

Xpert® MRSA/SA SSTI

REF GXMRSA/SA-SSTI-10

For Information Only - Not A Controlled Copy

Trademarks, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] are trademarks of Cepheid.
Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

The purchase of this product includes a limited, non-transferable license under U.S. Patent No. 7,449,289, owned by GeneOhm Sciences Canada, Inc (a subsidiary of Becton, Dickinson and Company), to use such product for human IVD use with a GeneXpert[®] instrument. No right under U.S. Patent No. 7,449,289 is conveyed, expressly, by implication, or by estoppel, to use this product for any other purpose.

THE PURCHASE OF THIS PRODUCT CONVEYS TO THE BUYER THE NON-TRANSFERABLE RIGHT TO USE IT IN ACCORDANCE WITH THIS PACKAGE INSERT. NO OTHER RIGHTS ARE CONVEYED EXPRESSLY, BY IMPLICATION OR BY ESTOPPEL. FURTHERMORE, NO RIGHTS FOR RESALE ARE CONFERRED WITH THE PURCHASE OF THIS PRODUCT.

Copyright © 2019. All rights reserved.

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

Cepheid[®], le logo Cepheid, GeneXpert[®] et Xpert[®] sont des marques de commerce de Cepheid.
Windows[®] est une marque de commerce de Microsoft Corporation.

L'achat de ce produit inclut une licence non transférable limitée au titre du brevet américain n° 7,449,289, détenu par GeneOhm Sciences Canada, Inc (une filiale de Becton, Dickinson and Company), permettant l'utilisation dudit produit dans le cadre d'un usage diagnostique in vitro chez l'humain avec un instrument GeneXpert[®]. Aucun droit n'est concédé, que ce soit formellement, de façon implicite ou par préclusion, au titre du brevet américain n° 7,449,289, d'utiliser ce produit à toute autre fin.

L'ACHAT DE CE PRODUIT CONCÈDE À L'ACHÉTEUR LE DROIT NON TRANSFÉRABLE DE L'UTILISER CONFORMÉMENT À CETTE NOTICE. 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.

Copyright © 2019. Tous droits réservés.



Cepheid

904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089-1189

Phone: +1 408 541 4191
Fax: +1 408 541 4192

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

Reservé à un usage diagnostique *in vitro*

1. Nom de marque déposée

Xpert[®] MRSA/SA SSTI

2. Nom commun ou usuel

Test Xpert MRSA/SA SSTI

3. Utilisation prévue

Le test Cepheid Xpert MRSA/SA pour la détection des infections de la peau et des tissus mous (Xpert MRSA/SA SSTI Assay) effectué avec le GeneXpert[®] Dx System est un test qualitatif de diagnostic *in vitro* conçu pour la détection de *Staphylococcus aureus* (SA) et de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) à partir de prélèvements par écouvillon d'infections de la peau et des tissus mous. Le test utilise une méthode de réaction en chaîne de la polymérase (PCR) en temps réel automatisée pour détecter l'ADN de SARM/SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI est indiqué pour être utilisé avec d'autres analyses de laboratoire, comme la culture microbiologique, et avec les données cliniques à la disposition du clinicien pour la détection de SARM/SA sur la peau et les tissus mous infectés. Le test Xpert MRSA/SA SSTI n'est pas prévu pour surveiller le traitement des infections à SARM/SA. Des cultures concomitantes pour la détection de SARM/SA sont nécessaires pour récupérer les organismes en vue d'effectuer des tests de susceptibilité ou un typage épidémiologique. 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, notamment si la concentration de SARM/SA est proche de la limite de détection (LDD) du test.

4. Résumé et description

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

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

5. Principe de la procédure

Le GeneXpert Dx System automatise et intègre la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection de séquences cibles dans des échantillons simples ou complexes, par PCR en temps réel. 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 GeneXpert Dx System).

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

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

6. Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



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

Cartouches Xpert MRSA/SA SSTI Assay avec tubes réactionnels intégrés	10
• 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
Réactif d'éluion test Xpert MRSA/SA SSTI (thiocyanate de guanidine)	10 x 2,0 ml
CD	1 par kit
• Fichier de définition du test (assay definition file, ADF)	
• Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GX	
• Mode d'emploi (notice d'utilisation)	

Remarque

Les fiches de données de sécurité (FDS) sont disponibles sur le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com sous l'onglet **ASSISTANCE (SUPPORT)**.

Remarque

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

6.2 Conservation et manipulation



- Conserver les cartouches et réactifs du test Xpert MRSA/SA SSTI à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.
- Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches dont la date de péremption est dépassée.
- 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.

7. Matériels requis mais non fournis

- GeneXpert Dx System (le numéro de référence varie selon la configuration) : Instrument GeneXpert, ordinateur, lecteur manuel de codes barres et manuel d'utilisation
- Imprimante : Si une imprimante est requise, contacter l'assistance technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Cepheid Sample Collection Device (dispositif de prélèvement Cepheid) (numéro de référence 900-0370) ou équivalent Copan
- Mélangeur Vortex
- Pipettes de transfert jetables
- Gaze stérile

8. Matériel disponible mais non fourni

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

9. 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. Puisqu'il est souvent impossible de savoir ce qui peut être infectieux, tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard. Les Centers for Disease Control and Prevention (Centres américains pour le contrôle et la prévention des maladies),⁸ et le Clinical and Laboratory Standards Institute (Institut des normes cliniques et de laboratoire) publient des recommandations relatives à la manipulation des échantillons.⁹
- Dans une culture mixte contenant le SARM/SA et d'autres organismes (par ex., bacilles à Gram négatif, levures), les résultats peuvent être faussement négatifs ou variables selon la concentration de SARM/SA présente, particulièrement si la concentration de SARM/SA est proche de la LDD du test.
- Observer les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir d'organismes non viables. Cette probabilité de détection augmente chez les patients sous antibiotiques.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI ne donne pas de résultats de susceptibilité antimicrobienne. La culture et les tests de susceptibilité nécessitent du temps supplémentaire.
- Ne pas substituer les réactifs du test Xpert MRSA/SA SSTI par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI, sauf pour l'ajout de l'échantillon et des réactifs, ou pour retester.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée après avoir ajouté l'échantillon et les réactifs.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.
- ② • Chaque cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI à usage unique doit être utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Les échantillons biologiques, les dispositifs de transfert et les cartouches usagées doivent être considérés comme étant susceptibles de transmettre des agents infectieux exigeant des précautions standard. Suivre les consignes environnementales d'élimination des déchets établies par 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 une procédure d'élimination spécifique au niveau national ou régional. En l'absence de directives claires de la réglementation nationale ou régionale sur l'élimination appropriée, les échantillons biologiques et les cartouches usagées doivent être éliminés conformément aux directives de manipulation et d'élimination des déchets médicaux de l'OMS [Organisation mondiale de la Santé].
- Conserver le kit du test Xpert MRSA/SA SSTI à une température comprise entre 2 °C et 28 °C.

10. Risques chimiques^{17,18}

- Pictogramme de danger SGH ONU :
- Mention d'avertissement : ATTENTION
- **Mentions de danger SGH ONU**
 - Nocif en cas d'ingestion
 - Provoque une irritation cutanée
 - Provoque une sévère irritation des yeux
- **Conseils de prudence SGH ONU**
 - **Prévention**
 - Se laver soigneusement après manipulation.
 - Ne pas manger, boire ou fumer en manipulant ce produit.
 - Éviter le rejet dans l'environnement.
 - Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage
 - **Réponse**
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU : laver abondamment à l'eau et au savon.
 - Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.
 - Traitement spécifique, voir les instructions supplémentaires de premiers secours.
 - En cas d'irritation cutanée : consulter un médecin.
 - EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer.
 - Si l'irritation oculaire persiste : consulter un médecin.
 - EN CAS D'INGESTION : appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON ou un médecin en cas de malaise.
 - Rincer la bouche.
 - **Stockage/Mise au rebut**
 - Éliminer le contenu et/ou le récipient conformément aux réglementations locales, régionales, nationales, et/ou internationales.

11. Collecte, transport et stockage des prélèvements

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



12. Culture microbiologique

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

13. Procédure

13.1 Préparation de la cartouche

Important Démarrer le test dans les 15 minutes qui suivent l'ajout 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.

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

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

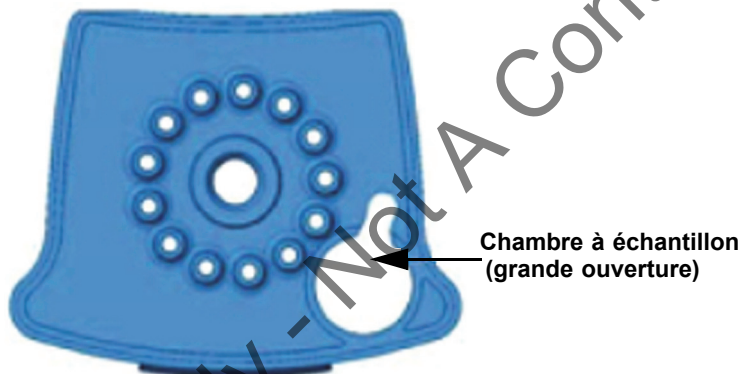


Figure 1. Cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI (vue de haut)

13.2 Démarrage du test

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

Cette section 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 GeneXpert Dx System).

1. Allumer l'instrument GeneXpert Dx puis allumer l'ordinateur.
2. Se connecter au logiciel du GeneXpert Dx System en entrant le nom d'utilisateur et le mot de passe.
3. Dans la fenêtre GeneXpert System, 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 indiqué dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results).
5. Lire ou saisir le N° Id de l'échantillon (Sample ID). S'assurer le cas échéant de saisir correctement le N° Id de l'échantillon (Sample ID). Le N° Id de l'échantillon (Sample ID) est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre Afficher les résultats (View Results).
6. Lire le code-barres sur la cartouche du test Xpert MRSA/SA SSTI. En utilisant les informations du code-barres, le logiciel complète automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test (Select Assay), N° du lot (Reagent Lot ID), Numéro de série de la cartouche (Cartridge SN) et Date de péremption (Expiration Date).
7. Cliquer sur **Démarrer le test (Start Test)**. Dans la boîte de dialogue qui s'affiche, saisir le mot de passe.
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 cesse 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 échantillons approprié, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

13.3 Affichage et impression des résultats

Cette section répertorie les étapes de base pour afficher et imprimer les résultats. Pour des instructions plus détaillées sur l'affichage et l'impression des résultats, consulter le *manual 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 l'écran 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

CONTROL

Chaque test comprend un contrôle du traitement de l'échantillon (SPC ou BG3 dans l'écran d'affichage des résultats pour les opérateurs à privilèges administrateur) et un contrôle de vérification de la sonde (PCC).

- **Contrôle du traitement de l'échantillon (SPC)** — Garantit que l'échantillon a été traité correctement. Le SPC comprend des spores *Bacillus globigii* sous la forme d'un granulé sec de spores qui est placé dans chaque cartouche pour vérifier le traitement adéquat de l'échantillon du test Xpert MRSA/SA SSTI. Le SPC 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 détecte l'inhibition associée au prélèvement du test de PCR en temps réel, assure que les conditions de PCR (température et durée) sont appropriées pour la réaction d'amplification et vérifie que les réactifs PCR sont fonctionnels. Le SPC doit être positif dans un échantillon négatif et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le SPC réussit s'il répond aux critères d'acceptation validés.
- **Contrôle de vérification de la sonde (PCC)** — Avant le début de la PCR, le GeneXpert Dx System 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. Le PCC réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

14.2 Contrôles externes

Des écouvillons prêts à l'emploi KWIK-STIK (MicroBiologics, n° de réf. 0158MRSA [SCCmec type II] et n° de réf. 0360MSSA comme contrôles positifs, et n° de réf. 0371MSSE comme contrôle négatif) peuvent être utilisés avec le GeneXpert Dx System pour la formation des opérateurs, les épreuves de compétence et le CQ externe. Les souches de SARM représentant d'autres types SCCmec, si disponibles, peuvent être utilisées comme contrôles positifs externes supplémentaires pour surveiller les amorces et les sondes du test qui ne sont pas contrôlées directement par le test. Les contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux organismes d'accréditation et à la réglementation gouvernementale applicables. Suivre la procédure de contrôle externe MicroBiologics décrite ci-dessous :

1. Déchirer le sachet au niveau de l'encoche et retirer le KWIK-STIK.
2. Pincer le bas de l'ampoule dans le capuchon pour libérer le liquide d'hydratation.
3. Tenir à la verticale et tapoter pour faciliter l'écoulement du liquide par la tige dans le fond de l'unité qui contient la pastille.
4. Pour faciliter la dissolution de la pastille de cellules lyophilisées, écraser la pastille et pincer doucement la chambre inférieure.
5. Séparer le KWIK-STIK pour libérer l'écouvillon et introduire ce dernier dans le tube qui contient le réactif d'éluion (capuchon à vis).
6. L'écouvillon KWIK-STIK est désormais prêt pour réaliser le test Xpert MRSA/SA SSTI.
7. Si le CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

Des exemples des résultats obtenus avec le test Xpert MRSA/SA SSTI sont illustrés de la Figure 2 à la Figure 4.

15. Interprétation des résultats

Les résultats sont interpolés par le GeneXpert Dx System 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 :

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

Résultat	Interprétation
MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE) Figure 2	<p>Le Xpert MRSA/SA SSTI Assay peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir d'organismes non viables. Les séquences d'ADN de la cible SARM sont détectées ; la séquence d'ADN de la cible SA est détectée.</p> <ul style="list-style-type: none"> MRSA POSITIF (MRSA POSITIVE) – Toutes les cibles de SARM (<i>spa</i>, <i>mecA</i> et <i>SCCmec</i>) ont une valeur Ct (cycle seuil) dans la plage valide et un résultat supérieur au réglage minimum. CTE – SO (NA) (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de SARM risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE)	<p>Le test Xpert MRSA/SA peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir d'organismes non viables. Les séquences d'ADN de la cible SARM ne sont pas détectées ; la séquence d'ADN de la cible SA est détectée.</p> <ul style="list-style-type: none"> SA POSITIF (SA POSITIVE) – La cible SA (<i>mec</i>) n'est pas détecté, l'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté, ou l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté et l'ADN de la cible <i>mecA</i> n'est pas détecté (« cassette excisée »). CTE – SO (NA) (sans objet) ; le CTE est ignoré car l'amplification de SA risque de faire concurrence à ce contrôle. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; 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 SA.</p>
MRSA NÉGATIF/SA NÉGATIF (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) Figure 3	<p>La séquence d'ADN de la cible <i>Staphylococcus aureus</i> n'est pas détectée. Le CTE répond aux critères d'acceptation.</p> <ul style="list-style-type: none"> NÉGATIF (NEGATIVE) – L'ADN de la cible <i>Staphylococcus aureus</i> (<i>spa</i>) n'est pas détecté. L'ADN de la cible <i>mecA</i> est détecté ou n'est pas détecté, ou l'ADN de la cible <i>SCCmec</i> est détecté ou n'est pas détecté. CTE – RÉUSSITE (PASS) ; le CTE a une valeur Ct dans la plage valide et un point final supérieur à la valeur minimum définie. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. <p>Un résultat faussement négatif à SARM (résultat MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) au lieu de MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE)) peut être obtenu si le SARM et le SA sont tous deux présents dans l'échantillon selon un rapport SARM/SA de $1/1 \times 10^6$ ou supérieur.</p> <p>Lors des études cliniques, 5 parmi les 246 cultures positives à SARM présentait une infection mixte à SARM et à SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 3 des 5 infections mixtes comme étant positives à SARM, et 2 des 5 comme étant positives à SA/négatives à SARM.</p>

Tableau 1. Résultats et interprétation du test Xpert MRSA/SA (suite)

Résultat	Interprétation
NON VALIDE (INVALID) Figure 4	<p>La présence ou l'absence des séquences d'ADN de la cible SARM/SA est impossible à déterminer ; répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous. Le CTE ne répond pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été correctement traité, ou la PCR a été inhibée.</p> <ul style="list-style-type: none"> NON VALIDE (INVALID) – La présence ou l'absence d'ADN de <i>Staphylococcus aureus</i> est impossible à déterminer. CTE – ÉCHEC (FAIL) – Le résultat de la cible de CTE est négatif et la valeur Ct (cycle seuil) du CTE n'est pas dans la plage valide et le résultat du point final de fluorescence est inférieur à la valeur minimum définie. Vérification de la sonde – RÉUSSITE (PASS) ; tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi.
ERREUR (ERROR)	<p>La présence ou l'absence des séquences d'ADN de la cible SARM/SA est impossible à déterminer ; répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous. Le contrôle de vérification de la sonde a échoué, probablement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, d'un problème d'intégrité de la sonde, ou d'un dépassement des limites de pression maximale.</p> <ul style="list-style-type: none"> SARM – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) SA – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) CTE – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) Vérification de la sonde – ÉCHEC (FAIL)* ; échec d'un ou de plusieurs résultats de vérification de la sonde. <p>* Si la vérification de la sonde a réussi, l'erreur est due à une défaillance d'un composant du système.</p>
PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)	<p>La présence ou l'absence des séquences d'ADN de la cible SARM/SA est impossible à déterminer ; répéter le test conformément aux instructions données dans la section ci-dessous. Les données recueillies sont insuffisantes pour produire un résultat de test. Par exemple, cela peut arriver si l'opérateur a interrompu un test en cours.</p> <ul style="list-style-type: none"> SARM – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) SA – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) CTE – PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT) Vérification de la sonde – SO (NA) (sans objet)

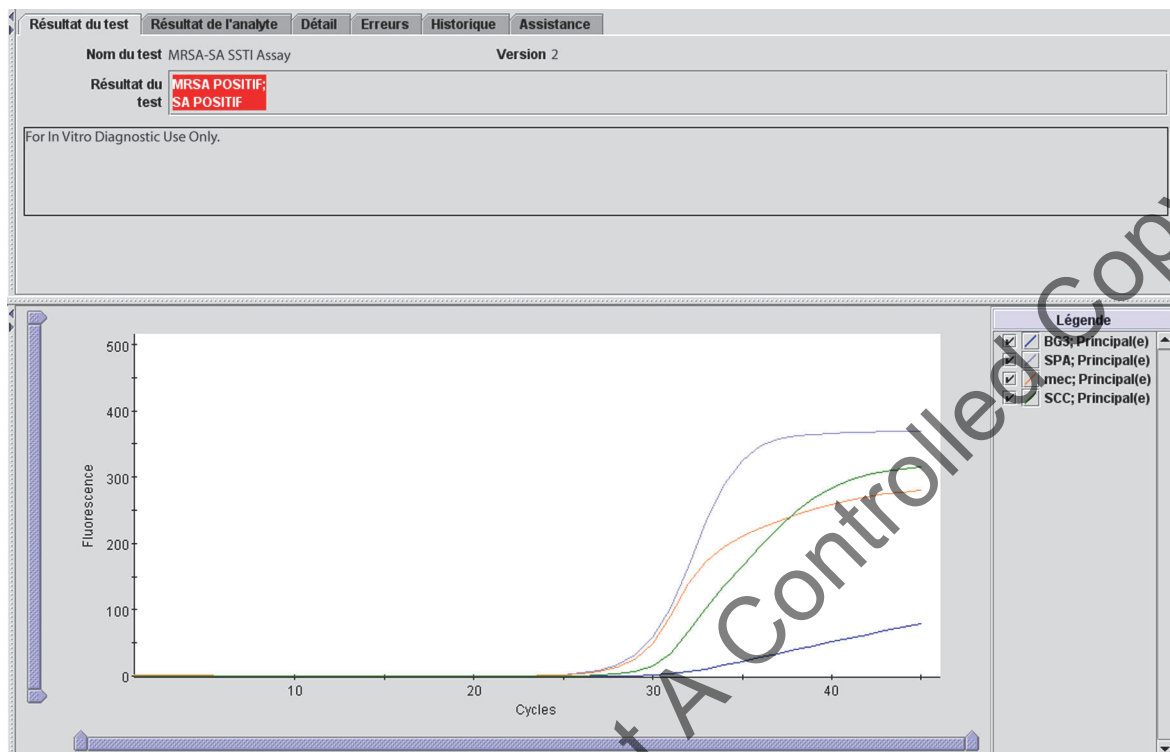


Figure 2. Exemple d'un résultat positif à SARM



Figure 3. Exemple d'un résultat négatif

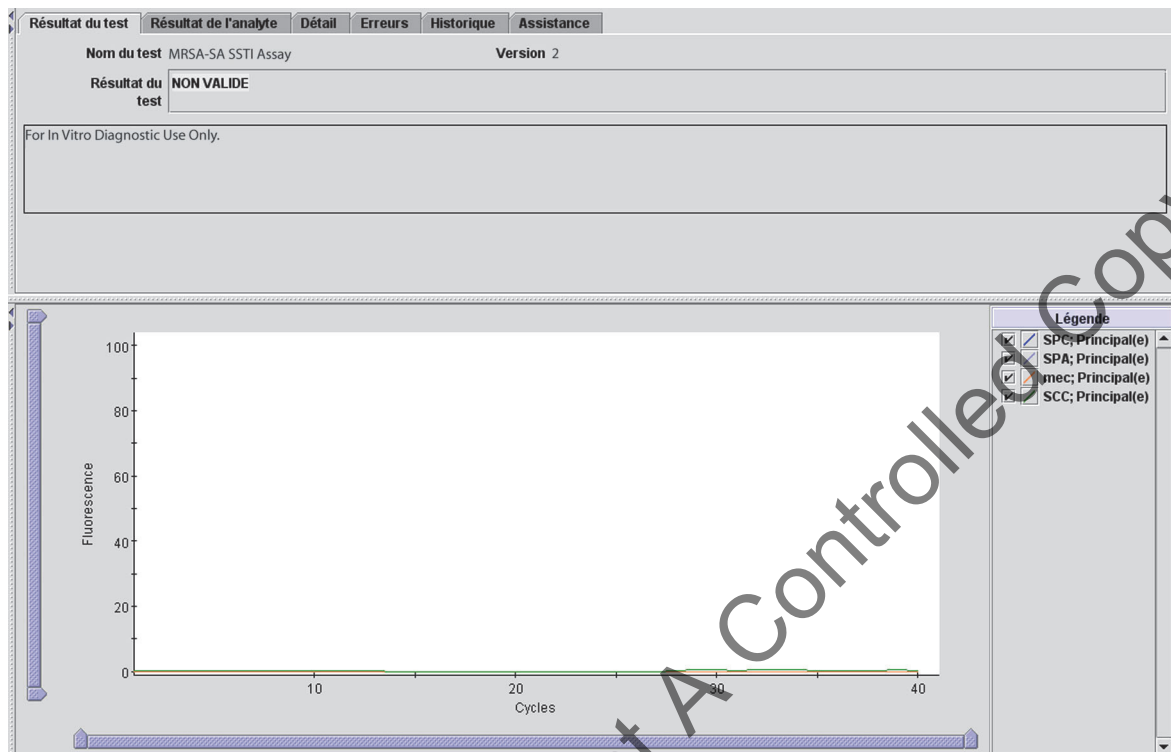


Figure 4. Exemple d'un résultat non valide

16. Raisons pour lesquelles le test doit être répété

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

- Un résultat **NON VALIDE (INVALID)** indique que le SPC a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement, ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat **ERREUR (ERROR)** indique que le contrôle de vérification de la sonde a échoué et que le test a été annulé, possiblement en raison d'un tube réactionnel mal rempli, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde ou d'un dépassement des limites de pression maximale.
- Le résultat **PAS DE RÉSULTAT (NO RESULT)** indique que trop peu de données ont été collectées. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.
- Si un CQ externe ne réussit pas conformément aux attentes, répéter le test du contrôle externe et/ou contacter Cepheid pour assistance.

16.1 Procédure de répétition du test

Pour retester :

Si le nouveau test est accompli dans les 3 heures suivant un résultat indéterminé* :

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

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

17. Limites

- Les performances du test Xpert MRSA/SA SSTI ont été validées en utilisant uniquement les procédures fournies dans cette notice. Des modifications apportées à ces procédures peuvent modifier les performances du test. Les résultats du test Xpert MRSA/SA SSTI doivent être interprétés en conjonction avec d'autres données biologiques et cliniques à la disposition du clinicien.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI peut détecter l'ADN de SARM et/ou de SA à partir d'organismes non viables. Cette probabilité de détection augmente chez les patients sous antibiotiques. Dans l'étude clinique pivot, le taux de résultats faussement positifs (par rapport à la culture) dans la détection de SA chez les patients sous antibiotiques, dans les 3 semaines avant la réalisation des tests avec Xpert MRSA/SA, était de 13,8 %. Le taux de résultats faussement positifs (par rapport à la culture) dans la détection de SARM chez les patients sous antibiotiques, dans les 3 semaines avant la réalisation des tests avec Xpert MRSA/SA, était de 9,5 %.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables. Il constitue toutefois une présomption de la présence de SARM ou de SA.
- Les tests avec Xpert MRSA/SA SSTI doivent être utilisés conjointement aux autres méthodes disponibles.
- Des résultats de test erronés peuvent résulter d'un prélèvement incorrect, du non respect des procédures recommandées pour le prélèvement ou la manipulation et le stockage des échantillons, d'une erreur technique, d'une confusion dans les échantillons ou d'une concentration d'organismes trop basse pour être détectée dans le prélèvement à l'aide du test. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- La détection de SARM et de SA étant dépendante du nombre 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 MRSA/SA SSTI peut ne pas détecter les organismes SA résistants à la méticilline. (Dans l'étude clinique pivot, le test Xpert MRSA/SA SSTI n'a pas détecté 2 des 5 échantillons positifs à SARM dans des cas d'infection mixte à SARM/SA documentée.)
- Dans une culture mixte, la LDD analytique de SARM est variable en présence de concentrations de SA extrêmement élevées. Une concurrence de SA a été observée à un rapport SARM/SA de 1/1x10⁶. Lors des études cliniques, 5 parmi les 246 cultures positives à SARM présentait une infection mixte à SARM et à SA. Le test Xpert MRSA/SA SSTI a identifié 3 des 5 infections mixtes comme étant positives à SARM, et 2 des 5 comme étant positives à SA/négatives à SARM.
- Une inhibition du test Xpert MRSA/SA SSTI a été observée en présence des substances suivantes : StaphA⁺Septic (5 % m/v), hydrocortisone (5 % m/v) et antibactérien pour les mains (5 % m/v).
- Les échantillons contenant du Mercurochrome ne peuvent pas être utilisés en raison de sa fluorescence.
- Le test Xpert MRSA/SA SSTI produit un résultat faussement positif à SARM en présence d'un prélèvement d'infection de la peau et des tissus mous mixte contenant à la fois le *Staphylococcus coagulase négatif* résistant à la méticilline (SCNRM) et le *Staphylococcus aureus* (SA) sensible à la méticilline à cassette excisée.

18. Substances interférentes

Dans l'étude expérimentale portant sur le test Xpert MRSA/SA SSTI, 428 des 848 prélèvements observés contenaient du sang et 404 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 avec et sans la présence de ces substances potentiellement interférentes ont montré que leur présence n'affectait pas les performances du test.

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

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

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

Substance	Principe actif	% testé
Tampon TET (contrôle)	Contrôle	Contrôle
Couche leuco-plaquettaire (substitut de plaie)	Leucocytes (1,5e9/ml)	50 % (v/v)
Sang total (exempt de SARM/SA)	Sans objet	50 % (v/v)
Plasma	Sans objet	50 % (v/v)
Néosporine	400 unités de bacitracine 5000 unités de polymyxine B 3,5 mg néomycine	1 % et 5 % (m/v)
StaphA ⁺ Septic	Chlorure de benzéthonium à 0,2 %, lidocaïne HCl à 2,5 %	1 % et 5 % (m/v)
Hydrocortisone	Hydrocortisone à 1 %	1 % et 5 % (m/v)
Boil-Ease	Benzocaïne à 20 %	1 % et 5 % (m/v)
Teinture d'iode	Iode à 2 %	50 % (v/v)

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

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

19. Valeurs attendues

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

Tableau 4. Prévalence observée de SARM et de SA par culture

Tranche d'âge	N total	SARM par culture		SA par culture	
		Nombre de positifs	Prévalence observée	Nombre de positifs	Prévalence observée
Moins de 3 ans	34	11	32,4 %	21	61,8 %
3 à 18 ans	100	25	25,0 %	55	55,0 %
19 à 65 ans	614	188	30,6 %	300	48,9 %
66 ans et plus	100	22	22,0 %	35	35,0 %

20. Caractéristiques des performances

20.1 Performances cliniques

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

Deux prélèvements par écouvillon ont été réalisés chez chacun des sujets. Un écouvillon a été testé avec le test Xpert MRSA/SA SSTI au centre d'inscription, et l'autre écouvillon a été testé selon la méthode standard du site. Le prélèvement restant a été envoyé au laboratoire centralisé pour mise en 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 des géloses à la céfoxitine (pour le SARM) et sans céfoxitine (pour le SA). Si l'une ou les deux géloses SA ou SARM montraient des colonies présomptives pour *S. aureus*, les colonies étaient remises en culture sur une gélose au sang. La confirmation des colonies positives présomptives a été effectuée en testant la catalase, la coagulase en tube et la coloration de Gram. La résistance à l'oxacilline médiée par *MecA* a été testée par diffusion en gélose en utilisant un disque de céfoxitine à 30 µg et un seuil de 21/22 mm. Si les cultures des deux géloses SA et SARM se révélaient négatives, le bouillon trypticase soja avec 6,5 % de NaCl archivé était remis en culture sur une gélose au sang, suivi d'un bilan SA/SARM réalisé de la manière précédemment décrite.

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

20.2 Résultats généraux

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

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

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

La performance du test Xpert MRSA/SA SSTI est résumée du Tableau 5 au Tableau 7.

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

		Culture			
		SARM+	SA+/SARM-	Nég/Pas de croissance	Total
Xpert	SARM+	137 ¹	2	6	145
	SA+/SARM-	3 ²	79	16	98
	SA-	6	4	188	198
	Total	146	85	210	441

¹ 1 sur 137 était une infection mixte à SARM et SA.

² 2 sur 3 étaient des infections mixtes à SARM et SA.

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

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

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

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

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

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

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

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

¹ 2 sur les 47 étaient des infections mixtes à SARM et SA.

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

20.3 Variantes à cassette excisée

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

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

Tableau 8. Performance pour le test MRSA/SA SSTI 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	23,6	0	26,0	SA	VN	VP
2	SA	14,7	0	16,5	SA	VN	VP
3	SA	20,5	0	34,0	SA	VN	VP
4	SA	18,4	0	21,0	SA	VN	VP
5	SA	15,6	0	28,4	SARM	FN	VP
6	SA	17,2	0	31,6	SA	VN	VP
7	SA	34,1	0	35,6	Nég	VN	FP
8	SA	29,1	0	33,0	SA	VN	VP
9	SA	12,7	0	23,5	SA	VN	VP
10	SA	18,2	0	27,6	SA	VN	VP
11	SA	18,4	0	22,0	SA	VN	VP
12	SA	25,5	0	27,7	SA	VN	VP
13	SA	20,0	0	22,1	Nég	VN	FP
14	SA	26,0	0	28,3	SA	VN	VP
15	SA	23,9	0	25,7	SA	VN	VP
16	SA	19,9	0	34,0	SA	VN	VP

21. Performances analytiques

21.1 Spécificité analytique

Étude de réactivité croisée

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

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

Deux (2) réplicats ou plus de chaque isolat ont été testés à 1,7-3,2 unités McFarland. Dans les conditions de cette étude, tous les isolats ont été rapportés comme MRSA NÉGATIF/SA NÉGATIF (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE) ; aucun des isolats n'a été détecté par le test Xpert MRSA/SA SSTI. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude. La spécificité analytique était de 100 %.

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*.¹⁵ Les souches BORSA sont *mecA* négatives, mais démontrent une concentration minimum inhibitrice (CMI) d'oxacilline ≥ 2 et ≤ 8 $\mu\text{g/ml}$. Il est particulièrement utile de distinguer SARM de BORSA pour empêcher l'utilisation inutile et inappropriée de la vancomycine et des précautions d'isolement inappropriées pour les patients infectés par une souche susceptible aux anti- β -lactamases.¹⁶

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

21.2 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* (SA) et des cellules de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) diluées dans une matrice de substitut de plaie d'origine humaine. La matrice de substitut de plaie se composait d'un concentré de leucocytes préparé à partir de sang total centrifugé. La matrice contenait également des érythrocytes et du plasma, et une quantité négligeable d'anticoagulant (CPD ou CPDA-1). La limite de détection est définie comme le plus petit nombre d'unités formant colonie (UFC) par échantillon pouvant être différencié de façon reproductible des échantillons négatifs avec une confiance de 95 % ou la concentration la plus faible à laquelle 19 des 20 réplicats se sont montrés positifs.

Pour le SARM, 20 réplicats ont été testés à chaque concentration de SARM testée (UFC/écouvillon) pour 6 isolats individuels représentant les types SCC*mec* I, II, III, IVa, V et VI. Lors du typage par gel d'électrophorèse en champ pulsé (PFGE), USA100, la souche acquise en milieu de soins la plus courante, et USA400, l'une des souches acquises en communauté les plus courantes, étaient incluses.

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

L'estimation et les intervalles de confiance ont été déterminés par régression logistique avec des données (nombre de résultats positifs par nombre de 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 SCC*mec* de SARM testés sont résumés au Tableau 9 et au Tableau 10.

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

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

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

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

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

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

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

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

Trois (3) parmi 78 souches de SARM ont été rapportées comme MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE) avec le test Xpert MRSA/SA SSTI. Un typage plus poussé a révélé que ces souches n'étaient pas résistantes et avaient été correctement rapportées comme MRSA NÉGATIF/SA POSITIF (MRSA NEGATIVE/SA POSITIVE).

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

Chacun des 12 isolats USA300 connus a été correctement rapporté comme MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE), tel qu'attendu.

21.3 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 MRSA/SA SSTI. Des cultures d'une nuit ont été ajustées à 0,5 unité McFarland. Toutes les souches ont été testées de cultures diluées 100 fois (élevé) et 100 mille fois (bas).

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

21.4 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 qui sont 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. Les 21 échantillons positifs ont été correctement rapportés comme MRSA POSITIF/SA POSITIF (MRSA POSITIVE/SA POSITIVE). Les 21 échantillons négatifs ont été correctement rapportés comme MRSA NÉGATIF/SA NÉGATIF (MRSA NEGATIVE/SA NEGATIVE).

22. 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 MRSA/SA a été utilisé dans chacun des 3 sites de test. Les tests Xpert MRSA/SA ont été accomplis conformément à la procédure du test Xpert MRSA/SA SSTI.

Tableau 11. Synthèse des résultats de reproductibilité

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	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,7 % (58/60)
SA Pos. bas	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
SARM1 Nég. élevé	100 % (20/20)	90 % (18/20)	100 % (20/20)	96,6 % (58/60)
SARM1 Pos. bas	100 % (20/20)	100 % (20/20)	90 % (18/20)	96,6 % (58/60)
SARM2 Nég. élevé	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 Pos. bas	100 % (20/20)	95 % (19/20)	95 % (19/20)	96,6 % (58/60)
% de concordance globale par site	100 % (140/140)	97,9 % (137/140)	95,7 % (134/140)	97,9 % (411/420)

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

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

Tableau 12. Synthèse des résultats de reproductibilité

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 Pos. moy. ¹	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM1 Pos. moy. ¹	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (20/20)	100 % (60/60)
SARM2 Pos. moy. ¹	100 % (20/20)	100 % (20/20)	95 % (19/20)	98,3 % (59/60)
% de concordance globale par site	100 % (80/80)	100 % (80/80)	98,8 % (79/80)	99,6 % (239/240)

¹ 10x LDD

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

23. Bibliographie

1. Bannerman TL. 2003 Chapter 28: Staphylococcus, Micrococcus, and Other Catalase-Positive Cocci that Grow Aerobically. Manual of clinical microbiology, 8th ed. ASM Press Washington, DC. Pages 384-404.
2. Mainous AG, Hueston WJ, Everett, et al. 2006. Nasal Carriage of Staphylococcus aureus and Methicillin-Resistant S aureus in the United States, 2001-2002. An Family Medicine. 4 (2):132-137.
3. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004, issued October 2004. Am J Infect Control 2004;32:470-85.
4. Chaix C, Durand-Zileski I, Alberti C, Buisson B. 1999. Control of Endemic Methicillin Resistant Staphylococcus aureus. JAMA 282 (19):1745-51.
5. Shopsin B, Kreiswirth BN. 2001. Molecular Epidemiology of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus. Emerging Infectious Diseases 7(2) 323-6.
6. Salgado CD et al. 2003. Community-Acquired Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus: A Meta-analysis of Prevalence and Risk Factors. CID 36:131.
7. Donnio, P-Y, Février F, Bifani P, et al. 2007. Molecular and epidemiological evidence for the spread of multiresistant methicillin-susceptible Staphylococcus aureus strains in hospitals. Antimicrobial. Agents Chemother. 51: 4342 – 4350.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. Richmond JY and McKinney RW (eds) (1993). HHS Publication number (CDC) 93-8395.
9. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
10. Ewig S, Schlochtermeyer M, Göke N, et al. 2002. Applying sputum as a diagnostic tool in pneumonia: limited yield, minimal impact on treatment decisions. Chest. 121:1486-1492.
11. RG Dotson and SK Pingleton. 1993. The effect of antibiotic therapy on recovery of intracellular bacteria from bronchoalveolar lavage in suspected ventilator-associated nosocomial pneumonia. Chest. 103, 541-546.
12. Souweine B, Veber B, Bedos JP, et al. 1998. Diagnostic accuracy of protected specimen brush and bronchoalveolar lavage in nosocomial pneumonia: impact of previous antimicrobial treatments. Crit Care Med. Feb;26(2):236-244.
13. Kanegaye JT, Solimanzadeh P, Bradley JS, et al. 2001. Lumbar puncture in pediatric bacterial meningitis: defining the time interval for recovery of cerebrospinal fluid pathogens after parenteral antibiotic pretreatment. Pediatrics. 108(5):1169-1174.
14. Brook I, Gober A. 2005. Effects of amoxicillin and cefdinir on nasopharyngeal bacterial flora. Arch Otolaryngol Head Neck Surg. Sep;131:785-787.
15. Nadarajah J, et. al., Identification of different clonal complexes and diverse amino acid substitutions in penicillin-binding protein 2 (PBP2) associated with borderline oxacillin resistance in Canadian Staphylococcus aureus isolates. J of Med Micro (2006), 55: 1675-1683.
16. Ribeiro J, et. al., Misclassification of Susceptible Strains of Staphylococcus aureus as Methicillin-Resistant S. aureus by a rapid Automated Susceptibility Testing System. (1999), 37: 1619-1620.
17. REGULATION (EO) 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/EC (amending Regulations (EO) No 1907/2007)
18. Occupational Safety and Health Standards, Hazard Communication, Toxic and Hazard Substances (March 26, 2012) (29 C.F.R. pt. 1910, subpt. Z).

24. Localisation des sièges de Cepheid

Siège social	Siège européen
Cepheid 904 Caribbean Drive Sunnyvale, CA 94089 États-Unis	Cepheid Europe SAS Vira Solelh 81470 Maurens-Scopont France
Téléphone : +1 408 541 4191	Téléphone : +33 563 825 300
Fax : +1 408 541 4192	Fax : +33 563 825 301
www.cepheid.com	www.cepheidinternational.com/

25. Assistance technique














Avant de contacter l'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 numéro de l'étiquette de service de l'ordinateur

Région	Téléphone	E-mail
États-Unis	+1 888 838 3222	techsupport@cepheid.com
Australie et Nouvelle Zélande	+1800 130 821 +0800 001 028	techsupportANZ@cepheid.com
Brésil et Amérique latine	+55 11 3524 8373	latamsupport@cepheid.com
Chine	+86 021 5406 5387	techsupportchina@cepheid.com
France	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Allemagne	+49 69 710 480 480	support@cepheideurope.com
Inde, Bangladesh, Bhoutan, Népal et Sri Lanka	+91 11 48353010	techsupportindia@cepheid.com
Italie	+39 800 902 567	support@cepheideurope.com
Afrique du Sud	+27 86122 76 35	support@cepheideurope.com
Royaume-Uni	+44 3303 332 533	support@cepheideurope.com
Belgique, Pays-Bas et Luxembourg	+33 563 825 319	support@cepheideurope.com
Autres pays d'Europe, du Moyen-Orient et d'Afrique	+33 563 825 319 +971 4 253 3218	support@cepheideurope.com
Autres pays non répertoriés ci-dessus	+1 408 400 8495	techsupport@cepheid.com

Les coordonnées des autres bureaux de Cepheid sont disponibles sur le site www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com sous l'onglet **SUPPORT (ASSISTANCE)**. Sélectionner l'option **Comment nous joindre (Contact Us)**.

26. Tableau des symboles

Symbole	Signification
	Numéro de référence
	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>
	Ne pas réutiliser
	Code du lot
	Consulter la mode d'emploi
	Attention
	Fabricant
	Pays de fabrication
	Quantité suffisante pour <n> tests
	Contrôle
	Date de péremption
	Limite de température
	Risques biologiques



Cepheid

904 Caribbean Drive
 Sunnyvale, CA 94089-1189
 États-Unis

Téléphone : +1 408 541 4191

Fax: +1 408 541 4192

For Information Only - Not A Controlled Copy

For Information Only - Not A Controlled Copy