

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-CE

Instructions d'utilisation

CE **IVD**

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

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.

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 30 pour une description des modifications.

Xpert MRSA/SA SSTI[®]

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.

1 Nom de marque déposée

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2 Nom commun ou usuel

Xpert MRSA/SA SSTI

3 Utilisation prévue

Le test Cepheid Xpert[®] MRSA/SA pour la détection des infections de la peau et des tissus mous (test Xpert MRSA/SA SSTI) effectué avec le système GeneXpert[®] Dx est un test *de diagnostic* *in vitro* qualitatif conçu pour la détection du *Staphylococcus aureus* (SA) et du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) à partir de prélèvements par écouvillon d'infections de la peau et des tissus mous. 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 SSTI est indiqué pour être utilisé avec d'autres analyses de laboratoire, comme la culture microbiologique, et avec les données cliniques à la disposition du clinicien pour la détection de SARM/SA sur la peau et les tissus mous infectés. Le test Xpert MRSA/SA SSTI n'est pas prévu pour surveiller le traitement des infections à SARM/SA. Des cultures concomitantes pour la détection de SARM/SA sont nécessaires pour récupérer les microorganismes en vue d'effectuer des tests de susceptibilité ou un typage épidémiologique.

4 Synthèse et description

Le *Staphylococcus aureus* (SA) est un agent pathogène opportuniste humain bien connu et un important agent pathogène nosocomial, à l'origine de nombreuses pathologies. Certaines des maladies impliquent des infections de la peau et des tissus mous, y compris l'anthrax et les furoncles, ainsi que des infections de plaies postopératoires de sièges divers. *S. aureus*, un pathogène nosocomial, est une cause majeure de morbidité et de mortalité. Les infections à *S. aureus* sont souvent aiguës et pyogènes et, si elles ne sont pas traitées, peuvent s'étendre aux tissus environnants ou à des sites métastatiques via bactériémie (impliquant d'autres organes). Parmi les infections plus graves à *S. aureus*, on citera : bactériémie, pneumonie, ostéomyélite, endocardite aiguë, syndrome de choc toxique, intoxication alimentaire, myocardite, péricardite, cérébrite, méningite, chorioamnionite, syndrome de la peau ébouillantée ainsi que des abcès des muscles, de l'appareil génito-urinaire, du système nerveux central et de divers organes intra-abdominaux.¹

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 *S. aureus*. La méticilline, une pénicilline synthétique, a été introduite en 1959. Vers 1960, des souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline ont toutefois été identifiées. Des études ont montré que ce phénomène résultait de l'acquisition du gène *mecA* par *S. aureus*. Aux États-Unis aujourd'hui, le SARM est responsable d'environ 25 % des infections nosocomiales et les rapports de SARM communautaire augmentent, produisant une morbidité et une mortalité importantes. Des taux de mortalité attribuables de 33 % et 16 % ont été rapportés respectivement pour les bactériémies à SARM et à *S. aureus* sensible à la méticilline. L'augmentation des coûts liés aux infections à SARM est aussi problématique. Pour tenter de limiter la propagation de ces infections, des stratégies et politiques de contrôle sont en cours de développement et de mise en œuvre dans les établissements de santé. Contrôler le SARM est un objectif primaire pour la plupart des programmes hospitaliers de contrôle de l'infection. Actuellement, la méthode standard de détection du SARM et du SA est la mise en culture, qui est très laborieuse et peut prendre plusieurs jours pour l'obtention d'un résultat définitif.^{2,3,4,5,6,7}

5 Principe de la procédure

Le(s) système(s) GeneXpert la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes par test de PCR en temps réel. Le(s) système(s) un instrument, un ordinateur personnel et un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Le(s) système(s) exige(-nt) 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/des système(s), consulter le Manuel d'utilisation du système *GeneXpert Dx* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity approprié*.

Le test Xpert MRSA/SA SSTI comprend des réactifs pour la détection de SARM et de SA ainsi qu'un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE), pour contrôler le traitement adéquat des bactéries cibles et surveiller la présence d'inhibiteur(s) lors de la réaction PCR. Le CTE assure aussi que les conditions de PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et que les réactifs PCR sont fonctionnels. Le contrôle de vérification des sondes (CVS) consiste à vérifier la réhydratation du réactif, le remplissage du tube de PCR dans la cartouche, l'intégrité des sondes et la stabilité du fluorochrome.

Les amorces et les sondes du test Xpert MRSA/SA SSTI détectent les séquences codantes de la protéine A staphylococcique (*SpA*), du gène responsable de la méticillino-résistance (*mecA*) et de la cassette chromosomique staphylococcique (*SCCmec*) insérée dans le site chromosomique *attB* de SA.

6 Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni

Le kit de test Xpert MRSA/SA SSTI contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons ou contrôles qualité. Le kit contient les éléments suivants :

Cartouches de test Xpert MRSA/SA SSTI 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 par cartouche 3,0 ml par cartouche 3,0 ml par cartouche
Sachet de réactif d'éluion pour le test Xpert MRSA/SA SSTI	10 x 2,0 ml par sachet
<ul style="list-style-type: none"> ● Réactif d'éluion (thiocyanate de guanidinium) 	
CD	1 par kit
<ul style="list-style-type: none"> ● 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 exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

6.2 Conservation et manipulation

- Conserver les cartouches et réactifs du test Xpert MRSA/SA SSTI à une température comprise entre 2 et 28 °C.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches après leur date de péremption.
- Ne pas ouvrir une cartouche avant d'être prêt à effectuer le test.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.

7 Matériel requis mais non fourni

- Système GeneXpert Instrument (le numéro de référence varie selon la configuration) : instrument GeneXpert, ordinateur avec logiciel exclusif GeneXpert version 4.3 ou ultérieure, lecteur manuel de codes barres et manuel d'utilisation.
- Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le Support Technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Cepheid Sample Collection Device (dispositif de prélèvement Cepheid) (numéro de référence 900-0370) ou équivalent Copan
- Agitateur à vortex
- Pipettes de transfert jetables
- Gaze stérile

8 Matériel disponible mais non fourni

Écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIK™ de Microbiologics n° de réf. 0158MRSA et n° de réf. 0360SA comme contrôles positifs externes, et n° de réf. 0371MSSE (*Staphylococcus epidermidis* sensible à la méticilline) comme contrôle négatif externe.

9 Avertissements et mises en garde

- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches et les réactifs usagés, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard puisqu'il est souvent impossible de déterminer ceux qui pourraient être infectieux. Les Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies)⁸ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire)⁹ tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.
- Dans une culture mixte contenant le SARM/SA et d'autres microorganismes (par ex., bacilles à 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 LDD du test.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir de microorganismes non viables. Cette probabilité de détection augmente chez les patients sous antibiotiques.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI ne donne pas de résultats de susceptibilité antimicrobienne. La culture et les tests de sensibilité nécessitent du temps supplémentaire.
- Ne pas remplacer le réactif du test Xpert MRSA/SA SSTI par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert MRSA/SA SSTI, sauf pour l'ajout de l'échantillon et du réactif, ou pour retester.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après avoir ajouté l'échantillon et le réactif.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Chaque cartouche de test Xpert MRSA/SA SSTI 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 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 une procédure d'élimination spécifique 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 des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].

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

10 Risques chimiques^{17,18}

- 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 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Les échantillons d'écouvillon d'infections de la peau et des tissus mous peuvent être recueillis avec le Cepheid Sample Collection Device (dispositif de prélèvement Cepheid) en suivant les procédures habituelles de l'établissement de l'utilisateur. Les échantillons d'écouvillon sont remis dans le tube de transport en plastique (milieu Stuart liquide, dispositif de prélèvement Cepheid ou Copan recommandés), conservés à température ambiante et envoyés au lieu de test GeneXpert pour traitement le jour même. Conserver l'écouvillon non testé qui reste pour culture microbiologique dans des systèmes de transport appropriés et le mettre en culture dans un délai de 4 jours. Si l'échantillon n'est pas envoyé sous 24 heures, le transporter sur glace. Sinon, les écouvillons peuvent être conservés à une température comprise entre 2 °C et 8 °C pour être testés dans un délai maximum de 5 jours.

12 Culture microbiologique

Pour les méthodes de culture des infections de la peau et des tissus mous, suivre les procédures habituelles en vigueur du laboratoire. Pour la culture, les échantillons d'écouvillon qui restent doivent être placés dans des systèmes de transport appropriés et mis en culture dans un délai de 4 jours.

13 Procédure

13.1 Préparation de la cartouche

Important Démarrer le test dans les 15 minutes qui suivent l'ajout des réactifs à la cartouche.

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

1. Sortir la cartouche et un réactif d'éluotion du coffret.
2. Retirer l'écouvillon du récipient de transport.

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

3. Introduire l'écouvillon dans le tube qui contient le réactif d'éluotion et casser l'écouvillon.
4. Fermer le couvercle du flacon de réactif d'éluotion et mélanger au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes.
5. Ouvrir le couvercle de la cartouche. À l'aide d'une pipette de transfert stérile, transférer tout le contenu du réactif d'éluotion dans la chambre à échantillon de la cartouche Xpert MRSA/SA SSTI.
6. Fermer le couvercle de la cartouche.



Figure 1. Cartouche Xpert MRSA/SA SSTI (vue de haut)

13.2 Démarrage du test

Important Avant de démarrer le test, s'assurer que le fichier de définition du test Xpert MRSA/SA SSTI est importé dans le logiciel.

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

1. Mettre le système d'instrument GeneXpert sous tension :

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

- Avec l'instrument GeneXpert Dx, commencer par mettre l'instrument sous tension, 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®.
 - ou
 - Si l'instrument GeneXpert Infinity est utilisé, allumer l'instrument. Le logiciel GeneXpert se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel Xpertise sur le bureau Windows®.
2. Se connecter au logiciel du système d'instrument GeneXpert Instrument 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 **Commandes (Orders)** et **Commander un test (Order Test)** (Infinity). 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 il 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 est indiqué dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results).
6. Lire le code-barres sur la cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI. 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 d'expiration (Expiration Date).

Remarque

S'il n'est pas possible de lire le code-barres sur la cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI, refaire le test avec une nouvelle cartouche.

7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. (GeneXpert Dx) ou **Soumettre (Submit)** (Infinity). Dans la boîte de dialogue qui s'affiche, saisir le mot de passe.
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 et de retirer la cartouche.
- d. Éliminer les cartouches usagées dans des conteneurs à.

14 Affichage et 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 **Afficher les résultats (View Results)**. l'icône 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.

15 Contrôle qualité

15.1 Contrôles qualité intégrés

Chaque test comprend un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE ou BG3 sur l'écran d'affichage des résultats pour les opérateurs de niveau administrateur) et un contrôle de vérification des sondes (CVS).

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)** — S'assure que l'échantillon a été traité correctement. Le CTE comprend des spores *Bacillus globigii* sous la forme d'un granulé sec de spores qui est placé dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat de l'échantillon du test Xpert MRSA/SA SSTI. Le CTE vérifie que la lyse de *Staphylococcus aureus* s'est produite, que les microorganismes sont présents et que le traitement de l'échantillon est adéquat. En outre, ce contrôle détecte l'inhibition du test de PCR en temps réel associée à l'échantillon, assure que les conditions de PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et vérifie que les réactifs PCR sont fonctionnels. Le CTE doit être positif dans un échantillon négatif et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le CTE est réussi s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- **Contrôle de vérification des sondes (CVS)** – Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. La vérification des sondes réussit si elle répond aux critères d'acceptation attribués.

15.2 Contrôles externes

Des écouvillons KWIK-STIK (Microbiologics, n° de réf. 0158MRSA [SCC*mec* type II] et n° de réf. 0360SA comme contrôles positifs, et n° de réf. 0371MSSE comme contrôle négatif) peuvent être utilisés avec le système GeneXpert pour la formation des opérateurs, les épreuves de compétence et le CQ externe. Les souches de SARM représentant d'autres types SCC*mec*, si disponibles, peuvent être utilisées comme contrôles positifs externes supplémentaires pour surveiller les amorces et les sondes du test qui ne sont pas contrôlées directement par le test. Les contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux organismes d'accréditation et à la réglementation gouvernementale applicables. 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 pincer doucement la chambre inférieure.
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. L'écouvillon KWIK-STIK est désormais prêt pour réaliser le test Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Si le CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

Des exemples des résultats obtenus avec le test Xpert MRSA/SA SSTI sont illustrés de la Figure 2 à la Figure 5.

16 Interprétation des résultats

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

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

Résultat	Interprétation
<p>MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE)</p> <p>Figure 2</p>	<p>Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir de microorganismes non viables.</p> <p>Les séquences d'ADN de la cible SARM sont détectées ; la séquence d'ADN de la cible SA est détectée.</p> <ul style="list-style-type: none"> • MRSA POSITIF (MRSA POSITIVE) — Toutes les cibles de SARM (<i>SpA</i>, <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>) ont une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. • CTE – SO (NA) (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de SARM risque de faire concurrence à ce contrôle. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
<p>MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE)</p> <p>Figure 3</p>	<p>Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir de microorganismes non viables.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Les séquences d'ADN de la cible SARM ne sont pas détectées ; la séquence d'ADN de la cible SA est détectée. • SA POSITIF (SA POSITIVE) — La cible SA (<i>SpA</i>) a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. L'ADN de la cible <i>SCCmec</i> n'est pas détecté, l'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté, ou l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté et l'ADN de la cible <i>mecA</i> n'est pas détecté (« cassette excisée »). • CTE – SO (NA) (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de SA risque de faire concurrence à ce contrôle. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi. <p>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.</p>
<p>MRSA NÉGATIF/SA NÉGATIF (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE)</p> <p>Figure 4</p>	<p>La séquence d'ADN de la cible <i>Staphylococcus aureus</i> n'est pas détectée. Le CTE répond aux critères d'acceptation.</p> <ul style="list-style-type: none"> • NÉGATIF (NEGATIVE) — L'ADN de la cible <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>SpA</i>) n'est pas détecté. L'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté, ou l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté ou n'est pas détecté. • CTE – RÉUSSITE (PASS) ; le CTE a une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi. <p>Un résultat faussement négatif à SARM (résultat « MRSA NÉGATIF ; SA POSITIF (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE) » au lieu de « MRSA POSITIF ; SA POSITIF (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE) ») peut être obtenu si un SARM et un SA sont tous deux présents dans l'échantillon selon un rapport SARM/SA de 1/1x10⁶ ou supérieur.</p> <p>Lors des études cliniques, 5 parmi les 246 cultures positives à SARM présentait une infection mixte à SARM et à SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 3 des 5 infections mixtes comme étant positives à SARM, et 2 des 5 comme étant positives à SA/négatives à SARM.</p>

Résultat	Interprétation
NON VALIDE (INVALID) Figure 5	<p>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. Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été correctement traité, ou la PCR a été inhibée.</p> <ul style="list-style-type: none"> • 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 (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
ERREUR (ERROR)	<p>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. Le contrôle de vérification des sondes a échoué, probablement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, d'un problème d'intégrité de la sonde, ou d'un dépassement des limites de pression maximale.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARM – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • SA – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification des sondes – ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de plusieurs résultats de vérification des sondes. <p>* Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due à une défaillance d'un composant du système.</p>
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<p>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.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SARM – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • SA – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification des sondes – SO (NA) (sans objet)

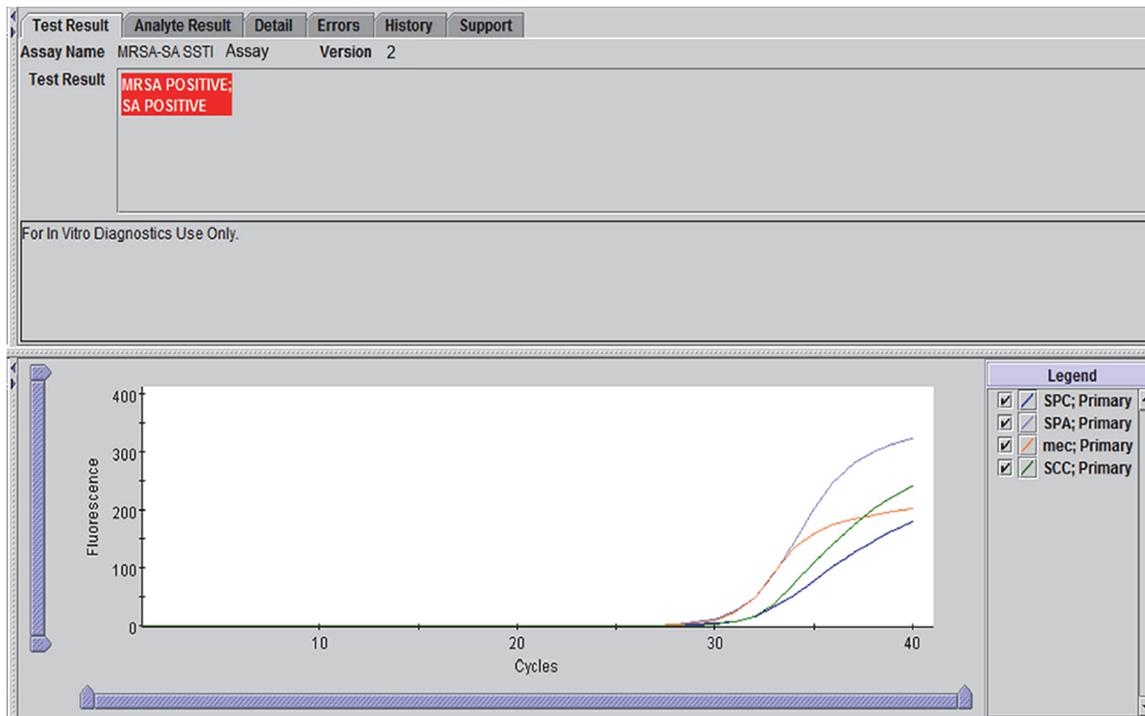


Figure 2. Exemple d'un résultat positif à SARM et positif à SA

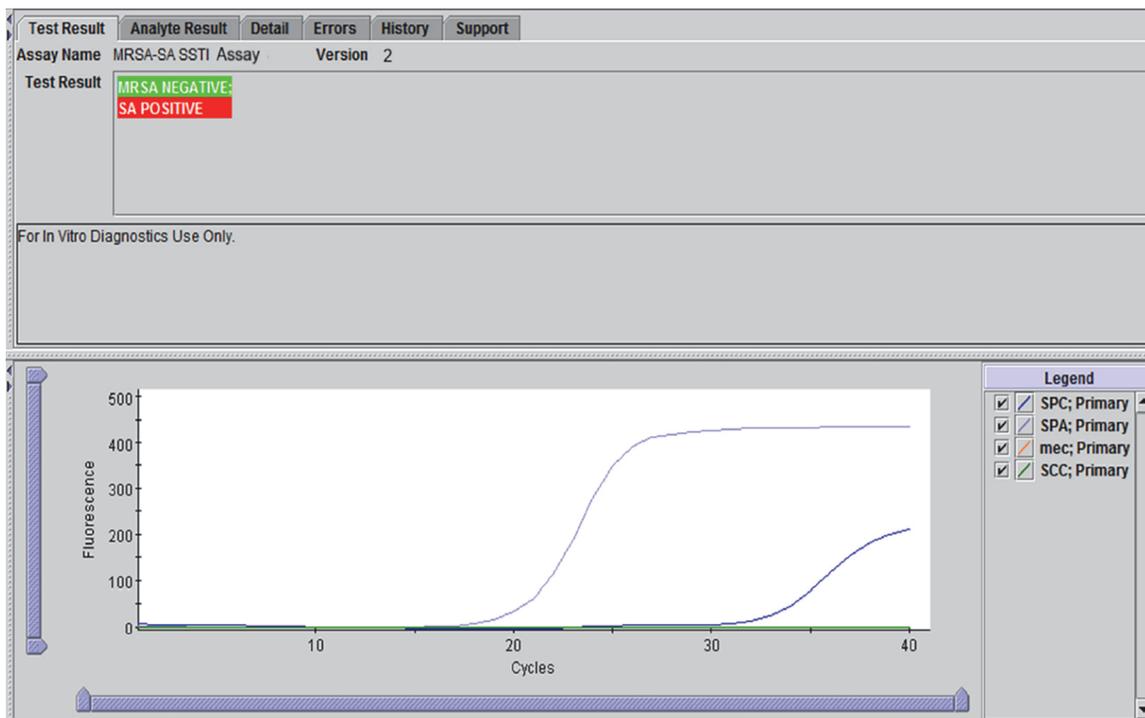


Figure 3. Exemple d'un résultat négatif à SARM et positif à SA

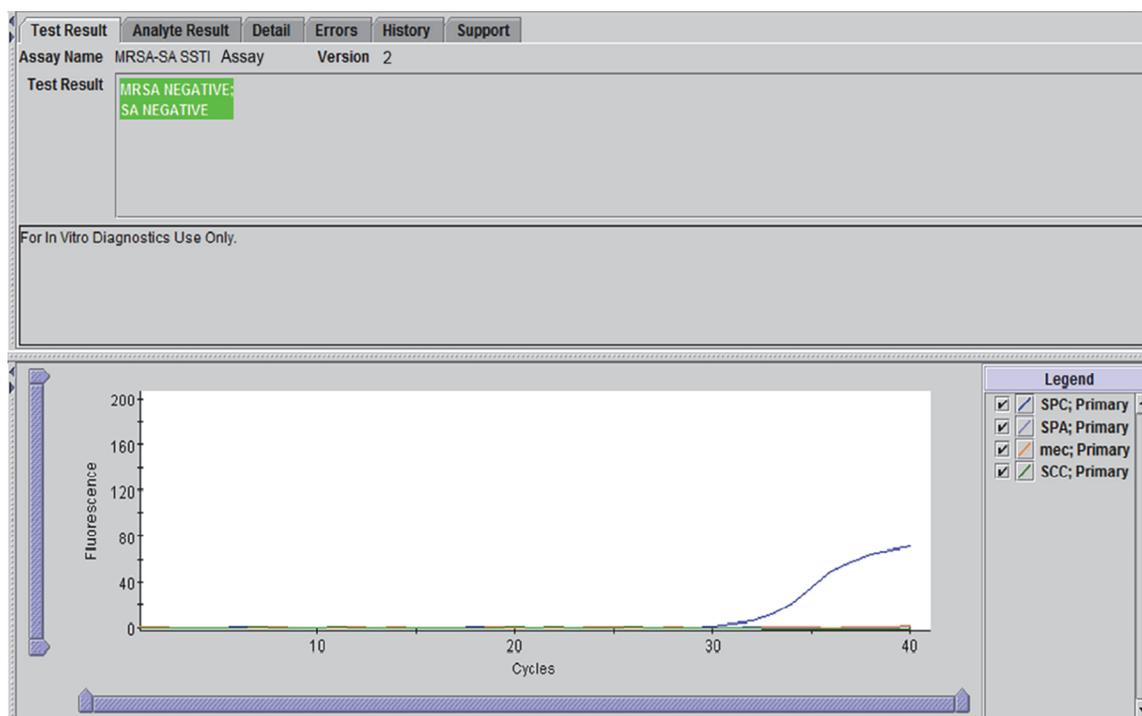


Figure 4. Exemple d'un résultat négatif à SARM et négatif à SA

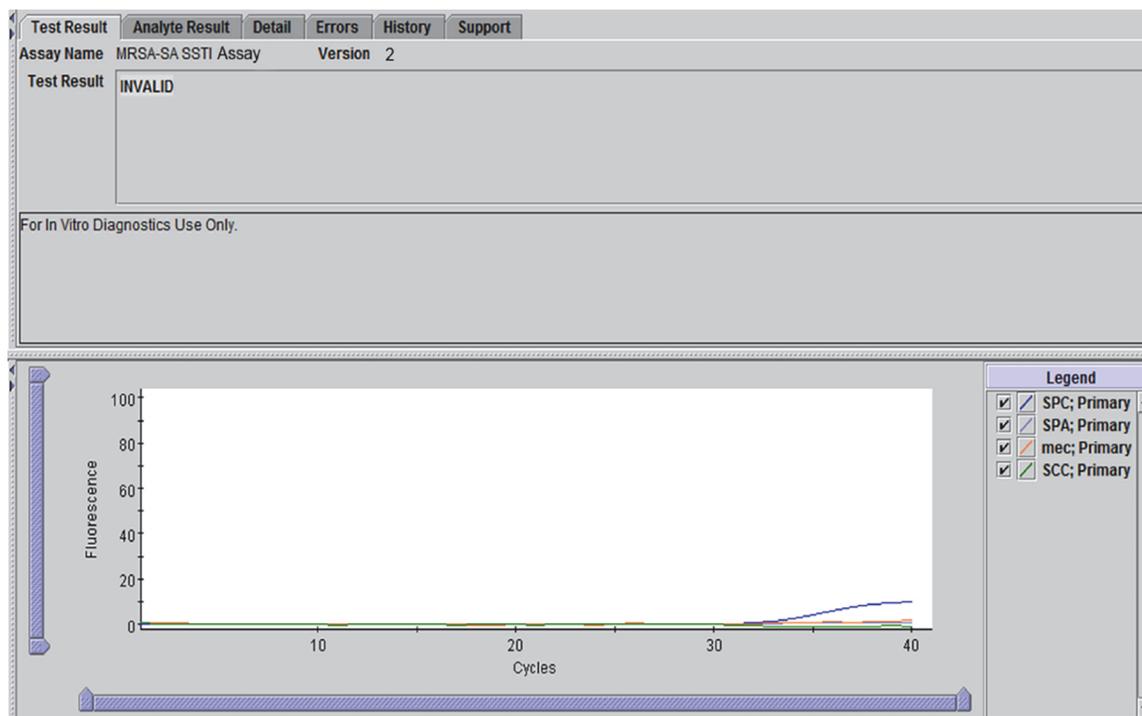


Figure 5. Exemple d'un résultat non valide

17 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

17.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Répéter le test en utilisant une nouvelle cartouche (ne pas réutiliser la cartouche) et de nouveaux réactifs. Retester dans les 3 heures suivant un résultat indéterminé.

- **NON VALIDE (INVALID)** Un résultat NON VALIDE (INVALID) indique que le contrôle CTE a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- **ERREUR (ERROR)** 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 de réactif ou d'un dépassement des limites de pression maximale.
- **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** 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.

17.2 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.

Pour répéter le test, si le nouveau test est accompli dans les 3 heures suivant un résultat indéterminé* :

1. Transférer le contenu restant de la chambre à échantillon vers un nouveau réactif d'éluion en utilisant une pipette de transfert jetable.
2. Mélanger au vortex et ajouter tout le contenu du réactif d'éluion à la chambre à échantillon de la nouvelle cartouche du test MRSA/SA SSTI.
3. Fermer le couvercle et démarrer le nouveau test.

* Si le nouveau test ne peut pas être accompli sous 3 heures, utiliser un nouvel échantillon.

18 Limites

- Les performances du test Xpert MRSA/SA SSTI ont été validées en utilisant uniquement les procédures fournies dans cette notice. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test. Les résultats du test Xpert MRSA/SA SSTI doivent être interprétés en conjonction avec d'autres données biologiques et cliniques à la disposition du clinicien.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir de microorganismes non viables. Cette probabilité de détection augmente chez les patients sous antibiotiques. Dans l'étude clinique pivot, le taux de résultats faussement positifs (par rapport à la culture) dans la détection de SA chez les patients sous antibiotiques, dans les 3 semaines avant la réalisation des tests avec Xpert MRSA/SA, était de 13,8 %. Le taux de résultats faussement positifs (par rapport à la culture) dans la détection de SARM chez les patients sous antibiotiques, dans les 3 semaines avant la réalisation des tests avec Xpert MRSA/SA, était de 9,5 %.
- 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.
- Les analyses avec le test Xpert MRSA/SA SSTI doivent être utilisées conjointement aux autres méthodes disponibles.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement incorrect de l'échantillon, du non-respect des procédures recommandées pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration de micro-organismes dans l'échantillon trop basse pour être détectée par le test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- La détection de SARM et de SA étant dépendante du nombre de microorganismes présents dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables dépend d'un prélèvement, d'une manipulation et d'un stockage corrects des échantillons.
- 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 faussement négatif.
- Dans les échantillons contenant le SARM et le SA, le test Xpert MRSA/SA SSTI peut ne pas détecter les microorganismes SA résistants à la méticilline. (Dans l'étude clinique pivot, le test Xpert MRSA/SA SSTI n'a pas détecté 2 des 5 échantillons positifs à SARM dans des cas d'infection mixte à SARM/SA documentée.)

- Dans une culture mixte, la LDD analytique de SARM est variable en présence de concentrations de SA extrêmement élevées. Une concurrence de SA a été observée à un rapport SARM/SA de 1/1x10⁶. Lors des études cliniques, 5 parmi les 246 cultures positives à SARM présentait une infection mixte à SARM et à SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 3 des 5 infections mixtes comme étant positives à SARM, et 2 des 5 comme étant positives à SA/négatives à SARM.
- Une inhibition du test Xpert MRSA/SA SSTI a été observée en présence des substances suivantes : StaphA +Septic (5 % m/v), hydrocortisone (5 % m/v) et antibactérien pour les mains (5 % m/v).
- Les échantillons contenant du Mercurochrome ne peuvent pas être utilisés en raison de sa fluorescence.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI produit un résultat faussement positif à SARM en présence d'un échantillon d'infection de la peau et des tissus mous mixte contenant le *staphylocoque* coagulase négatif résistant à la méticilline (SCNRM) et le *Staphylococcus aureus* (SA) sensible à la méticilline à cassette excisée.
- En raison du facteur de dilution associé à la procédure de répétition du test, il est possible que des échantillons positifs à SARM ou SA, très proches ou à la limite de détection (LDD) du test Xpert MRSA/SA SSTI, produisent un résultat faussement négatif lorsqu'ils sont retestés.

19 Substances interférentes

Dans l'étude expérimentale portant sur le test Xpert MRSA/SA SSTI, 428 des 848 échantillons observés contenaient du sang et 404 contenaient d'autres substances non spécifiques, pouvant potentiellement interférer avec le test (noter que certains échantillons contenaient plus d'un type de contaminant potentiel). Des tests exacts de Fisher effectués sur les données produites à partir d'écouvillons contenant ou pas ces substances potentiellement interférentes ont montré que leur présence n'affectait pas les performances du test.

Dans une étude clinique, des substances potentiellement interférentes susceptibles d'être présentes dans les échantillons cliniques d'infections de la peau et des tissus mous ont été évaluées en relation directe avec les performances du test Xpert MRSA/SA SSTI. Les substances potentiellement interférentes dans les infections de la peau et des tissus mous peuvent inclure, entre autres : sang, pus, plasma, pommades topiques (antibiotiques/antiseptiques/analgésiques), agents de débridement et teintures. Les substances testées figurent dans le Tableau 2 et le Tableau 3 avec les principes actifs et les concentrations testées. Une inhibition du test Xpert MRSA/SA SSTI a été observée en présence des substances suivantes : StaphA +Antiseptic (5 % m/v), hydrocortisone (5 % m/v) et antibactérien pour les mains (5 % m/v).

Les échantillons contenant du Mercurochrome ne peuvent pas être utilisés en raison de sa fluorescence.

Tableau 2. Substances testées potentiellement interférentes dans les infections de la peau et des tissus mous

Substance	Principe actif	% testé
Tampon TET	Contrôle	Contrôle
Couche leuco-plaquettaire (substitut de plaie)	Leucocytes (1,5 e9/ml)	50 % (v/v)
Sang total (exempt de SARM/SA)	Sans objet	50 % (v/v)
Plasma	Sans objet	50 % (v/v)
Néosporine	400 unités de bacitracine 5 000 unités de polymyxine B 3,5 mg néomycine	1 % et 5 % (m/v)
StaphA+Septic	Chlorure de benzéthonium à 0,2 %, lidocaïne HCl à 2,5 %	1 % et 5 % (m/v)
Hydrocortisone	Hydrocortisone à 1 %	1 % et 5 % (m/v)
Boil-Ease	Benzocaïne à 20 %	1 % et 5 % (m/v)
Teinture d'iode	Iode à 2 %	50 % (v/v)

Tableau 3. Substances testées potentiellement interférentes dans les infections de la peau et des tissus mous

Substance	Principe actif	% testé
Tampon TET (contrôle)	Contrôle	Contrôle
Mupirocine	Chlorure de benzéthonium à 0,2 %, lidocaïne HCl à 2,5 %	5 % (m/v)
Sang total (exempt de SARM/SA)	Sans objet	50 % (v/v)
Sérum physiologique	Chlorure de sodium à 0,65 %	50 % (v/v)
Antibactérien pour les mains	Alcool éthylique à 62 %	1 % et 5 % (m/v)
Alcool isopropylique à 70%	Alcool isopropylique à 70%	50 % (v/v)

20 Valeurs attendues

L'étude clinique portant sur le test Xpert MRSA/SA SSTI comprenait au total 848 échantillons d'infections de la peau et des tissus mous, provenant de quatre grands hôpitaux aux États-Unis. Le nombre et le pourcentage de cas positifs selon la méthode de culture de référence, calculés par tranche d'âge, sont présentés au Tableau 4.

Tableau 4. 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
Moins de 3 ans	34	11	32,4 %	21	61,8 %
3 à 18 ans	100	25	25,0 %	55	55,0 %
19 à 65 ans	614	188	30,6%	300	48,9%
66 ans et plus	100	22	22,0 %	35	35,0 %

21 Caractéristiques des performances

21.1 Performances cliniques

Les caractéristiques des performances du test Xpert MRSA/SA SSTI ont été déterminées lors d'une étude expérimentale prospective multicentrique réalisée dans quatre centres aux États-Unis, en comparant le test Xpert MRSA/SA SSTI aux cultures de référence. Les sujets comprenaient des patients dont les soins de routine exigeaient un prélèvement par écouvillon de l'infection de la peau et des tissus mous du patient, aux fins de culture.

Deux prélèvements par écouvillon ont été collectés chez chacun des sujets. Un écouvillon était testé avec le test Xpert MRSA/SA SSTI au centre d'inscription, et l'autre écouvillon était testé selon la méthode standard du site. Le reste d'échantillon était envoyé au laboratoire centralisé pour mise en culture de référence.

Au laboratoire centralisé, l'échantillon a été enrichi pendant une nuit dans un bouillon trypticase soja avec 6,5 % de NaCl. Le bouillon trypticase soja a ensuite été étalé sur des géloses à la céfoxitine (pour le SARM) et sans céfoxitine (pour le SA). Si l'une ou les deux géloses SA ou SARM montraient des colonies présomptives de *S. aureus*, les colonies étaient remises en culture sur une gélose au sang. La confirmation des colonies positives présomptives a été effectuée en testant la catalase, la coagulase en tube et la coloration de Gram. La résistance à l'oxacilline médiée par *mecA* a été testée par diffusion en gélose en utilisant un disque de céfoxitine à 30 µg et un seuil de 21/22 mm. Si les cultures des deux géloses SA et SARM se révélaient négatives, le bouillon trypticase soja avec 6,5 % de NaCl archivé était remis en culture sur une gélose au sang, suivi d'un bilan SA/SARM réalisé de la manière précédemment décrite.

Les performances du test Xpert MRSA/SA SSTI ont été calculées par rapport aux résultats obtenus avec la culture de référence.

21.2 Résultats généraux

Un total de 848 échantillons ont été testés pour SARM et SA par le test Xpert MRSA/SA SSTI et par culture.

Parmi les 848 cas dans le groupe éligible, 207 sujets ont rapporté une prise d'antibiotiques dans les 3 semaines précédant le prélèvement, et 441 sujets ont confirmé n'avoir pris aucun antibiotique ; la présence d'une antibiothérapie était inconnue dans 200 cas. Une réduction statistiquement significative du taux de positivité à SA des résultats de culture a été observée avec la prise d'antibiotiques ($p=0,007$) ; ce phénomène a aussi été signalé dans la littérature.^{10, 11, 12, 13, 14} Le taux de positivité à SARM des cultures était aussi réduit, bien que moins significativement ($p=0,022$). Aucune réduction de la positivité n'a été observée avec le test Xpert MRSA/SA SSTI lors de la prise d'antibiotiques, et aucune inhibition du test n'a été observée en présence d'antibiotiques topiques (voir la section 20 Substances interférentes). La réduction des taux de positivité à SARM et à SA en présence d'antibiotiques a produit des taux de résultats faussement positifs plus élevés qu'attendus avec le test Xpert MRSA/SA SSTI.

Cinq parmi les 246 cultures positives à SARM présentaient des infections mixtes à SARM/SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 3 des 5 infections mixtes comme étant positives à SARM, et 2 des 5 comme étant positives à SA/négatives à SARM.

Les performances du test Xpert MRSA/SA SSTI sont résumées du Tableau 5 au Tableau 7.

Tableau 5. Performance pour le SARM/SA chez les sujets sans antibiothérapie (dans les 3 semaines précédant le prélèvement) versus la culture de référence

	Culture			Total
	SARM+	SA+/SARM-	Nég/Pas de croissance	
SARM+	137 ^a	2	6	145
SA+/SARM-	3 ^b	79	16	98
SA-	6	4	188	198
Total	146	85	210	441

^a 1 des 137 était une infection mixte à SARM et SA.

^b 2 des 3 étaient des infections mixtes à SARM et SA.

Pourcentage de concordance positive (SARM+) = 93,8 ; intervalle de confiance à 95 % = 88,6–97,1

Pourcentage de concordance négative (SARM+) = 97,3 ; intervalle de confiance à 95 % = 94,7–98,8

Pourcentage de concordance positive (SA+/SARM+) = 95,7 ; intervalle de confiance à 95 % = 92,2–97,9

Pourcentage de concordance négative (SA+/SARM+) = 89,5 ; intervalle de confiance à 95 % = 84,6–93,3

Chez les sujets sans antibiothérapie dans les 3 semaines précédant le prélèvement de l'échantillon, le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 93,8 % des échantillons positifs à SARM et 97,3 % des échantillons négatifs à SARM par rapport à la méthode de culture de référence, et 95,7 % des échantillons positifs à SA et 89,5 % des échantillons négatifs à SA par rapport à la méthode de culture de référence.

Parmi ces sujets sans antibiothérapie, 96,8 % (427/441) des tests ont réussi à la première tentative avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Les 14 séries restantes ont donné des résultats indéterminés lors de la première tentative (6 **NON VALIDE (INVALID)**, 7 **ERREUR (ERROR)** et 1 **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)**) Parmi les 14 résultats indéterminés à la première tentative, les tous ont produit un résultat à la deuxième tentative.

Tableau 6. Performance pour le SARM/SA chez les sujets dont la présence d'une antibiothérapie était inconnue (dans les 3 semaines précédant le prélèvement) versus la culture de référence

		Culture			
		SARM+	SA+/SARM-	Nég/Pas de croissance	Total
Xpert	SARM+	47 ^a	0	4	51
	SA+/SARM-	2	45	8	55
	SA-	1	2	91	94
	Total	50	47	103	200

^a 2 sur les 47 étaient des infections mixtes à SARM et SA

Pourcentage de concordance positive (SARM+) = 94,0 ; intervalle de confiance à 95 % = 83,5–98,7

Pourcentage de concordance négative (SARM+) = 97,3 ; intervalle de confiance à 95 % = 93,3–99,3

Pourcentage de concordance positive (SA+/SARM+) = 96,9 ; intervalle de confiance à 95 % = 91,2–99,4

Pourcentage de concordance négative (SA+/SARM+) = 88,3 ; intervalle de confiance à 95 % = 80,5–93,8

Lorsque la présence d'une antibiothérapie dans les 3 semaines précédant le prélèvement de l'échantillon était inconnue, le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 94,0 % des échantillons positifs à SARM et 97,3 % des échantillons négatifs à SARM par rapport à la méthode de culture de référence, et 96,9 % des échantillons positifs à SA et 88,3 % des échantillons négatifs à SA par rapport à la méthode de culture de référence.

Parmi ces sujets dont la présence d'une antibiothérapie était inconnue, 97,0 % (194/200) des tests ont réussi à la première tentative avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Les 6 séries restantes ont donné des résultats indéterminés lors de la première tentative (2 **NON VALIDE (INVALID)**, 3 **ERREUR (ERROR)** et 1 **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)**). Parmi les 6 résultats indéterminés à la première tentative, tous ont produit un résultat à la deuxième tentative.

Tableau 7. Performance pour le SARM/SA chez les sujets sous antibiothérapie confirmée (dans les 3 semaines précédant le prélèvement) versus la culture de référence

		Culture			
		SARM+	SA+/SARM-	Nég/Pas de croissance	Total
Xpert	SARM+	44	2	10	56
	SA+/SARM-	3	31	19	53
	SA-	3	1	94	98
	Total	50	34	123	207

Pourcentage de concordance positive (SARM+) = 88,0 ; intervalle de confiance à 95 % = 75,7–95,5

Pourcentage de concordance négative (SARM+) = 92,4 ; intervalle de confiance à 95 % = 87,0–96,0

Pourcentage de concordance positive (SA+/SARM+) = 95,2 ; intervalle de confiance à 95 % = 88,3–98,7

Pourcentage de concordance négative (SA+/SARM+) = 76,4 ; intervalle de confiance à 95 % = 67,9–83,6

Parmi les sujets sous antibiothérapie confirmée dans les 3 semaines précédant le prélèvement de l'échantillon, le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 88,0 % des échantillons positifs à SARM et 92,4 % des échantillons négatifs à SARM par rapport à la méthode de culture de référence, et 95,2 % des échantillons positifs à SA et 76,4 % des échantillons négatifs à SA par rapport à la méthode de culture de référence.

Parmi ces sujets sous antibiothérapie, 96,1 % (199/207) de ces échantillons éligibles ont réussi à la première tentative avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Les 8 séries restantes ont donné des résultats indéterminés lors de la première tentative (5 **NON VALIDE (INVALID)** et 3 **ERREUR (ERROR)**). Parmi les 8 résultats indéterminés à la première tentative, tous ont produit un résultat à la deuxième tentative.

21.3 Variantes à cassette excisée

Pour qu'un isolat soit identifié comme positif à SARM avec le test Xpert MRSA/SA SSTI, le test du gène *SpA* doit être positif ainsi que doivent l'être les tests du gène *mecA* et de la cassette *SCCmec*. Un isolat positif pour *SpA* et *SCCmec*, mais non pour *mecA*, est rapporté comme SA car il est sensible à la méticilline. Cette situation peut se produire lorsqu'une partie de l'élément *SCCmec* porteur du gène *mecA* est excisée, mais que les extrémités de cet élément mobile restent en place, produisant un signal *SCCmec* positif. Ces isolats sont parfois appelés « variantes à cassette excisée » et sont relativement courants en milieu clinique. L'importance de ces isolats est leur potentiel à dérouter un test de SARM qui ne détecte pas directement le gène *mecA*. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a été conçu pour identifier correctement ces variantes en tant que SA.

Parmi les échantillons éligibles inclus dans les analyses de données présentées dans ce rapport, 16 isolats au total répondent au profil de la cassette excisée, produisant des résultats de test positifs pour *SpA* et *SCCmec*, mais aucune détection de *mecA* (Ct = 0), tel qu'il est montré au Tableau 8. Quinze (15) sur les 16 étaient des isolats vrais négatifs à SARM confirmés par rapport à la culture, et 14 sur les 16 étaient des isolats vrais positifs à SA confirmés par rapport à la culture. Un isolat a été identifié comme SARM par culture et 2 isolats étaient négatifs à SARM et à SA par culture.

Tableau 8. Performance pour les infections à SARM/SA de la peau et des tissus mous versus la culture de référence — Variantes à cassette excisée

Objet #	Résultat avec Xpert	<i>SpA</i> (Ct)	<i>mecA</i> (Ct)	<i>SCCmec</i> (Ct)	Culture	Xpert vs culture	
						SARM	SA
1	SA	23,6	0	26,0	SA	VN	VP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	VN	VP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	VN	VP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	VN	VP
5	SA	15,6	0	28,4	SARM	FN	VP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	VN	VP
7	SA	34,1	0	35,6	Nég.	VN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	VN	VP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	VN	VP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	VN	VP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	VN	VP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	VN	VP
13	SA	20,0	0	22,1	Nég.	VN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	VN	VP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	VN	VP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	VN	VP

22 Performances analytiques

22.1 Étude de spécificité analytique (réactivité croisée)

Cent cinq (105) souches ont été recueillies, quantifiées et testées avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Les 98 cultures de l'American Type Culture Collection (ATCC) et les 7 souches du Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA) représentent des espèces phylogénétiquement proches de *Staphylococcus aureus* ou des espèces potentiellement présentes en milieu hospitalier.

Parmi ceux-ci, des staphylocoques coagulase négatifs sensibles à la méticilline (29) et des staphylocoques coagulase négatifs résistants à la méticilline (9) étaient inclus. Les microorganismes testés ont été identifiés comme étant soit Gram positifs (74), soit Gram négatifs (28), soit une levure (3). Les microorganismes ont aussi été classés comme aérobies (95) ou anaérobies (10).

Deux (2) répliquats ou plus 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 et négatifs à SA ; aucun des isolats n'a été détecté par le test Xpert MRSA/SA SSTI. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. La spécificité analytique était de 100 %.

22.2 Évaluation des souches BORSA

Sept (7) souches bien typées de *Staphylococcus aureus* avec une résistance de bas niveau à l'oxacilline (BORSA) ont été testées, dont une « cassette excisée » évidente (voir ci-dessus). Le *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline est résistant à toutes les β -lactamines par le biais de l'autre protéine de liaison à la pénicilline, PBP2a, codée par *mecA*¹⁵. Les souches BORSA sont *mecA* négatives, mais démontrent une concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'oxacilline ≥ 2 et ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. Il est particulièrement utile de distinguer le SARM du BORSA pour éviter l'utilisation inutile et inappropriée de la vancomycine et des précautions d'isolement non justifiées pour les patients infectés par une souche sensible aux β -lactamines¹⁶.

Dans les conditions de cette étude, les 7 isolats de BORSA (y compris l'isolat à « cassette excisée » évidente) ont été rapportés comme négatifs à SARM/positifs à SA aux concentrations cellulaires tant élevées que basses en utilisant Xpert MRSA/SA SSTI Assay. Aucun signal *mecA* n'a été rapporté. Ces résultats démontrent qu'une souche BORSA sera correctement identifiée comme négative à SARM/positive à SA et ne produira pas un résultat de test SARM faussement positif avec le test Xpert MRSA/SA SSTI.

22.3 Sensibilité analytique

Études de la limite de détection

Des études ont été réalisées pour déterminer les intervalles de confiance à 95 % pour la limite de détection (LDD) analytique des cellules de *Staphylococcus aureus* (SA) et des cellules de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) diluées dans une matrice de substitut de plaie d'origine humaine. La matrice de substitut de plaie se composait d'un concentré de leucocytes préparé à partir de sang total centrifugé. La matrice contenait également des érythrocytes et du plasma, et une quantité négligeable d'anticoagulant (CPD ou CPDA-1). 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 répliquats se sont montrés positifs.

Pour le SARM, 20 répliquats ont été testés à chaque concentration de SARM testée (UFC/écouvillon) pour 6 isolats individuels représentant les types SCC*mec* I, II, III, IVa, V et VI. 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 répliquats ont été testés à chaque concentration de SA (UFC/écouvillon) pour 3 isolats de SA individuels. Les types USA USA900 et USA1200 étaient inclus.

L'estimation et les intervalles de confiance ont été déterminés par régression logistique avec des données (nombre de résultats positifs par nombre de répliquats à chaque niveau) couvrant toute la gamme des UFC/écouvillon testée. 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 SCC*mec* de SARM testés sont résumés au Tableau 9 et au Tableau 10.

Tableau 9. Intervalles de confiance à 95 % pour la LDD analytique – SA

ID de souche SA	PFGE	LDD (UFC/écouvillon)	IC inférieur à 95 %	IC supérieur à 95 %
N7129	USA900	51	42	69
102-04	USA1200	87	76	109
29213	inconnu	123	97	188

Tableau 10. Intervalles de confiance à 95 % pour la LDD analytique – SARM

ID de souche SARM	Type SCC mec	PFGE	LDD (UFC/écouvillon)	IC inférieur à 95 %	IC supérieur à 95 %
64/4176	I	USA500	221	195	271
N315	II	USA100	122	106	152
11373	III	inconnu	124	115	155
MW2	IVa	USA400	82	68	113
ST59-MRSA-V	V	USA1000	242	208	305
HDE288	VI	USA800	183	161	223

Les résultats de cette étude indiquent que le test Xpert MRSA/SA SSTI produira un résultat positif à SA 95 % du temps avec une confiance à 95 % pour un écouvillon de plaie contenant 150 UFC, et un résultat positif à SARM 95 % du temps avec une confiance à 95 % pour un écouvillon de plaie contenant 300 UFC.

Cent vingt-et-une (121) souches supplémentaires de *Staphylococcus aureus* ont été testées avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Des cultures d'une nuit ont été réalisées en milieu Brain Heart Infusion (BHI) et ajustées à 0,5 unité McFarland. Toutes les souches ont été testées en triple en utilisant 100 µl de culture diluée entre 1/100 000e et 1/1 000 000e.

Les souches de SARM (78) et de SA (43) ont été sélectionnées pour représenter au mieux la gamme de diversité génétique de l'espèce *Staphylococcus aureus* en fonction de la structure phylogénétique. Les sélections représentent les lignées primaires avec une importance particulière accordée à des complexes clonaux spécifiques, au sein desquels le SARM est principalement observé. Les lignées contenant le SARM et le SA ainsi que celles qui contiennent exclusivement le SA ont été incluses.

Le test Xpert MRSA/SA SSTI a correctement identifié 116 des 121 souches. Les 5 résultats discordants étaient typés en testant la catalase, la coagulase en tube et la coloration de Gram. La résistance à l'oxacilline médiée par *mecA* a été testée par diffusion en gélose en utilisant un disque de céfoxitine à 30 µg et un seuil de diamètre de 21/22 mm.

Trois (3) parmi 78 souches de SARM ont été rapportées comme négatives à SARM/positives à SA avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Un typage plus poussé a révélé que ces souches ne sont pas résistantes et avaient été correctement rapportées comme négatives à SARM/positives à SA.

Deux (2) parmi 43 souches de SA ont été rapportées comme positives à SARM/positives à SA avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Un typage plus poussé a révélé que ces souches sont résistantes et avaient été correctement rapportées comme positives à SARM/positives à SA.

Chacun des 12 isolats USA300 connus ont été correctement rapportés comme positifs à SARM et positifs à SA, tel qu'attendu.

23 Évaluation des variantes à cassette excisée

Vingt-deux (22) isolats de *Staphylococcus aureus* identifiés comme « variants à cassette excisée » ont été testés avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Des cultures d'une nuit ont été ajustées à 0,5 unité McFarland. Toutes les souches ont été testées de cultures diluées 100 fois (élevé) et 100 mille fois (bas).

Le test Xpert MRSA/SA SSTI a correctement identifié les 22 isolats comme négatifs à SARM et positifs à SA. Aux deux concentrations cellulaires testées, seules les valeurs Ct (cycle seuil) pour les cibles *SpA* et *SCCmec* ont été rapportées. Aucune valeur Ct (cycle seuil) *mecA* n'a été rapportée.

24 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. L'étude consistait à tester un échantillon négatif dans le même module GeneXpert immédiatement après un échantillon très fortement positif à SARM (environ 10⁷ UFC/test). Cette opération a été répétée 20 fois entre 2 modules GeneXpert, pour un total de 42 tests. Aucune preuve de contamination par transfert n'a été observée. Les 21 échantillons positifs ont été correctement rapportés comme positifs à SARM/positifs à SA. Les 21 échantillons négatifs ont été correctement rapportés comme négatifs à SARM/négatifs à SA.

25 Reproductibilité

Un panel comprenant 10 échantillons avec diverses concentrations de SA, de SARM et de *Staphylococcus epidermidis* (négatif) a été testé en double pendant 10 jours différents dans chacun des trois sites (10 échantillons x 2 fois/jour x 10 jours x 3 sites). Un lot du kit Xpert MRSA/SA a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert MRSA/SA Assay ont été accomplis conformément à la procédure du test Xpert MRSA/SA SSTI.

Tableau 11. Synthèse des résultats de reproductibilité

N° Id de l'échantillon	Site 1	Site 2	Site 3	de concordance globale
Nég. (MSSE)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA Nég. élevé	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA Pos. bas	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
SARM1 Nég. élevé	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
SARM1 Pos. bas	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
SARM2 Nég. élevé	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 Pos. bas	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% de concordance globale par centre	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

Tableau 12. Synthèse des résultats de valeur Ct par niveau d'échantillon et par sonde

Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
CTE			
SARM1 Nég. élevé	34,52	0,82	2,36
SARM2 Nég. élevé	34,46	0,85	2,46
Nég. (MSSE)	34,44	0,90	2,62
SA Nég. élevé	34,38	0,92	2,66
SpA			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. bas	32,96	0,8	2,44
SARM2 Pos. bas	31,05	0,69	2,21
SA Pos. bas	33,91	0,8	2,35
mecA			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. bas	33,25	0,80	2,40
SARM2 Pos. bas	31,50	0,68	2,16
SCCmec			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. bas	34,19	0,90	2,63
SARM2 Pos. bas	33,13	0,68	2,05

Une seconde étude de reproductibilité a été réalisée avec un panel de 4 prélèvements de (SA : 10x LDD, SARM1 : 10x LDD, SARM2 : 10x LDD, et un contrôle négatif : *Staphylococcus epidermidis*). Les panels ont été testés en double pendant 10 jours différents dans chacun des trois sites (4 échantillons x 2 fois/jour x 10 jours x 3 sites). Un lot de test Xpert MRSA/SA SSTI a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert MRSA/SA SSTI ont été accomplis conformément à la procédure du test Xpert MRSA/SA SSTI. Des résultats corrects ont été obtenus dans 239 des 240 tests.

Tableau 13. Synthèse des résultats de reproductibilité

N° Id de l'échantillon	Site 1	Site 2	Site 3	de concordance globale
Nég. (MSSE)	100 (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SA Pos. moy. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM1 Pos. moy. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 Pos. moy. ^a	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
% de concordance globale par centre	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

^a 10x LDD

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

Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
CTE			
SARM1 Pos. moy.	35,72	1,87	5,24
SARM2 Pos. moy.	36,29	2,66	7,34
SA Pos. moy.	34,55	1,19	3,44
NÉG	34,45	1,06	3,09
SpA			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. moy.	29,52	1,30	4,40
SARM2 Pos. moy.	28,91	1,03	3,57
SA Pos. moy.	30,59	0,91	2,99
mecA			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. moy.	29,78	1,28	4,29
SARM2 Pos. moy.	29,32	1,24	4,22
SCCmec			
Niveau	Moyenne	Écart-type	%CV
SARM1 Pos. moy.	31,49	1,26	3,99
SARM2 Pos. moy.	31,05	1,12	3,59

26 Bibliographie

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S aureus* in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4(2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus*. JAMA 282(19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). N° de document HHS (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (consulter l'édition la plus récente).
10. Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian *Staphylococcus aureus* isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of *Staphylococcus aureus* as Methicillin-Resistant *S. aureus* by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. RÈGLEMENT (CE) n° 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL DU 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. Liste des conseils de prudence, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/CE (modifiant le règlement (CE) n° 1907/2007).
18. 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
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

28 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

29 Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser
	N° de lot

Symbole	Signification
	Consulter la notice d'utilisation
	Mise en garde
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <i>n</i> tests
CONTROL	Contrôle
	Date de péremption
CE	Marquage CE – Conformité européenne
	Limite de température
	Attention
	Risques biologiques
CH REP	Mandataire sis 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



30 Historique des révisions

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