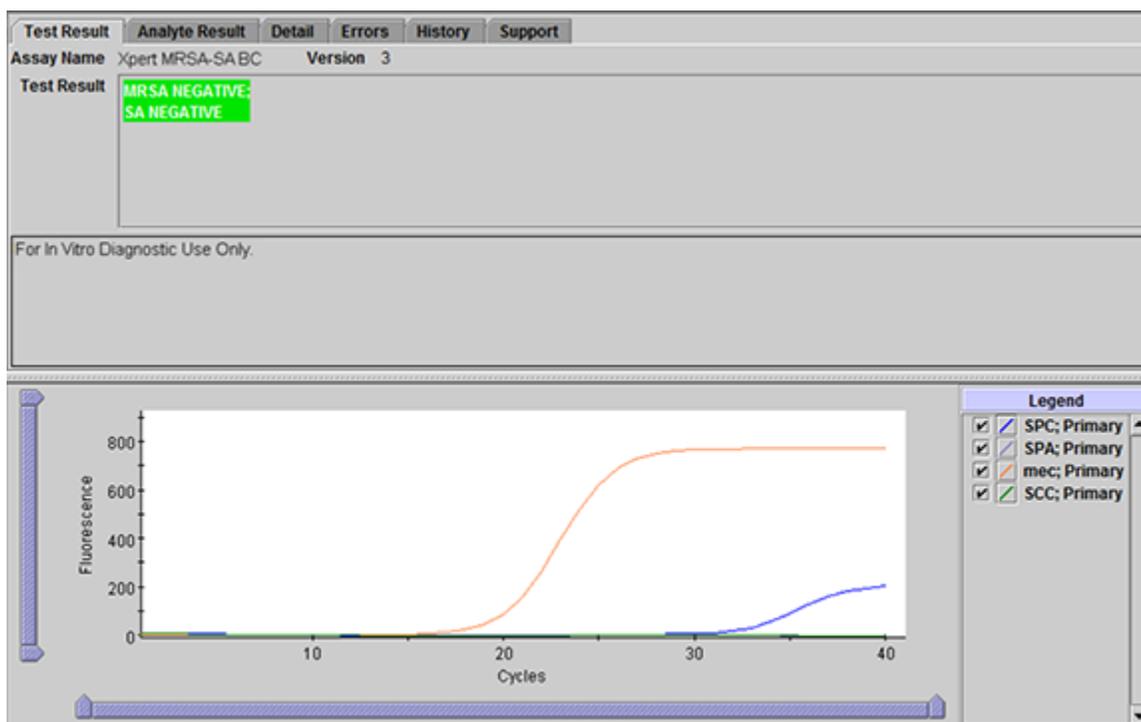


Figure 4. Exemple d'un résultat négatif

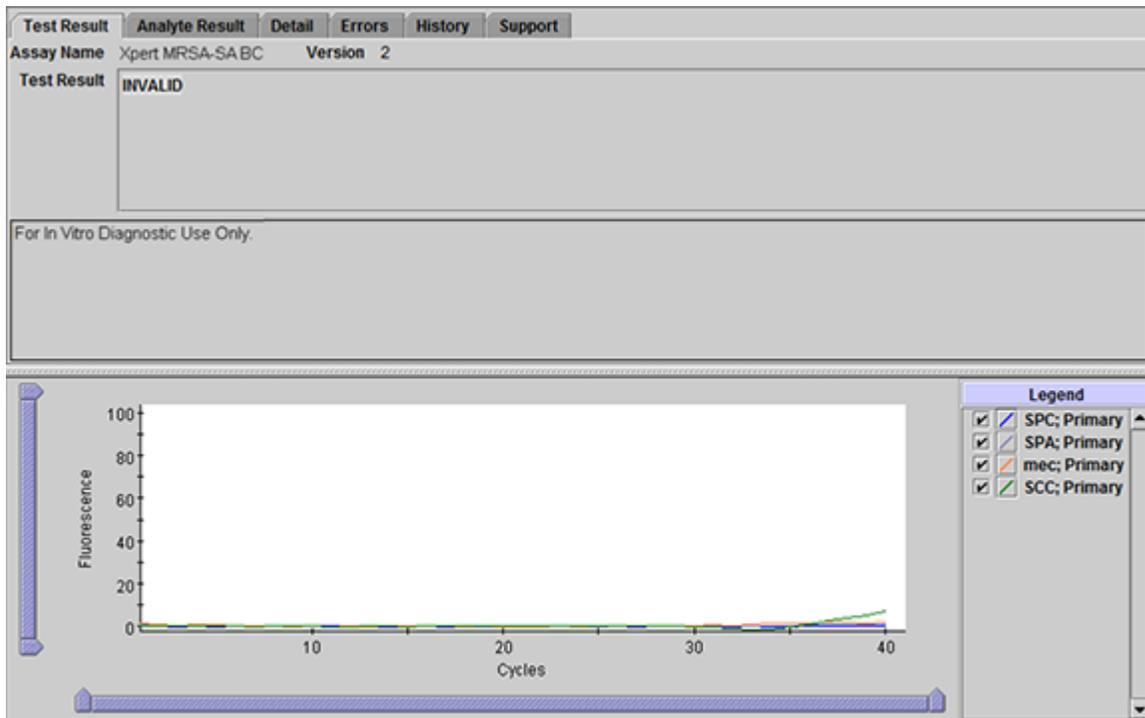


Figure 5. Exemple d'un résultat non valide

12.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

L'échantillon doit être retesté si l'un des résultats suivants est obtenu lors du premier test.

- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique que le contrôle CTE a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement, ou la PCR est inhibée.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le contrôle de vérification des sondes a échoué et que le test a été annulé, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde ou d'un 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.
- Si un CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

12.2 Procédure de répétition du test

Répéter le test en utilisant une nouvelle cartouche (ne pas réutiliser la cartouche) et un nouveau flacon de réactif d'éluion.

Lorsqu'un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans les 3 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon préparé dans la cartouche. Lorsqu'un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le système, par le biais du logiciel Xpertise, de manière à ce que les tests soient initiés avant l'expiration de ces éléments, qui a lieu au bout de trois heures à bord.

1. Sortir la cartouche et le réactif d'éluion du coffret.
2. Mélanger doucement, à la main, l'échantillon d'hémoculture positive. Ne pas mélanger au vortex.
3. À l'aide de la pipette de transfert à volume fixe (50 µl) fournie, transférer le contenu de la pipette à volume fixe contenant l'échantillon d'hémoculture positive dans le flacon de réactif d'éluion en procédant comme suit :
 - a. Presser fermement la poire supérieure de la pipette.
 - b. Tout en pressant, placer l'embout de la pipette dans l'échantillon.
 - c. En gardant la pipette dans l'échantillon, libérer la pression sur la poire afin de remplir la pipette.
 - d. Placer l'embout de la pipette au-dessus de l'ouverture du flacon de réactif d'éluion.

- e. Presser fermement la poire supérieure afin de vider le contenu de la pipette dans le flacon de réactif d'élu­tion. Il est normal qu'un excédent de liquide reste dans la poire de débordement.
4. Fermer le capuchon du réactif d'élu­tion et mélanger au Vortex à vitesse élevée pendant 10 secondes.
5. Ouvrir le couvercle de la cartouche. À l'aide d'une pipette de transfert (non fournie), transférer tout le contenu du flacon de réactif d'élu­tion dans la chambre à échantillon de la cartouche Xpert MRSA/SA Blood Culture. Voir la figure 1.
6. Fermer le couvercle de la cartouche et démarrer le test.

13 Limites

- Les performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été validées en utilisant uniquement les procédures fournies dans cette notice d'utilisation. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test. Les résultats du test Xpert MRSA/SA Blood Culture doivent être interprétés ensemble avec les autres données biologiques et cliniques à la disposition du clinicien.
- Les performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture en utilisant des types de flacons d'hémoculture autres que les flacons d'hémoculture BD BACTEC PEDS PLUS/F, BACTEC Plus Aerobic/F, BD BACTEC Plus Anaerobic/F, BD BACTEC Standard Anaerobic/F, BD BACTEC Standard/ 10 Aerobic/F, BD BACTEC LYTIC/10 Anaerobic/F, BacT/ALERT SA (aérobie standard), BacT/ALERT SN (anaérobie standard), VersaTREK REDOX 1 (aérobie) et VersaTREK REDOX 2 (anaérobie) n'ont pas été établies.
- Les milieux d'hémoculture contenant du charbon activé ne peuvent pas être utilisés avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture (par ex., BacT/ALERT FAN aérobie).
- Les analyses avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture doivent être utilisées conjointement aux autres méthodes disponibles.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variantes de SARM nouveaux ou inconnus, produisant un résultat faux négatif.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement incorrect de l'échantillon, du non-respect des procédures recommandées pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration de microorganismes 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.
- Les résultats du test Xpert MRSA/SA Blood Culture peuvent parfois afficher NON VALIDE (INVALID), ERREUR (ERROR) ou PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) et nécessiter une répétition du test, ce qui peut conduire à un délai pour l'obtention des résultats finaux.
- Les concentrations cibles inférieures à la LDD du test peuvent être détectées, mais les résultats peuvent ne pas être reproductibles.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture peut produire un résultat faux négatif à SARM en présence d'un SA ayant une résistance de bas niveau à l'oxacilline (BORSA). Le mécanisme de résistance à l'oxacilline des souches BORSA peut être imputable à d'autres facteurs (par ex., une production accrue de bêta-lactamases) plutôt qu'à la présence du gène *mecA*. Les souches BORSA avec des CMI de 4 à 8 µg/ml sont considérées comme ayant une résistance de bas niveau, mais peuvent être rendues comme négatives à SARM par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture peut produire un résultat faux négatif à SARM en présence d'un SA modifié (MODSA). Le mécanisme de résistance à l'oxacilline des souches MODSA est imputable à d'autres facteurs (par ex., des modifications de l'affinité pour l'oxacilline des protéines de liaison à la pénicilline) plutôt qu'à la présence du gène *mecA*. Les souches MODSA avec des CMI de 4 à 8 µg/ml sont considérées comme ayant une résistance de bas niveau, mais seraient rendues comme négatives à SARM par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture générera un résultat faussement négatif à SARM lors de l'analyse d'une souche contenant un homologue de *mecA* appelé *mecC*, comme le SA LGA251.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture peut produire un résultat faux positif à SARM en présence d'un échantillon contenant un *Staphylococcus coagulase négatif* résistant à la méticilline (SCNRM) et un *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline.
- Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture peut générer un résultat faussement négatif à SARM lors de l'analyse d'un échantillon d'hémoculture contenant plusieurs souches.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence de microorganismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence de SARM ou de SA.

14 Valeurs attendues

Dans le cadre de l'étude clinique sur le test Xpert MRSA/SA Blood Culture, 792 hémocultures provenant de huit sites à travers les États-Unis ont été testées. Le nombre et le pourcentage d'échantillons positifs tels que déterminés par la méthode de culture de référence sont calculés par tranche d'âge et présentés dans le tableau 2.

Tableau 2. Prévalence observée de SARM et de SA par culture

Tranche d'âge	N total	SARM par culture		SA par culture	
		Nombre de positifs	Prévalence observée	Nombre de positifs	Prévalence observée
0 à 20 ans	22	2	9,1 %	7	31,8 %
21 à 30 ans	43	8	18,6 %	10	23,3 %
31 à 40 ans	65	8	16,9 %	25	38,5 %
41 à 50 ans	124	22	17,7 %	45	36,3 %
51 à 60 ans	154	23	14,9 %	48	31,8 %
61 à 70 ans	165	15	19,1 %	46	27,9 %
> 70 ans	219	24	11,0 %	54	24,7 %
Total	792	105	13,3 %	236	29,8 %

15 Caractéristiques des performances

Le fichier de définition du test mis à jour avec les algorithmes fondés sur les règles et la nouvelle version du logiciel GeneXpert soutenant cette mise à jour ont été validés par les réanalyses des données de performances cliniques d'origine et par un sous-ensemble des données de performances analytiques d'origine, notamment la LDD, l'inclusivité, l'exclusivité, les substances potentiellement interférentes, la reproductibilité et la précision. Les réanalyses ont montré que les dispositifs étaient substantiellement équivalents.

15.1 Performances cliniques

Les caractéristiques des performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été établies lors d'une étude prospective multi-sites réalisée dans huit centres aux États-Unis, en comparant le test Xpert MRSA/SA Blood Culture à la culture.

Les sujets comprenaient des patients dont les soins de routine exigeaient des analyses sur hémoculture. Si l'hémoculture était positive pour une croissance microbienne et que la coloration de Gram montrait des coques à Gram positif (isolés ou en amas), l'échantillon était éligible pour inclusion à l'étude clinique, et des aliquotes du milieu de culture restant étaient obtenues en vue d'être testées avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Les procédures de culture et de coloration de Gram ainsi que la prise en charge des patients se sont déroulées sur les sites selon les pratiques habituelles.

Les tests de susceptibilité ont été accomplis conformément aux documents M2-A11 et M100-S22 du CLSI.^{12,13} Les résultats de diffusion du disque de céfoxitine ont été utilisés comme substitut pour détecter la résistance à la méticilline/oxacilline.

Les performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été calculées sous forme de pourcentage de concordance avec les résultats obtenus avec la culture de référence.

15.2 Résultats généraux

Un total de 792 échantillons ont été testés pour SARM et SA par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture et par culture.

Par rapport à la méthode de culture de référence, le test Xpert MRSA/SA Blood Culture a identifié 98,1 % des échantillons positifs à SARM et 99,6 % des échantillons négatifs à SARM.

Par rapport à la méthode de culture de référence, le test Xpert MRSA/SA Blood Culture a identifié 99,6 % des prélèvements positifs à SA et 99,5 % des échantillons négatifs à SA.

Les performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture sont résumées dans le tableau 3.

Tableau 3. Performances de Xpert MRSA/SA BC par rapport à la culture de référence

		Culture			
		SARM+	SA+/SARM-	Nég/Pas de croissance	Total
Xpert	SARM+	103	2	1	106
	SA+/SARM-	2	128	2	132
	SA-	0	1	553	554
	Total	105	131	556	792
Performances Xpert	SARM				
	PCP : 98,1% (103/104/105, IC à 95 % : 93,3-99,8) PCN : 99,6% (684/687, IC à 95 % : 98,7-99,9)				
	SA				
	PCP ^a : 99,6% (235/236, IC à 95 % : 97,7-99,9) PCN ^b : 99,5% (553/556, IC à 95 % ^c : 98,4-99,9)				

^a Pourcentage de concordance positive

^b Pourcentage de concordance négative

^c Intervalle de confiance

Parmi les tests Xpert MRSA/SA Blood Culture exécutés sur des échantillons éligibles, 96,1 % (764/795) ont réussi dès la première tentative. Les 31 séries restantes ont donné des résultats indéterminés lors de la première tentative. NON VALIDE (INVALID), 22 : ERREUR (ERROR) et 8 : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)). Trente des 31 cas indéterminés ont été testés à nouveau ; un échantillon n'a pas été retesté. Vingt-huit des 30 cas indéterminés qui ont été retestés ont donné des résultats valides lors de la répétition du test. Le taux de succès global du test était de 99,6 % (792/795).

16 Performances analytiques

16.1 Limite de détection

Des études ont été réalisées pour déterminer les estimations de points et les intervalles de confiance à 95 % des deux côtés pour la limite de détection (LDD) analytique des cellules de SA et des cellules de SA résistant à la méticilline (SARM) diluées dans une matrice d'hémoculture négative simulée pouvant être détectées par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. La matrice se composait de sang total exempt de SA et de cellules de SESM (*Staphylococcus epidermidis* sensible à la méticilline) à 106 UFC/ml ajoutés au milieu d'hémoculture. La limite de détection est définie comme le plus petit nombre d'unités formant colonie (UFC) par échantillon pouvant être différencié de façon reproductible des échantillons négatifs avec une confiance de 95 % ou la concentration la plus faible à laquelle 19 des 20 réplicats se sont montrés positifs.

Pour le SARM, 20 réplicats ont été testés à chaque concentration de SARM testée (UFC/test) pour 10 isolats individuels représentant les types SCCmec I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII et VIII. Lors du typage par gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), USA100, la souche acquise en milieu de soins la plus courante, et USA400, l'une des souches acquises en communauté les plus courantes, étaient incluses.

Pour le SA, 20 réplicats ont été testés à chaque concentration de SA (UFC/test) pour 3 isolats de SA individuels. Les types USA USA900 et USA1200 étaient inclus.

Les estimations de points et les intervalles de confiance ont été déterminés par régression binomiale Probit avec des données (le nombre de résultats positifs par nombre de réplicats à chaque niveau) couvrant la gamme des valeurs d'UFC/test. 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 SA et chaque type SCCmec de SARM testés sont résumés au tableau 4 et au tableau 5.

Tableau 4. LDD et intervalles de confiance à 95 % - SA

Souche SA	ID PFGE	LDD confirmée (UFC/test) [au moins 19/20 positifs]	Estimation de la LDD (analyse de la régression binomiale Probit) (UFC/test)		
			IC inférieur à 95 %	Estimation de la LDD	IC supérieur à 95 %
102-04 ^a	USA1200	100 (19/20)	60,4	74,5	101,6
29213 ^b	inconnu	150 (19/20)	120,1	138,2	172,7
N129 ^a	USA900	300 (19/20)	224,2	255,2	314,8

^a Source des souches : American Type Culture Collection (ATCC), Manassas, VA, États-Unis

^b Source des souches : Centers for Disease Control and Prevention (CDC), Atlanta, GA, États-Unis

Tableau 5. LDD et intervalles de confiance à 95 % - SARM

ID de souche SARM	ID PFGE	LDD confirmée (UFC/test) [au moins 19/20 positifs]	Estimation de la LDD (analyse de la régression binomiale Probit) (UFC/test)		
			IC inférieur à 95 %	Estimation de la LDD	IC supérieur à 95 %
Type I (64/4 176) ^a	USA500	350 (19/20)	332,3	366,8	433,5
Type II (N315) ^b	USA100 ^c	175 (19/20)	113,7	137,0	178,1
Type III (11373) ^b	inconnu	225 (19/20)	191,9	222,6	273,9
Type IVa (MW2) ^b	USA400 ^c	350 (19/20)	313,1	356,1	427,0
Type V (ST59) ^d	USA1000 ^c	250 (19/20)	218,2	243,1	282,3
Type VI (HDE288) ^{ef}	USA800 ^c	250 (19/20)	222,2	246,0	385,0
Type VII (JCSC6082) ^a	inconnu	300 (19/20)	264,1	288,0	347,1
Type VIII (WA MRSA-16) ^d	inconnu	400 (19/20)	48,7	386,7	499,1
Type II (BK2464) ^b	USA100 ^g	125 (19/20)	94,3	116,1	162,0
Type IVd (BK2529) ^{bf}	USA500 ^g	200 (19/20)	120,8	148,8	202,5

^a Teruyo Ito, Department of Bacteriology, School of Medicine Juntendo University, Tokyo, Japon

^b Barry Kreiswirth, Director Public Health Research Institute (PHRI), Newark, NJ, États-Unis

^c K. Bonnstetter et al., J Clin Micro 2007, p. 141-146; L. McDougal et al., J Clin Micro 2003, p. 5113-5120

^d Geoffrey Coombs, Department of Microbiology and Infectious Diseases, Royal Perth Hospital, Perth, WA, Australie

^e Herminia de Lencastre, Laboratory of Molecular Genetics, Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica (ITQB), Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal

^f Isolats résistants à l'oxacilline hétérogènes

^g Barry Kreiswirth, communication personnelle

Les résultats de cette étude indiquent que le test Xpert MRSA/SA Blood Culture produira un résultat positif à SA 95 % du temps pour une aliquote d'hémoculture positive (50 µl) contenant 300 UFC, et un résultat positif à SARM 95 % du temps pour une aliquote d'hémoculture positive (50 µl) contenant 400 UFC.

16.2 Étude d'inclusivité analytique (Réactivité)

Deux cent cinquante (250) souches de SA (47 SASM et 203 SARM) de plusieurs sources ont été testées avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Des sélections ont été effectuées pour représenter les lignées primaires avec une importance particulière accordée aux complexes clonaux spécifiques, au sein desquels le SARM est principalement observé. Les lignées contenant le SARM et le SASM ainsi que celles qui contiennent exclusivement le SASM ont été incluses. Lors du typage par gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), de nombreux types USA incluant USA100, la souche acquise en milieu de soins la plus courante, et USA300 et USA400, les souches communautaires les plus fréquentes, étaient également inclus.¹⁴ Des souches représentant des variantes à « cassette excisée » et des souches hétérogènes identifiées comme le SA ayant une résistance de bas niveau à l'oxacilline (par ex., valeurs de CMI pour l'oxacilline de 4 à 8 µg/ml) ou BORSA ont également été testées.

Toutes les souches ont été testées en triple en utilisant 10 µl de suspension cellulaire en phase stationnaire diluée 1 million de fois. Les unités formant colonie par test (UFC/test) ont été déterminées par numération sur milieu solide en triple. Tous les résultats, à l'exception d'un prélèvement, ont été correctement rapportés par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le test Xpert MRSA/SA Blood Culture a incorrectement identifié une (1) souche de SA (LGA251) comme SASM au lieu de SARM. La LGA251 contient un nouveau gène *mecA* représentant un *mecC* homologue de *mecA* divergent (à savoir, *mecA*_{LGA251}) situé dans un nouvel élément *mec* chromosomique staphylococcique, appelé SCC *mec* type XI. Les amorces et sondes de *mecA* du test MRSA/SA Blood Culture ne détectent pas le gène *mecC* dans cette souche en raison de mutations dans les régions de liaison de l'amorce ou de la sonde. Le gène *mecC* présente des différences substantiellement significatives d'homologie par rapport au gène *mecA* dans d'autres souches de SARM non variantes.

16.3 Spécificité analytique (exclusivité)

Cent un (101) organismes/souches ont été recueillis, quantifiés et testés avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Sur les 101 souches testées, 91 cultures ont été obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC) ; 1 a été obtenue auprès de la Culture Collection, University of Göteborg, Suède (CCUG) ; 1 a été obtenue auprès de Teruyo Ito, Juntendo University, Tokyo, Japon ; 1 souche de *Klebsiella pneumoniae* produisant des carbapénémases (KPC) a été obtenue auprès du National Collection of Type Cultures (NCTC), R.-U. ; et 7 souches ont été obtenues auprès du Network on Antimicrobial Resistance in SA (NARSA). Ces souches représentent des espèces phylogénétiquement proches du SA ou des espèces potentiellement présentes en milieu hospitalier.

Les organismes testés ont été identifiés comme étant soit Gram positifs (74), soit Gram négatifs (24), soit une levure (3). Des *staphylocoques* coagulase négatifs sensibles à la méticilline SCNSM (27) et des *staphylocoques* coagulase négatifs résistants à la méticilline SCNRM (12) étaient inclus. Les organismes ont aussi été classés comme aérobies (94) ou anaérobies (7).

Trois réplicats de chaque isolat ont été testés à 1,7 – 3,2 unités McFarland. Dans les conditions de cette étude, tous les isolats ont été rapportés comme **NÉGATIFS À SARM (MRSA NEGATIVE)** et **NÉGATIFS À SA (SA NEGATIVE)** ; aucun des isolats n'a été détecté par le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. La spécificité analytique était de 100 %.

16.4 Étude sur les substances interférentes

Les substances pouvant être présentes dans les hémocultures et ayant le potentiel d'interférer avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été testées dans le cadre de l'étude sur les substances interférentes. Les substances potentiellement interférentes évaluées incluent, sans s'y limiter, du sang total anticoagulé avec ACD, EDTA, héparine et citrate de sodium, du plasma humain, trois flacons de milieu d'hémoculture (Becton Dickinson BACTEC Plus Aerobic/F, BioMérieux BacT/ALERT SA (Standard aérobie) et TREK Diagnostics VersaTREK REDOX1 (aérobie), de la bilirubine, de la gammaglobuline, de l'hémoglobine, des triglycérides et du polyanétholsulfonate de sodium (SPS).

La bilirubine, la gammaglobuline, l'hémoglobine et les triglycérides ont été testées à des concentrations d'environ un log supérieur aux niveaux de référence. Le SPS a été testé à une concentration 10 fois supérieure à celle trouvée dans le milieu d'hémoculture. Des échantillons négatifs (n=8) ont été testés pour chaque substance pour déterminer l'effet sur les performances du contrôle du traitement de l'échantillon (CTE). Les échantillons positifs (n=8) ont été testés par substance avec deux isolats cliniques de SASM (29213 et 102-04) et de SARM (SCC*mec* types II et III) enrichis à une concentration proche de la LDD analytique déterminée pour chaque isolat. Tous les résultats ont été comparés à des contrôles tampon positifs et négatifs. Tous les prélèvements négatifs étaient correctement rapportés comme **NÉGATIFS À SARM ; NÉGATIFS À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture.

Aucune des substances potentiellement interférentes n'avait d'effet inhibiteur statistiquement significatif sur les performances du CTE dans les échantillons négatifs (valeur p = >0.05). Tous les échantillons positifs à SASM ont été correctement rapportés comme étant **NÉGATIFS À SARM ; POSITIFS À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** en utilisant le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Tous les échantillons positifs à SARM ont été correctement rapportés

comme étant **POSITIFS À SARM ; POSITIFS À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)** en utilisant le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Aucune des substances potentiellement interférentes n'a entraîné une différence de valeur Ct ≥ 1 cycle par rapport aux contrôles dans du tampon et aucun résultat faussement négatif n'a été rapporté.

16.5 Étude de contamination par transfert

Une étude a été menée pour démontrer que les cartouches GeneXpert closes à usage unique empêchent la contamination par transfert des échantillons négatifs testés après des échantillons très fortement positifs dans le même module GeneXpert. Cette étude comportait un échantillon négatif testé dans le même module GeneXpert immédiatement après un échantillon très fortement positif (6×10^7 cellules de SASM ou de SARM) dans le même module du système GeneXpert Dx. Cette opération a été répétée 40 fois entre 2 modules GeneXpert. Au total, 84 séries par souche ont été testées (40 échantillons positifs par système par souche et 44 échantillons négatifs par système par souche). Aucune preuve de contamination par transfert n'a été observée. Les 40 échantillons positifs à SARM ont été correctement rapportés comme **POSITIFS À SARM ; POSITIFS À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**. Les 40 échantillons positifs à SASM ont été correctement rapportés comme **NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)**. Les 88 échantillons négatifs ont été correctement rapportés comme **NÉGATIFS À SARM ; NÉGATIFS À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**.

16.6 Validation du flacon d'hémoculture

Les performances du test Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été évaluées avec sept types supplémentaires de milieu d'hémoculture. Les types de flacons suivants ont été évalués pour le SARM et le SASM. Voir le tableau 6.

Tableau 6. Flacons d'hémoculture

BD BACTEC™ PEDS PLUS™/F
BD BACTEC™ Plus Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard Anaerobic/F
BD BACTEC™ Standard/10 Aerobic/F
BD BACTEC™ LYTIC/10 Anaerobic/F
BacT/ALERT SN anaérobie standard
VersaTREK™ REDOX™ 2 (anaérobie)

Des échantillons d'hémoculture positive ont été créés pour chaque type de flacon en ajoutant du sang total humain négatif et une souche de SARM et une souche de SASM individuellement pour une concentration bactérienne finale de 10 UFC/ml par flacon. Les flacons d'hémoculture ont été incubés jusqu'à ce que l'hémoculture soit positive pour la croissance. À la détermination de la positivité des flacons, une aliquote de chaque échantillon a été testée à 1 500 UFC/test dans des répliquats de six pour chaque type de flacon. Tous les répliquats positifs ont produit le résultat positif attendu pour les analytes ciblés présents dans l'échantillon.

Des échantillons d'hémoculture négative ont été créés pour chaque type de flacon en y ajoutant du sang total négatif et en les incubant pendant 24 heures avant de les tester avec le test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Tous les répliquats négatifs ont produit le résultat négatif attendu.

17 Reproductibilité

La reproductibilité du test Xpert MRSA/SA Blood Culture a été évaluée sur trois sites en utilisant des échantillons composés de matériel en cultureensemencé dans une matrice simulée. Les échantillons ont été préparés à des niveaux de concentration représentant un échantillon très négatif (inférieur à la LDD), faiblement positif (~1 fois la LDD) et modérément positif (~2 à 3 fois la LDD) pour le SARM et le SASM. Deux souches différentes de SARM ont été utilisées. Des souches bactériennes de panel négatifs ont aussi été incluses et comprenaient du *Staphylococcus epidermidis*ensemencé dans une matrice simulée. Un panel de 11 échantillons a été testé pendant cinq jours différents, par deux opérateurs différents, trois fois par jour sur trois sites (11 échantillons x 2 opérateurs x 5 jours x 3 répliquats par jour x 3 sites). Un lot de réactifs Xpert MRSA/SA BC était inclus dans l'étude.

Les tests Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été réalisés conformément à la procédure Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le taux de concordance pour chaque échantillon du panel est présenté dans le tableau 7.

Tableau 7. Résumé des résultats de reproductibilité – Concordance par site d'étude/instrument

Échantillon	Site 1/ GX Dx	Site 2 Inf-80	Site 3/Inf-48	% de concordance globale
SARM-1 nég. élevé (inférieur à la LDD)	56,7% (17/30)	60,0 % (18/30)	66,7% (20/30)	61,1% (55/90)
SARM-1 pos. faible (~1 fois la LDD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
SARM-1 pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (29/29)	100,0 % (89/89) ^a
SARM-2 nég. élevé (inférieur à la LDD)	43,3% (13/30)	53,3% (16/30)	70,0% (21/30)	55,6% (50/90)
SARM-2 pos. faible (~1 fois la LDD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
SARM-2 pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
SASM nég. élevé (inférieur à la LDD)	60,0 % (18/30)	48,3% (14/29)	70,0% (21/30)	59,6% (53/89) ^b
SASM pos. faible (~1 fois la LDD)	96,7 % (29/30)	100,0 % (30/30)	96,7 % (29/30)	97,8% (88/90)
SASM pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Négatif-1	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)
Négatif-2	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (30/30)	100,0 % (90/90)

^a Un échantillon était indéterminé après le test initial et la répétition du test.

^b Par erreur, un échantillon n'a pas été analysé.

La reproductibilité du test Xpert MRSA/SA Blood Culture a également été évaluée en termes de signal de fluorescence exprimé en valeurs de cycle seuil (Ct) pour chaque cible détectée. La moyenne, l'écart-type (E-T) et le coefficient de variation (CV) inter-sites, inter-lots, inter-jours et inter-séries pour chaque échantillon du panel sont présentés dans le tableau 8.

Tableau 8. Synthèse des données de reproductibilité

Cible	Échantillon	Conc	Concord/ N	Concord (%)	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total	
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
SpA	SARM-1	nég. élevé	55/90	61,1	35,6	0,18	0,5	0,21	0,6	0,00	0,0	0,95	2,7	0,99	2,8
	SARM-1	pos. faible	90/90	100,0	32,8	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,62	1,9	0,67	2,1
	SARM-1	pos. mod.	89/89	100,0	31,2	0,11	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,58	1,9	0,59	1,9
	SARM-2	nég. élevé	50/90	55,6	35,3	0,15	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,99	2,8	1,00	2,8
	SARM-2	pos. faible	90/90	100,0	32,3	0,11	0,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,63	1,9	0,65	2,0

Cible	Échantillon	Conc	Concord/ N	Concord (%)	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total		
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	
	SARM-2	pos. mod.	90/90	100,0	30,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,8	0,55	1,8	
	SASM	nég. élevé	53/89	59,6	36,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,26	3,5	1,26	3,5	
	SASM	pos. faible	88/90	97,8	33,5	0,07	0,2	0,18	0,5	0,00	0,0	0,89	2,7	0,91	2,7	
	SASM	pos. mod.	90/90	100,0	31,7	0,08	0,2	0,20	0,6	0,17	0,6	0,48	1,5	0,56	1,8	
	NÉG-1	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
<i>mec</i>	SARM-1	nég. élevé	55/90	61,1	35,8	0,00	0,0	0,36	1,0	0,00	0,0	0,83	2,3	0,91	2,5	
	SARM-1	pos. faible	90/90	100,0	33,4	0,12	0,4	0,19	0,6	0,00	0,0	0,55	1,6	0,59	1,8	
	SARM-1	pos. mod.	89/89	100,0	31,9	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,46	1,4	0,47	1,5	
	SARM-2	nég. élevé	50/90	55,6	35,8	0,00	0,0	0,34	0,9	0,00	0,0	1,03	2,9	1,08	3,0	
	SARM-2	pos. faible	90/90	100,0	32,8	0,11	0,3	0,00	0,0	0,16	0,5	0,51	1,6	0,54	1,7	
	SARM-2	pos. mod.	90/90	100,0	31,5	0,00	0,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,49	1,5	0,51	1,6	
	SASM	nég. élevé	53/89	59,6	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. faible	88/90	97,8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. mod.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-1	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
SCC	SARM-1	nég. élevé	55/90	61,1	37,2	0,20	0,5	0,37	1,0	0,35	1,0	0,82	2,2	0,98	2,6	
	SARM-1	pos. faible	90/90	100,0	34,5	0,19	0,5	0,23	0,7	0,00	0,0	0,59	1,7	0,66	1,9	
	SARM-1	pos. mod.	89/89	100,0	33,0	0,16	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,45	1,4	0,48	1,5	
	SARM-2	néghaut	50/90	55,6	36,8	0,23	0,6	0,24	0,6	0,10	0,3	1,00	2,7	1,06	2,9	
	SARM-2	pos. faible	90/90	100,0	33,7	0,11	0,3	0,00	0,0	0,26	0,8	0,57	1,7	0,64	1,9	
	SARM-2	pos. mod.	90/90	100,0	32,4	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,45	1,4	0,46	1,4	
	SASM	nég. élevé	53/89	59,6	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	posfaible	88/90	97,8	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. mod.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-1	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
CTE	SARM-1	nég. élevé	55/90	61,1	32,7	0,00	0,0	0,00	0,0	0,20	0,6	0,65	2,0	0,68	2,1	
	SARM-1	pos. faible	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,16	0,5	0,10	0,3	0,61	1,8	0,63	1,9	
	SARM-1	pos. mod.	89/89	100,0	33,0	0,27	0,8	0,00	0,0	0,00	0,0	0,83	2,5	0,87	2,6	

Cible	Échantillon	Conc	Concord/ N	Concord (%)	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total	
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
	SARM-2	nég. élevé	50/90	55,6	33,1	0,23	0,7	0,00	0,0	0,10	0,3	0,85	2,6	0,89	2,7
	SARM-2	pos. faible	90/90	100,0	32,9	0,15	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,4	0,79	2,4
	SARM-2	pos. mod.	90/90	100,0	32,8	0,00	0,0	0,23	0,7	0,00	0,0	0,66	2,0	0,70	2,1
	SASM	nég. élevé	53/89	59,6	32,8	0,18	0,5	0,15	0,5	0,00	0,0	0,74	2,2	0,77	2,4
	SASM	pos. faible	88/90	97,8	32,9	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,72	2,2	0,72	2,2
	SASM	pos. mod.	90/90	100,0	33,0	0,00	0,0	0,31	0,9	0,00	0,0	0,69	2,1	0,76	2,3
	NÉG-1	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	90/90	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.

Concord=concordance, Conc=concentration, CV=coefficient de variation, SO=sans objet pour les échantillons négatifs, E-T=écart-type.

^a Une série est définie comme les trois échantillons par membre du panel qui sont testés par un opérateur, dans un site, pendant un jour.

Remarque L'estimation de la variance de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ce cas, la variabilité mesurée avec l'écart-type et le CV est réglée sur 0.

18 Étude de précision des systèmes

Une étude de précision interne a été menée pour comparer les performances des systèmes GeneXpert Dx, Infinity-48 et Infinity-80 en utilisant des échantillons composés de matériel en culture ensemencé dans une matrice simulée. Les échantillons ont été préparés à des niveaux de concentration représentant un échantillon très négatif (inférieur à la LDD), faiblement positif (~1 fois la LDD) et modérément positif (~2 à 3 fois la LDD) pour le SARM et le SASM. Deux souches différentes de SARM ont été utilisées. Des souches bactériennes de panel négatifs ont aussi été incluses et comprenaient du *Staphylococcus epidermidis* ensemencé dans une matrice simulée. Un panel de 11 échantillons a été testé pendant 12 jours différents par deux opérateurs différents, quatre fois par jour par instrument (11 échantillons x 2 opérateurs x 12 jours x 4 réplicats par jour x 3 instruments). Un lot de réactifs Xpert MRSA/SA BC était inclus dans l'étude. Les tests Xpert MRSA/SA Blood Culture ont été réalisés conformément à la procédure de test Xpert MRSA/SA Blood Culture. Le taux de concordance pour chaque échantillon du panel est présenté dans le tableau 9.

Tableau 9. Résumé des résultats de précision – Concordance par instrument

Échantillon	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% de concordance globale
SARM-1 nég. élevé (inférieur à la LDD)	50,0 % (48/96)	51,6 % (49/95)	35,4 % (34/96)	45,6% (131/287) ^a
SARM-1 pos. faible (~1 fois la LDD)	96,9% (93/96)	99,0 % (95/96)	99,0 % (95/96)	98,3 % (283/288)
SARM-1 pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
SARM-2 nég. élevé (inférieur à la LDD)	80,2% (77/96)	78,1% (75/96)	80,2% (77/96)	79,5% (229/288)

Échantillon	GX Dx	Inf-48	Inf-80	% de concordance globale
SARM-2 pos. faible (~1 fois la LDD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
SARM-2 pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	99,0 % (95/96)	99,7 % (287/288)
SASM nég. élevé (inférieur à la LDD)	76,0 % (73/96)	71,9 % (69/96)	81,3 % (78/96)	76,4 % (220/288)
SASM pos. faible (~1 fois la LDD)	96,9% (93/96)	99,0 % (95/96)	100,0 % (96/96)	98,6 % (284/288)
SASM pos. mod. (~2 à 3 fois la LDD)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Négatif-1	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)
Négatif-2	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (96/96)	100,0 % (288/288)

^a Un échantillon était indéterminé après le test initial et un test répété.

Les résultats de l'étude de précision ont également été évalués en termes du signal de fluorescence exprimé en valeurs Ct pour chaque cible détectée. La moyenne, l'écart-type (E-T) et le coefficient de variation (CV) inter-instruments, inter-jours et inter-séries pour chaque membre du panel sont présentés dans le tableau 10.

Tableau 10. Synthèse des données de précision

Cible	Échantillon	Conc	Concord/N	Concord (%)	Ct moyen	Inter-instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total	
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
SpA	SARM-1	nég. élevé	131/287	45,6	34,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	1,09	3,2	1,09	3,2
	SARM-1	pos. faible	283/288	98,3	32,9	0,02	0,1	0,16	0,5	0,00	0,0	0,78	2,4	0,80	2,4
	SARM-1	pos. mod.	287/288	99,7	32,0	0,06	0,2	0,10	0,3	0,00	0,0	0,62	1,9	0,63	2,0
	SARM-2	nég. élevé	229/288	79,5	36,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	1,19	3,3	1,35	3,7
	SARM-2	pos. faible	288/288	100,0	32,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,57	1,8	0,62	1,9
	SARM-2	pos. mod.	287/288	99,7	31,1	0,12	0,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,6	0,51	1,7
	SASM	nég. élevé	220/288	76,4	36,4	0,21	0,6	0,00	0,0	0,00	0,0	1,36	3,7	1,59	4,4
	SASM	pos. faible	284/288	98,6	33,8	0,09	0,3	0,18	0,5	0,00	0,0	0,87	2,6	0,90	2,7
	SASM	pos. mod.	288/288	100,0	32,2	0,08	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,70	2,2	0,74	2,3
	NÉG-1	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.

Cible	Échantillon	Conc	Concord/ N	Concord (%)	Ct moyen	Inter- instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total	
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
	NÉG-2	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
mec	SARM-1	nég. élevé	131/287	45,6	34,5	0,00	0,0	0,11	0,3	0,00	0,0	0,86	2,5	0,87	2,5
	SARM-1	pos. faible	283/288	98,3	33,4	0,07	0,2	0,14	0,4	0,00	0,0	0,61	1,8	0,63	1,9
	SARM-1	pos. mod.	287/288	99,7	32,5	0,08	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,55	1,7	0,56	1,7
	SARM-2	nég. élevé	229/288	79,5	35,9	0,00	0,0	0,28	0,8	0,00	0,0	1,02	2,8	1,06	2,9
	SARM-2	pos. faible	288/288	100,0	32,8	0,06	0,2	0,00	0,0	0,00	0,0	0,49	1,5	0,53	1,6
	SARM-2	pos. mod.	287/288	99,7	31,5	0,14	0,5	0,05	0,2	0,00	0,0	0,45	1,4	0,47	1,5
	SASM	nég. élevé	220/288	76,4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. faible	284/288	98,6	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. mod.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-1	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
SCC	SARM-1	nég. élevé	131/287	45,6	36,7	0,18	0,5	0,00	0,0	0,00	0,0	1,51	4,1	1,52	4,1
	SARM-1	pos. faible	283/288	98,3	34,7	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	1,11	3,2	1,13	3,2
	SARM-1	pos. mod.	287/288	99,7	33,7	0,12	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,78	2,3	0,78	2,3
	SARM-2	nég. élevé	229/288	79,5	37,3	0,00	0,0	0,32	0,8	0,00	0,0	1,03	2,8	1,17	3,1
	SARM-2	pos. faible	288/288	100,0	34,2	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,44	1,3	0,50	1,5
	SARM-2	pos. mod.	287/288	99,7	33,0	0,12	0,4	0,03	0,1	0,00	0,0	0,49	1,5	0,50	1,5
	SASM	nég. élevé	220/288	76,4	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. faible	284/288	98,6	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	SASM	pos. mod.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-1	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
	NÉG-2	Nég.	288/288	100,0	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.	S.O.
CTE	SARM-1	nég. élevé	131/287	45,6	33,4	0,00	0,0	0,17	0,5	0,00	0,0	0,84	2,5	0,86	2,6
	SARM-1	pos. faible	283/288	98,3	33,4	0,10	0,3	0,21	0,6	0,00	0,0	0,77	2,3	0,80	2,4
	SARM-1	pos. mod.	287/288	99,7	33,4	0,08	0,2	0,15	0,5	0,00	0,0	0,72	2,2	0,74	2,2
	SARM-2	nég. élevé	229/288	79,5	33,4	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,82	2,4	0,82	2,4

Cible	Échantillon	Conc	Concord/ N	Concord (%)	Ct moyen	Inter- instruments		Inter-jours		Inter-séries ^a		Intra-série		Total	
						E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)	E-T	CV (%)
	SARM-2	pos. faible	288/288	100,0	33,4	0,02	0,1	0,00	0,0	0,00	0,0	0,73	2,2	0,77	2,3
	SARM-2	pos. mod.	287/288	99,7	33,3	0,00	0,0	0,09	0,3	0,00	0,0	0,74	2,2	0,75	2,2
	SASM	nég. élevé	220/288	76,4	33,4	0,00	0,0	0,20	0,6	0,00	0,0	0,83	2,5	0,85	2,6
	SASM	pos. faible	284/288	98,6	33,5	0,00	0,0	0,00	0,0	0,00	0,0	0,86	2,6	0,87	2,6
	SASM	pos. mod.	288/288	100,0	33,1	0,11	0,3	0,00	0,0	0,00	0,0	0,75	2,2	0,77	2,3
	NÉG-1	Nég.	288/288	100,0	33,4	0,00	0,0	0,13	0,4	0,00	0,0	0,85	2,6	0,87	2,6
	NÉG-2	Nég.	288/288	100,0	33,5	0,00	0,0	0,02	0,1	0,00	0,0	0,84	2,5	0,84	2,5
Concord=concordance, Conc=concentration, CV=coefficient de variation, SO=sans objet pour les échantillons négatifs, E-T=écart-type.															

^a Une série est définie comme les quatre échantillons par membre du panel traités par un opérateur dans un centre à un jour.

Remarque

L'estimation de la variance de certains facteurs peut être numériquement négative, ce qui peut se produire si la variabilité due à ces facteurs est très faible. Dans ce cas, la variabilité mesurée avec l'écart-type et le CV est réglée sur 0.

19 Bibliographie

1. Hidron AI, Edwards JR, Patel J, Horan TC, Sievert DM, Pollack DA, Fridkin SK. 2008. NHSN annual update: antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections; annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008 Nov; 29(11):996-1011. doi: 10.1086/591861. Erratum in: *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2009 Jan; 30(1):107
2. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of endemic methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *JAMA.* 282(19):1745-51
3. Shopsis B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases.* 7(2):323-6.
4. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. *Cleveland Clinic J Med.* 72 (3): 235-241.
5. Das I, O'Connell N, Lambert P. 2007. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. *J Hosp Infect.* 65(2): 117-123.
6. Anderson DJ *et al.* 2009. Clinical and Financial Outcomes Due to Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* Surgical Site Infection: A Multi-Center Matched Outcomes Study (Une étude multicentrique des résultats appariés). *PLoS ONE* 4(12): e8305. doi:10.1371/journal.pone.0008305.
7. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories (refer to latest edition). U.S. Department of Health and Human Services.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 du CLSI (consulter l'édition la plus récente). Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
9. Chartier Y, et al. Safe management of wastes from health care activities. *Bulletin de l'Organisation mondiale de la Santé* (consulter l'édition la plus récente).
10. Règlement (CE) n° 1272/2008 du parlement européen et du conseil du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/45/CE, et modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006.
11. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (26 mars 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).
12. CLSI M2-A11. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard. Eleventh Edition. CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 États-Unis.
13. CLSI M100-S22. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-second Informational Supplement, CLSI, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, PA 19087-1898 USA.
14. Cooper, J E, Feil, E J. 2006. The phylogeny of *Staphylococcus aureus* – which genes make the best intra-species markers? *Microbiology* 152:1297–1305.

20 Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

21 Assistance technique

Avant de contacter le support 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)

États-Unis

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

France

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

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

22 Tableau des symboles

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



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna,
Sweden



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



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



23 Historique des révisions

Section	Description des modifications
Tableaues symboles	Ajout des symboles CH REP et importateur et de leurs définitions dans le Tableaues symboles. Ajout des informations CH REP et importateur avec l'adresse enSuisse.
Historique des révisions	Mise à jour du tableau Historique des révisions.