

Xpert® MTB/RIF

REF CGXMTB/RIF-50

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.

© 2012-2023 Cepheid.

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.

© 2012-2023 Cepheid.



Cepheid AB
Röntgenvägen 5
SE-171 54 Solna
Suède

Tél. : +46 8 6843 7000

Fax : +46 8 6843 7010

Assistance technique : TechSupport@cepheid.com

Xpert® MTB/RIF

Dispositif médical de diagnostic *in vitro*

Nom de marque déposée

Test Xpert® MTB/RIF

Nom commun ou usuel

Test Xpert MTB/RIF

A. Utilisation prévue

Le test Xpert MTB/RIF, à utiliser avec les systèmes GeneXpert® de Cepheid, est un test de diagnostic *in vitro* semi-quantitatif par PCR nichée en temps réel pour la détection de :

- l'ADN des Mycobactéries appartenant au complexe *Mycobacterium tuberculosis* dans des échantillons de crachat ou des dépôts concentrés préparés à partir d'expectorations spontanées ou provoquées qui présentent un résultat positif ou négatif à l'examen direct pour la détection des bacilles acido-alcool-résistants
- Mutations associées à la résistance à la rifampicine du gène *rpoB* dans des échantillons de patient présentant un risque de résistance à la rifampicine

Le test Xpert MTB/RIF est conçu pour être utilisé avec des échantillons provenant de patients non traités présentant une suspicion clinique de tuberculose (TB). L'utilisation du test Xpert MTB/RIF pour détecter le *M. tuberculosis* (MTB) ou déterminer la sensibilité à la rifampicine n'a pas été validée pour les patients qui reçoivent un traitement pour la tuberculose.

B. Résumé et description

Dans le monde, près de 2 milliards de personnes sont infectées par le MTB.¹ Chaque année, près de 9 millions de personnes développent la maladie active, et 2 millions meurent de cette maladie. La tuberculose active, qui est surtout pulmonaire par nature, est une maladie aéroportée très infectieuse. Étant donné la nature infectieuse du bacille de Koch (*Mycobacterium tuberculosis* - MTB), le diagnostic rapide et précis est un élément important dans le traitement et le contrôle de la maladie.

Généralement très efficace, le traitement de la maladie consiste à administrer plusieurs médicaments pendant une période prolongée. Cependant, les souches de MTB peuvent devenir résistantes à un ou plusieurs des médicaments, ce qui rend la guérison difficile. Les quatre antituberculeux de première intention utilisés dans le traitement de la tuberculose sont :

- Isoniazide (INH)
- Rifampicine (RIF)
- Éthambutol (EMB)
- Pyrazinamide (PZA)

La résistance à la rifampicine est rarement présente de manière isolée, et elle indique en général une résistance à plusieurs autres antituberculeux.² Elle est plus couramment présente dans les souches multirésistantes (MDR-TB) et elle a une fréquence rapportée supérieure à 95 % dans ces isolats.^{3,4,5} La MDR-TB (TB multirésistante) est définie comme une maladie tuberculeuse causée par une souche bactérienne résistante à l'isoniazide et à la rifampicine, au minimum. La résistance à la rifampicine ou à d'autres antituberculeux de première intention révèle généralement la nécessité d'un test complet de susceptibilité incluant les agents de deuxième intention.

La détection moléculaire des MTB et des mutations du gène *rpoB* associées à la résistance à la RIF accélère le diagnostic de la tuberculose sensible aux antituberculeux- comme de la MDR-TB. Avec le test Xpert MTB/RIF, cela peut être accompli en moins de 2,5 heures avec des échantillons de crachat frais et des dépôts préparés. La détection rapide du bacille de Koch et de la résistance à la rifampicine aide le médecin à prendre les bonnes décisions thérapeutiques au cours d'un seul entretien avec le patient.

C. Principe de la procédure

Les systèmes GeneXpert intègrent et automatisent le traitement des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes, en utilisant la PCR en temps réel et la PCR par transcriptase inverse. Le système est composé d'un instrument, d'un ordinateur personnel, d'un lecteur de code-barres et d'un logiciel préchargé pour effectuer des tests sur des échantillons prélevés et afficher les résultats. Le système requiert l'utilisation de cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs PCR et hébergent la procédure PCR. La contamination croisée entre les échantillons est éliminée, car les cartouches sont indépendantes. Pour 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 MTB/RIF comprend des réactifs pour la détection du bacille de Koch et de la résistance à la RIF 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 contrôle de vérification de la sonde (CVS) consiste à vérifier la réhydratation du réactif, le remplissage du tube de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome.

Les amorces du test Xpert MTB/RIF amplifient un fragment du gène *rpoB* contenant la région centrale de 81 paires de base. Les sondes identifient les mutations de la région centrale associées à la résistance à la rifampicine par comparaison avec la séquence sauvage de référence.

D. Réactifs et instruments

D.1 Matériel fourni



Le kit Xpert MTB/RIF (CGXMTB/RIF-50) contient suffisamment de réactifs pour traiter les échantillons de 50 patients ou contrôles qualité. Le kit Xpert MTB/RIF contient les éléments suivants :

Cartouches Xpert MTB/RIF avec tubes réactionnels intégrés	50 par kit
• Bille 1 et Bille 2 (lyophilisées)	2 de chaque par cartouche
• Bille 3 (lyophilisée)	1 par cartouche
• Réactif 1	4,0 ml par cartouche
• Réactif 2	4,0 ml par cartouche
Flacons de réactif échantillon	50 par kit
• Réactif échantillon (SR)	8 ml par flacon
• Hydroxyde de sodium	
• Isopropanol	
Pipettes de transfert jetables	60 par kit
CD	1 par kit
• Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)	
• Instructions pour importer l'ADF dans le logiciel	
• Mode d'emploi (notice d'utilisation)	

Remarque Le réactif échantillon (Sample Reagent, SR) peut être incolore ou jaune à ambré. La couleur peut s'intensifier avec le temps, mais n'a aucun effet sur les performances.

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 Le sérum-albumine bovine (bovine serum albumin, BSA) des billes de ce produit a été produite et fabriquée à partir de plasma bovin provenant exclusivement des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

Remarque Les pipettes de transfert disposent d'un repère unique représentant le volume minimal d'échantillon traité à transférer dans la cartouche. Elles sont exclusivement réservées à cet usage. Toutes les autres pipettes doivent être fournies par le laboratoire.

D.2 Conservation et manipulation



- Conserver le contenu du kit Xpert MTB/RIF entre 2 et 28 °C.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches après leur date d'expiration.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Les cartouches sont stables pendant 6 semaines maximum après l'ouverture du sachet, à une température comprise entre 2 °C et 45 °C.

E. 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 et manuel d'utilisation
 - Pour le système GeneXpert Dx : logiciel version 4.0 ou ultérieure
 - Système GeneXpert Infinity-48 : logiciel Xpertise version 4.3 ou ultérieure
 - Pour les systèmes GeneXpert Infinity-80 et Infinity-48s : logiciel Xpertise version 6.0 ou ultérieure
- Imprimante : si une imprimante est nécessaire, contacter le représentant commercial de Cepheid pour convenir de l'achat d'une imprimante recommandée.
- Récipients de collecte d'échantillon étanches, stériles avec couvercle à visser
- Gants jetables et protection oculaire
- Étiquettes et/ou marqueur d'étiquetage indélébile
- Pipettes stériles pour le traitement des échantillons

F. Avertissements, mises en garde et dangers chimiques

F.1 Avertissements et mises en garde






- 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)⁶ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire)⁷ tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.
- Porter des gants de protection jetables, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection pour manipuler les échantillons et les réactifs. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Les performances du test Xpert MTB/RIF pour la détection du complexe MTB n'ont pas été démontrées pour des échantillons non respiratoires, comme le sang, le LCR, les selles ou l'urine. Les performances du test Xpert MTB/RIF n'ont pas été évaluées avec des échantillons traités par des méthodes autres que celles décrites dans la notice.
- Lors du traitement de plusieurs échantillons en même temps, ouvrir une seule cartouche ; ajouter l'échantillon traité avec le réactif échantillon et fermer le couvercle de la cartouche avant de traiter l'échantillon suivant. Changer de gants entre chaque échantillon.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche de test Xpert MTB/RIF, sauf pour ajouter l'échantillon traité.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée après l'avoir sortie du kit.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée, qui a été agitée ou dont le contenu a été renversé après avoir ajouté l'échantillon traité. L'utilisation d'une cartouche agitée ou d'une cartouche qui est tombée après ouverture de son couvercle peut entraîner des résultats faux ou indéterminés.
- Ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- Chaque cartouche de test Xpert MTB/RIF est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Vérifier les exigences relatives à l'élimination de déchets dangereux et médicaux applicables dans votre pays/région. Si la réglementation ne définit pas clairement la procédure d'élimination applicable aux échantillons ou aux cartouches usagées, ceux-ci doivent être considérés comme susceptibles de transmettre des agents infectieux. Jeter les cartouches usagées dans des conteneurs à déchets résistants destinés aux déchets chimiques médicaux dangereux selon les recommandations relatives à la manipulation et à l'élimination des déchets médicaux de l'OMS (Organisation mondiale de la santé).



F.2 Risques chimiques^{8,9}**Réactif échantillon :**

Le réactif pour échantillon contient de l'hydroxyde de sodium (pH > 12,5) et de l'isopropanol.

- Pictogrammes de danger SGH ONU :   
- Mention d'avertissement : DANGER
- **Mentions de danger SGH ONU**
 - Liquide et vapeurs inflammables
 - Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves
 - Provoque des lésions oculaires graves
 - Susceptible d'induire des anomalies génétiques.
 - Susceptible de nuire à la fertilité ou au fœtus.
 - Risque présumé d'effets graves pour les organes à la suite d'expositions répétées ou d'une exposition prolongée
- **Conseils de prudence SGH ONU**
 - Prévention
 - Se procurer les instructions spéciales avant utilisation.
 - Ne pas manipuler avant d'avoir lu et compris toutes les précautions de sécurité.
 - Tenir à l'écart de la chaleur, des étincelles, des flammes nues et/ou des surfaces chaudes. Ne pas fumer.
 - Maintenir le récipient fermé de manière étanche.
 - Ne pas respirer les brouillards, les vapeurs et/ou les aérosols.
 - Se laver soigneusement après manipulation.
 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.
 - Utiliser l'équipement de protection individuel requis.
 - Réponse
 - En cas d'incendie : utiliser les moyens appropriés pour l'extinction.
 - EN CAS D'INHALATION : transporter la victime à l'extérieur et la maintenir au repos dans une position où elle peut confortablement respirer.
 - Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin.
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau/se doucher.
 - Laver les vêtements contaminés avant réutilisation.
 - Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
 - 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.
 - EN CAS D'INGESTION : Rincer la bouche. NE PAS faire vomir.
 - EN CAS d'exposition prouvée ou suspectée : consulter un médecin.
 - Consulter un médecin en cas de malaise.
 - Stockage/Mise au rebut
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

G. Prélèvement, transport et conservation des échantillons



Ce test permet de traiter des dépôts remis en suspension ou des crachats frais. Consulter le Tableau 1 pour déterminer le volume d'échantillon adéquat.

Tableau 1. Volume d'échantillon requis

Type d'échantillon	Volume minimum pour un test	Volume minimum total pour un test et une répétition du test
Dépôt de crachat	0,5 ml	1 ml
Crachat frais	1 ml	2 ml

Remarque Pour obtenir un échantillon d'expectoration frais adéquat, suivre les instructions dans cette section. Le patient doit être assis ou debout.

G.1 Conservation et transport



Conserver et transporter les échantillons, si possible, entre 2 °C et 8 °C avant de les traiter. Toutefois, si cela se révèle nécessaire, les échantillons peuvent être conservés à une température maximum de 35 °C, pendant ≤ 3 jours, puis entre 2 °C et 8 °C pendant 4 à 10 jours.

G.2 Procédure de récolte des échantillons

1. Demander au patient de se rincer deux fois la bouche avec de l'eau.
2. Ouvrir le couvercle du récipient de collecte de crachat.
3. Demander au patient d'inhaler profondément, de tousser vigoureusement et d'expectorer la matière dans le conteneur. Éviter les déversements ou de salir l'extérieur du conteneur.
4. Fermer le couvercle du crachoir, puis le transférer dans la zone de traitement.

H. Procédures du test

H.1 Préparation des dépôts de crachat

Remarque Ne pas accepter les échantillons comportant visiblement des morceaux d'aliments ou d'autres particules solides.

Volumes requis : les dépôts de crachat préparés conformément à la méthode de Kent et Kubica¹⁰ et remis en suspension dans du tampon phosphate/H₂O 67 mM peuvent être analysés avec le test Xpert MTB/RIF. Après la remise en suspension, garder au moins 0,5 ml de dépôt remis en suspension pour le test Xpert MTB/RIF.

1. Noter le numéro d'identification de l'échantillon sur chaque cartouche Xpert MTB/RIF. Voir la Figure 1.

Remarque Écrire sur les côtés de la cartouche ou apposer une étiquette d'identification. Ne pas placer l'étiquette sur le couvercle de la cartouche et ne pas couvrir le code-barres 2D présent sur la cartouche.

2. À l'aide d'une pipette stérile, transférer au moins 0,5 ml de la pastille totale remise en suspension dans un tube conique avec capuchon à vis pour le test Xpert MTB/RIF. Il est également possible de traiter la totalité de l'échantillon dans le tube d'origine.



Remarque Conserver les dépôts remis en suspension entre 2 °C et 8 °C s'ils ne sont pas traités immédiatement. Ne pas les conserver plus de 12 heures.

3. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 ml de réactif échantillon (SR) Xpert MTB/RIF dans 0,5 ml de dépôt remis en suspension.
4. Agiter énergiquement 10 à 20 fois ou passer au vortex pendant au moins 10 secondes.

Remarque Un mouvement de va-et-vient compte pour une seule agitation.

5. Incuber pendant 10 minutes à température ambiante, puis agiter énergiquement l'échantillon 10 à 20 fois ou le passer au vortex pendant au moins 10 secondes.
6. Incuber l'échantillon à température ambiante pendant 5 minutes supplémentaires.

H.2 Préparation de l'échantillon de crachat expectoré

Remarque Ne pas accepter les échantillons comportant visiblement des morceaux d'aliments ou d'autres particules solides.

1. Noter le numéro d'identification de l'échantillon sur chaque cartouche Xpert MTB/RIF. Voir la Figure 1.

Remarque Écrire sur les côtés de la cartouche ou apposer une étiquette d'identification. Ne pas placer l'étiquette sur le couvercle de la cartouche et ne pas couvrir le code-barres 2D présent sur la cartouche.

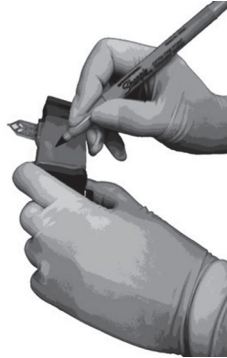


Figure 1. Écriture sur la cartouche avec un feutre permanent

2. Dans un récipient de collecte de crachat étanche :
 - A. Ouvrir avec précaution le couvercle du récipient de collecte de crachat.



Figure 2. Ouverture du récipient d'échantillon

- B. Verser environ 2 fois de volume de réactif pour échantillon sur le crachat (dilution 2:1, réactif pour échantillon:crachat).

Remarque Éliminer le reste du réactif pour échantillon et le flacon dans un conteneur à déchets chimiques.

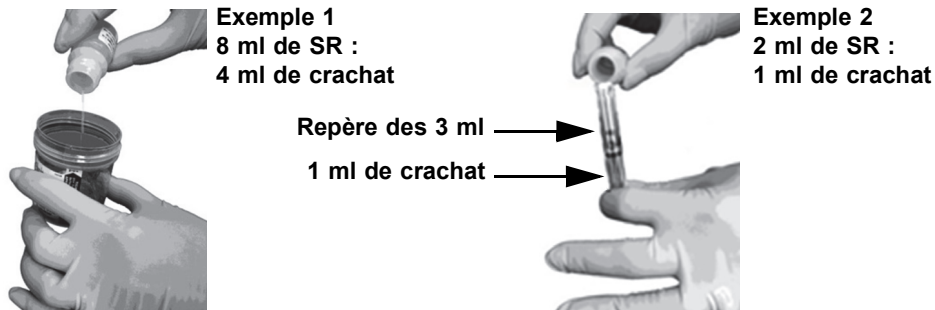


Figure 3. Exemples de dilutions 2:1

- C. Replacer le couvercle, puis le fermer.
- D. Agiter énergiquement 10 à 20 fois ou passer au vortex pendant au moins 10 secondes.

Remarque Un mouvement de va-et-vient compte pour une seule agitation.

3. Incuber l'échantillon pendant 10 minutes à température ambiante, puis l'agiter énergiquement 10 à 20 fois ou le passer au vortex pendant au moins 10 secondes.
4. Incuber l'échantillon à température ambiante pendant 5 minutes supplémentaires.

H.3 Préparation de la cartouche

Remarque

Démarrer le test dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon à la cartouche en cas d'utilisation du système GeneXpert Dx. 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 traité avec le réactif échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le logiciel Xpertise, de sorte que les tests sont exécutés avant la péremption qui a lieu au bout de quatre heures à bord.

1. Ouvrir le couvercle de la cartouche, puis ouvrir le récipient d'échantillon.
2. À l'aide de la pipette de transfert fournie, aspirer l'échantillon liquéfié jusqu'au repère sur la pipette. Ne pas poursuivre le traitement de l'échantillon si le volume est insuffisant. Voir la Figure 4.



Figure 4. Aspiration jusqu'au repère sur la pipette

3. Transférer l'échantillon dans la chambre pour échantillon de la cartouche de test Xpert MTB/RIF. Distribuer lentement l'échantillon afin de réduire le risque de formation d'aérosol. Voir la Figure 5.



Figure 5. Distribution de l'échantillon liquéfié décontaminé dans la chambre pour échantillon de la cartouche

4. Bien fermer le couvercle de la cartouche.

Important

En cas d'utilisation d'un système GeneXpert Dx, s'assurer de charger la cartouche dans l'instrument et démarrer le test dans les 4 heures suivant la préparation de 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 traité avec le réactif échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le logiciel Xpertise, de sorte que les tests sont exécutés avant la péremption qui a lieu au bout de quatre heures à bord.

H.4 Démarrage du test

Important S'assurer que le fichier de définition du test Xpert MTB/RIF est importé dans le logiciel. Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour obtenir des instructions détaillées, consulter le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx* ou le *manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*.

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

1. Mettre l'instrument GeneXpert sous tension :
 - 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 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 GeneXpert en saisissant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
 3. Dans la fenêtre du système GeneXpert Dx, cliquer sur **Créer un test (Create Test)** (GeneXpert Dx) ou sur **Commandes (Orders)** et **Commander test (Order Test)** (Infinity). La fenêtre Créer un test (Create Test) s'affiche.
 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.
 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 affiché dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results), ainsi que dans tous les rapports.
 6. Scanner le code-barres sur la cartouche Xpert MTB/RIF. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), N° du lot (Reagent Lot ID), N° de série de la cartouche (Cartridge SN) et Date de péremption (Expiration Date).
 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 et de retirer la cartouche.
 - D. Éliminer les cartouches usagées dans des conteneurs à déchets pour prélèvements appropriés, selon les pratiques habituelles de l'établissement.

H.5 Élimination des cartouches usagées

1. Jeter les cartouches usagées dans un récipient rigide pour déchets biologiques contaminés conformément à la procédure établie par votre établissement. Voir la Figure 6.



Figure 6. Éliminer les cartouches usagées de manière appropriée

2. Ne pas brûler les cartouches usagées. Voir la Figure 7.



Figure 7. Ne pas brûler les cartouches usagées

3. Ne pas jeter les cartouches usagées dans une décharge ou un site d'enfouissement. Voir la Figure 8.



Figure 8. Ne pas jeter les cartouches usagées dans une décharge

H.6 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*, selon le modèle utilisé.

Remarque

Si les résultats sont rendus en utilisant un LIS, vérifier que les résultats du LIS correspondent aux résultats du système pour le champ d'identifiant du patient ; en cas de conflit entre les résultats, rendre uniquement les résultats du système.

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.

I. Contrôle qualité

CONTROL

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

CTE : Assure le traitement correct de l'échantillon. Le CTE comprend des spores non infectieuses, sous la forme d'un granulé sec de spores qui est inclus dans chaque cartouche pour vérifier le bon déroulement du traitement du bacille de Koch. Le CTE vérifie que la lyse du bacille de Koch a eu lieu, si les organismes sont présents, et vérifie 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.

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. Le résultat du test sera **NON VALIDE (INVALID)** si le CTE n'est pas détecté dans un test négatif.

CVS : Avant le début de la réaction de PCR, le système d'instrument 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. Le CVS est réussi s'il répond aux critères d'acceptation validés.

J. Interprétation des résultats

L'instrument GeneXpert génère les résultats à partir des signaux de fluorescence mesurés et des algorithmes de calculs intégrés. Il est possible de voir les résultats dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results). Consulter les Figure 9, Figure 10 et Figure 11 pour obtenir des exemples spécifiques et consulter le Tableau 2 pour une liste de tous les résultats possibles.

Tableau 2. Résultats du test Xpert MTB/RIF et interprétations

Résultat	Interprétation
MTB DÉTECTÉ MOYEN ; Rif résistance NON DÉTECTÉ (MTB DETECTED MEDIUM; Rif Resistance NOT DETECTED) Voir la Figure 9.	La cible du bacille de Koch est présente dans l'échantillon : <ul style="list-style-type: none"> • Aucune mutation du gène rpoB n'a été détectée. • CTE : SO (NA) (sans objet). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
MTB DÉTECTÉ BAS ; Rif résistance DÉTECTÉ (MTB DETECTED LOW; Rif Resistance DETECTED) Voir la Figure 10.	La cible du bacille de Koch est présente dans l'échantillon : <ul style="list-style-type: none"> • Une mutation du gène rpoB a été détectée et se trouve dans la plage de Ct Delta valide. • CTE : SO (NA) (sans objet). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.

Tableau 2. Résultats du test Xpert MTB/RIF et interprétations

Résultat	Interprétation
MTB DÉTECTÉ ; Rif résistance INDÉTERMINÉ (MTB DETECTED; Rif Resistance INDETERMINATE)	<p>La cible du bacille de Koch est présente dans l'échantillon :</p> <ul style="list-style-type: none"> • La résistance à la rifampicine n'a pas pu être déterminée en raison d'une détection insuffisante du signal. • CTE : SO (NA) (sans objet). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
MTB NON DÉTECTÉ (MTB Not Detected) Voir la Figure 11.	<p>La cible du bacille de Koch n'est pas détectée dans l'échantillon :</p> <ul style="list-style-type: none"> • CTE : RÉUSSITE (PASS). Le CTE satisfait aux critères d'acceptation. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
NON VALIDE (INVALID)	<p>La présence ou l'absence du bacille de Koch n'a pas pu être déterminée. Le CTE ne satisfait pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée. Répéter le test. Voir la Section J.2, Procédure de répétition du test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bacille de Koch NON VALIDE (INVALID) : la présence ou l'absence de l'ADN du bacille de Koch n'a pas pu être déterminée. • CTE : ÉCHEC (FAIL). Le résultat de la cible du bacille de Koch est négatif et la valeur Ct du CTE n'est pas comprise dans l'intervalle valide. • Vérification de la sonde : RÉUSSITE (PASS). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
ERREUR (ERROR)	<p>La présence ou l'absence du bacille de Koch n'a pas pu être déterminée. Répéter le test. Voir la Section J.2, Procédure de répétition du test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bacille de Koch : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification de la sonde : ÉCHEC (FAIL). Un ou tous les résultats de vérification de la sonde n'ont pas réussi. <p>Remarque : Si la vérification de la sonde 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 du bacille de Koch n'a pas pu être déterminée. Répéter le test. Voir la Section J.2, Procédure de répétition du test. Un résultat PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bacille de Koch : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE : PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • Vérification de la sonde : SO (NA) (sans objet)

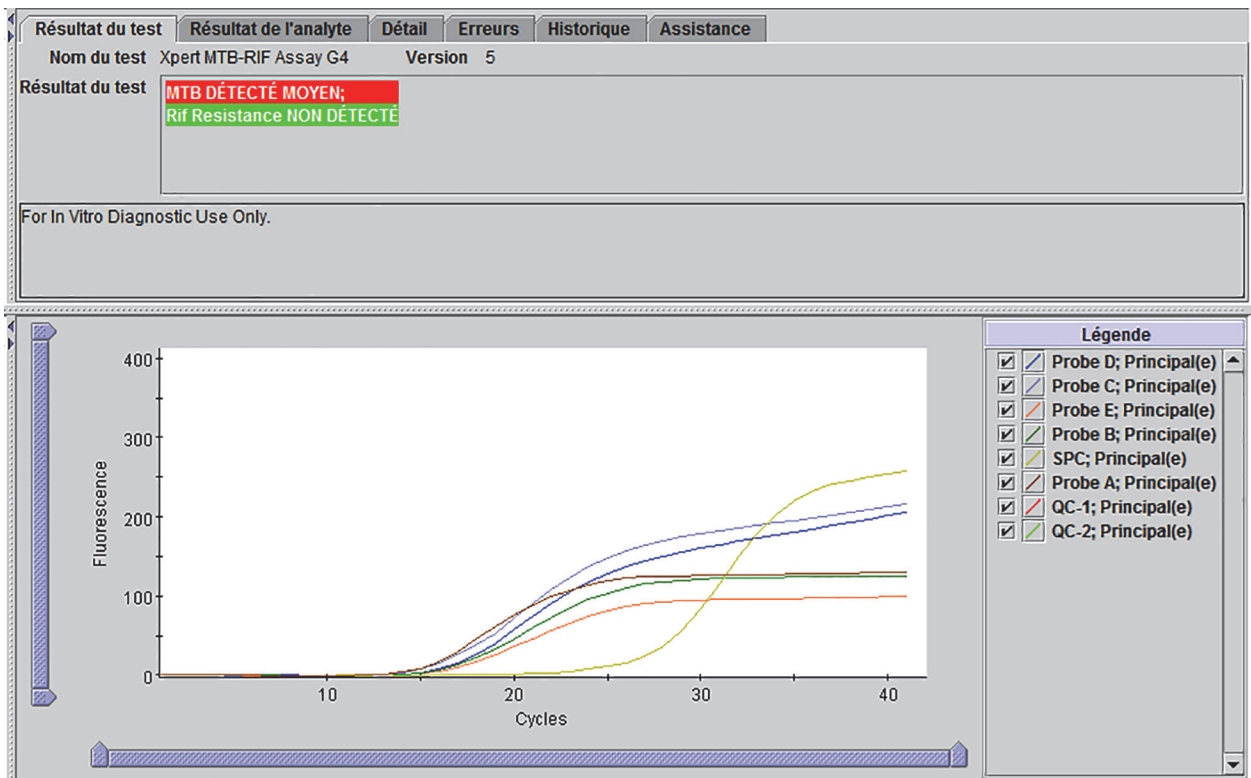


Figure 9. MTB DÉTECTÉ MOYEN ; Rif résistance NON DÉTECTÉ (vue utilisateur détaillée GeneXpert Dx)

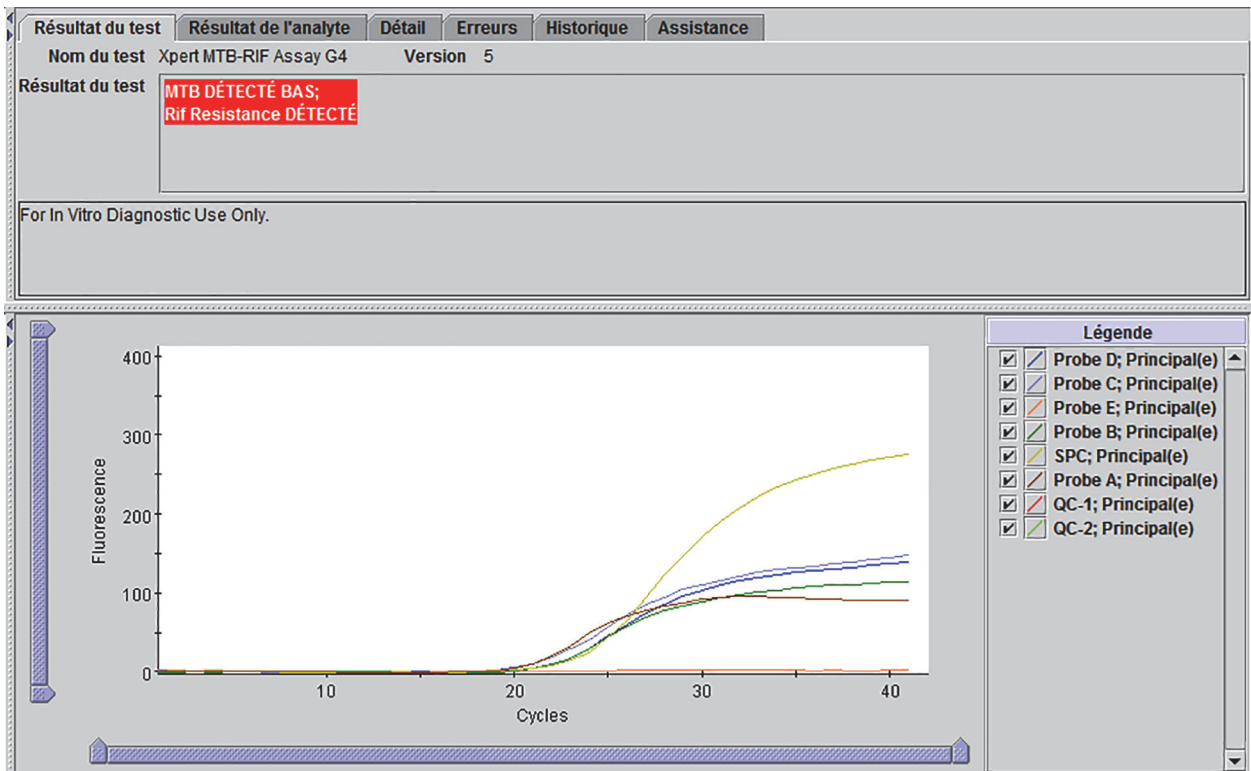


Figure 10. MTB DÉTECTÉ BAS ; Rif résistance DÉTECTÉ (vue utilisateur détaillée GeneXpert Dx)

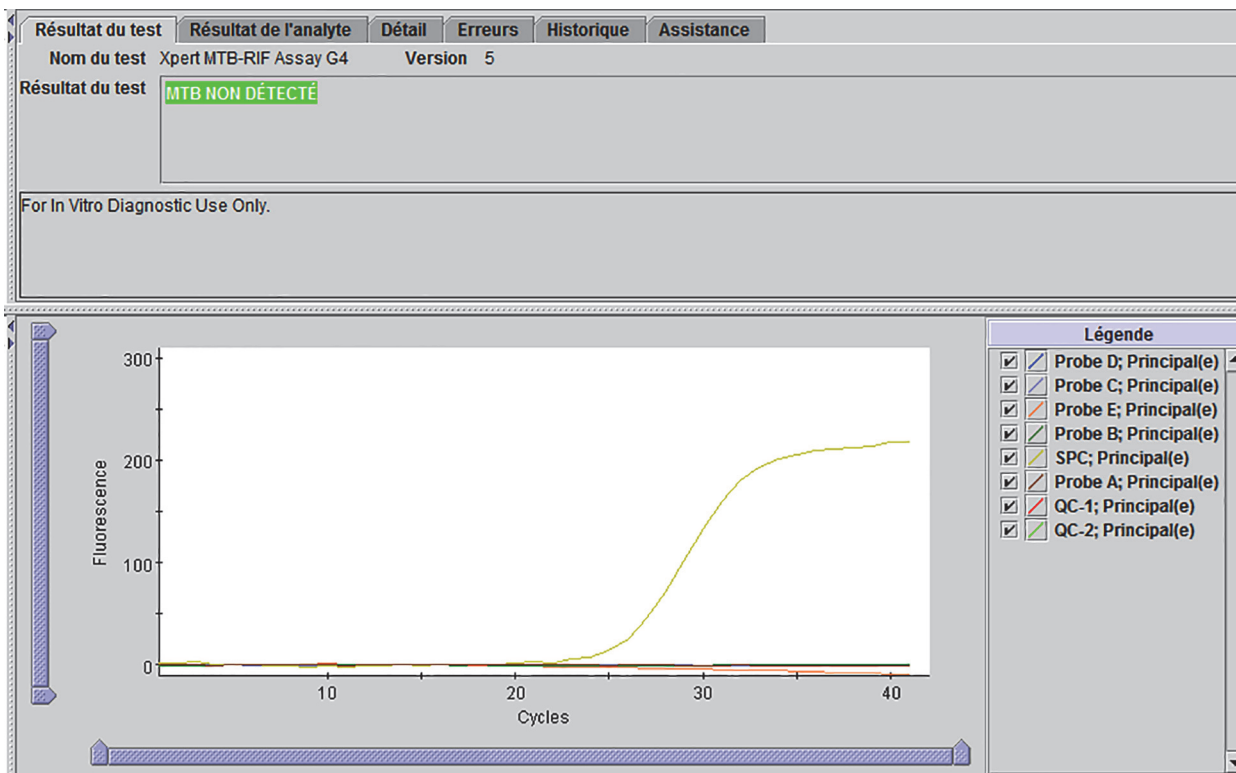


Figure 11. MTB NON DÉTECTÉ (vue utilisateur détaillée GeneXpert Dx)

J.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Répéter le test en utilisant une nouvelle cartouche si l'un des résultats de test suivants s'affiche :

- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique que le CTE a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le contrôle de vérification de la sonde a échoué et que le test a été annulé, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde, d'un dépassement des limites de pression maximale ou d'une panne d'un module GeneXpert.
- Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

J.2 Procédure de répétition du test

S'il reste du crachat frais ou du dépôt reconstitué, toujours utiliser un nouveau réactif échantillon afin de décontaminer et de liquéfier le crachat avant de réaliser le test. Consulter la Section H.1, Préparation des dépôts de crachat ou la Section H.2, Préparation de l'échantillon de crachat expectoré.

S'il reste suffisamment d'échantillon traité avec le SR, et que le SR a été ajouté à l'échantillon dans les 4 heures qui précèdent, il est possible d'utiliser l'échantillon restant pour préparer et traiter une nouvelle cartouche. Lors de la répétition du test, toujours utiliser une nouvelle cartouche. Voir la Section H.3, Préparation de la cartouche.

Remarque Si un instrument Infinity est utilisé, la répétition du test doit être lancée sur les modules désignés comme modules STAT réservés.

K. Limites

Les performances du test Xpert MTB/RIF ont été validées en utilisant les procédures fournies dans cette notice. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test. Les résultats du test Xpert MTB/RIF doivent être interprétés conjointement avec d'autres données cliniques et de laboratoire à la disposition du clinicien.

La fiabilité des résultats dépend de l'adéquation de la collecte, de la manipulation et du stockage de l'échantillon car la détection du bacille de Koch repose sur le nombre d'organismes présents dans celui-ci. Des résultats de test erronés peuvent résulter d'une collecte d'échantillon, d'une manipulation ou d'un stockage inadéquats (non conformes aux recommandations), d'une erreur technique, d'un mélange des échantillons ou d'une concentration insuffisante dans le matériel de départ. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.

Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence du bacille de Koch et de la résistance à la rifampicine.

Le test peut être affecté par la prise antérieure ou concomitante d'antibiotiques. Par conséquent, le succès ou l'échec thérapeutique ne peut pas être évalué en utilisant ce test car l'ADN peut résister suite à un traitement antimicrobien.

Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de souches MDR-MTB ou résistantes à la RIF nouvelles ou inconnues, produisant un résultat faussement négatif.

Les résultats semi-quantitatifs **MTB DÉTECTÉ BAS (MTB DETECTED LOW)** ou **MTB DÉTECTÉ TRÈS BAS (MTB DETECTED VERY LOW)** avec **Résistance à la RIF DÉTECTÉE (RIF Resistance DETECTED)** peuvent nécessiter une confirmation des résultats de résistance à la rifampicine au moyen d'un antibiogramme ou d'une autre méthode, surtout lorsque la suspicion clinique de tuberculose multirésistante est faible.

L. Caractéristiques de performance

Cette section décrit les caractéristiques des performances et les limites du test Xpert MTB/RIF.

L.1 Performances cliniques

Les caractéristiques des performances du test Xpert MTB/RIF pour la détection du bacille de Koch et de la résistance à la rifampicine ont été évaluées dans cinq laboratoires en Asie, Europe, Afrique et Amérique du Sud.¹¹

L'étude a été réalisée conformément au protocole de la Foundation for Innovative New Diagnostics (FIND), *Étude d'évaluation de Xpert MTB : évaluation du test Xpert MTB Cepheid/FIND pour la détection de la tuberculose pulmonaire dans les crachats des adultes symptomatiques*.

Les sujets incluent des patients avec des symptômes de tuberculose pulmonaire et présentant un risque de multi-résistance. Pour les sujets éligibles, trois échantillons de crachat ont été recueillis pour les analyser avec le test Xpert MTB/RIF et les tests de référence.

Les performances du test Xpert MTB/RIF ont été comparées à :

- Analyse au microscope de frottis ZN¹²
- Analyse de culture liquide (Becton Dickinson BACTEC™ 960 MGIT™) et solide (Löwenstein-Jenson)¹³
- Analyse de sensibilité aux antibiotiques (DST) sur la proportion Löwenstein-Jenson (L-J) ou sur MGIT couvrant au moins quatre médicaments de première intention¹⁴
- Analyses standard d'amplification de l'acide nucléique (analyse Gen-Probe Amplified Mycobacterium TB Direct et analyse Roche AMPLICOR® MTB) quand elles sont réalisées

Les échantillons incluent des échantillons de crachat prélevés pour des analyses de routine sur des patients chez qui on suspecte une tuberculose et qui peuvent présenter un risque de tuberculose multi-résistante.

L.2 Résultats généraux

Au total, 1 448 échantillons de crachats ont été testés pour le MTB et la résistance à la rifampicine par le test Xpert MTB/RIF, un examen au microscope et une culture bactérienne. Les échantillons de trois des sites participants ont également été évalués soit avec le test AMPLICOR MTB (UCT, Afrique du Sud et Inde), soit avec le test Amplified Mycobacterium TB Direct (Azerbaïdjan). Sur 1 448 participants, 563 présentaient un frottis et une culture positifs pour la TB (F+C+), 170 présentaient un frottis négatif et une culture positive (F-C+) et la TB était exclue pour 618. Les 97 patients restants étaient traités contre la TB d'après leurs symptômes cliniques et ont présenté une amélioration grâce au traitement antituberculeux, mais leurs échantillons n'ont pas été soumis à des analyses au microscope de frottis ou de culture ; ces patients n'ont pas été inclus dans les analyses de données présentées dans les tableaux.

L.3 Résultats de détection du bacille de Koch

Globalement, en prenant en compte les données composites des résultats des trois échantillons de crachat par patient, le test Xpert MTB/RIF a montré une sensibilité de 97,3 % (713/733) pour les échantillons dont la culture a donné un résultat positif. Chez les patients F+C+, la sensibilité du test Xpert MTB/RIF était de 99,5 % (560/563) ; chez les patients F-C+, la sensibilité était de 90,0 % (153/170). La spécificité du test Xpert MTB/RIF pour les patients non tuberculeux était de 97,9 % (605/618). Voir la Tableau 3.

Tableau 3. Performances du test Xpert MTB/RIF avec des échantillons de crachat^{a,b}

Site	Sensibilité F+C+	Sensibilité F-S+	Spécificité
Pérou	100 % (199/199) [98,1 %-100 %]	83,3 % (10/12) [55,2 %-95,3 %]	100 % (102/102) [96,4 %-100 %]
Azerbaïdjan	100 % (76/76) [95,2 %-100 %]	92,3 % (60/65) [83,2 %-96,7 %]	95,8 % (69/72) [88,5 %-98,6 %]
Afrique du Sud-1	99,0 % (95/96) [94,3 %-99,8 %]	90,4 % (47/52) [79,4 %-95,8 %]	98,4 % (186/189) [95,4 %-99,5 %]
Afrique du Sud-2	100 % (30/30) [88,6 %-100 %]	86,7 % (13/15) [62,1 %-96,3 %]	97,3 % (213/219) [94,2 %-98,7 %]
Inde	98,8 % (160/162) [95,6 %-99,7 %]	88,5 % (23/26) [71,0 %-96,0 %]	97,2 % (35/36) [85,8 %-99,5 %]
Global	99,5 % (560/563) [98,4 %-99,8 %]	90,0 % (153/170) [84,6 %-93,7 %]	97,9 % (605/618) [96,4 %-98,8 %]

a. Représente les résultats de 3 tests Xpert, 3 frottis et 4 cultures.

b. F=frottis ; C=culture

En prenant en compte un unique échantillon de crachat direct, la sensibilité du test Xpert MTB/RIF était de 97,8 % (545/557) pour les patients F+C+ et de 73,1 % (122/167) pour les patients F-C+. La spécificité était de 99,0 % (605/611) pour les patients non tuberculeux.

L.4 Résistance à la RIF

Globalement, en prenant en compte les données composites des résultats des trois échantillons de crachat par patient, le test Xpert MTB/RIF a montré une sensibilité de détection de la résistance à la rifampicine parmi les patients avec un phénotype de résistance à la rifampicine de 96,1 % (195/203). La spécificité du test Xpert MTB/RIF pour les patients avec un phénotype de sensibilité à la rifampicine était de 98,6 % (502/509). Voir la Tableau 4.

Tableau 4. Performances du test Xpert MTB/RIF avec des échantillons de crachat^a

Site	Sensibilité pour les cas de résistance à la rifampicine	Spécificité pour les cas de sensibilité à la rifampicine
Pérou	100 % (16/16) [80,6 %-100 %]	98,4 % (190/193) [95,5 %-99,5 %]
Azerbaïdjan	95,5 % (42/44) [84,9 %-98,7 %]	98,9 % (90/91) [94,0 %-99,8 %]
Afrique du Sud-1	93,8 % (15/16) [71,7 %-98,9 %]	100 % (126/126) [97,0 %-100 %]
Afrique du Sud-2	100 % (3/3) [43,8 %-100 %]	100 % (38/38) [90,8 %-100 %]
Inde	96,0 % (119/124) [90,9 %-98,3 %]	95,1 % (58/61) [86,5 %-98,3 %]
Global	96,1 % (195/203) [92,4 %-98,0 %]	98,6 % (502/509) [97,2 %-99,3 %]

a. Représente les résultats de 3 tests Xpert, 3 frottis et 4 cultures.

En prenant en compte un unique échantillon de crachat direct, la sensibilité du test Xpert MTB/RIF pour la détection de la résistance à la rifampicine était de 97,2 % (141/145) chez les patients présentant une résistance à la rifampicine. La spécificité pour les cas sensibles à la rifampicine était de 98,3 % (412/419). Voir Tableau 5.

Tableau 5. Performances du test Xpert MTB/RIF avec des échantillons de crachat^a

Site	Sensibilité pour les cas de résistance à la rifampicine	Spécificité pour les cas de sensibilité à la rifampicine
Pérou	100 % (16/16) [80,6 %-100 %]	98,4 % (180/183) [95,3 %-99,4 %]
Azerbaïdjan	97,4 % (38/39) [86,8 %-99,5 %]	98,7 % (74/75) [92,8 %-99,8 %]
Afrique du Sud-1	90,9 % (10/11) [62,3 %-98,4 %]	98,1 % (102/104) [93,3 %-99,5 %]
Afrique du Sud-2	100 % (1/1) [20,7 %-100 %]	100 % (23/23) [85,7 %-100 %]
Inde	97,4 % (76/78) [91,1 %-99,3 %]	97,1 % (33/34) [85,1 %-99,5 %]
Global	97,2 % (141/145) [93,1 %-98,9 %]	98,3 % (412/419) [96,6 %-99,2 %]

a. Représente les résultats de 1 test direct Xpert, 3 frottis et 4 cultures.

Les résultats du test Xpert MTB/RIF avec des échantillons des sites où un test par amplification de l'acide nucléique a également été réalisé sont indiqués dans le Tableau 6. Le résultat des tests par amplification de l'acide nucléique est indiqué par comparaison.

Tableau 6. Comparaison des performances du test Xpert MTB/RIF et d'un test alternatif d'amplification de l'acide nucléique avec des échantillons de crachat

Statistique	Test ^a	Azerbaïdjan	Afrique du Sud-1	Inde	Global
Sensibilité F+C+	Xpert(3)	100 % (76/76) [95,2 %-100 %]	99,0 % (95/96) [94,3 %-99,8 %]	98,8 % (160/162) [95,6 %-99,7 %]	99,1 % (331/334) [97,4 %-99,8 %]
	Xpert(1)	97,3 % (73/75) [90,8 %-99,3 %]	96,8 % (92/95) [91,1 %-98,9 %]	98,8 % (159/161) [95,6 %-99,7 %]	97,9 % (324/331) [95,7 %-99,2 %]
	Amplification de l'acide nucléique	100 % (76/76) [95,2 %-100 %]	93,7 % (89/95) [86,9 %-97,1 %]	94,2 % (147/156) [89,4 %-96,9 %]	95,4 % (312/327) [92,3 %-97,4 %]
Sensibilité F-C+	Xpert(3)	92,3 % (60/65) [83,2 %-96,7 %]	90,4 % (47/52) [79,4 %-95,8 %]	88,5 % (23/26) [71,0 %-96,0 %]	90,9 % (130/143) [85,0 %-95,1 %]
	Xpert(1)	68,8 % (44/64) [56,6 %-78,8 %]	86,3 % (44/51) [74,3 %-93,2 %]	69,2 % (18/26) [50,0 %-83,5 %]	75,2 % (106/141) [67,2 %-82,1 %]
	Amplification de l'acide nucléique	66,2 % (43/65) [54,0 %-76,5 %]	45,7 % (16/35) [30,5 %-61,8 %]	72,0 % (18/25) [52,4 %-85,7 %]	61,6 % (77/125) [52,5 %-70,2 %]
Spécificité	Xpert(3)	95,8 % (69/72) [88,5 %-98,6 %]	98,4 % (186/189) [95,4 %-99,5 %]	97,2 % (35/36) [85,8 %-99,5 %]	97,6 % (290/297) [95,2 %-99,1 %]
	Xpert(1)	97,2 % (69/71) [90,3 %-99,2 %]	99,5 % (185/186) [97,0 %-99,9 %]	100 % (35/35) [90,1 %-100 %]	99,0 % (289/292) [97,0 %-99,8 %]
	Amplification de l'acide nucléique	95,8 % (69/72) [88,5 %-98,6 %]	100 % (187/187) [98,0 %-100 %]	100 % (36/36) [90,4 %-100 %]	99,0 % (292/295) [97,1 %-99,8 %]

a. Xpert(3) = résultats de 3 tests Xpert, 3 frottis et 4 cultures ; Xpert(1) = résultats de 1 test direct Xpert, 3 frottis et 4 cultures ; Amplification de l'acide nucléique = ProbeTec (Azerbaïdjan) et AMPLICOR (Afrique du Sud et Inde) ; Amplification de l'acide nucléique « limite » traité comme négatif.

Sur les séries de test Xpert MTB/RIF effectuées dans le cadre de cette étude, 96,5 % (4 327/4 484) était un succès lors de la première tentative. Les 157 séries restantes ont donné des résultats indéterminés lors de la première tentative. Sur ces 157 échantillons, 108 ont donné un résultat valide lors de la répétition du test. Le taux de succès global du test était de 98,9 % (4 435/4 484).

L.5 Substances interférentes

Une étude a été menée pour évaluer les effets inhibiteurs potentiels de substances pouvant être présentes dans les crachats traités à l'aide du test Xpert MTB/RIF. Ces substances incluent notamment le sang, le pus, les cellules de mammifères et l'hémoglobine. Ces substances ont été testées à la concentration d'échantillon finale de 5 % (sang, pus, cellules de mammifères) ou de 0,2 % (hémoglobine) afin de déterminer l'effet, le cas échéant, sur les performances du test Xpert MTB/RIF. Chaque substance a été ajoutée à un échantillon contenant environ 5 fois la limite de détection (LDD) des cellules BCG et a été testée en double.

Aucun effet inhibiteur n'a été observé pour aucune des substances potentiellement interférentes citées ci-dessus.

L.6 Sensibilité analytique

Des études supplémentaires ont été réalisées afin de déterminer l'intervalle de confiance à 95 % de la limite de détection (LDD) analytique de ce test. La limite de détection est définie comme le nombre le plus bas d'unités formant colonie (UFC) par échantillon qui peut être différencié de manière reproductible des échantillons négatifs avec un niveau de confiance de 95 %. La limite de détection analytique a été déterminée en testant 20 répliqués de différentes concentrations de cellules de bacille de Koch étudiées en solution dans des échantillons de crachats cliniques négatifs. Dans les conditions de l'étude, les résultats indiquent que l'estimation du point de limite de détection pour le bacille de Koch est de 131 UFC/ml avec un intervalle de confiance de 95 % entre 106,2 UFC et 176,4 UFC. Les niveaux d'estimation et de confiance ont été déterminés en utilisant la régression logistique avec des données (nombre de résultats positifs par nombre de tests à chaque niveau) obtenues à différentes concentrations.

Les intervalles de confiance ont été déterminés en utilisant les estimations de probabilités maximales sur les paramètres du modèle logistique avec la matrice de variance-covariance de grand échantillon.

L.7 Spécificité analytique (exclusivité)

Les cultures de 18 souches de mycobactéries non tuberculeuses (MNT) ont été testées avec le test Xpert MTB/RIF. Au moins deux répliqués de chaque isolat ont été ajoutés à des échantillons de crachat négatif et testés à une concentration de 10^6 UFC/ml. Voir la Tableau 7.

Tableau 7. Souches de MNT soumises aux tests de spécificité

Souches de MNT soumises aux tests (10^6 UFC/ml)			
1	<i>M. avium</i> , SmT Mc2, 2500	10	<i>M. genevenses</i> , #51233
2	<i>M. avium</i> , SmD Mc2, 2501	11	<i>M. xenopi</i> , #2278
3	<i>M. intracellulare</i> , #35790	12	<i>M. szulgai</i> , Bouchon E9-1997
4	<i>M. intracellulare</i> , #35771	13	<i>M. celatum</i> , #51131
5	<i>M. kansasii</i> , #12478	14	<i>M. marinum</i> , Bouchon E10
6	<i>M. scrofulaceum</i> , Bouchon E5-1985	15	<i>M. simiae</i> , #25275
7	<i>M. malmoense</i> , #29571	16	<i>M. asiaticum</i> , E1-1985
8	<i>M. fortuitum</i> , #35754	17	<i>M. thermoresistable</i> , e22-1985
9	<i>M. chelonae</i> , #35749	18	<i>M. flavescens</i> , PoH 193D

Dans les conditions de l'étude, tous les isolats de MNT ont été signalés négatifs pour la détection du bacille de Koch.

De plus, pour déterminer si les concentrations élevées de MNT interféreraient avec la détection de faibles niveaux de tuberculose, les souches indiquées dans le Tableau 7 étaient mélangées à la souche de tuberculose H37Rv dans le crachat, à une concentration finale de 10^6 UFC/ml MNT et 200 UFC/ml H37Rv.

Les souches MNT testées pour leur capacité à interférer avec la tuberculose comprenaient :

- *M. avium*, SmT Mc2, 2500
- *M. avium*, SmD Mc2, 2501
- *M. intracellulare*, #35790
- *M. intracellulare*, #35771
- *M. kansasii*, #12478
- *M. malmoense*, #29571

Cinq des six souches n'ont pas interféré avec la détection de 200 UFC/ml de *M. tuberculosis* ; les signaux étaient donc les mêmes que lors de H37Rv seul. Le sixième, *M. malmoense*, produisait une faible interférence à 10^6 UFC/ml mais aucune à 10^5 UFC/ml ou moins. Par conséquent, il n'y a aucune interférence dans la détection de *M. tuberculosis* même avec 10^5 UFC/ml de MNT.

Des organismes non mycobactériens (n = 59) représentant une grande variété de pathogènes, de contaminants courants et de microflores souvent présents dans le crachat ou la bouche ont été testés à une concentration de 10^6 copies d'ADN par volume réactionnel final. Tous les organismes ont été correctement identifiés comme négatifs pour le bacille de Koch par le test Xpert MTB/RIF. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. La spécificité était de 100 %.

L.8 Espèces/souches soumises aux tests de spécificité

Tableau 8 indique les espèces et souches soumises aux tests de spécificité.

Tableau 8. Espèces/souches soumises aux tests de spécificité

<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Salmonella typhi</i>
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	<i>Haemophilus parahemolyticus</i>	<i>Serratia marcescens</i>
<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	<i>Shigella boydii</i>
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Shigella flexneri</i>
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Legionella pneumophila</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>Bordetella parapertussis</i>	<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	<i>Staphylococcus capitis</i>
<i>Campylobacter jejuni</i>	<i>Listeria grayi</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
<i>Candida albicans</i>	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>
<i>Citrobacter freundii</i>	<i>Morganella morganii</i>	<i>Staphylococcus hominis</i>
<i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i>	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<i>Corynebacterium xerosis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	<i>Streptococcus equi</i>
<i>Cryptococcus neoformans</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>
<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	<i>Streptococcus constellatus</i>
<i>Enterococcus avium</i>	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	<i>Streptococcus mitis</i>
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	<i>Streptococcus mutans</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Prevotella melaninogenica</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
<i>Escherichia coli</i> (souche de type 2)	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Streptococcus uberis</i>
<i>Escherichia coli</i> O157H7 (souche de type 1)	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Veillonella parvula</i>
<i>Fusobacterium nucleatum</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	

L.9 Inclusivité analytique

Des échantillons d'ADN prélevés sur un total de 79 souches de bacille de Koch ont été testés sur le système GX à l'aide d'un protocole Xpert MTB/RIF modifié pour les tests ADN. Les composants de la réaction finale et les conditions des cycles PCR demeuraient inchangés par rapport au protocole conçu pour les tests des échantillons de patient. 70 des souches provenaient de la collection OMS/TDR et 9 de la collection des laboratoires de l'Université de médecine et de médecine dentaire du New Jersey (UMDNJ, University of Medicine and Dentistry of New Jersey). Collectivement, ces souches représentent des isolats provenant de 31 pays et contenaient 37 isolats résistants à la RIF, composés de 13 mutations uniques de la région centrale de *rpoB*. Elles incluent chaque mutation unique du gène *rpoB* répertoriée dans la base de données TDR. Les réactions négatives utilisaient l'eau en guise d'échantillon.

Le mélange réactionnel final contenait 90 copies génomiques des isolats dans un volume total de 100 µl.

Tableau 9 montre que le test Xpert MTB/RIF a correctement détecté toutes les souches de bacille de Koch et correctement identifié les isolats résistants à la RIF.

Tableau 9. Détection des souches de bacille de Koch et des isolats résistants à la RIF

		Résultat GeneXpert			
		Positif pour le bacille de Koch		Négatif pour le bacille de Koch	
		Résistance à la RIF détectée	Résistance à la RIF non détectée		
Référence	Bacille de Koch +	Résistance à la RIF	37	0	0
		Sensible à la RIF	0	42	0
	Bacille de Koch –		0	0	52

L.10 Inactivation analytique des mycobactéries dans les échantillons de crachats

Les propriétés de désinfection du réactif pour échantillon Xpert MTB/RIF ont été déterminées à l'aide d'une méthode de culture tuberculocide quantitative standardisée.¹⁵ Des échantillons de crachat ont été enrichis d'une concentration élevée de *M. bovis* viable, mélangés au réactif échantillon à un rapport de 2:1 et incubés pendant 15 minutes. Après incubation, le mélange réactif échantillon/crachat a été neutralisé par dilution et filtration, puis mis en culture. La viabilité des organismes de *M. bovis* provenant du crachat traité était réduite d'au moins 6 logs par rapport au contrôle non traité.

Chaque laboratoire doit déterminer l'efficacité des propriétés de désinfection du réactif échantillon à l'aide de ses propres méthodes standardisées et doit respecter les réglementations de biosécurité recommandées.

M. Bibliographie

1. WHO report 2008. http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008
2. Anti-tuberculosis resistance in the world: fourth global report. WHO/HTM/TB/2008.394
3. Morris SL, Bai G, Suffys P, Portillo-Gomez L, Fairchok M, Rouse D. *Molecular mechanisms of multidrug resistance in clinical isolates of Mycobacterium tuberculosis*. J Infect Dis 1995; 171:954-60.
4. Ashok Rattan, Awdhesh Kalia, and Nishat Ahmad. *Multidrug-Resistant Mycobacterium tuberculosis: Molecular Perspectives*, Emerging Infectious Diseases, Vol.4 No.2, <http://www.cdc.gov/ncidod/EID/vol4no2/rattan.htm>
5. Francis J. Curry National Tuberculosis Center and California Department of Public Health, 2008: *Drug-Resistant Tuberculosis, A Survival Guide for Clinicians*, Second Edition.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
7. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
8. REGULATION (EC) No 1272/2008 OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL of 16 December 2008 on the classification labeling and packaging of substances and mixtures amending and repealing, List of Precautionary Statements, Directives 67/548/EEC and 1999/45/EC (amending Regulation (EC) No 1907/2007).
9. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpart Z).
10. Kent PT, Kubica GP 1985. Public Health Mycobacteriology—*A Guide for Level III Laboratory*, Centers of Disease Control, Atlanta, Publication no. PB 86-216546.
11. Boehme CC, Nabeta P, Hillemann D, Nicol MP, et al. *Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance*. N Engl J Med 2010;363:1005-15.
12. Laboratory Services in Tuberculosis Control: Part II, Microscopy WHO/TB/98.258; p 1-61.
13. Laboratory Services in Tuberculosis control: Part III Culture. WHO/TB/98.258. p 1- 74.
14. NCCLS, Susceptibility testing of Mycobacteria, Nocardia, and other Aerobic Actinomycetes: Approved Standard. NCCLS document M24-A (ISBN 1- 56238-500-3). NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087 – 1898, USA. 2003.
15. Banada, P. et al. Containment of Bioaerosol Infection Risk by the Xpert MTB/RIF Assay and Its Applicability to Point-of-Care Settings. Journal of Clinical Microbiology. 2010. 48:10. 3551-3557.

N. Emplacements des sièges de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
États-Unis
Téléphone : + 1 408 541 4191
Fax : + 1 408 541 4192
www.cepheid.com

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France
Téléphone : + 33 563 825 300
Fax : + 33 563 825 301
www.cepheidinternational.com

O. Assistance technique

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

- Nom du produit
- Numéro de lot
- Numéro de série de l'instrument
- Messages d'erreur (le cas échéant)
- Version logicielle et, le cas échéant, le « Service Tag » (numéro d'étiquette de service de l'ordinateur)





















Coordonnées

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 d'assistance technique de Cepheid sont disponibles sur notre site Internet à l'adresse suivante : www.cepheid.com/en/CustomerSupport.

P. Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Marquage CE – Conformité européenne
	Ne pas réutiliser
	N° de lot
	Consulter les instructions d'utilisation
	Mise en garde
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Limite de température
	Risques biologiques
	Liquides inflammables
	Corrosion de la peau
	Toxicité reproductive et des organes
	Attention
	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



