

Xpert® SA Nasal Complete

REF GXSACOMP-120

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

© 2013-2023 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.

© 2013-2023 Cepheid.

Xpert[®] SA Nasal Complete

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*

1. Nom de marque déposée

Xpert[®] SA Nasal Complete

2. Nom commun ou usuel

Test Xpert SA Nasal Complete

3. Utilisation prévue

Le test Cepheid[®] Xpert SA Nasal Complete effectué avec le système GeneXpert[®] Dx est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection rapide de *Staphylococcus aureus* (SA) et de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) sur écouvillon nasal chez les patients à risque de colonisation nasale. 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 SA Nasal Complete est prévu pour contribuer à la prévention et au contrôle des infections à SARM/SA dans les établissements de santé. Le test Xpert SA Nasal Complete n'est pas prévu pour diagnostiquer, guider ou surveiller le traitement des infections à SARM/SA, ni pour fournir des résultats de susceptibilité à la méticilline. Un résultat négatif n'écarte pas la colonisation nasale par SARM/SA. Des cultures concomitantes sont nécessaires pour récupérer les organismes en vue d'effectuer un typage épidémiologique et de tests de susceptibilité supplémentaires.

4. Résumé et description

Staphylococcus aureus (*S. aureus*) est un pathogène humain bien documenté qui est responsable aussi bien d'infections communautaires que nosocomiales. La gravité de ces infections varie beaucoup, des plaies cutanées sans complications aux maladies menaçant le pronostic vital, y compris l'endocardite, le sepsis et l'ostéomyélite. *S. aureus* continue d'être une cause majeure de morbidité et de mortalité dans de nombreux établissements de soins, y compris les hôpitaux et les centres de soins de longue durée. Les personnes porteuses de *S. aureus* au niveau des fosses nasales sont à plus grand risque d'une infection nosocomiale à SA ; d'une manière générale, plus de 80 % des infections nosocomiales à *S. aureus* peuvent être imputées à une source endogène.¹ Plus particulièrement, 20 à 30 % des infections de site chirurgical sont causées par *S. aureus* et plus de la moitié d'entre elles sont provoquées par la flore endogène.² Les infections à *S. aureus* sont généralement aiguës et produisent une réponse inflammatoire importante. Si elle n'est pas traitée, l'infection peut se propager aux tissus environnants ou à la circulation sanguine, ce qui peut conduire à des infections dans plusieurs organes. Parmi les infections plus graves à *S. aureus*, on citera : bactériémie, pneumonie, ostéomyélite, endocardite aiguë, syndrome de choc toxique, myocardite, péricardite, méningite, chorioamnionite, syndrome de la peau brûlée et abcès des muscles, des voies urogénitales, du système nerveux central et de divers organes intra-abdominaux.³

Au début des années 1950, l'acquisition et la propagation de plasmides codant pour les bêta-lactamases ont entravé l'efficacité de la pénicilline pour traiter les infections à *S. aureus* (SA). La méticilline, une pénicilline semi-synthétique, a été introduite en 1959 pour une utilisation clinique. Cependant, des souches de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) ont été identifiées dès 1960, suite à l'acquisition du gène méticillino-résistant *mecA* par *S. aureus*. Aux États-Unis aujourd'hui, le SARM est responsable d'environ 25 % des infections nosocomiales et les rapports de SARM acquis dans la communauté augmentent, produisant une morbidité et une mortalité significatives. 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. Maîtriser le SARM constitue un objectif principal pour la plupart des programmes hospitaliers de contrôle de l'infection.⁴⁻⁸ Actuellement, la culture est la méthode de détection standard pour le SARM et le SA, ce qui est laborieux et peut exiger plusieurs jours pour produire un résultat définitif. Les résultats d'un essai clinique multicentrique récent bien contrôlé ont montré qu'une identification rapide, par PCR en temps réel, des porteurs nasaux de *S. aureus*, suivie de la mise en œuvre immédiate de procédures pour décoloniser les sites nasaux et extra-nasaux, peut réduire de près de 60 % le nombre d'infections de sites chirurgicaux à *S. aureus* acquises en hôpital.¹

5. Principe de la procédure

Le système GeneXpert Dx automatise et intègre la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de la séquence cible dans des échantillons simples ou complexes, par PCR en temps réel et par PCR après transcription inverse. Le système se compose d'un instrument, d'un ordinateur personnel et d'un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Le système exige l'utilisation de cartouches jetables à usage unique qui contiennent les réactifs PCR et qui hébergent le processus de PCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les échantillons est réduite au minimum. Pour obtenir une description complète du système, consulter le *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx)*.

Le test Xpert SA Nasal Complete inclut des réactifs pour la détection de SARM et de SA. Un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) et un contrôle de vérification de sonde (CVS) sont également inclus. Le CTE est présent pour confirmer le traitement adéquat de la bactérie cible et surveiller la présence d'inhibiteur(s) lors de la réaction PCR. Le CVS confirme la réhydratation des réactifs, le remplissage des tubes de PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorophore.

Le test Cepheid Xpert SA Nasal Complete est un test de diagnostic automatisé rapide pour la détection qualitative de séquences codantes du gène de la protéine A staphylococcique (*SpA*), du gène responsable de la méticillino-résistance (*mecA*) et de la cassette chromosomique staphylococcique *mec* (*SCCmec*) insérée dans le site chromosomique *attB* de SA, à partir des prélèvements nasaux de patients à risque de colonisation nasale.

6. Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



Le kit de test Xpert SA Nasal Complete contient suffisamment de réactifs pour traiter 120 prélèvements ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les éléments suivants :

| | |
|--|-----------------------------|
| Cartouches de test Xpert SA Nasal Complete avec tubes réactionnels intégrés | 120 |
| • Bille 1, Bille 2 et Bille 3 (lyophilisées) | 1 par cartouche |
| • Réactif 1 | 3,0 ml par cartouche |
| • Réactif 2 (hydroxyde de sodium) | 3,0 ml par cartouche |
| Sachet de réactif d'éluion pour le test Xpert SA Nasal Complete | 1 |
| • Réactif d'éluion (thiocyanate de guanidinium) | 125 x 2,0 ml par flacon |
| CD | 1 par kit |
| • Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF) | |
| • Instructions pour importer l'ADF dans GeneXpert le logiciel | |
| • Mode d'emploi (notice d'utilisation) | |

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

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

6.2 Matériels requis mais non fournis

- Système GeneXpert Dx (le numéro de référence varie en fonction de la configuration) : Instrument GeneXpert, ordinateur avec logiciel exclusif GeneXpert version 2.1 et ultérieure, lecteur de code-barres à main et manuel d'utilisation.
- Imprimante (si une imprimante est nécessaire, contacter Service d'assistance technique de Cepheid pour convenir de l'achat d'une imprimante recommandée.)
- Mélangeur Vortex
- Écouvillon pour le transfert du prélèvement, comme l'écouvillon fourni dans le Cepheid Sample Collection Device 900-0370 (double écouvillon avec milieu Stuart liquide), le double écouvillon Copan avec système de transport (139C LQ STUART ou 138C LQ AMIES)
- Pipettes de transfert jetables (VWR 14670-331, Samco 2S-PL-232-1S), ou équivalent
- Gaze (VWR 82030-638), ou équivalent

6.3 Matériel disponible mais non fourni

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

7. 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)⁹, et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire)¹⁰ tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.
- Dans une culture mixte contenant le SARM/SA et d'autres organismes (par ex., bacilles Gram négatif, levures), les résultats peuvent être faussement négatifs ou variables selon la concentration de SARM/SA présente, particulièrement si la concentration de SARM/SA est proche de la limite de détection (LDD) du test.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le test Xpert SA Nasal Complete peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir d'organismes non viables. Cette probabilité de détection augmente chez les patients sous antibiotiques.
- Le test Xpert SA Nasal Complete ne donne pas de résultats de susceptibilité antimicrobienne. La culture et les tests de susceptibilité nécessitent du temps supplémentaire.
- Ne pas substituer les réactifs du test Xpert SA Nasal Complete par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche du test Xpert SA Nasal Complete, sauf pour l'ajout de l'échantillon et du réactif.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après avoir ajouté l'échantillon et le réactif.
- Ne pas ouvrir un emballage de cartouche avant d'être prêt à effectuer le test.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- ② • Chaque cartouche du test Xpert SA Nasal Complete 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 consignes environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs non utilisés. Ces matériaux peuvent présenter des caractéristiques de déchets chimiques dangereux exigeant des procédures d'élimination spécifiques au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].

8. Risques chimiques^{11,12}

- 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.

9. Conservation et manipulation



- Conserver les cartouches et réactifs Xpert SA Nasal Complete 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 le couvercle de la cartouche avant d'être en mesure de réaliser le test.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.
- Utiliser les cartouches sous 2 semaines après ouverture de l'emballage métallisé.

10. Collecte, transport et conservation des échantillons

1. Observer les directives de l'établissement pour la collecte des prélèvements par écouvillon nasal pour le test SARM/SA. Consulter Section 6.2, Matériels requis mais non fournis pour obtenir des informations sur les écouvillons. Les écouvillons peuvent être utilisés à l'état sec ou pré-humectés de sérum physiologique stérile lors de l'utilisation du Cepheid Sample Collection Device (dispositif de prélèvement d'échantillon) ou du Copan Liquid Stuart Collection Device (dispositif de prélèvement Copan avec milieu Stuart liquide). Les écouvillons doivent être pré-humectés en utilisant l'éponge imbibée de milieu lors de l'utilisation du Copan Liquid Amies Collection Device (dispositif de prélèvement Copan avec milieu Amies liquide).



2. Remettre l'écouvillon avec le prélèvement dans le tube de transport en plastique (milieu Stuart liquide, dispositif de prélèvement Cepheid ou Copan recommandés) et l'envoyer au lieu de test GeneXpert. Conserver l'écouvillon restant non testé à une température comprise entre 2 et 8 °C pour culture microbiologique dans un système de transport approprié, et procéder à la culture dans un délai de 4 jours.



3. Conserver le prélèvement à température ambiante (15 à 28 °C) s'il doit être traité dans les 24 heures, sinon le conserver à une température comprise entre 2 et 8 °C. L'écouvillon avec le prélèvement est stable jusqu'à 5 jours lorsqu'il est conservé entre 2 et 8 °C.

11. Procédure

Les intervenants doivent recevoir une formation quant au fonctionnement de base de l'instrument GeneXpert et des tests Xpert, conformément aux directives de l'établissement.

11.1 Préparation de la cartouche

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

Pour ajouter l'échantillon à la cartouche :

1. Retirer la cartouche et le réactif de l'emballage.
2. Retirer l'écouvillon du récipient de transport.

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

3. Introduire l'écouvillon dans le tube qui contient le réactif d'élution et casser l'écouvillon.
4. Fermer le capuchon du flacon du réactif d'élution 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, transférer tout le contenu du réactif d'élution dans la chambre d'échantillon de la cartouche du test Xpert SA Nasal Complete. Voir la Figure 1.

6. Fermer le couvercle de la cartouche.

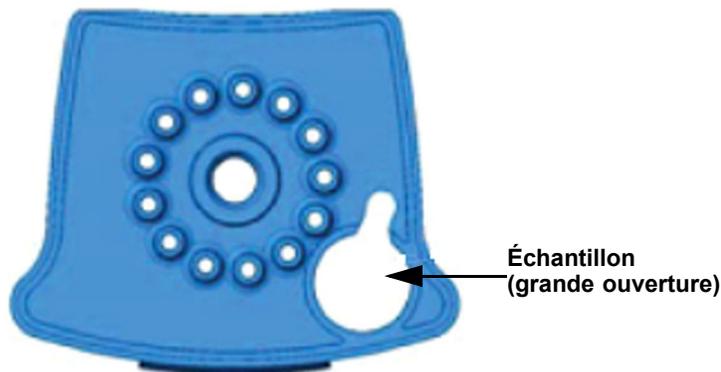


Figure 1. Cartouche du test Xpert SA Nasal Complete (vue de dessus)

11.2 Démarrage du test

Important Avant de démarrer le test, s'assurer que le fichier de définition du test Xpert SA Nasal Complete est importé dans le logiciel. Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour des instructions détaillées, consulter le *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx)*.

1. Allumer l'instrument GeneXpert Dx puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert démarrera automatiquement.
2. Se connecter au logiciel du système GeneXpert Dx en entrant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
3. Dans la fenêtre du système GeneXpert Dx, cliquer sur **Créer un test (Create Test)**. La fenêtre Créer un test (Create Test) s'affiche.
4. Lire ou saisir le n° Id du patient (Patient ID) (facultatif). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id du patient (Patient ID). Le n° Id du patient (Patient ID) est associé aux résultats du test et est indiqué dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**.
5. Dans la case N° Id d'échantillon (Sample ID), lire ou saisir le numéro d'identification de l'échantillon. S'assurer de saisir le numéro d'identification de l'échantillon correct (le numéro d'identification de l'échantillon est associé aux résultats du test et il est affiché dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** et dans tous les rapports). La boîte de dialogue **Lire le code-barres de la cartouche (Scan Cartridge Barcode)** s'affiche.
6. Lire le code-barres sur la cartouche du test Xpert SA Nasal Complete. La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche. 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 d'expiration (Expiration Date).
7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. Saisir le mot de passe s'il est demandé.
8. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
9. Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert arrête de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
10. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
11. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour prélèvements approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

11.3 Affichage et impression des résultats

Pour des instructions détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *GeneXpert Dx System Operator Manual (Manuel d'utilisation du système GeneXpert Dx)*.

12. Contrôle qualité

CONTROL Chaque test comprend un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) (dans l'écran d'affichage des résultats pour les opérateurs à privilèges administrateur) et un contrôle de vérification de la sonde (CVS).

Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) — Assure que l'échantillon a été traité correctement. Le CTE comprend des spores *Bacillus globigii* sous la forme d'un biscuit sec de spores qui est placé dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat de l'échantillon du test Xpert SA Nasal Complete. Le CTE vérifie que la lyse de *S. aureus* s'est produite, que les organismes sont présents et que le traitement du prélèvement est adéquat. En outre, ce contrôle assure que les conditions de PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et que les réactifs PCR sont fonctionnels, et détecte également l'inhibition associée au prélèvement de PCR en temps réel. Le CTE doit être positif dans un échantillon négatif et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le CTE est réussi s'il répond aux critères d'acceptation validés.

Contrôle de vérification de la sonde (CVS) — Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert Dx mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. La vérification de la sonde réussit si elle répond aux critères d'acceptation attribués.

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

Lors de l'utilisation d'écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIK (voir la section 6.3) comme contrôles, suivre la procédure de contrôle externe de 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). L'écouvillon KWIK-STIK est maintenant prêt pour effectuer le test Xpert SA Nasal Complete.
6. Si le CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

13. Interprétation des résultats

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

| Résultat | Interprétation |
|---|--|
| POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE) (Figure 2) | <p>L'ADN de la cible SARM est détecté ; l'ADN de la cible SA est détecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Toutes les cibles de SARM (<i>SpA</i>, <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>) ont une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une valeur finale supérieure au seuil défini. • CTE – S.O. (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification SARM risque de faire concurrence à ce contrôle. • Vérification de la sonde – RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence de SARM ou de SA.</p> |

| Résultat | Interprétation |
|---|---|
| NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE) (Figure 3) | <p>L'ADN de la cible SARM n'est pas détecté ; l'ADN de la cible SA est détecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> La cible SA (<i>SpA</i>) a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une valeur finale supérieure au seuil défini. L'ADN de la cible <i>SCCmec</i> n'est pas détecté et l'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté. La cible SA (<i>SpA</i>) a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une valeur finale supérieure au seuil défini. L'ADN de la cible <i>mecA</i> n'est pas détecté et l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté (variante à cassette excisée). CTE – S.O. (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification SA risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification de la sonde – RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Un résultat de test NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE) n'écarte pas la colonisation nasale par SARM.</p> |
| NÉGATIF À SARM ; NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE) (Figure 4) | <p>L'ADN de la cible SA n'est pas détecté.</p> <ul style="list-style-type: none"> L'ADN de la cible SA (<i>SpA</i>) n'est pas détecté. L'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté ; l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté ou n'est pas détecté. CTE – RÉUSSITE ; le CTE a une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et une valeur finale supérieure au seuil défini. Vérification de la sonde – RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Un résultat de test NÉGATIF À SARM ; NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE) n'écarte pas la colonisation nasale par SARM ou SA.</p> <p>Un résultat faussement négatif à SARM (résultat NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)) au lieu de POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)) peut être obtenu si le SARM et le SA sont tous deux présents dans l'échantillon selon un rapport SARM/SA de $1/1 \times 10^3$ ou supérieur.</p> |
| NON VALIDE (INVALID) (Figure 5) | <p>La présence ou l'absence de l'ADN des cibles SARM et SA est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous.</p> <ul style="list-style-type: none"> CTE – ÉCHEC ; le résultat de la cible du CTE est négatif, la valeur Ct (cycle seuil) du CTE n'est pas dans la plage valide et la valeur finale est inférieure au seuil défini. Vérification de la sonde – RÉUSSITE ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |
| ERREUR (ERROR) | <p>La présence ou l'absence de l'ADN des cibles SARM et SA est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous.</p> <ul style="list-style-type: none"> Cibles SARM et SA – PAS DE RÉSULTAT CTE – PAS DE RÉSULTAT. Vérification de la sonde – ÉCHEC* ; échec d'un ou plusieurs résultats de vérification de la sonde. <p>*Si la vérification de la sonde a réussi, l'erreur est probablement due à une pression maximale dépassant la plage acceptable.</p> |
| PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) | <p>La présence ou l'absence de l'ADN des cibles SARM et SA est impossible à déterminer. Répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous.</p> <ul style="list-style-type: none"> Cibles SARM et SA – PAS DE RÉSULTAT CTE – PAS DE RÉSULTAT Vérification de la sonde – sans objet |

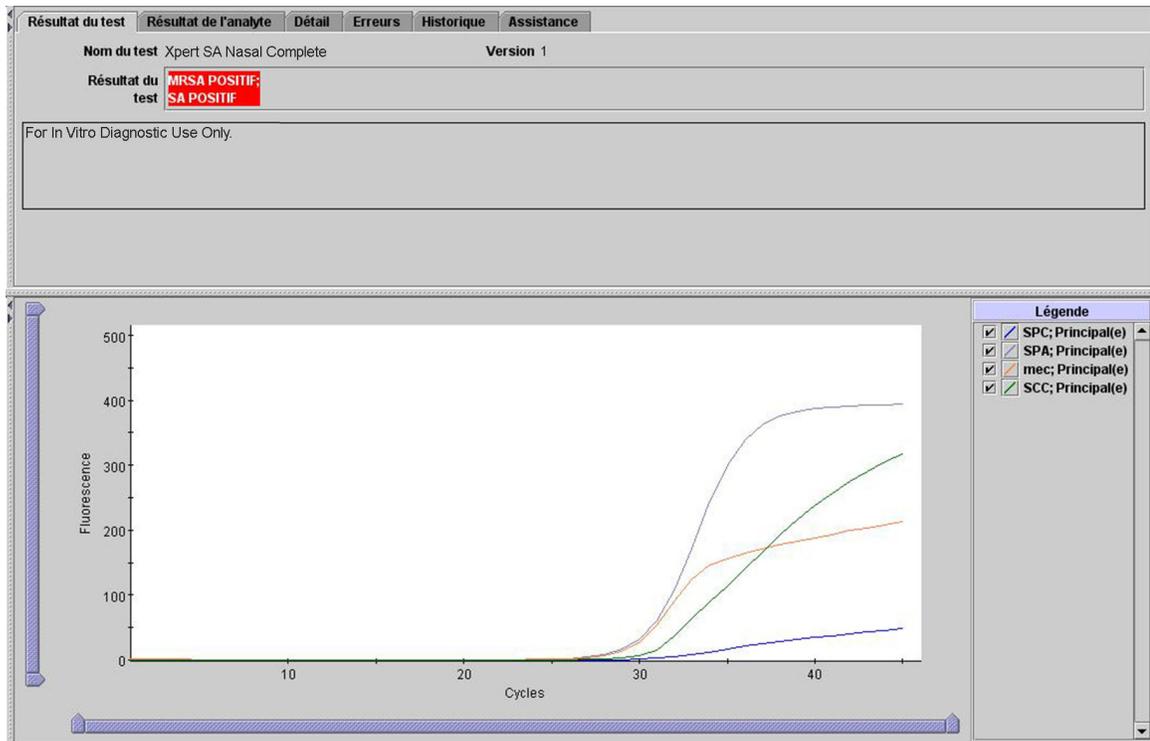


Figure 2. Exemple d'un résultat POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)

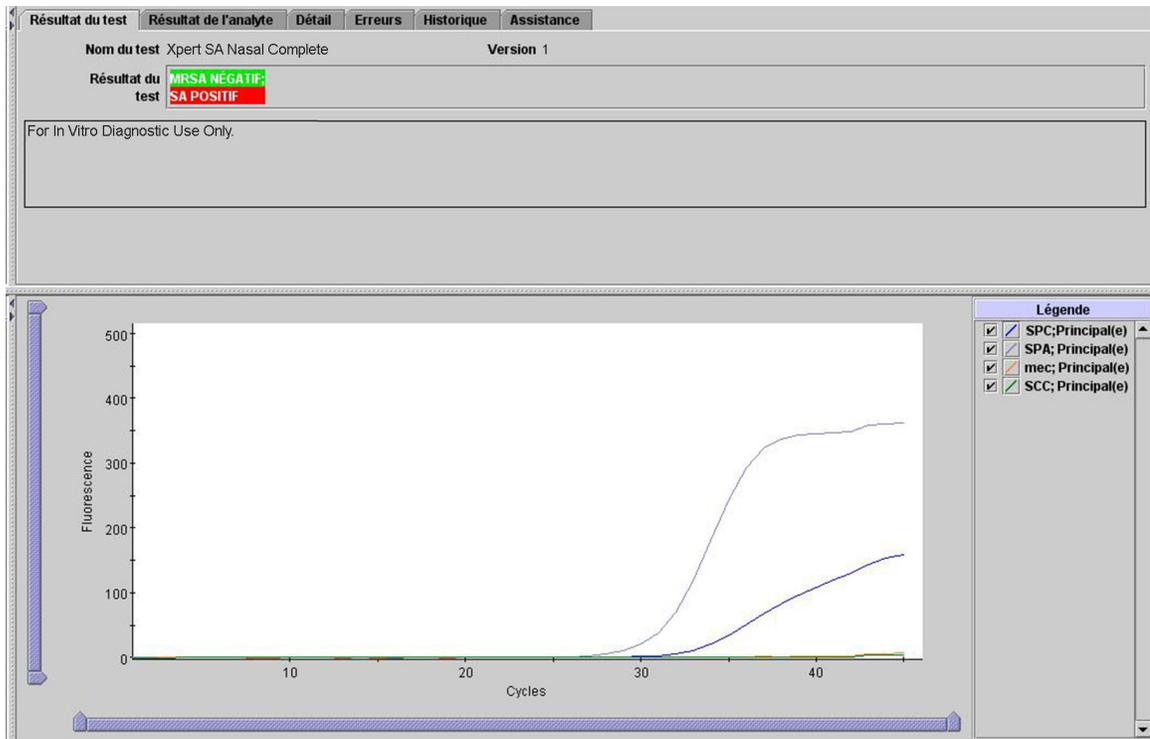


Figure 3. Exemple d'un résultat NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)

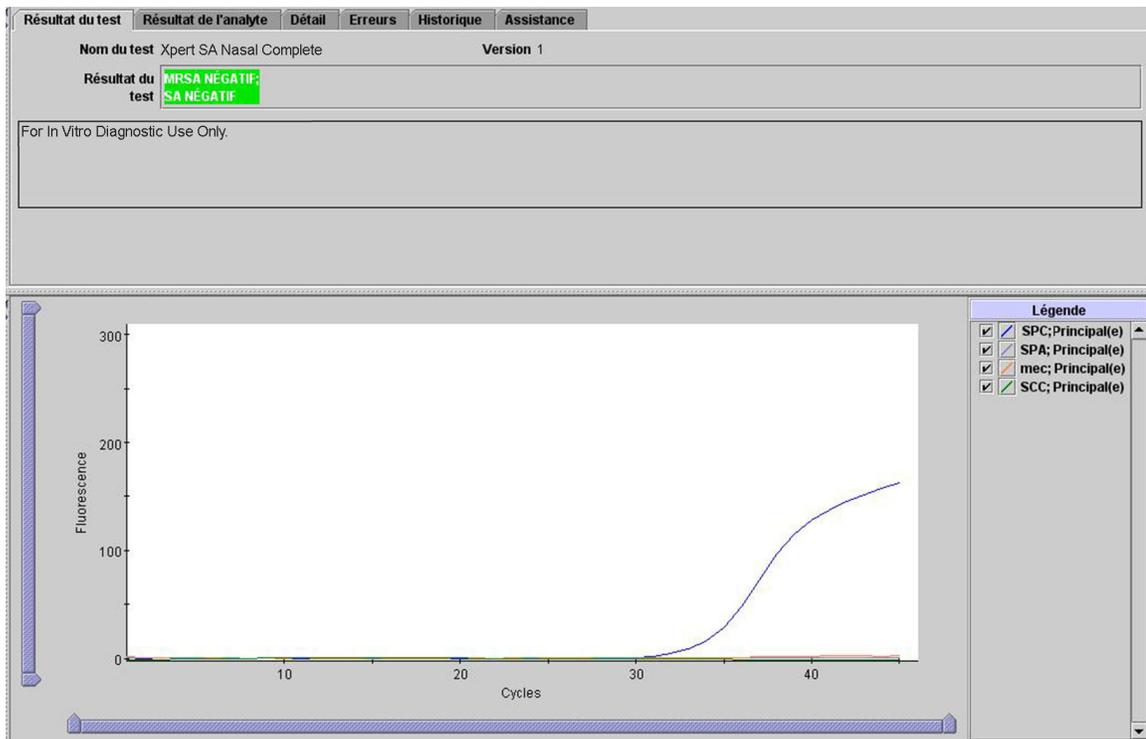


Figure 4. Exemple d'un résultat NÉGATIF À SARM ; NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)

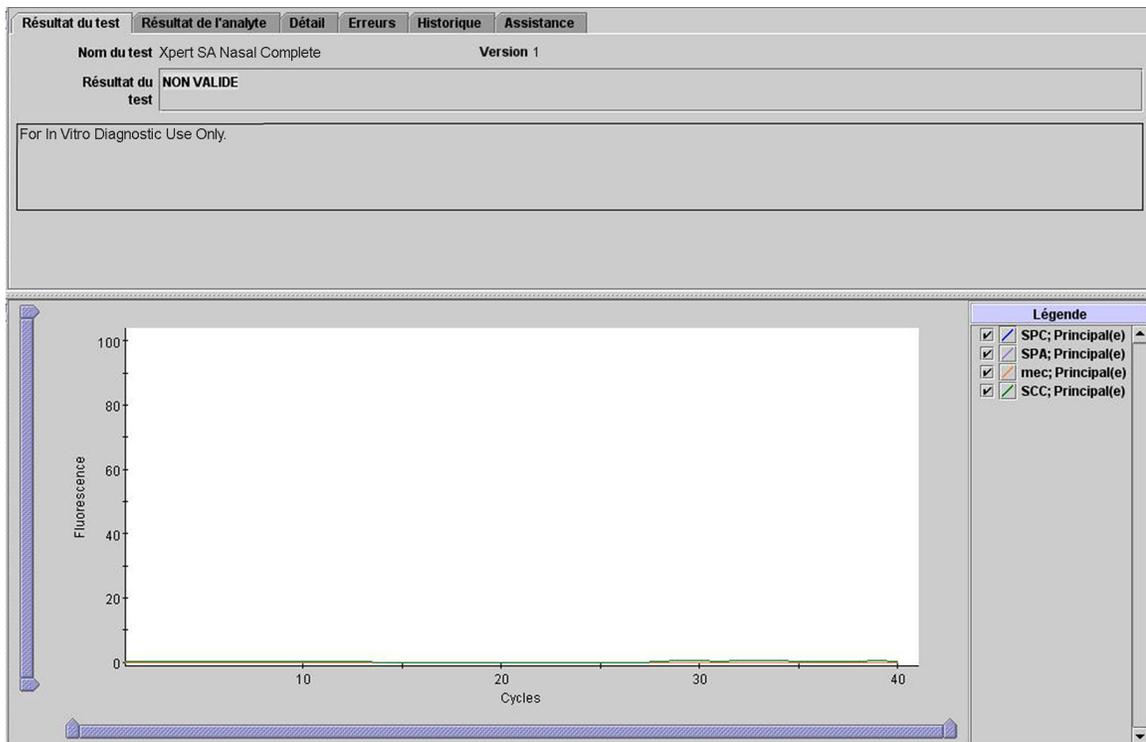


Figure 5. Exemple d'un résultat NON VALIDE (INVALID)

14. Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Il convient de répéter le test conformément à la procédure ci-dessus en utilisant un nouvel échantillon, une nouvelle cartouche (ne pas réutiliser l'ancienne cartouche) et un nouveau réactif si l'un des résultats de test suivants se produit :

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.

Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le test a été abandonné. Les causes possibles comprennent les suivantes : remplissage incorrect du tube réactionnel ; détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif ; ou dépassement des limites de pression maximale.

Un résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours ou une panne de courant s'est produite.

15. Limites

- Les performances du test Xpert SA Nasal Complete 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 SA Nasal Complete doivent être interprétés ensemble avec d'autres données biologiques et cliniques à la disposition du clinicien, et doivent être utilisés conjointement aux efforts de contrôle des infections nosocomiales pour identifier les patients qui nécessitent des précautions plus poussées. Les résultats ne doivent pas être utilisés pour guider ou surveiller le traitement des infections à SARM ou à SA.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement d'échantillon incorrect, du non-respect des procédures recommandées pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration d'organismes dans l'échantillon trop basse pour être détectée par le test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence de SARM ou de SA.
- Un résultat positif du test Xpert SA Nasal Complete n'indique pas forcément un échec d'éradication thérapeutique puisque la présence d'ADN non viable peut persister. Un résultat négatif obtenu à la suite d'un résultat de test positif n'indique pas forcément une éradication réussie.
- Les caractéristiques de performance n'ont pas été établies pour les patients dont l'âge est ≤ 21 ans.
- La détection de SARM et de SA étant dépendante du nombre d'organismes présents dans l'échantillon, l'obtention de résultats fiables dépend d'un prélèvement, d'une manipulation et d'un stockage corrects.
- 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 SA Nasal Complete peut ne pas détecter les organismes SARM. L'étude clinique pivot comprenait un échantillon avec une infection mixte à SARM/SA documentée ; le test Xpert SA Nasal Complete a identifié avec succès l'échantillon comme positif à SARM/positif à SA.
- 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 $1/1 \times 10^6$ dans 7 des 8 types SCCmec testés. Pour SCCmec type VIII, une concurrence de SA a été observée à un rapport SARM/SA de $1/1 \times 10^3$.
- Une inhibition du test SA Nasal Complete produisant des résultats de test non valides a été observée en présence des corticoïdes inhalés par voie nasale Flonase et Nasonex, dans des échantillons négatifs à SA à des concentrations respectives supérieures à 5 et 10 % (v/v).
- Une inhibition du test SA Nasal Complete produisant des résultats de test faussement négatifs a été observée en présence des corticoïdes inhalés par voie nasale Flonase et Nasonex, dans des échantillons positifs à SARM à des concentrations respectives supérieures à 1 et 5 % (v/v).
- Le test Xpert SA Nasal Complete peut produire un résultat faussement positif à SARM en présence d'un prélèvement nasal à infection mixte contenant le *Staphylococcus* coagulase négatif résistant à la méticilline et le SA à cassette excisée.
- Le test Xpert SA Nasal Complete peut produire des résultats faussement négatifs à SARM en présence de *S. aureus* ayant une résistance de bas niveau à l'oxacilline (BORSA). Le mécanisme de résistance à l'oxacilline des souches BORSA est imputable à une production de β -lactamines augmentée, et non au gène *mecA*. Les BORSA avec des CMI d'oxacilline de 4 à 8 $\mu\text{g/ml}$ sont considérés comme ayant une résistance de bas niveau mais seraient rapportés comme négatifs à SARM par le test Xpert SA Nasal Complete. Les souches BORSA sont rares aux États-Unis.

- Le test Xpert SA Nasal Complete peut produire des résultats faussement négatifs à SARM en présence de *S. aureus* modifié (MODSA). Le mécanisme de résistance à l'oxacilline des souches MODSA est imputable à des modifications de l'affinité des protéines de liaison à la pénicilline de l'oxacilline, et non au gène *mecA*. Les MODSA avec des CMI d'oxacilline de 4 à 8 µg/ml sont considérés comme ayant une résistance de bas niveau, mais seraient rapportés comme négatifs à SARM par le test Xpert SA Nasal Complete. Les souches MODSA sont rares aux États-Unis.
- Les prélèvements contenant du sang peuvent être associés à des résultats faussement positifs.
- Comme avec tous les tests diagnostiques *in vitro* qui utilisent la PCR, des niveaux extrêmement bas de la cible, en-dessous de la LDD du test, peuvent être détectés, mais ces résultats peuvent ne pas être reproductibles. (Voir Section 19., Reproductibilité)
- Les résultats du test Xpert SA Nasal Complete peuvent parfois afficher **NON VALIDE (INVALID)** en raison d'un échec du CTE, **ERREUR (ERROR)** ou **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** et nécessiter que le prélèvement soit retesté, ce qui peut conduire à un délai pour l'obtention des résultats finaux.
- Comme avec tous les tests diagnostiques *in vitro*, les valeurs prédictives positive et négative dépendent beaucoup de la prévalence. Les performances du test Xpert SA Nasal Complete peuvent varier en fonction de la prévalence et de la population testée.

16. Valeurs attendues

L'étude clinique sur le test Xpert SA Nasal Complete comprenait au total 2 487 prélèvements nasaux provenant de 8 centres 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 1.

Tableau 1. 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 |
| 22 à 30 ans | 325 | 10 | 3,1 % | 71 | 21,8 % |
| 31 à 40 ans | 359 | 17 | 4,7 % | 84 | 23,4 % |
| 41 à 50 ans | 459 | 28 | 6,1 % | 118 | 25,7 % |
| 51 to 60 ans | 487 | 36 | 7,4 % | 141 | 29,0 % |
| 61 à 70 ans | 315 | 25 | 7,9 % | 75 | 23,8 % |
| > 70 ans | 542 | 57 | 10,5 % | 138 | 25,5 % |

17. Caractéristiques de performance

17.1 Performances cliniques

Les caractéristiques de performance du test Xpert SA Nasal Complete ont été déterminées lors d'une étude expérimentale prospective multi-sites réalisée dans huit centres aux États-Unis, en comparant le test Xpert SA Nasal Complete à la culture de référence.

Deux écouvillons ont été prélevés chez chaque sujet. Un écouvillon a été testé avec le test Xpert SA Nasal Complete au centre d'inscription, et l'autre a été envoyé au laboratoire central pour être testé par la culture de référence.

Au laboratoire centralisé, le prélèvement 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 une gélose au sang de mouton. 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 ≤ 21 mm (R), ≥ 22 mm (S).

Les performances du test Xpert SA Nasal Complete ont été calculées relativement aux résultats obtenus avec la culture de référence.

17.2 Résultats généraux

Un total de 2 487 prélèvements ont été testés pour SARM et SA par le test Xpert SA Nasal Complete et par culture sur gélose enrichie au sang.

Les patients ayant reçu des antibiotiques dans les 7 jours précédant le prélèvement n'étaient pas éligibles pour l'inclusion. Parmi les 2 487 cas dans le groupe éligible, 141 sujets ont rapporté une prise d'antibiotiques dans les 7 à 21 jours précédant le prélèvement, et 2 323 sujets ont confirmé n'avoir pris aucun antibiotique ; la présence d'une antibiothérapie était inconnue dans 23 cas. Aucune différence statistiquement significative n'a été observée dans le taux de positivité des cultures ou dans les performances du test Xpert SA Nasal Complete en fonction de la présence d'antibiothérapie.

Une des cultures positives à SARM présentait une infection mixte à SARM et à *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline. Xpert SA Nasal Complete a correctement identifié ce prélèvement comme positif à SARM/positif à SA.

Les performances du test Xpert SA Nasal Complete sont résumées au Tableau 2.

Tableau 2. Performances du test SA Nasal Complete versus la culture de référence

| | | Culture de référence | | | |
|-------|-----------|--|-----------|-----------------------|-------|
| | | SARM+ | SA+/SARM- | Nég/Pas de croissance | Total |
| Xpert | SARM+ | 159 | 24 | 25 | 208 |
| | SA+/SARM- | 9 | 393 | 152 | 554 |
| | SA- | 5 | 37 | 1 683 | 1 725 |
| | Total | 173 | 454 | 1 860 | 2 487 |
| | | SARM : Sensibilité : 91,9 % (159/173) (IC à 95 % : 86,8-95,5 %) Spécificité : 97,9 % (2 265/2 314) (IC à 95 % : 97,2-98,4 %) VPP : 76,4 % (159/208) (IC à 95 % : 70,1-82,0 %) VPN : 99,4 % (2 265/2 279) (IC à 95 % : 99,0-99,7 %) SA : Sensibilité : 93,3 % (585/627) (IC à 95 % : 91,1-95,1 %) Spécificité : 90,5 % (1 683/1 860) (IC à 95 % : 89,1-91,8 %) VPP : 76,8 % (585/762) (IC à 95 % : 73,6-79,7 %) VPN : 97,6 % (1 683/1 725) (IC à 95 % : 96,7-98,2 %) | | | |

Parmi les tests Xpert SA Nasal Complete exécutés sur des prélèvements éligibles, 96,5 % (2 487/2 578) ont réussi dès la première tentative. Les 91 tests restants ont produit des résultats indéterminés à la première tentative (31 **NON VALIDE (INVALID)**, 51 **ERREUR (ERROR)** et 9 **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)**). La conception de l'étude ne comprenait pas une répétition du test.

17.3 Variantes à cassette excisée

Pour qu'un isolat soit déterminé positif à SARM avec le test Xpert SA Nasal Complete, 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 SA Nasal Complete a été conçu pour identifier correctement ces variantes en tant que SA.

Parmi les prélèvements éligibles inclus dans les analyses de données présentées dans ce rapport, 14 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 3. Ces 14 prélèvements étaient des isolats vrais négatifs à SARM confirmés, et des isolats vrais positifs à SA selon la culture de référence.

Tableau 3. Performances de SA Nasal Complete versus la culture de référence — Variantes à cassette excisée

| N° du sujet | Xpert Résultat | SpA (Ct) | mecA (Ct) | SCCmec (Ct) | Culture | Xpert vs culture | |
|-------------|----------------|----------|-----------|-------------|---------|------------------|----|
| | | | | | | SARM | SA |
| 1 | SA | 34,2 | 0 | 36,2 | SA | VN | VP |
| 2 | SA | 32,4 | 0 | 34,3 | SA | VN | VP |
| 3 | SA | 24,6 | 0 | 26,3 | SA | VN | VP |
| 4 | SA | 26,9 | 0 | 29,0 | SA | VN | VP |
| 5 | SA | 29,1 | 0 | 31,1 | SA | VN | VP |
| 6 | SA | 24,4 | 0 | 26,8 | SA | VN | VP |
| 7 | SA | 31,8 | 0 | 33,6 | SA | VN | FP |
| 8 | SA | 32,3 | 0 | 34,7 | SA | VN | VP |
| 9 | SA | 28,5 | 0 | 31,1 | SA | VN | VP |
| 10 | SA | 25,8 | 0 | 27,5 | SA | VN | VP |
| 11 | SA | 17,4 | 0 | 19,7 | SA | VN | VP |
| 12 | SA | 17,4 | 0 | 18,9 | SA | VN | VP |
| 13 | SA | 26,9 | 0 | 29,7 | SA | VN | VP |
| 14 | SA | 22,6 | 0 | 24,6 | SA | VN | VP |

18. Performances analytiques

18.1 Spécificité analytique (exclusivité)

Étude de réactivité croisée

Cent quatorze (114) souches phylogénétiquement proches de *Staphylococcus aureus* ou des espèces potentiellement présentes dans la flore naso-pharyngée ont été testées avec le test Xpert SA Nasal Complete. Parmi elles, 103 étaient obtenues auprès de l'American Type Culture Collection (ATCC), 2 auprès de la Culture Collection, Université de Göteborg, Suède (CCUG), 1 auprès de la German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSM), 1 auprès de Teruyo Ito, Université Juntendo, Tokyo, Japon et 7 auprès de la Network on Antimicrobial Resistance in *Staphylococcus aureus* (NARSA).

Les organismes testés ont été identifiés comme étant soit Gram positifs (83), soit Gram négatifs (28), soit une levure (3). Parmi ceux-ci, des staphylocoques coagulase négatifs sensibles à la méticilline SCNSM (34) et des staphylocoques coagulase négatifs résistants à la méticilline SCNRM (12) étaient inclus. Les organismes ont aussi été classés comme aérobies (106) ou anaérobies (8).

Trois (3) répliquats de chaque isolat ont été testés entre 4,5 à 9,5×10⁸ UFC/ml ou 1,7 à 3,2 unités McFarland. Dans les conditions de cette étude, tous les isolats ont été rapportés comme **NÉGATIF À SARM ; NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)** par le test Xpert SA Nasal Complete. La spécificité analytique du test Xpert SA Nasal Complete était de 100 %. Ces résultats montrent qu'un échantillon contenant des espèces non *Staphylococcus aureus* (>1×10⁸ UFC/ml) ne produira pas un résultat de test faussement positif à SARM/SA avec le test Xpert SA Nasal Complete.

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 tous les médicaments anti-β-lactamases par le biais de l'autre protéine de liaison à la pénicilline, PBP2a, codée par *mecA*. Les souches BORSA sont *mecA* négatives, mais démontrent une concentration minimum inhibitrice (CMI) d'oxacilline ≥ 1 et ≤ 8 µg/ml. Il est particulièrement utile de distinguer SARM de BORSA pour assurer la mise en œuvre d'une prise en charge et de précautions d'isolement appropriées pour les patients infectés par des souches de *S. aureus* sensibles à la méticilline.

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

18.2 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* sensible à la méticilline et des cellules de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) diluées dans une matrice nasale simulée. La matrice nasale se composait de mucine et de sang dans du PBS avec 15 % de glycérol. La limite de détection est définie comme le plus petit nombre d'unités formant colonie (UFC) par échantillon pouvant être différencié de façon reproductible des échantillons négatifs avec une confiance de 95 % ou la concentration la plus faible à laquelle 19 des 20 réplicats se sont montrés positifs.

Pour le SA, 20 réplicats ont été testés à différentes concentrations pour trois (3) isolats individuels. Les types USA USA900 et USA1200 étaient inclus.

Pour le SARM, 20 réplicats ont été testés à différentes concentrations pour dix (10) isolats individuels représentant les types SCCmec I, II, III, IVa, IVd, V, VI, VII et VIII. Lors du typage par gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), USA100, la souche acquise en milieu de soins la plus courante, et USA400, l'une des souches acquises en communauté les plus courantes, étaient incluses. Les isolats réputés comme contenant des sous-populations hétérogènes en termes de phénotype de résistance à l'oxacilline 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 réplicats à chaque niveau) couvrant la gamme des UFC/écouvillons testés. Les intervalles de confiance ont été déterminés en utilisant des estimations de probabilité maximale sur les paramètres du modèle logistique en utilisant la grande matrice de variance-covariance des échantillons. Les estimations du point de LDD et les intervalles de confiance supérieur et inférieur à 95 % pour chaque SA et chaque type SCCmec de SARM testés sont résumés au Tableau 4 et au Tableau 5.

Tableau 4. Intervalles de confiance à 95 % pour la LDD analytique — SA

| ID de souche SA | PFGE | LDD est. (UFC/écouvillon) | Limite inférieure IC à 95 % | Limite supérieure IC à 95 % |
|-----------------|---------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| N7129 | USA900 | 154 | 132 | 197 |
| 102-04 | USA1200 | 128 | 109 | 177 |
| 29213 | inconnu | 94 | 76 | 138 |

Tableau 5. Intervalles de confiance à 95 % pour la LDD analytique — SARM

| ID de souche SARM | Type SCCmec | PFGE | LDD est. (UFC/écouvillon) | Limite inférieure IC à 95 % | Limite supérieure IC à 95 % |
|---------------------|-------------|---------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 64/4176 | I | USA500 | 79 | 64 | 119 |
| N315 | II | USA100 | 94 | 76 | 131 |
| BK2464 | II | USA100 | 143 | 116 | 212 |
| 11373 | III | inconnu | 52 | 42 | 77 |
| MW2 | IVa | USA400 | 85 | 69 | 130 |
| BK2529 ¹ | IVd | USA500 | 256 | 216 | 334 |
| ST59-MRSA-V | V | USA1000 | 127 | 105 | 170 |
| HDE288 ¹ | VI | USA800 | 97 | 78 | 141 |
| JCSC6082 | VII | inconnu | 214 | 182 | 276 |
| WA MRSA-16 | VIII | inconnu | 292 | 259 | 384 |

¹ Isolats résistants à l'oxacilline hétérogènes.

Les résultats de cette étude indiquent que le test Xpert SA Nasal Complete produira un résultat positif à SA 95 % du temps avec une confiance à 95 % pour un écouvillon nasal contenant 175 UFC, et un résultat positif à SARM 95 % du temps avec une confiance à 95 % pour un écouvillon nasal contenant 300 UFC.

18.3 Réactivité analytique (inclusivité)

Deux cent quarante-huit (248) souches de *Staphylococcus aureus* ont été testées avec le test Xpert SA Nasal Complete. Toutes les souches ont été testées en triple, en utilisant des stocks de cellules dilués à des concentrations égales ou proches du seuil du test. Le nombre d'unités formant colonie par test a été déterminé par numération sur plaque du même volume et à la même dilution.

Les souches de SARM (199) et de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (49) 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 *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline ainsi que celles qui contiennent exclusivement le *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline ont été incluses.

Le test Xpert SA Nasal Complete a correctement identifié les 248 souches de *Staphylococcus aureus* : 49 comme **NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** ; 199 comme **POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE, SA POSITIVE)**. Les souches représentent les groupes de Cooper et Feil 1A, 1B et 2, 12 types et sous-types *SCCmec* (I, II, III, IV, IVa, IVb, IVc, IVd, V, VI, VII et VIII), 24 types de séquences (ST), 75 types *SpA*, 13 types PFGE et 18 complexes clonaux (CC).

Chacun des 39 isolats USA300 connus ont été correctement rapportés comme **POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**. Les variantes à cassette excisée, les souches BORSA et les souches hétérorésistantes ont toutes été correctement identifiées par le test Xpert SA Nasal Complete.

18.4 Substances interférentes

Dans l'étude expérimentale sur le test Xpert SA Nasal Complete, 63 des 2 487 prélèvements observés contenaient du mucus, 32 contenaient du sang et 7 contenaient d'autres substances non spécifiques, pouvant potentiellement interférer avec le test (noter que certains prélèvements contenaient plus d'un type de contaminant potentiel). Des tests exacts de Fisher effectués sur les données produites par des écouvillons avec et sans la présence de ces substances potentiellement interférentes ont montré que leur présence n'affectait pas la sensibilité pour SARM, la sensibilité pour SA ou la spécificité pour SA. En ce qui concerne la spécificité pour SARM, un taux de résultats faussement positifs légèrement plus élevé qu'attendu était associé aux prélèvements contenant du sang.

Dans une étude non clinique, des substances potentiellement interférentes susceptibles d'être présentes dans les prélèvements nasaux cliniques ont été évaluées en relation directe avec les performances du test Xpert SA Nasal Complete. Les substances potentiellement interférentes dans les prélèvements nasaux peuvent comprendre, mais sans s'y limiter : vaporisateurs nasaux, sérum physiologique, décongestionnants et antihistaminiques (y compris les corticoïdes inhalés par voie nasale), sang humain et mucus. Les substances testées figurent au Tableau 6 avec les principes actifs et les concentrations testées.

Dans les conditions de cette étude, aucun effet inhibiteur statistiquement significatif n'a été observé dans les échantillons négatifs ou positifs en présence de sang humain, de mucus et des vaporisateurs nasaux suivants testés à une concentration de 100 % (v/v) : Anefrin, NasalCrom, Neo-Synephrine, sérum physiologique, Rhinolast (Astelin) et gel Zicam. Les échantillons positifs comprenaient deux isolats cliniques de SA (N7129 et 102-04) et de SARM de type *SCCmec* II (N315) et IVa (MW2) enrichis à une concentration proche de la LDD analytique déterminée pour chaque isolat.

Des effets inhibiteurs du test SA Nasal Complete produisant des résultats de test non valides ont été observés en présence des corticoïdes inhalés par voie nasale Flonase et Nasonex, dans des échantillons négatifs à des concentrations respectives supérieures à 5 et 10 % (v/v). Des effets inhibiteurs du test SA Nasal Complete produisant des résultats de test faussement négatifs ont été observés en présence des corticoïdes inhalés par voie nasale Flonase et Nasonex, dans chaque isolat de SARM à des concentrations respectives supérieures à 1 et 5 % (v/v).

Tableau 6. Substances nasales potentiellement interférentes testées

| Substance | Principe actif | % testé |
|---|--|---|
| Tampon TET (contrôle) | Contrôle | Contrôle |
| Mucus (mucine) | Mucine porcine représentant des protéines fortement glycosylées (mucus) | 5 % (m/v) |
| Anefrin Spray (décongestionnant) | Oxymétazoline chlorhydrate à 0,05 % | 100 % (v/v) |
| Sang | S.O. | 100 % (v/v) |
| NasalCrom (contrôle des symptômes allergiques nasaux) | 5,2 mg de cromoglycate de sodium | 100 % (v/v) |
| Neo-Synéphrine (décongestionnant nasal) | Phényléphrine chlorhydrate à 0,5 % | 100 % (v/v) |
| Spray nasal hydratant de sérum physiologique | Chlorure de sodium à 0,65 % | 100 % (v/v) |
| Gel nasal Zicam (soulagement des symptômes allergiques des voies respiratoires supérieures) | Luffa operculata 4x, 12x, 30x Galphimia glauca 12x, 30x Histaminum hydrochloricum 12x, 30x, 200x Sulphur 12x, 30x, 200x | 100 % (v/v) |
| Nasonex (médicament pour les symptômes allergiques nasaux, corticoïde inhalé par voie nasale) | Mométasone furoate monohydrate 0,05 % (anti-inflammatoire corticoïde) | 100 % (v/v) 50 % (v/v) 25 % (v/v) 10 % (v/v) 5 % (v/v) |
| Flonase (corticoïde inhalé par voie nasale) | Fluticasone propionate à 0,05 % (corticoïde) | 100 % (v/v) 50 % (v/v) 25 % (v/v) 10 % (v/v) 5 % (v/v) 1 % (v/v) |
| Rhinolast (Astelin – antihistaminique en spray nasal) | Azélastine chlorhydrate à 0,1 % | 100 % (v/v) |

18.5 Évaluation des variantes à cassette excisée

Vingt-deux (22) isolats de *Staphylococcus aureus* identifiés comme « variantes à cassette excisée » ont été testés avec le test Xpert SA Nasal Complete. Des cultures d'une nuit ont été ajustées à 0,5 unité McFarland ($\sim 3 \times 10^8$ UFC/ml). Les cultures ont ensuite été diluées 100 mille fois $\sim 3\ 000$ UFC/ml. Chaque isolat a été ajouté au réactif tampon d'éluion du test Xpert SA Nasal Complete à ~ 300 UFC/test (proche de la LDD du test) et à $\sim 3 \times 10^5$ UFC/test.

Les 22 isolats ont été correctement rapportés comme **NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** aux deux concentrations cellulaires. Aucun signal *mecA* n'a été rapporté. Ces résultats démontrent qu'une « variante à cassette excisée » est correctement identifiée comme **NÉGATIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA POSITIVE)** et ne produira pas un résultat de test SARM faussement positif avec le test Xpert SA Nasal Complete.

18.6 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 10^7 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. Parmi les 20 échantillons négatifs traités immédiatement après les échantillons très fortement positifs, tous ont été correctement rapportés comme **NÉGATIF À SARM ; NÉGATIF À SA (MRSA NEGATIVE; SA NEGATIVE)**. Les 20 échantillons positifs ont été correctement rapportés comme **POSITIF À SARM ; POSITIF À SA (MRSA POSITIVE; SA POSITIVE)**.

19. Reproductibilité

Un panel comprenant 10 prélèvements 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 prélèvements x 2 fois/jour x 10 jours x 3 sites). Un lot du kit Xpert SA Nasal Complete a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert SA Nasal Complete ont été accomplis conformément à la procédure Xpert SA Nasal Complete. Les résultats sont résumés au Tableau 7 et au Tableau 8. Noter qu'en raison de la proximité à la LDD des concentrations des échantillons négatifs élevés, quelques résultats positifs étaient attendus.

Tableau 7. Synthèse des résultats de reproductibilité (tous)¹

| ID de l'échantillon | Site 1 | Site 2 | Site 3 | Concordance globale |
|-----------------------------------|------------------|------------------|------------------|---------------------|
| Nég. (MSSE) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| SA – Nég. élevé | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (57/60) |
| SA – Pos. bas | 85,0 % (17/20) | 95,0 % (19/20) | 100 % (20/20) | 93,3 % (56/60) |
| SA – Pos. moy. | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| SARM1 – Nég. élevé | 100 % (20/20) | 95,0 % (19/20) | 85,0 % (17/20) | 93,3 % (56/60) |
| SARM1 – Pos. bas | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (19/20) | 100 % (20/20) | 96,7 % (58/60) |
| SARM1 – Pos. moy. | 95,0 % (19/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 98,3 % (59/60) |
| SARM2 – Nég. élevé | 60,0 % (12/20) | 60,0 % (12/20) | 50,0 % (10/20) | 56,7 % (34/60) |
| SARM2 – Pos. bas | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (19/20) | 95,0 % (57/60) |
| SARM2 – Pos. moy. | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (20/20) | 100 % (60/60) |
| % de concordance globale par site | 92,5 % (185/200) | 93,5 % (187/200) | 92,5 % (185/200) | 92,8 % (557/600) |

¹ Pour les échantillons négatifs et négatifs élevés, le % de concordance = (nbre de résultats négatifs/total des échantillons testés) ; pour les échantillons positifs bas et moyens, le % de concordance = (nbre de résultats positifs/total des échantillons testés).

Tableau 8. Synthèse des résultats de valeur Ct par niveau d'échantillon et par cible

| CTE | | | |
|------------------|----------------|-------------------|---------------|
| Niveau | Moyenne | Écart-type | CV (%) |
| Nég. (MSSE) | 34,3 | 0,72 | 2,1 |
| SA Nég. élevé | 34,3 | 0,75 | 2,2 |
| SARM1 Nég. élevé | 34,6 | 0,86 | 2,5 |
| SARM2 Nég. élevé | 34,6 | 0,75 | 2,2 |
| SpA | | | |
| Niveau | Moyenne | Écart-type | CV (%) |
| SA Pos. bas | 33,7 | 0,91 | 2,7 |
| SA Pos. moy. | 31,6 | 0,71 | 2,2 |
| SARM1 Pos. bas | 32,6 | 1,53 | 4,7 |
| SARM1 Pos. moy. | 31,7 | 0,79 | 2,5 |
| SARM2 Pos. bas | 32,7 | 0,97 | 3,0 |
| SARM2 Pos. moy. | 30,6 | 0,85 | 2,8 |
| mecA | | | |
| Niveau | Moyenne | Écart-type | CV (%) |
| SARM1 Pos. bas | 33,3 | 0,88 | 2,6 |
| SARM1 Pos. moy. | 32,2 | 0,82 | 2,5 |
| SARM2 Pos. bas | 33,4 | 1,02 | 3,1 |
| SARM2 Pos. moy. | 31,1 | 0,75 | 2,4 |
| SCCmec | | | |
| Niveau | Moyenne | Écart-type | CV (%) |
| SARM1 Pos. bas | 34,1 | 0,86 | 2,5 |
| SARM1 Pos. moy. | 32,9 | 0,79 | 2,4 |
| SARM2 Pos. bas | 34,6 | 1,19 | 3,4 |
| SARM2 Pos. moy. | 32,5 | 0,80 | 2,5 |

20. Bibliographie

1. Bode LGM, Kluytmans JAJW, Wertheim HFL, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17.
2. Wenzel, RP. Editorial: Minimizing Surgical-Site Infections. N Engl J Med. 2010;362(1):75-77.
3. Bannerman TL. Chapter 28: *Staphylococcus*, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of Clinical Microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, D.C. 2003; 384-404.
4. National nosocomial infections surveillance (NNIS) system report, data summary from January 1992 through June 2004. Am J Infect Control 2004; 32:470-485.
5. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. Control of endemic methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. J Am Medical Assoc. 1999; 282(19):1745-1751.
6. Das I, O'Connell N, Lambert P. Epidemiology, clinical and laboratory characteristics of *Staphylococcus aureus* bacteraemia in a university hospital in UK. 1: J Hosp Infect. 2007 Feb;65(2):117-23.
7. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Emerg Infect Dis. 7(2):323-326.
8. Padmanabhan RA, Fraser TG. 2005. The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the community. Cleveland Clinic J Med. 72(3):235-241.
9. 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.
10. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
11. 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)).
12. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

21. Emplacements des sièges 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

22. 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.

23. Tableau des symboles

| Symbole | Signification |
|---|--|
|  | Numéro de référence |
|  | Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i> |
|  | N° de lot |
|  | Marquage CE – Conformité européenne |
|  | Mandataire agréé pour la Communauté européenne |
|  | Ne pas réutiliser |
|  | Consulter les instructions d'utilisation |
|  | Attention |
|  | Fabricant |
|  | Pays de fabrication |
|  | Quantité suffisante pour <n> tests |
|  | Date d'expiration |
|  | Contrôle |
|  | Limite de température |
|  | Risques biologiques |
|  | Avertissement |
|  | Mandataire en Suisse |
|  | Importateur |



Cepheid
 904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189
 États-Unis
 Téléphone : + 1 408 541 4191
 Fax : + 1 408 541 4192

Cepheid Europe S.A.S.
 Vira Solelh
 81470 Maurens-Scopont
 France
 Tél. : + 33 563 82 53 00
 Fax : + 33 563 82 53 01



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



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