

Xpert[®] vanA

REF GXVANA-10

Notice d'utilisation

IVD **R_xonly**

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

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.

© 2011–2024 Cepheid.

See Section 29 Revision History for a description of changes.

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.

© 2011–2024 Cepheid.

Voir la Section 29 Historique des révisions pour une description des modifications.

For Information Only - Not a Controlled Copy

Xpert[®] vanA

Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*



1 Nom de marque déposée

Xpert[®] vanA

2 Nom commun ou usuel

Xpert vanATest

3 Utilisation prévue

Le test Xpert vanA de Cepheid effectué dans le système GeneXpert[®] Dx est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection rapide de la séquence de gène *vanA* associée à la résistance bactérienne à la vancomycine dans des échantillons d'écouvillon rectal de patients présentant un risque de colonisation intestinale par des bactéries résistantes à la vancomycine. Le test utilise une réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter le gène *vanA* qui est fréquemment associé aux entérocoques résistants à la vancomycine (ERV). Le test Xpert vanA est prévu pour faciliter la détection, la prévention et le contrôle de la colonisation des patients par des micro-organismes résistants à la vancomycine dans les établissements de santé. Le test Xpert vanA n'est pas prévu pour diagnostiquer les infections provoquées par des bactéries résistantes à la vancomycine ni pour guider ou surveiller le traitement des infections bactériennes résistantes à la vancomycine. Il est nécessaire de réaliser en parallèle des cultures pour récupérer les micro-organismes à des fins d'identification des bactéries résistantes à la vancomycine, d'analyse de la sensibilité antimicrobienne et de typage épidémiologique.

4 Résumé et description

Les entérocoques sont des bactéries aérobies facultatives à Gram positif présentes dans la flore intestinale humaine. Les espèces *Enterococcus faecium* (*E. faecium*) et *Enterococcus faecalis* (*E. faecalis*) font partie des plus fréquentes¹. Les entérocoques représentent plus d'un tiers de toutes les infections en unité de soins intensifs (USI)². Les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) sont devenus une cause majeure d'infections nosocomiales, en particulier dans les services de transplantation et dans les USI³. Tout comme les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), les infections à ERV sont associées à une morbidité, une mortalité, une durée de séjour et des coûts hospitaliers accrus. Les données récentes du National Healthcare Safety Network (réseau national de sécurité des soins de santé) montrent que le nombre d'infections à ERV liées à des dispositifs est égal à celui des infections à SARM liées à des dispositifs⁴.

Les premiers isolats d'entérocoques résistants au glycopeptide vancomycine ont été signalés simultanément en France et au Royaume-Uni à la fin des années 1980. Depuis, le nombre d'isolats résistants a régulièrement augmenté⁵. On connaît à l'heure actuelle six gènes différents induisant une résistance à la vancomycine ; *vanA*, *vanB*, *vanC*, *vanD*, *vanE* et *vanG*, et des sous-types de *vanB* et *vanD* ont également été identifiés⁶. Les deux gènes les plus importants sur le plan clinique sont *vanA* (qui confère une résistance de niveau élevé à la teicoplanine et à la vancomycine) et *vanB* (qui confère une résistance de niveau modéré à élevé à la vancomycine et une résistance occasionnelle à la teicoplanine). Alors que le déterminant *vanA* a été identifié dans neuf isolats de *Staphylococcus aureus* aux États-Unis⁷ et chez de rares espèces de streptocoques, le gène *vanB* semble être plus largement disséminé dans de nombreuses espèces anaérobies intestinales⁸⁻¹³. Ainsi, la probabilité de récupérer un entérocoque contenant le gène *vanA* dans un échantillon de selles positif pour *vanA* reste élevée d'après les études publiées¹⁴, mais la valeur prédictive de la récupération d'entérocoques contenant le gène *vanB* dans des échantillons de selles positifs pour *vanB* par PCR est nettement moins élevée. Cette observation suggère que l'utilisation d'un test PCR

détectant *vanB* dans la population des États-Unis, où la prévalence des entérocoques porteurs du gène *vanB* est faible, peut conduire à la mise en quarantaine inutile de patients qui seraient identifiés à tort comme porteurs d'ERV par un test de détection de *vanB*.

La colonisation par les ERV s'acquiert généralement par des hôtes sensibles dans un environnement où se trouve une proportion élevée d'autres patients colonisés ou infectés par un ERV (p. ex., unités de soins intensifs, services d'oncologie, etc.). Le passage ou pas de la colonisation à l'infection dépend des caractéristiques de virulence du micro-organisme et de l'état de santé de la personne. Les patients immunocompétents présentent un risque moins élevé d'infection que les personnes dont le système immunitaire est affaibli ; toutefois, les deux groupes peuvent développer une infection suite à une colonisation¹.

Le risque de colonisation par des ERV a été attribué à l'utilisation de plusieurs classes antimicrobiennes, notamment les glycopeptides, les céphalosporines de troisième génération, les associations d'une bêta-lactamine et d'un inhibiteur de bêta-lactamase et les agents antimicrobiens dotés d'une activité puissante contre les bactéries anaérobies¹⁵. Les ERV se propagent par contact avec des personnes colonisées ou infectées, généralement au sein d'un établissement de santé, même si la transmission dans les centres de soins infirmiers a également été signalée. Ainsi, de nombreux établissements, notamment des hôpitaux pédiatriques¹⁶, mettent en œuvre des programmes de surveillance active pour identifier les porteurs d'ERV et les mettre en quarantaine de manière appropriée afin de réduire la transmission du micro-organisme¹⁷. Dans le cadre des programmes de dépistage en surveillance active, des écouvillons péri-rectaux ou rectaux sont obtenus auprès des patients et font l'objet de recherche d'ERV à l'admission, une fois par semaine, après un traitement antimicrobien et au moment de la sortie¹⁸.

Les programmes de surveillance active associés aux interventions de lutte contre les infections, notamment le lavage des mains et les précautions de contact avec les patients, constituent des composantes importantes pour prévenir la transmission de l'ERV^{16,17}. L'utilisation de tests apportant des résultats rapides pour identifier les patients porteurs d'ERV est également un facteur important de lutte et de prévention efficaces contre les épidémies d'infections nosocomiales à ERV¹⁴.

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 des tests PCR en temps réel et RT-PCR. 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. La contamination croisée entre les échantillons est éliminée, car les cartouches sont indépendantes. Pour une description complète du système, voir le *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

Le test Xpert *vanA* de Cepheid est un test rapide et automatisé de diagnostic *in vitro* pour la détection qualitative des séquences de gène de résistance à la vancomycine *vanA* directement dans des échantillons d'écouvillon rectal. Le test Xpert *vanA* avec le système GeneXpert Dx de Cepheid réalise une réaction en chaîne de la polymérase (PCR) multiplexe en temps réel pour détecter l'ADN après une étape initiale de traitement de l'échantillon.

6 Réactifs

6.1 Matériel fourni

Le kit Xpert *vanA* contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 échantillons cliniques ou échantillons de contrôle qualité.

Le kit contient les éléments suivants :

Xpert <i>vanA</i> Cartouches avec tubes réactionnels intégrés	10
• Billes 1, 2 et 3 (lyophilisées)	1 de chaque par cartouche
• Réactif 1	3,0 ml par cartouche

• Réactif 2 (hydroxyde de sodium)	3,0 ml par cartouche
Xpert vanA Réactif d'inactivation de l'échantillon	10
• Réactif d'inactivation de l'échantillon	1 x 1,7 ml
CD	1 par kit
• Fichier de définition du test (Assay Definition File, ADF)	
• Instructions pour importer l'ADF dans le logiciel GX	
• Notice d'utilisation	

Remarque

Des fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles à l'adresse www.cephheid.com ou www.cephheidinternational.com, dans l'onglet ASSISTANCE (SUPPORT).

Remarque

Le stabilisateur de protéine contenu dans les billes de ce produit a été produit et fabriqué exclusivement à partir de plasma bovin provenant des États-Unis. Les animaux n'ont pas été alimentés par des protéines de ruminant ou d'autres protéines animales ; ils ont subi avec succès les analyses ante- et post-mortem. Pendant la fabrication, le produit n'a été mélangé à aucun autre produit d'origine animale.

6.2 Stockage et manipulation

- Stocker les cartouches et réactifs Xpert vanA à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas utiliser les réactifs d'inactivation de l'échantillon ou les cartouches après leur date de péremption.
- Ne pas utiliser le moindre réactif d'inactivation de l'échantillon visiblement trouble ou ayant changé de couleur.

7 Matériel requis mais non fourni

- Système GeneXpert Dx (le numéro de référence varie en fonction de la configuration) : Système GeneXpert, ordinateur, lecteur manuel de codes-barres et manuel d'utilisation.
 - Pour le système GeneXpert Dx : Logiciel GeneXpert Dx version 2.1 ou ultérieure
- Imprimante : Si une imprimante est requise, contacter le service clients de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Agitateur à vortex
- Pipettes de transfert jetables stériles
- Sample Collection Device (dispositif de prélèvement d'échantillon) Cepheid 900-0370 (système d'écouvillon double pour culture et transport Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART)

8 Matériel disponible mais non fourni

Gibson Laboratories, LLC, n° de réf. CeVRE-01 (Enterococcus faecium résistant à la vancomycine, vanA) comme contrôle positif et n° de réf. CeVRE-02 (Enterococcus faecalis sensible à la vancomycine) comme contrôle négatif.


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

9 Avertissements et mentions « Attention »

- Réservé à un usage de diagnostic *in vitro*.
- Utilisation uniquement sur ordonnance.
- 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 pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis)¹⁹ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire, anciennement National Committee for Clinical Laboratory Standards) tiennent à disposition des directives concernant la manipulation des échantillons.²⁰

- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le test Xpert vanA ne fournit pas de résultats de sensibilité. Une aliquote d'échantillon distincte et du temps supplémentaire sont requis pour la mise en culture et la réalisation des tests de sensibilité.
- Ne pas remplacer le réactif d'inactivation de l'échantillon du test Xpert vanA par un autre réactif échantillon.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert vanA, sauf pour l'ajout de l'échantillon ou pour répéter un test.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après avoir ajouté l'échantillon.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé (p. ex. il est tordu ou cassé).
- Chaque cartouche Xpert vanA à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant susceptibles de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les procédures environnementales d'élimination des déchets de l'établissement pour l'élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ce matériel peut 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].
- Conserver le kit Xpert vanA entre 2 et 28 °C.
- Le réactif 2 contient de l'hydroxyde de sodium (pH > 12,5) ; (H302, H315, H319) qui est corrosif pour les yeux et la peau, et exige une protection oculaire et cutanée.

10 Risques chimiques^{21, 22}

- 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 des yeux persiste: consulter un médecin.
 - EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
 - Rincer la bouche.
 - **Stockage/Mise au rebut**
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

11 Prélèvement, transport et conservation des échantillons

Les échantillons sur écouvillon rectal peuvent être prélevés avec le Sample Collection Device (dispositif de prélèvement d'échantillon) Cepheid (réf. 900-0370, ou équivalent) en suivant les procédures standard de l'établissement de l'utilisateur. Les échantillons d'écouvillon sont remis dans le tube de transport en plastique (milieu Stuart liquide, dispositif de prélèvement Cepheid ou Copan recommandés) et envoyés au lieu de test GeneXpert pour traitement. L'échantillon sur écouvillon peut être conservé pendant 24 heures à température ambiante ou jusqu'à 5 jours entre 2 °C et 8 °C avant d'être testé. Les échantillons peuvent être testés après un cycle de congélation/décongélation.

12 Procédure

12.1 Préparation de la cartouche

Important Démarrer le test dans les 30 minutes qui suivent l'ajout du réactif d'inactivation de l'échantillon à la cartouche.

Pour ajouter l'échantillon à la cartouche (Xpert vanA):

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

Remarque Un seul écouvillon est requis.

3. Introduire l'écouvillon dans le tube qui contient le réactif d'inactivation de l'échantillon.

Remarque Utiliser un tampon de gaze stérile pour réduire au minimum le risque de contamination.

4. Tenir l'écouvillon par la tige à proximité du bord du tube, sortir l'écouvillon de quelques millimètres pour l'éloigner du fond du tube puis appuyer la tige contre le bord du tube pour la casser. S'assurer que l'écouvillon est suffisamment court pour permettre au capuchon d'être bien refermé.
5. Fermer le couvercle et mélanger au vortex à haute vitesse pendant 10 secondes.
6. Ouvrir le couvercle de la cartouche. À l'aide d'une pipette de transfert propre (non fournie), transférer tout le contenu du réactif d'inactivation de l'échantillon dans la chambre échantillon de la cartouche Xpert vanA.
7. Fermer le couvercle de la cartouche.

12.2 Démarrage du test

Avant de démarrer le test, s'assurer que :

- Important**
- Le système exécute la version correcte du logiciel GeneXpert Dx indiquée dans la section « Matériel nécessaire, mais non fourni ».
 - Le fichier de définition du test correct est importé dans le logiciel.

Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour obtenir les instructions détaillées, voir le *GeneXpert Dx System Operator Manual*.

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

1. Allumer le GeneXpert Dx System puis allumer l'ordinateur et se connecter. Le logiciel GeneXpert démarrera automatiquement. Si ce n'est pas le cas, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx sur le bureau Windows®.
2. Se connecter à l'aide du nom d'utilisateur et du mot de passe.
3. Dans la fenêtre du **système GeneXpert**, cliquer sur **Créer un test (Create Test)**. La fenêtre **Créer un test (Create Test)** s'affiche. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id du patient (Scan Patient ID Barcode)** s'affiche.
4. Lire ou saisir le 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 s'affiche dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)**, ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres du n° Id de l'échantillon (Scan Sample ID Barcode)** s'affiche.

5. Lire ou saisir le n° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon (Sample ID).
Le numéro d'identification de l'échantillon est associé aux résultats du test et s'affiche dans la fenêtre **Afficher les résultats (View Results)** ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue **Lire le code-barres de la cartouche (Scan Cartridge Barcode)** s'affiche.
6. Scannez le code-barres sur la cartouche. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), n° du lot de réactif (Reagent Lot ID), n° de série de la cartouche (Cartridge S/N) et Date de péremption (Expiration Date).

Remarque

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

7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. Dans la boîte de dialogue qui s'affiche, saisir le mot de passe, le cas échéant.
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 ensuite retirer la cartouche.
11. Éliminer les cartouches usagées dans un conteneur à déchets pour échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

13 Affichage et impression des résultats

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

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.

14 Contrôle qualité

14.1 Contrôles qualité intégrés

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

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE)** – Assure le traitement correct de l'échantillon. Le CTE qui est compris dans chaque cartouche vérifie le traitement adéquat de la bactérie de l'échantillon. Le CTE vérifie que la lyse des bactéries résistantes à la vancomycine 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.
- **Contrôle de vérification des sondes (CVS)** – Avant le début de la réaction PCR, le système GeneXpert Dx mesure le signal de fluorescence des sondes pour surveiller la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant. La vérification des sondes 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.

Sources de contrôles externes :

- Microbiologics®, n° de réf. 0366 (*Enterococcus faecalis* sensible à la vancomycine)
- Université de Göteborg (collection de cultures de Göteborg) CCUG36804 (*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine, *vanA*)
- Gibson Laboratories, LLC, n° de réf. CeVRE-01 (vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*, *vanA*) et n° de réf. CeVRE-02 (vancomycin-sensitive *Enterococcus faecalis*)

For Information Only - Not a Controlled Copy

15 Interprétation des résultats

Les résultats sont interpolés par le système GeneXpert à partir de signaux de fluorescence mesurés et d'algorithmes de calcul intégrés, et sont affichés dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results) (Figure 1, Figure 2, et Figure 3). Les résultats possibles sont :

Tableau 1. Résultats et interprétation

Résultat	Interprétation
POSITIF (POSITIVE) Figure 1	L'ADN de la cible <i>vanA</i> est détecté. <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> POSITIF (POSITIVE) – La cible <i>vanA</i> a une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. • CTE – Sans objet (NA) : le CTE est ignoré car l'amplification de <i>vanA</i> risque de faire concurrence à ce contrôle. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
NÉGATIF (NEGATIVE) Figure 2	L'ADN de la cible <i>vanA</i> n'est pas détecté. Le CTE répond aux critères d'acceptation. <ul style="list-style-type: none"> • NÉGATIF (NEGATIVE) – Aucun ADN cible <i>vanA</i> n'est détecté. • CTE – RÉUSSITE (PASS) ; le CTE a une valeur Ct dans la plage de validation et un point final supérieur au réglage minimum. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.
NON VALIDE (INVALID) Figure 3	La présence ou l'absence de <i>vanA</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été correctement traité ou la PCR est inhibée. <ul style="list-style-type: none"> • NON VALIDE (INVALID) – la présence ou l'absence d'ADN <i>vanA</i> est impossible à déterminer. • CTE – ÉCHEC (FAIL) ; le résultat de la cible <i>vanA</i> est négatif, le CTE a une valeur Ct qui n'est pas dans la plage de validation et un point final inférieur au réglage minimum. • Vérification des sondes – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification des sondes ont réussi.

Résultat	Interprétation
ERREUR (ERROR)	<p>La présence ou l'absence de <i>vanA</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Le contrôle de vérification des sondes a échoué, probablement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité des sondes ou d'un dépassement des limites de pression maximale.</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE – PAS DE RÉSULTAT (SPC – NO RESULT) • Vérification de la sonde – ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou plusieurs résultats de vérification des sondes • *Si la vérification des sondes a réussi, l'erreur est due à une défaillance d'un composant du système.
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<p>La présence ou l'absence de <i>vanA</i> est impossible à déterminer, répéter le test conformément aux instructions données dans la section Procédure de répétition du test ci-dessous. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test (par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours).</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>vanA</i> – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) • CTE – PAS DE RÉSULTAT (SPC – NO RESULT) • Vérification des sondes—Sans objet (Probe Check—NA)

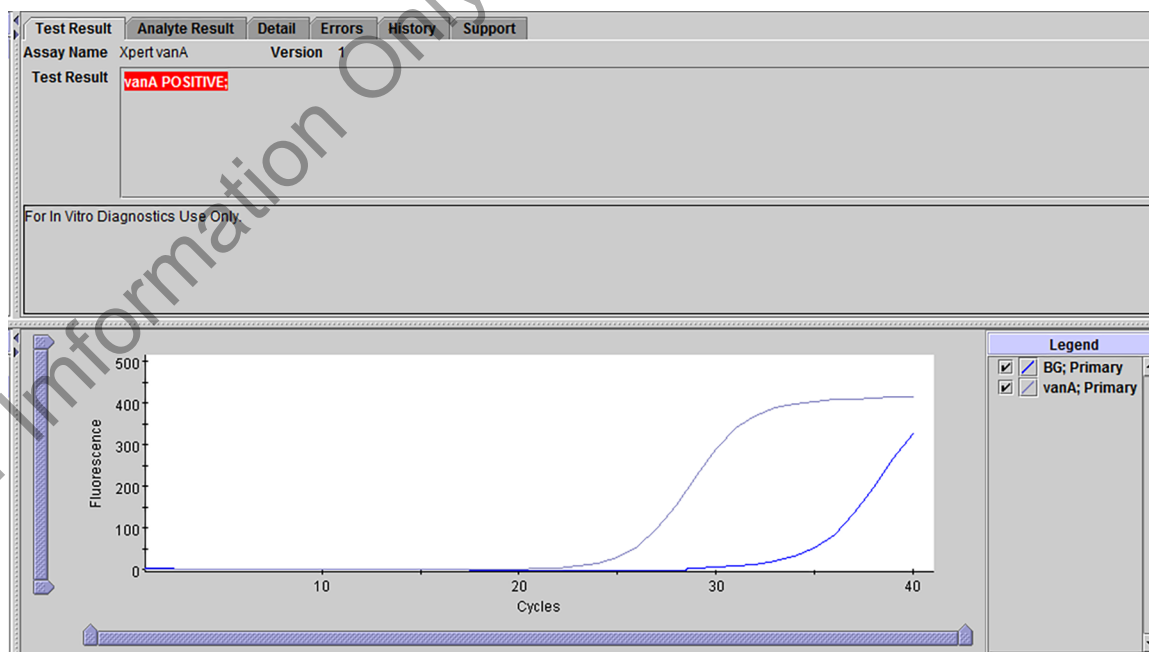


Figure 1. Exemple d'un résultat positif pour vanA

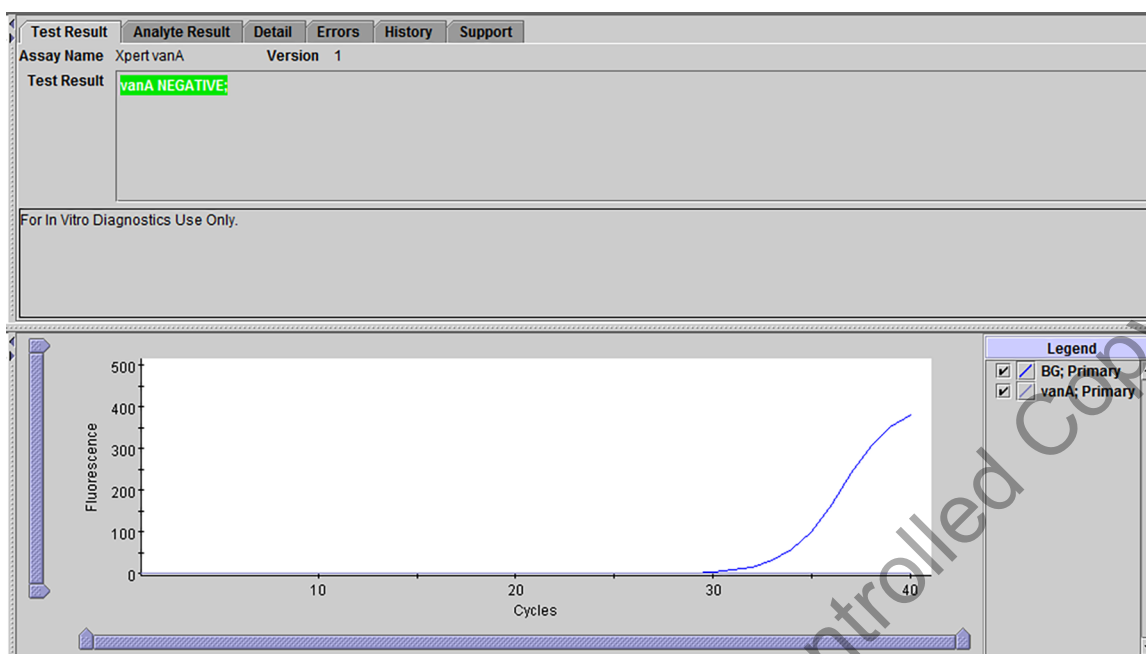


Figure 2. Exemple d'un résultat négatif pour vanA

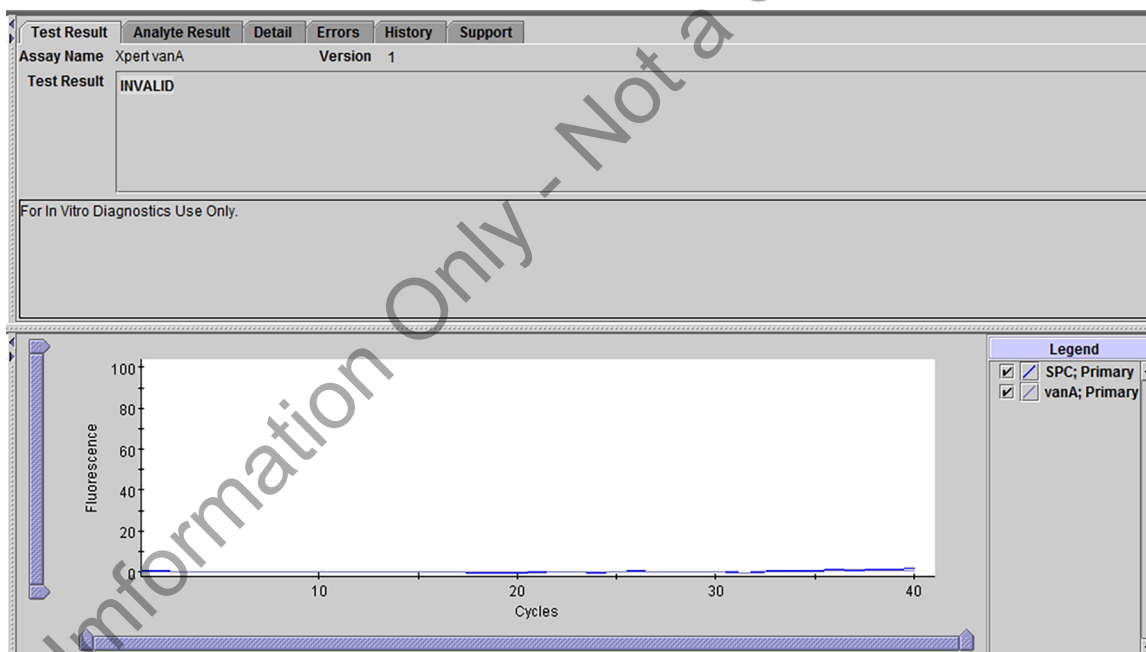


Figure 3. Exemple d'un résultat non valide

16 Répétitions du test

16.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

Si l'un des résultats de test cités ci-dessous se produit, répéter le test conformément aux instructions données dans la section intitulée Section 16.2.

Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique que les contrôles CTE ont 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 des sondes a échoué et que le test a été annulé, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde ou d'un dépassement des limites de pression maximale.

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

16.2 Procédure de répétition du test

Si la répétition du test est accomplie dans les 3 heures suivant un résultat indéterminé (c'est-à-dire, **NON VALIDÉ [INVALID], ERREUR [ERROR] ou PAS DE RÉSULTAT [NO RESULT]**), utiliser une nouvelle cartouche Xpert vanA (ne pas réutiliser la cartouche) et un nouveau flacon de réactif d'inactivation de l'échantillon. Transférer tout le contenu restant de la chambre S vers un nouveau réactif d'inactivation de l'échantillon. Mélanger au vortex et ajouter tout le contenu du réactif d'inactivation de l'échantillon à la chambre échantillon de la nouvelle cartouche Xpert vanA.

17 Limites

- Les performances du test Xpert vanA de Cepheid pour détecter la séquence de gène vanA dans des micro-organismes autres qu'*Enterococcus* sont inconnues.
- Les performances du test Xpert vanA ont été validées en utilisant uniquement les procédures indiquées dans cette notice d'utilisation. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test.
- L'utilisation d'un système de prélèvement et de transport des échantillons autre que le Sample Collection Device (dispositif de prélèvement d'échantillon) de Cepheid (système d'écouvillon double pour culture et transport Copan Venturi Transystem®) (139CFM LQ STUART) n'est pas recommandée et n'a pas été validée.
- Une crème à base d'hydrocortisone (1 % d'hydrocortisone) et le Pepto-Bismol® (1 à 5 % de subsalicylate de bismuth) peuvent interférer avec le test Xpert vanA. Lors du test d'interférence, la crème à base d'hydrocortisone et le Pepto-Bismol® ont produit des valeurs Ct légèrement supérieures par rapport au contrôle tampon.
- Le test Xpert vanA détecte uniquement le gène vanA et non le micro-organisme ; par conséquent les gènes vanA portés par des souches non entérocoquiques, comme les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la vancomycine, peuvent également produire un résultat positif.
- En raison du facteur de dilution associé à la procédure pour retester, il est possible que des échantillons positifs à vanA, très proches ou à la limite de détection (LD) du test Xpert vanA, produisent un résultat faux négatif lorsqu'ils sont retestés.
- Des résultats de test erronés peuvent se produire en raison d'un prélèvement incorrect de l'échantillon, du non-respect des procédures recommandées pour le prélèvement, la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration de microorganismes dans l'échantillon trop basse pour être détectée par le test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- La détection de la séquence du gène vanA étant dépendante du nombre de micro-organismes porteurs du gène vanA présents dans l'échantillon, la fiabilité des résultats repose sur un prélèvement, une manipulation et une conservation appropriés de l'échantillon.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence de microorganismes viables. Il constitue toutefois une présomption de présence de bactéries porteuses du gène vanA.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de variants de vanA nouveaux ou inconnus, produisant un résultat faux négatif.
- Les valeurs prédictives positive et négative dépendent fortement de la prévalence. Les performances du test Xpert vanA peuvent varier selon la prévalence et la population étudiée.
- Les résultats de test peuvent également être affectés par une antibiothérapie concomitante ou par le nombre de micro-organismes présents dans l'échantillon, qui peut être inférieur à la limite de détection du test.

18 Caractéristiques des performances

18.1 Valeurs attendues

Dans l'étude clinique du test Xpert vanA, un total de 1 231 échantillons d'écouvillons rectaux provenant de trois centres d'étude ont été inclus. Le nombre et le pourcentage de cas positifs à vanA par culture enrichie avec séquençage bidirectionnel, calculés par tranche d'âge, sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 2. Prévalence observée de vanA par tranche d'âge

Tranche d'âge	N	Prévalence de vanA
2-5	3	0 % (0/3)
6-21	19	5,3 % (1/19)
22-59	466	12,7 % (59/466)
>60	743	13,9 % (103/743)

18.2 Performances cliniques

Les caractéristiques des performances du test Xpert *vanA* ont été déterminées lors d'une étude expérimentale prospective multicentrique réalisée dans trois établissements aux États-Unis et comparant le test Xpert *vanA* à la culture de référence suivie d'un séquençage bidirectionnel pour confirmer les isolats d'*Enterococcus* résistants à la vancomycine.

Les sujets comprenaient des personnes dont les soins de routine exigeaient une analyse des ERV. Un écouvillon d'un jeu d'écouvillon double était utilisé pour la prise en charge du patient ; le deuxième écouvillon était utilisé pour le test Xpert *vanA*. L'écouvillon restant prévu pour la prise en charge du patient était envoyé à un laboratoire central pour la culture de référence.

Les échantillons sur écouvillon restants prévus pour l'analyse par culture étaient conservés entre 2 °C et 8 °C et expédiés sur blocs de glace au laboratoire de culture central dans les 48 heures suivant le prélèvement. La culture de référence était lancée dans les 16 heures suivant la réception ou dans les 5 jours suivant le prélèvement sur écouvillon.

Chaque écouvillon était ensuite placé dans un bouillon d'enrichissement. Les plateaux étaient incubés à 35 °C et examinés à 48 et 72 heures. Le bouillon était également incubé à 35 °C pendant 48 heures puis mis en sous-culture sur une gélose bile-esculine-azide avec 6 µg/ml de vancomycine.

Les petites colonies grises avec un halo noir étaient considérées suspectes pour l'ERV. L'identification présumée était réalisée par coloration de Gram, test de la catalase et test du disque pyr (L-pyrrolidonyl-bêta-naphthylamide). Les échantillons d'ERV présumés étaient des *coques* ou des *coccobacilles* à Gram positif positifs au test pyr. Les ERV présumés étaient identifiés définitivement par bandelette API20S (BioMérieux, France). Enfin, la sensibilité des isolats d'ERV aux glycopeptides était testée sur bandelettes ϵ -test de vancomycine (AB Biodisk, Suède). La sensibilité des isolats à la teicoplanine était déterminée par dilution en milieu gélosé.

Suite aux analyses sur la culture de référence, l'ADN était préparé à partir des isolats d'*Enterococcus* résistants à la vancomycine et envoyés à un deuxième laboratoire de référence pour séquençage bidirectionnel au moyen d'autres amorces spécifiques de *vanA* (c.-à-d. différentes de celles utilisées dans le test Xpert *vanA*).

Les performances du test Xpert *vanA* ont été calculées par rapport aux résultats obtenus en culture directe avec séquençage bidirectionnel et en culture enrichie avec séquençage bidirectionnel.

18.3 Résultats généraux

Au total, 1 231 échantillons ont été testés par test Xpert *vanA*, culture et séquençage bidirectionnel.

Performances versus la culture directe

Par rapport à la culture directe avec séquençage bidirectionnel, le test Xpert *vanA* a présenté un pourcentage de concordance positive de 98,4 % et un pourcentage de concordance négative de 92,4 % (Tableau 3).

Tableau 3. Performances du test Xpert *vanA* vs culture directe avec séquençage bidirectionnel

		Culture directe + séquençage		
Test Xpert vanV		Pos.	Nég.	Total
	Pos.	126	84	210
	Nég.	2	1019	1021
	Total	128	1 103	1 231
% de concordance positive : 98,4 % % de concordance négative : 92,4 % Précision : 93,0 % VPP : 60,0 % VPN : 99,8 % Prévalence : 10,4 %				

Parmi les tests Xpert vanA exécutés sur les échantillons éligibles, 94,0 % (1 180/1 255) des échantillons ont réussi dès la première tentative. Les 75 tests restants ont produit des résultats indéterminés à la première tentative (26 « NON VALIDE (INVALID) », 49 « ERREUR (ERROR) » et 0 « PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) »). Soixante-deux (62) des 75 résultats indéterminés à la première tentative avaient suffisamment d'échantillon pour répéter le test ; 82,3 % (51/62) ont produit un résultat à la deuxième tentative. Le taux de succès global du test (en combinant la première et la deuxième tentative) était de 98,1 % (1 231/1 255).

Performances versus la culture enrichie

Par rapport à la culture enrichie avec séquençage bidirectionnel, le test Xpert vanA a présenté un pourcentage de concordance positive de 86,5 % et un pourcentage de concordance négative de 93,5 % (Tableau 4).

Tableau 4. Performances du test Xpert vanA vs culture enrichie avec séquençage bidirectionnel

		Culture enrichie + séquençage		
Test Xpert vanV		Pos.	Nég.	Total
	Pos.	141	69	210
	Nég.	22	999	1021
	Total	163	1 068	1 231
% de concordance positive : 86,5 % % de concordance négative : 93,5 % Précision : 92,6 % VPP : 67,1 % VPN : 97,8 % Prévalence : 13,2 %				

Parmi les tests Xpert *vanA* exécutés sur les échantillons éligibles, 94,0 % (1 180/1 255) des échantillons ont réussi dès la première tentative. Les 75 tests restants ont produit des résultats indéterminés à la première tentative (26 « NON VALIDE (INVALID) », 49 « ERREUR (ERROR) » et 0 « PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) »). Soixante-deux (62) des 75 résultats indéterminés à la première tentative avaient suffisamment d'échantillon pour répéter le test ; 82,3 % (51/62) ont produit un résultat à la deuxième tentative. Le taux de succès global du test (en combinant la première et la deuxième tentative) était de 98,1 % (1 231/1 255).

19 Prise d'antibiotiques

Parmi les 1 231 cas inclus dans le jeu principal de données, 414 sujets ont signalé une prise d'antibiotiques dans les 3 semaines précédant le prélèvement de l'échantillon et 483 sujets ont confirmé n'avoir pris aucun antibiotique ; la présence d'une antibiothérapie était inconnue dans 334 cas. La prise d'antibiotiques n'a produit aucune différence statistiquement significative dans les performances du test.

20 Spécificité analytique

Quarante-deux souches bactériennes et fongiques ont été collectées, quantifiées et testées avec le test Xpert *vanA*. Les souches ont été obtenues de l'American Type Culture Collection (ATCC), la Culture Collection University of Göteborg (CCUG), la German Collection of Microorganisms and Cell Cultures (DSMZ) et les Centers for Disease Control and Prevention (CDC).

Les micro-organismes testés ont été identifiés comme étant à Gram positif (22) ou à Gram négatif (18), avec notamment des souches de *Pseudomonas spp.* et d'*Acinetobacter spp.* résistantes aux antibiotiques et des souches de levure (2). Les organismes ont aussi été classés comme aérobies (24), anaérobies (14) ou microaérophiles (2). Parmi les espèces testées, deux (2) souches sensibles à la vancomycine représentant *E. faecalis* et *E. faecium* ont été incluses.

Chaque souche a été testée en triple à des concentrations allant de $8,5 \times 10^8$ à $2,3 \times 10^{10}$ UFC/écouvillon. Les levures ont été testées à environ 10^7 cellules par écouvillon. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. Dans les conditions de l'étude, tous les isolats ont été rendus en « *vanA* NÉGATIF ». La spécificité analytique était de 100 %.

21 Réactivité analytique (inclusivité)/évaluation d'un panel de souches de challenge bien caractérisées

Trente souches d'entérocoques résistants à la vancomycine (*vanA* et *vanB*) et 20 souches d'entérocoques sensibles à la vancomycine (toutes fournies par les CDC) ont été testées avec le test Xpert *vanA*. Parmi les 30 souches d'entérocoques résistants à la vancomycine, 10 étaient identifiées par les CDC comme étant porteuses de *vanA* et 20 comme étant porteuses de *vanB*. Les souches d'entérocoques ont été sélectionnées pour représenter dans les grandes lignes la diversité génétique présente chez les entérocoques. Des souches de collection ont été préparées par suspension de la croissance bactérienne des géloses dans du tampon PBS contenant 15 % de glycérol. La concentration de chaque souche de collection a été ajustée entre $5,6 \times 10^9$ et $2,1 \times 10^{10}$ UFC/ml. Toutes les souches ont été diluées en série à environ 360 UFC/écouvillon et testées en triple.

Dans les conditions de l'étude, les 20 souches sensibles à la vancomycine ont été rendues correctement en « *vanA* NÉGATIF ». Parmi les 10 souches d'entérocoques résistants à la vancomycine porteuses de *vanA* testées, une souche a été rendue en « *vanA* NÉGATIF ». Lorsque cette souche a été séquencée, les données correspondaient à 100 % à une séquence de référence *vanB*, ce qui confirme que le test Xpert *vanA* avait rendu correctement la souche en « *vanA* NÉGATIF ». Les 9 souches restantes d'entérocoques résistants à la vancomycine porteuses de *vanA* ont été rendues correctement en « *vanA* POSITIF ». Les 20 souches d'entérocoques résistants à la vancomycine porteuses de *vanB* (non porteuses de *vanA*) ont toutes été rendues correctement en « *vanA* NÉGATIF ». Les résultats de l'étude de réactivité analytique (inclusivité) sont résumés dans le Tableau 5, les informations sur le génotype ont été fournies par les CDC.

Tableau 5. Tableau résumé des résultats de réactivité analytique (inclusivité) du test Xpert *vanA* sur un panel d'échantillons d'entérocoques fourni par les CDC

ID échantillon	Microorganisme	Génotype ^a	Résultat Xpert <i>vanA</i>
----------------	----------------	-----------------------	----------------------------

ID échantillon	Microorganisme	Génotype ^a	Résultat Xpert vanA
NJ-5	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VA32	E. casseliflavus	Sensible	vanA NÉGATIF
VS110	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS119	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS307	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS314	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS406	E. faecium	Sensible	vanA NÉGATIF
VS413	E. casseliflavus	Sensible	vanA NÉGATIF
VS414	E. casseliflavus	Sensible	vanA NÉGATIF
VS418	E. casseliflavus	Sensible	vanA NÉGATIF
VS517	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS604	E. faecium	Sensible	vanA NÉGATIF
VS615	E. faecium	Sensible	vanA NÉGATIF
VS719	E. faecalis	Sensible	vanA NÉGATIF
VS804	E. casseliflavus	Sensible	vanA NÉGATIF
NJ-4	E. gallinarium	Sensible (vanC)	vanA NÉGATIF
VS106	E. gallinarium	Sensible (vanC)	vanA NÉGATIF
VS411	E. gallinarium	Sensible (vanC)	vanA NÉGATIF
VS608	E. gallinarium	Sensible (vanC)	vanA NÉGATIF
VS807	E. gallinarium	Sensible (vanC)	vanA NÉGATIF
E38-10	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
E6-1	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
NJ-2	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VA16	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VA36	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VA38	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VA63	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VA8	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VA89	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS102	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS103	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VS111	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS112	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VS319	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS415	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS416	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF

ID échantillon	Microorganisme	Génotype ^a	Résultat Xpert vanA
VS501	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS506	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
VS514	E. faecalis	vanB	vanA NÉGATIF
VS605	E. faecium	vanB	vanA NÉGATIF
A256	E. faecalis	vanA	vanA POSITIF
NJ-1	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VA100 ^b	E. faecium	vanA	vanA NÉGATIF
VA29	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VA6	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VS105	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VS318	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VS420	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VS511	E. faecium	vanA	vanA POSITIF
VS611	E. faecalis	vanA	vanA POSITIF

^a Les informations de génotype présentées dans la colonne grisée ont été fournies par les CDC.

^b Le séquençage a confirmé que cet échantillon est de sous-type *vanB*, et non *vanA* comme typé par les CDC.

22 Sensibilité analytique

Des études ont été réalisées pour déterminer les intervalles de confiance à 95 % pour la limite de détection (LD) analytique d'*Enterococcus faecium* (*vanA*) dilué dans une matrice fécale d'origine humaine détectable avec le test Xpert *vanA*. La matrice fécale se composait de selles liquides humaines autoclavées (*vanA* négatives) diluées selon un rapport de 1 pour 10 dans du tampon Tris. La LD est définie comme le plus petit nombre d'unités formant colonie (UFC) par écouvillon pouvant être différencié de façon reproductible des échantillons négatifs avec une confiance de 95 %.

La LD analytique a été évaluée en utilisant 4 à 10 réplicats pour chaque dilution. La LD a été confirmée en traitant un total de 20 réplicats à la concentration estimée de la LD.

Dans les conditions de cette étude, la limite de détection du test Xpert *vanA* pour un échantillon d'écouvillon rectal simulé est de 37 UFC.

23 Substances interférentes

Seize substances exogènes parfois utilisées ou trouvées dans les selles ont été testées pour leur interférence avec le test Xpert *vanA*. Les substances sont indiquées dans le Tableau 6. Aucune des 16 substances testées n'a montré d'interférence détectable pour *vanA*. Cependant, une crème à base d'hydrocortisone (1 % d'hydrocortisone) et le Pepto-Bismol® (1 à 5 % de subsalicylate de bismuth) peuvent légèrement interférer avec le test Xpert *vanA*. Lors du test d'interférence, la crème à base d'hydrocortisone et le Pepto-Bismol® ont produit des valeurs Ct légèrement supérieures par rapport au contrôle tampon.

Tableau 6. Substances testées ne montrant aucune interférence avec le test pour *vanA*

Substance	Substance
-----------	-----------

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

^a Lors du test d'interférence, les résultats montraient des valeurs Ct légèrement supérieures par rapport au contrôle tampon.

24 Reproductibilité

Un panel comprenant quatre échantillons à des concentrations variées de *vanA* a été testé lors de 10 jours différents par deux opérateurs différents sur chacun des trois sites (4 échantillons x 2 opérateurs/jour x 10 jours x 3 sites). Un lot du test Xpert *vanA* a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert *vanA* ont été effectués conformément à la procédure du test Xpert *vanA*. Les résultats sont résumés au Tableau 7 et au Tableau 8.

Tableau 7. Synthèse des résultats de reproductibilité (tous)^a

N° Id de l'échantillon	% de concordance ^a			% de concordance globale par échantillon
	Site 1	Site 2	Site 3	
Nég.	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,7 % (58/60)
<i>vanA</i> , nég. élevé	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
<i>vanA</i> , pos. faible	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)

N° Id de l'échantillon	% de concordance ^a			% de concordance globale par échantillon
	Site 1	Site 2	Site 3	
<i>vanA</i> , pos. moy.	100 % (20/20)	95 % (19/20)	100 % (20/20)	98,3 % (59/60)
% de concordance globale par centre	100 % (80/80)	96,3 % (77/80)	98,8 % (79/80)	98,3 % (236/240)

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

Bg			
Niveau	Moyenne	Écart-type	CV
<i>vanA</i> , nég. élevé	32,88	0,60	1,83 %
<i>vanA</i> , pos. faible	32,88	0,77	2,34 %
<i>vanA</i> , pos. moy.	32,80	0,78	2,38 %
Nég.	33,15	0,65	1,96 %
<i>vanA</i> ^a			
Niveau	Moyenne	Écart-type	CV
<i>vanA</i> , pos. faible	33,76	1,00	2,95 %
<i>vanA</i> , pos. moy.	30,35	1,33	4,40 %

^a Seuil Ct pour *vanA* = 40

25 Références

1. Fischetti VA, Novick RP, Ferretti JJ, Portnoy DA; Rood JI (éditeurs). Gram-Positive Pathogens. ASM Press, Washington D.C. 2000
2. deBruin MA, Riley LW. Does vancomycin prescribing intervention affect vancomycin-resistant enterococcus infection and colonization in hospitals? A systematic review. BMC Infect Dis. 2007;7:24.
3. Calderwood MS, Mauer A, Tolentino J, et al. Epidemiology of vancomycin-resistant enterococci among patients on an adult stem cell transplant unit: observations from an active surveillance program. Infect Control Hosp Epidemiol. 2008;29:1019-1025.
4. Hidron A, Edwards JR, Patel J, et al. NHSN Annual Update: Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: annual summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention, 2006-2007. Infect Control Hosp Epidemic. 2008;29:996-1011.
5. Cetinkaya Y, Falk P and Mayhall CG. Vancomycin-resistant enterococci. Clin Micro Rev. 2000;13:686-707.
6. Courvalin P. Vancomycin resistance in Gram-positive cocci. Clin Infect Dis. 2006;42 approuvisionnement 1 : S25-34.
7. Sievert DM, Rudrik JT, Patel JB, et al. Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus in the United States, 2002-2006. Clin Infect Dis. 2008;46:668-674.
8. Zirakzadeh A, Patel R. Vancomycin-resistant enterococci: Colonization, infection, detection and treatment. Mayo Clin Proc. 2006;81:529-536.
9. Ballard SA, Pertile KK, Lim M, et al. Molecular characterization of *vanB* elements in naturally occurring gut anaerobes. Antimicrob Agents Chemother. 2005;49(5):1688-1694.

10. Petrich AK, Luinstra KE, Groves D, et al. Direct detection of *vanA* and *vanB* genes in clinical specimens for rapid identification of VRE using multiplex PCR. *Mol Cellular Probes*. 1999;13:275-281.
11. Domingo MC, Huletsky A, Bernal R, et al. Characterization of a Tn5382-like Transposon Containing the *vanB2* Gene Cluster in a *Clostridium* Strain Isolated from Human Faeces. *J Antimicrob Chemother*. 2005;55:466-474.
12. Domingo MC, Huletsky A, Giroux K, et al. High prevalence of glycopeptides resistance genes *vanB*, *vanD*, and *vanG* not associated with enterococci in human fecal flora. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(11):4784-4786.
13. Ballard SA, Grabsch EA, Johnson PDR and Grayson ML. Comparison of three PCR primer sets for identification of *vanB* gene carriage in feces and correlation with carriage of vancomycin-resistant enterococci: Interference by *vanB* containing anaerobic bacillii. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(1):77-81.
14. Sloan LM, Uhl JR, Vetter EA, et al. Comparison of the Roche LightCycler *vanA/vanB* Detection Assay and culture for detection of vancomycin-resistant enterococci from perianal swabs. *J Clin Micro*. 2004;42:2636-2643.
15. Rice LB. Antibiotics and gastrointestinal colonization by vancomycin-resistant enterococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2005;24:804-814.
16. Milstone AM, Song X, Beers C, et al. Unrecognized burden of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and vancomycin-resistant *Enterococcus* carriage in pediatric intensive care units. *Infect Control Hosp Epidemiol*. 2008;29:1174-1176.
17. Huang SS, Rifas-Shiman SL, Pottinger JM, et al. Improving the assessment of vancomycin-resistant enterococci by routine screening. *J Infect Dis*. 2007;195:339-346.
18. Perencevich EN, Fisman DN, Lipsitch M, et al. Projected benefits of active surveillance for vancomycin-resistant enterococci in intensive care units. *CID*. 2004;38:1108-1115.
19. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). N° de document HHS (CDC) 93-8395.
20. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly National Committee for Clinical Laboratory Standards). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (consulter l'édition la plus récente).
21. RÈGLEMENT (CE) n° 1272/2008 DU PARLEMENT EUROPÉEN ET DU CONSEIL DU 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. Liste des conseils de prudence, modifiant et abrogeant les directives 67/548/CEE et 1999/CE (modifiant le règlement (CE) n° 1907/2006)
22. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R., pt. 1910, subpt. Z).

26 Emplacements des sièges sociaux de Cepheid

Siège social

Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

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

Siège européen

Cepheid Europe SAS
Vira Solelh
81470 Maurens-Scopont
France

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

27 Assistance technique

Before contacting Cepheid Technical Support, collect the following information:

- Product name
- Lot number
- Serial number of the instrument
- Error messages (if any)
- Software version and, if applicable, Computer Service Tag Number

Support technique États-Unis














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


Support technique France

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

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

28 Tableau des symboles

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

Symbole	Signification
	Attention



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089
USA

Téléphone : + 1 408 541 4191

Fax : + 1 408 541 4192



29 Historique des révisions

Description des modifications : Entre les versions Rév. D et Rév. E du manuel 300-9105-FR

But : Corrections

Section	Description des modifications
Prélèvement, transport et conservation des échantillons	Révision des modifications involontaires apportées au type d'échantillon et à la conservation des échantillons.
Valeurs attendues	Section Valeurs attendues renvoyée au mode d'emploi.