

Xpert[®] MTB/RIF

REF GXMTB/RIF-US-10

For Information Only - Not a Controlled Copy

Trademark, Patents and Copyright Statements

Cepheid[®], the Cepheid logo, GeneXpert[®] and Xpert[®] and Xpertise[™] are trademarks of Cepheid.

Windows[®] is a trademark of Microsoft Corporation.

Neo-Synephrine[®] is a trademark of Bayer HealthCare LLC.

BACTEC[™] and MGIT[™] are trademarks of Becton Dickinson.

INTROL[™] is a trademark of Maine Molecular Quality Controls, Inc.

This product is sold under license from the Public Health Research Institute and may be used under PHRI patent rights only for human *in vitro* diagnostics.

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 © 2020 Cepheid. All rights reserved.



Cepheid
904 Caribbean Drive
Sunnyvale, CA 94089-1189
USA

Xpert® MTB/RIF Assay

Réservé à un usage diagnostique *in vitro*.

Rx Only

1. Nom de marque déposée

Xpert® MTB/RIF

2. Nom commun ou usuel

Xpert MTB/RIF Assay

3. Utilisation prévue

Le test Xpert® MTB/RIF Assay, utilisé sur le système d'instrument GeneXpert®, est un test diagnostique *in vitro* qualitatif, qui s'appuie sur une réaction en chaîne par polymérase (PCR) nichée en temps réel pour la détection de l'ADN du complexe *Mycobacterium tuberculosis* dans des crachats bruts ou des dépôts concentrés, préparés à partir d'expectorations spontanées ou provoquées. Dans les échantillons au sein desquels le complexe *Mycobacterium tuberculosis* (complexe MTB) a été détecté, le test Xpert MTB/RIF Assay détecte également les mutations associées à la résistance à la rifampicine du gène *rpoB*.

Le test Xpert MTB/RIF Assay est conçu pour être utilisé sur des échantillons provenant de sujets présentant une suspicion clinique de tuberculose (TB) et n'ayant reçu aucune thérapie antituberculeuse ou moins de 3 jours de thérapie. Ce test est destiné à faciliter le diagnostic de la tuberculose pulmonaire, lorsqu'il est utilisé conjointement avec des observations cliniques et d'autres résultats de laboratoire.

Un test Xpert MTB/RIF Assay dont le résultat est « MTB NOT DETECTED » (MTB NON DÉTECTÉ) d'après un ou deux échantillons de crachat prédit très probablement l'absence de bacilles du complexe *tuberculose M.* sur des frottis de crachat acido-résistants fluorescents de série provenant de sujets pour lesquels on suspecte une tuberculose pulmonaire active et peut être utilisé pour aider à décider si l'isolement respiratoire (AII) continu est garanti chez les sujets pour lesquels on suspecte une tuberculose pulmonaire. La décision pour savoir si le test éventuel d'un ou deux échantillons de crachat est approprié pour des décisions concernant la suppression de l'AII devrait être basée sur les circonstances cliniques spécifiques et les directives institutionnelles. Les décisions cliniques concernant le besoin d'AII continu devraient toujours survenir conjointement à d'autres évaluations cliniques et de laboratoire et les résultats du test Xpert MTB/RIF Assay ne devraient pas être la seule base pour les pratiques de contrôle d'infection.

Le test Xpert MTB/RIF Assay doit être utilisé conjointement à une culture mycobactérienne pour faire face au risque de résultats faussement négatifs et disposer des organismes quand le complexe MTB en vue de la réalisation d'autres tests de caractérisation et de susceptibilité médicamenteuse. Cependant, les décisions concernant la suppression de sujets de l'AII n'a pas à attendre les résultats de la culture. Les échantillons de crachat pour la culture de TB, la microscopie de frottis BAAR et les tests Xpert MTB/RIF Assay doivent suivre les recommandations CDC concernant les méthodes de prélèvement et l'intervalle de temps entre le prélèvement d'échantillons.

Le test Xpert MTB/RIF Assay ne fournit pas de confirmation concernant la sensibilité à la rifampicine, puisqu'il est possible que des mécanismes de résistance à la rifampicine autres que ceux détectés par ce dispositif existent et qu'ils soient associés à une absence de réponse clinique au traitement.

Les échantillons au sein desquels le test Xpert MTB/RIF Assay a détecté l'ADN du complexe MTB ainsi que des mutations du gène *rpoB*, associées à la résistance à la rifampicine, doivent voir leurs résultats confirmés par un laboratoire de référence. Si la présence des mutations associées à la résistance à la rifampicine du gène *rpoB* est confirmée, les échantillons doivent également être testés pour détecter la présence de mutations génétiques associées à la résistance à d'autres médicaments.

Le test Xpert MTB/RIF Assay ne doit être réalisé que dans les laboratoires respectant les pratiques de sécurité stipulées dans la publication des CDC (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis) et des NIH (Instituts nationaux de la Santé), intitulée « Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories », ainsi que les règlements nationaux ou locaux applicables.

4. Résumé et description

À travers le monde, environ 2 milliards de personnes sont infectées par le bacille de Koch.¹ En 2010, 8,8 millions de personnes ont développé la maladie évolutive et 1,4 million de personnes en sont décédées.² En 2012, 9 951 nouveaux cas de tuberculose ont été signalés aux États-Unis (un taux de 3,2 cas pour 100 000). En 2011, 536 décès ont été attribués à des infections par la tuberculose.^{3,4}

Généralement très efficaces, les protocoles thérapeutiques standard contre la tuberculose impliquent une administration prolongée de plusieurs médicaments. Cependant, les souches du complexe MTB qui sont résistantes à un ou à plusieurs médicaments de première intention nécessitent un traitement individualisé. La résistance à la rifampicine indique souvent une tuberculose multi-résistante (TB MR), qui est définie comme une résistance à deux médicaments minimum : la rifampicine (RIF) et l'isoniazide (INH). Aux États-Unis, la résistance globale à la rifampicine s'élève approximativement à 1,8 % et près de 90 % de ces souches sont résistantes à la rifampicine et à l'isoniazide, au minimum.⁵

La tuberculose pulmonaire active est une maladie hautement infectieuse, à transmission aéroportée. Tous les sujets reçus dans des établissements de soins et présentant une suspicion de tuberculose doivent être maintenus en isolement respiratoire, conformément aux directives recommandées de lutte contre les infections.⁶ Le test Xpert MTB/RIF Assay sur un ou deux échantillons de crachat peut servir d'alternative aux séries de crachats colorés acido-résistants afin d'aider à décider si les précautions de contrôle d'infection continues sont garanties chez les sujets pour lesquels on suspecte une tuberculose pulmonaire.

Les échantillons de crachat qui sont négatifs pour les BAAR mais par la suite positifs à la culture de TB ont des charges en organismes de complexe MTB inférieures par rapport aux frottis qui sont positifs pour les BAAR. En raison d'une plus grande sensibilité du test Xpert MTB/RIF Assay pour le dépistage du complexe MTB par rapport à celle de la microscopie acido-résistante, le complexe MTB peut être dépisté par le test Xpert MTB/RIF Assay dans des frottis négatifs pour les BAAR.

On sait que les sujets infectés par le VIH et par une TB pulmonaire ont des charges en organismes de complexe MTB inférieures dans leurs échantillons de crachat par rapport aux sujets non infectés par le VIH, malgré une progression de la maladie plus rapide sans traitement. Par conséquent, les échantillons de crachat provenant de sujets infectés par le VIH souffrant de TB pulmonaire ont tendance à présenter un frottis négatif pour les BAAR plus fréquemment que les sujets non infectés par le VIH. Les taux globaux de dépistage du complexe MTB avec le test Xpert MTB/RIF Assay peuvent être inférieurs en paramètres avec un pourcentage élevé de sujets infectés par le VIH car il est plus probable que ces sujets produisent des frottis négatifs pour les BAAR avec des charges en organismes faibles.

5. Principe de la procédure

Le test Xpert MTB/RIF Assay est un test diagnostique *in vitro* automatisé, par PCR nichée en temps réel, conçu pour la détection qualitative du complexe MTB et de la résistance à la rifampicine. Les amorces de ce test amplifient un fragment du gène *rpoB* contenant la région centrale à 81 paires de base. Les sondes sont conçues pour différencier la séquence sauvage conservée des mutations de la région centrale, qui sont associées à la résistance à la rifampicine. Ce test peut être réalisé sur les systèmes d'instrument GeneXpert de Cepheid®.

Les systèmes d'instrument GeneXpert automatisent et intègrent la purification des échantillons, l'amplification de l'acide nucléique et la détection des séquences cibles, en s'appuyant sur des tests PCR par transcriptase inverse en temps réel (RT-PCR) et PCR en temps réel. Les systèmes comportent un instrument, un ordinateur personnel et un logiciel préinstallé pour l'exécution des tests et l'affichage des résultats. Les systèmes nécessitent l'utilisation des cartouches GeneXpert jetables à usage unique qui contiennent les réactifs RT-PCR et PCR et hébergent les processus RT-PCR et PCR. Les cartouches étant closes, la contamination croisée entre les prélèvements est réduite au minimum. Pour une description complète des systèmes, consulter le *manuel d'utilisation* approprié du *GeneXpert Dx System* ou du système GeneXpert Infinity.

Le test Xpert MTB/RIF Assay comprend des réactifs pour la détection du complexe MTB et la résistance à la rifampicine à partir d'échantillons de crachats bruts et de dépôts de crachats concentrés. Un contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) et un contrôle de vérification de la sonde (CVS) sont également inclus dans la cartouche. Le CTE est présent pour confirmer le traitement adéquat de la bactérie cible et surveiller la présence d'inhibiteurs lors de la réaction PCR. Le contrôle de vérification de la sonde (CVS) 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.

Le test Xpert MTB/RIF Assay détecte simultanément le complexe MTB et la résistance à la rifampicine, en amplifiant une séquence spécifique du complexe MTB dans le gène *rpoB*, qui est sondée par cinq balises moléculaires (Sondes A – E) pour détecter des mutations dans la région déterminant la résistance à la rifampicine (RDRR). Chaque balise moléculaire est marquée par un fluorochrome différent. Les cycles seuils (Ct, cycle threshold) valides maximum de 39,0 pour les sondes A, B et C et de 36,0 pour les sondes D et E sont fixés pour l'analyse des données relatives au bacille de Koch et à la rifampicine.

- **MTB DETECTED (MTB DÉTECTÉ)** est indiqué lorsque au moins deux sondes fournissent des valeurs Ct dans la plage valide et un Ct delta min. (la plus petite différence de Ct entre n'importe quelle paire de sondes) de moins de 2,0.
- **Rif Resistance NOT DETECTED (Rif Resistance NON DÉTECTÉ)** est indiqué si l'intervalle de valeurs Ct max. (la différence de Ct entre la première et la dernière sonde relevée) est $\leq 4,0$.
- **Rif Resistance DETECTED (Rif Resistance DÉTECTÉ)** est indiqué si l'intervalle de valeurs Ct max. est $> 4,0$.
- **Rif Resistance INDETERMINATE (Rif Resistance INDÉTERMINÉ)** est indiqué lorsque les deux conditions suivantes sont réunies :
 1. la valeur Ct de toute sonde dépasse le Ct maximum valide (ou est égale à zéro, c'est-à-dire aucun dépassement de seuil) ; et
 2. la première valeur Ct *rpoB* est plus grande que :

$$[(\text{Ct maximum valide de sonde en condition 1}) - (\text{limite de Ct max delta de 4,0})].$$
- **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)** est indiqué lorsqu'une seule sonde au maximum est positive.

Les paramètres du test sont tous inclus sous forme de calculs automatiques dans le protocole Xpert MTB/RIF et ne peuvent pas être modifiés par l'utilisateur.

6. Réactifs et instruments

6.1 Matériel fourni



Le kit Xpert MTB/RIF Assay contient suffisamment de réactifs pour traiter 10 spécimens ou échantillons de contrôle qualité. Le kit contient les articles suivants :

| | |
|--|---------------------------|
| Cartouches Xpert MTB/RIF Assay avec tubes réactionnels intégrés | 10 |
| • Bille 1 (lyophilisée) | 2 de chaque par cartouche |
| • Polymérase | |
| • dNTP (désoxynucléosides triphosphates) | |
| • Sonde | |
| • BSA (albumine de sérum bovin) | |
| • Bille 2 (lyophilisée) | 2 de chaque par cartouche |
| • Amorces | |
| • Sondes | |
| • BSA (albumine de sérum bovin) | |
| • Bille 3 (lyophilisée) | 1 par cartouche |
| • Contrôle du traitement de l'échantillon (CTE) ~6 000 spores de <i>B. globigii</i> non infectieuses | |
| • Réactif 1 | 4 mL par cartouche |
| • Tampon Tris | |
| • Surfactants | |
| • EDTA (acide éthylène-diamine-tétracétique) | |
| • Réactif 2 | 4 mL par cartouche |
| • Tampon Tris | |
| • Surfactants | |
| • EDTA (acide éthylène-diamine-tétracétique) | |
| Réactif échantillon | 8 mL par flacon |
| • Hydroxyde de sodium | |
| • Isopropanol | |

Pipettes de transfert jetables**12****CD****1 par kit**

- Fichier de définition du test (ADF) – à utiliser avec les deux systèmes GeneXpert Dx et Infinity
- Instructions pour l'importation du fichier ADF dans le logiciel GX
- Notice

Remarque

Les réactifs échantillons peuvent être incolores, jaunes ou ambre. La couleur peut s'intensifier avec le temps, mais elle n'a aucun effet sur les performances.

Remarque

Les fiches techniques de données de sécurité (SDS, Safety Data Sheets) sont disponibles à l'adresse www.cepheid.com ou www.cepheidinternational.com sous l'onglet **SUPPORT (ASSISTANCE)**.

Remarque

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

Remarque

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

6.2 Conservation et manipulation

- Conserver les cartouches et réactifs Xpert MTB/RIF Assay entre 2 °C et 28 °C.



- Ne pas utiliser les réactifs ou les cartouches après leur date de péremption.



- La cartouche est stable pendant 6 semaines maximum après l'ouverture du sachet, à une température comprise entre 2 °C et 45 °C. Ne pas ouvrir une cartouche avant d'être prêt à effectuer le test.

- Si un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la cartouche.
- Si un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le système, par le biais du logiciel Xpertise, de manière à ce que les tests soient exécutés avant la péremption de ces éléments, qui a lieu au bout de quatre heures à bord.
- Ne pas utiliser des réactifs visiblement troubles ou ayant changé de couleur.

6.3 Matériels requis mais non fournis

- Système d'instrument GeneXpert Dx ou système GeneXpert Infinity (le numéro de référence varie selon la configuration) : instrument GeneXpert, ordinateur, lecteur de codes-barres et manuel d'utilisation.
 - Pour le système GeneXpert Dx : Logiciel GeneXpert Dx (version 4.3 ou ultérieure)
- Imprimante : si une imprimante est requise, contacter le service d'assistance technique de Cepheid pour organiser l'achat d'une imprimante recommandée.
- Récipients de collecte d'échantillon étanches, stériles avec couvercle à visser
- Gants jetables, lunettes de protection, blouses de laboratoire et étiquettes ou feutre permanent
- Pipettes stériles, à usage unique, avec filtre barrière à extrémité sèche pour le traitement des échantillons
- Minuterie

6.4 Matériel disponible mais non fourni

Contrôle de série externe MMQCI (Maine Molecular Quality Controls, Inc.) INTROL™ (référence catalogue TBNEG-04), utilisé comme contrôle négatif, et contrôles de série externes MMQCI INTROL™ (référence catalogue TBWT-04 et TBMDR1-04), utilisés comme contrôles positifs sensibles et résistants à la rifampicine.

7. Avertissements et mises en garde



- Traiter tous les échantillons biologiques, y compris les cartouches usagées, comme s'ils étaient susceptibles de transmettre des agents infectieux. Puisqu'il est souvent impossible de savoir quels sont les échantillons potentiellement infectieux, tous les échantillons biologiques doivent être traités en respectant les précautions standard. Des directives pour la manipulation des échantillons sont disponibles auprès des Les Centers for Disease Control and Prevention⁷ (CDC, Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis) et le Clinical and Laboratory Standards Institute (anciennement le National Committee for Clinical Laboratory Standards).⁸
- Porter des gants de protection jetables, des blouses de laboratoire et des lunettes de protection pour manipuler les échantillons et les réactifs. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.
- Respecter les procédures de sécurité de l'établissement pour la manipulation de produits chimiques et d'échantillons biologiques.
- La préparation des dépôts de crachats digérés, décontaminés et concentrés et les procédures du test Xpert MTB/RIF doivent être réalisées conformément aux pratiques de biosécurité de niveau 2.⁹
- Utiliser le test uniquement pour la détection des membres du complexe *M. tuberculosis*, en utilisant des dépôts préparés conformément aux procédures NALC-NaOH ou NaOH recommandées par les Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis).¹⁰ Ce test doit être utilisé uniquement avec des échantillons de crachats bruts ou des dépôts concentrés, préparés à partir d'expectorations spontanées ou provoquées.
- Lors du traitement de plusieurs échantillons en même temps, ouvrir une seule cartouche ; ajouter l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon et fermer la cartouche avant de traiter l'échantillon suivant. Changer de gants d'un échantillon à l'autre.
- Ne pas remplacer les réactifs Xpert MTB/RIF Assay par d'autres réactifs.
- Ne pas ouvrir le couvercle de la cartouche Xpert MTB/RIF Assay, sauf pour ajouter l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon.
- Ne pas utiliser une cartouche si elle semble humide ou si son couvercle semble avoir été descellé.
- Ne pas utiliser une cartouche qui est tombée ou qui a été agitée.
- Ne pas utiliser une cartouche dont le tube réactionnel est endommagé.



- Chaque cartouche Xpert MTB/RIF Assay à usage unique est utilisée pour effectuer un seul test. Ne pas réutiliser des cartouches usagées.
- Consulter le personnel de l'établissement chargé des déchets environnementaux pour les consignes relatives à une élimination appropriée des cartouches usagées et des réactifs inutilisés. Ce produit peut contenir des déchets dangereux, relevant de la loi fédérale EPA Resource Conservation and Recovery Act (RCRA) (loi de l'Agence des États-Unis pour la protection de l'environnement sur la préservation et la remise en état des ressources) et exigeant une élimination spécifique. Vérifier les réglementations locales et régionales car elles risquent d'être différentes des réglementations nationales d'élimination. Les établissements doivent vérifier les exigences de leur pays en matière d'élimination des déchets dangereux.



- Réactif échantillon contient de l'hydroxyde de sodium (pH > 12,5) ; (codes de sécurité chimique internationaux H303, H314), qui peut irriter les yeux et la peau et qui nécessite une protection pour les yeux et la peau. Le réactif échantillon contient également de l'isopropanol (code de sécurité chimique international H226), qui est un liquide inflammable.
- La population co-infectée par le VIH/MTB peut contenir un pourcentage augmenté de sujets avec des échantillons de frottis négatifs avec des niveaux de complexe MTB en-dessous du niveau de détection du test.
- Les réglementations locales, nationales et fédérales pour la notification de maladies à signaler sont mises à jour en permanence et comprennent un nombre d'organismes pour la surveillance et les enquêtes sur les flambées épidémiques.^{11,12} De plus les Centers for Disease Control and Prevention (CDC, Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis) recommandent que lorsque des pathogènes provenant de maladies à signaler sont détectées par un test de diagnostic indépendant par culture (CIDT), le laboratoire doit faciliter l'obtention de l'isolat ou des matériaux cliniques pour la soumission au laboratoire de santé publique appropriée afin d'aider dans le cadres des enquêtes sur les flambées épidémiques et les enquêtes épidémiologiques. Les laboratoires sont responsables du suivi de leurs réglementations nationales et locales et doivent consulter leurs laboratoires de santé publique nationaux et locaux et les instructions de soumission d'échantillons cliniques.

8. Collecte, transport et stockage des prélèvements

8.1 Collecte

Collecter les échantillons de crachats bruts ou de dépôts de crachats conformément aux procédures standard de l'établissement. Le sujet doit être assis ou debout. Consulter le Tableau 1 pour déterminer le volume d'échantillon adéquat.

Tableau 1. Volume d'échantillon requis

| Type d'échantillon | Volume minimum pour un test | Volume minimum total pour un test et une répétition du test – consulter la Section 11.2, Procédure de répétition du test |
|--------------------|-----------------------------|--|
| Dépôt de crachat | 0,5 mL | 1 mL |
| Crachat brut | 1 mL | 2 mL |

8.2 Conservation et transport



Dépôt de crachat : Conserver les dépôts remis en suspension entre 2 °C et 8 °C, pendant 7 jours maximum.



Crachat brut : Transporter et conserver si possible les échantillons entre 2 °C et 8 °C avant de les traiter. Si cela se révèle nécessaire, les échantillons de crachats peuvent être conservés à une température maximum de 35 °C, pendant 3 jours maximum, puis entre 2 °C et 8 °C pendant 7 jours supplémentaires.

9. Procédure(s) du test

9.1 Échantillons de dépôt concentré de crachat

Cette procédure est utilisée avec des échantillons de crachat préparés à partir d'expectorations spontanées ou provoquées.

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

Volumes requis : Le test MTB/RIF Assay nécessite au minimum 0,5 mL de dépôt de crachat remis en suspension après digestion, décontamination et concentration. Utiliser la méthode de Kent et Kubica⁸ et remettre en suspension le dépôt dans un tampon de Phosphate/H₂O à 67 mM. Après la remise en suspension, garder au moins 0,5 mL de dépôt remis en suspension pour Xpert MTB/RIF Assay.

1. Porter des gants de protection jetables.
2. Noter le numéro d'identification de l'échantillon sur chaque cartouche Xpert MTB/RIF.

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

3. Transférer au moins 0,5 mL du dépôt remis en suspension total vers un tube conique, avec bouchon à vis pour le test Xpert MTB/RIF Assay en utilisant une pipette de transfert. Il est également possible de traiter la totalité de l'échantillon dans le tube d'origine.



Remarque Conserver les dépôts remis en suspension entre 2 °C et 8 °C, pendant 7 jours maximum.

4. À l'aide d'une pipette de transfert, transférer 1,5 mL de réactif pour échantillon dans 0,5 mL de dépôt remis en suspension. Pour de plus grands volumes de dépôt, ajouter un volume de réactif pour échantillon égal à trois fois le volume du dépôt remis en suspension.
5. Reboucher le tube et agiter énergiquement 10 à 20 fois, ou passer au vortex pendant au moins 10 secondes minimum.

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

6. Incuber l'échantillon pendant 15 minutes au total, entre 20 °C et 30 °C.
7. Cinq à 10 minutes après le début de la période d'incubation, agiter vigoureusement 10 à 20 fois ou passer au vortex pendant au moins 10 secondes.

9.2 Échantillons de crachat brut

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

1. Porter des gants de protection jetables.
2. Noter le numéro d'identification de l'échantillon sur chaque cartouche Xpert MTB/RIF. Voir la figure 1.

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



Figure 1. Écrire sur la cartouche avec un feutre permanent

3. Ouvrir avec précaution le couvercle du récipient de collecte de crachat. Voir la figure 2.



Figure 2. Ouverture du récipient d'échantillon

4. Verser ou pipeter (pipette non fournie) environ 2 fois le volume du réactif pour échantillon dans le crachat (dilution 2:1, réactif pour échantillon : crachat). Veiller à ce que le réactif pour échantillon n'entre pas en contact avec la peau nue. Voir la figure 3.

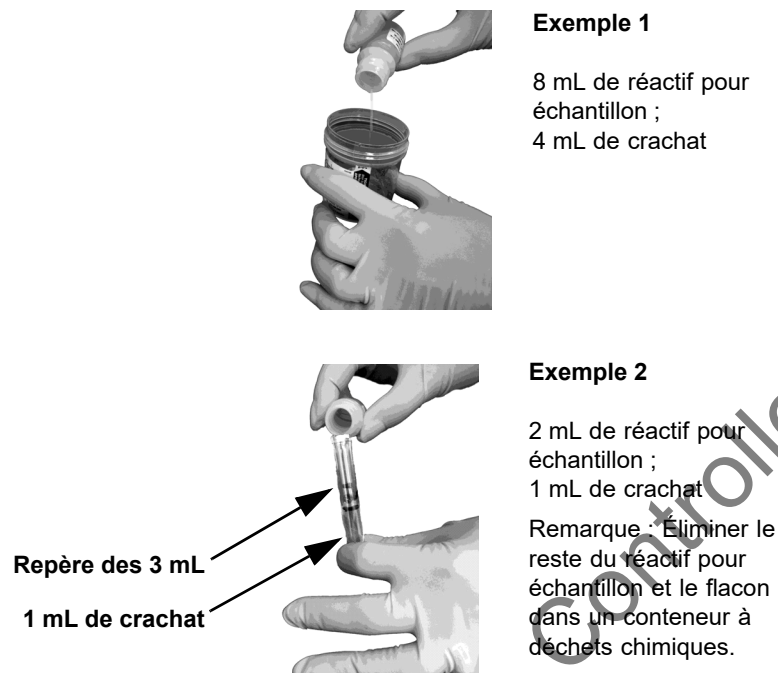


Figure 3. Exemples de dilutions 2:1

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

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

7. Incuber l'échantillon pendant 15 minutes au total, entre 20 °C et 30 °C.
8. Cinq à 10 minutes après le début de la période d'incubation, agiter vigoureusement 10 à 20 fois ou passer au vortex pendant au moins 10 secondes.

9.3 Préparation de la cartouche

Important Si un instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer le test dans les 4 heures qui suivent l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la cartouche. Si un système GeneXpert Infinity est utilisé, veiller à commencer le test et à mettre la cartouche sur le tapis roulant dans les 30 minutes qui suivent l'ajout de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la cartouche. La durée de conservation restante est suivie par le système, par le biais du logiciel Xpertise, de manière à ce que les tests soient exécutés avant la péremption de ces éléments, qui a lieu au bout de quatre heures à bord.

Remarque Lors du traitement de plusieurs échantillons en même temps, ouvrir uniquement une cartouche, verser l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon et fermer la cartouche avant de passer à l'échantillon suivant. Changer de gants d'un échantillon à l'autre.

Pour ajouter l'échantillon et les réactifs à la cartouche :

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



Figure 4. Aspiration jusqu'au repère sur la pipette

3. En pipetant lentement l'échantillon afin de réduire le risque de formation d'aérosol, transférer l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon dans la chambre pour échantillon de la cartouche Xpert MTB/RIF. Voir la figure 5.



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



4. Bien fermer le couvercle de la cartouche. Le reste de l'échantillon traité avec le réactif pour échantillon peut être conservé pendant 4 heures maximum, entre 2 °C et 8 °C, au cas où il serait nécessaire de répéter le test.

9.4 Démarrage du test

Important

Avant de démarrer le test, vérifier que le logiciel GeneXpert Version 4.3 ou ultérieure est installé sur le système et que le fichier de définition du test Xpert MTB/RIF assay a été importé dans le logiciel.

Cette section énumère les étapes de base pour l'exécution du test. Pour obtenir des instructions détaillées, consulter le *Manuel d'utilisation du GeneXpert Dx System* ou le *Manuel d'utilisation du système GeneXpert Infinity*.

Remarque

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

1. Mettre le système d'instrument GeneXpert sous tension.
 - Si l'instrument GeneXpert Dx est utilisé, commencer par mettre l'instrument GeneXpert Dx sous tension puis allumer l'ordinateur. Le logiciel GeneXpert se lancera automatiquement ou nécessitera un double-clic sur l'icône de raccourci du logiciel GeneXpert Dx présente sur le bureau Windows®.
 - ou
 - Si l'instrument GeneXpert Infinity est utilisé, allumer l'instrument. Sur le bureau Windows, double-cliquer sur l'icône de raccourci du logiciel Xpertise.
2. Se connecter au logiciel du système d'instrument GeneXpert en saisissant votre nom d'utilisateur et votre mot de passe.
3. Dans la fenêtre du système GeneXpert, cliquer sur **Créer un test** (sur GeneXpert Dx) ou sur **Orders (Commandes)** et **Order Test (Commander test)** (sur Infinity).
4. Lire ou saisir le n° Id du sujet (facultatif). S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° ID du sujet. Le n° ID du sujet est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre Afficher les résultats.

5. Scanner ou saisir le n° Id de l'échantillon. S'assurer, le cas échéant, de saisir correctement le n° Id de l'échantillon. Le n° Id de l'échantillon est associé aux résultats du test et indiqué dans la fenêtre Afficher les résultats ainsi que dans tous les rapports. La boîte de dialogue Lire le code-barres de la cartouche apparaît.
6. Scanner le code-barres sur la cartouche Xpert MTB/RIF. La fenêtre Créer un test s'affiche. Grâce aux informations du code-barres, le logiciel remplit automatiquement les cases des champs suivants : Sélectionner un test, N° du lot de réactif, N° de série de cartouche et Date de péremption.

Remarque S'il n'est pas possible de scanner le code-barres sur la cartouche Xpert MTB/RIF, refaire le test avec une nouvelle cartouche.

7. Cliquer sur **Démarrer le test** (GeneXpert Dx) ou sur **Submit (Soumettre)** (Infinity). Saisir le mot de passe si nécessaire.
8. Pour le système GeneXpert Infinity, placer la cartouche sur le tapis roulant. La cartouche sera automatiquement chargée, le test sera exécuté et la cartouche usagée sera placée dans le conteneur à déchets.

ou

Pour l'instrument GeneXpert Dx :

- A. Ouvrir la porte du module de l'instrument avec le voyant vert clignotant et charger la cartouche.
- B. Fermer la porte. Le test démarre et le voyant vert clignotant cesse de clignoter. Lorsque le test est terminé, le voyant s'éteint.
- C. Attendre que le système déverrouille la porte du module avant de l'ouvrir et de retirer la cartouche.
- D. Éliminer les cartouches usagées dans les conteneurs à déchets correspondant aux échantillons utilisés, conformément aux pratiques standard de l'établissement.

9.5 Affichage et impression des résultats

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

1. Cliquer sur l'icône **Afficher les résultats** pour afficher les résultats.
2. Une fois le test terminé, au bout de 2 heures environ, cliquer sur le bouton **Rapport** de l'écran Afficher les résultats pour afficher et/ou créer un fichier de rapport au format pdf.

10. Contrôle qualité

CONTROL

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

Contrôle de traitement de l'échantillon (SPC) – Assure le traitement correct de l'échantillon. Le CTE comprend des spores non infectieuses, sous la forme d'un granulé sec de spores qui est inclus dans chaque cartouche pour vérifier le bon déroulement du traitement du bacille de Koch. Le CTE vérifie que la lyse du bacille de Koch a eu lieu, si les organismes sont présents, et vérifie que le traitement de l'échantillon est adéquat. En outre, ce contrôle détecte l'inhibition associée à l'échantillon du test de PCR en temps réel et agit comme un contrôle positif interne.

Le CTE doit être positif dans un échantillon négatif au bacille de Koch et peut être négatif ou positif dans un échantillon positif. Le CTE est réussi s'il répond aux critères d'acceptation validés. Le résultat du test sera « **Invalid (Non valide)** » si le CTE n'est pas détecté dans un échantillon négatif au bacille de Koch.

Contrôle de vérification de la sonde (CVS, QC1, QC2) – Avant de démarrer les premières et deuxièmes réactions de PCR nichée, le système d'instrument GeneXpert mesure le signal de fluorescence à partir des sondes QC1 et QC2 (réaction 1) et des sondes *rpoB* et CTE (réaction 2), afin de contrôler la réhydratation des billes, le remplissage des tubes réactionnels, l'intégrité de la sonde et la stabilité du fluorochrome. Le CVS réussit s'il répond aux critères d'acceptation attribués.

Contrôles externes

Le contrôle de série externe MMQCI (Maine Molecular Quality Controls, Inc.) INTROL™ (référence catalogue TBNEG-04), utilisé comme contrôle négatif, et les contrôles de série externes MMQCI INTROL™ (références catalogue TBWT-04 et TBMDR1-04), utilisés comme contrôles positifs sensibles et résistants à la rifampicine, peuvent être utilisés dans le cadre de formations, de tests de compétences et de contrôles de qualité externes. Des contrôles externes peuvent être utilisés conformément aux exigences des organisations d'accréditation locales, régionales et nationales, selon les besoins.

11. Interprétation des résultats

Le système d'instrument GeneXpert génère les résultats à partir des signaux de fluorescence mesurés et des algorithmes de calculs intégrés. Il est possible de voir les résultats dans la fenêtre Afficher les résultats. Consulter les figure 6, figure 7, figure 8, et figure 9 pour obtenir des exemples spécifiques et consulter le Tableau 2 pour une liste de tous les résultats possibles.

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

| Résultat | Interprétation |
|---|---|
| MTB DETECTED ; Rif Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ) (figure 6) | La cible du bacille de Koch est détectée dans l'échantillon : <ul style="list-style-type: none"> • Une mutation du gène <i>rpoB</i> a été détectée. • SPC : NA (non applicable). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS (RÉUSSITE). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |
| MTB DETECTED ; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ) (figure 7) | La cible du bacille de Koch est détectée dans l'échantillon : <ul style="list-style-type: none"> • Aucune mutation du gène <i>rpoB</i> n'a été détectée. • SPC : NA (non applicable). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS (RÉUSSITE). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |
| MTB DETECTED ; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ) (figure 8) | La cible du bacille de Koch est détectée dans l'échantillon : <ul style="list-style-type: none"> • Aucune mutation du gène <i>rpoB</i> n'a pu être déterminée en raison d'une détection insuffisante du signal. • SPC : NA (non applicable). Un signal du CTE n'est pas nécessaire car l'amplification du bacille de Koch peut entrer en concurrence avec ce contrôle. • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS (RÉUSSITE). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |
| MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ) (figure 9) | La cible du bacille de Koch n'est pas détectée dans l'échantillon. <ul style="list-style-type: none"> • SPC : PASS (RÉUSSITE). Le CTE satisfait aux critères d'acceptation. • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS (RÉUSSITE). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |
| INVALID (NON VALIDE) (figure 10) | Impossible de déterminer la présence ou l'absence du bacille de Koch. Le CTE ne satisfait pas aux critères d'acceptation, l'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée. Répéter le test. Voir la Section 11.2, Procédure de répétition du test. <ul style="list-style-type: none"> • MTB INVALID (Bacille de Koch NON VALIDE) : Impossible de déterminer la présence ou l'absence du bacille de Koch. • SPC : FAIL (ÉCHEC). Le résultat de la cible du bacille de Koch est négatif et la valeur Ct du CTE n'est pas comprise dans l'intervalle valide. • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS (RÉUSSITE). Tous les résultats de vérification de la sonde ont réussi. |

Tableau 2. Résultats et interprétations du test Xpert MTB/RIF Assay (Suite)

| Résultat | Interprétation |
|------------------------------------|--|
| ERROR (ERREUR) | <p>Impossible de déterminer la présence ou l'absence du bacille de Koch. Répéter le test. Voir la Section 11.2, Procédure de répétition du test.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bacille de Koch : NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) • SPC : NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : PASS/FAIL (ÉCHEC/RÉUSSITE) L'échec de la vérification de la sonde peut être à l'origine d'une erreur ; cependant, d'autres erreurs, telles qu'un échec d'un composant du système, peuvent avoir lieu, même si la vérification de la sonde est réussie. |
| NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) | <p>Impossible de déterminer la présence ou l'absence du bacille de Koch. Répéter le test. Voir la Section 11.2, Procédure de répétition du test. La mention NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) indique que trop peu de données ont été collectées. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Bacille de Koch : NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) • SPC : NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) • Vérification de la sonde (QC1 et QC2) : NA (non applicable). |

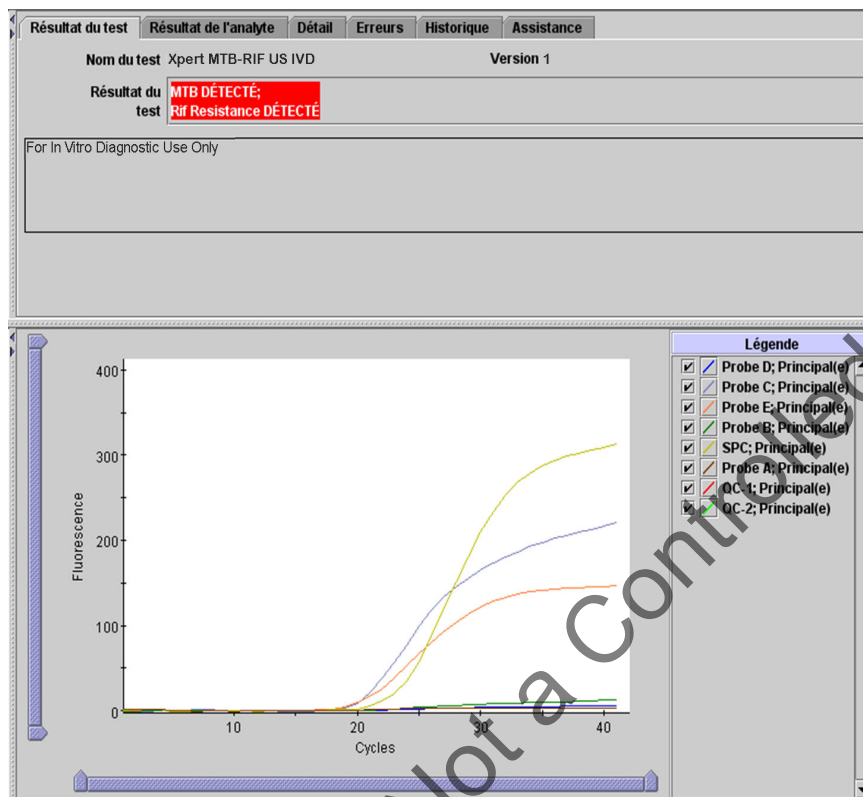


Figure 6. Exemple d'un résultat MTB DETECTED ; Rif Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ)

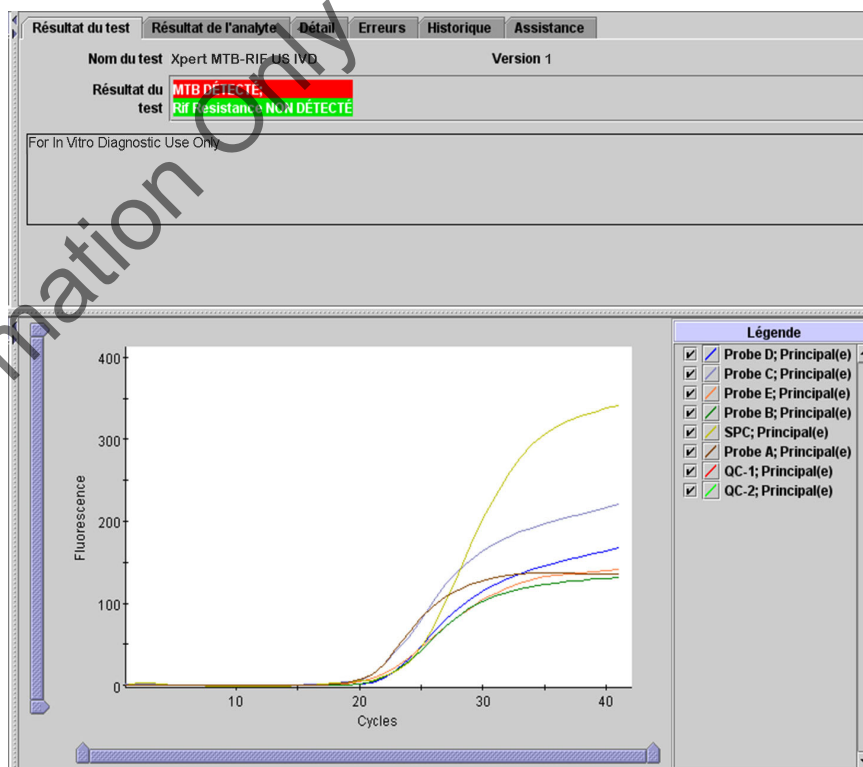


Figure 7. Exemple d'un résultat MTB DETECTED ; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ)

Rif Resistance non DÉTECTÉ)

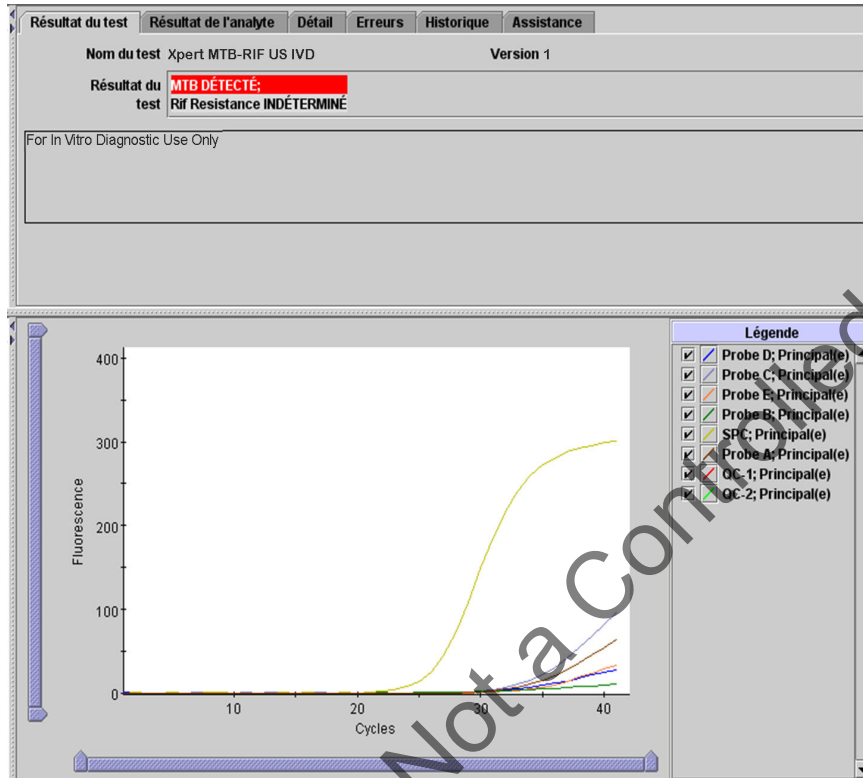


Figure 8. Exemple d'un résultat MTB DETECTED ; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ)

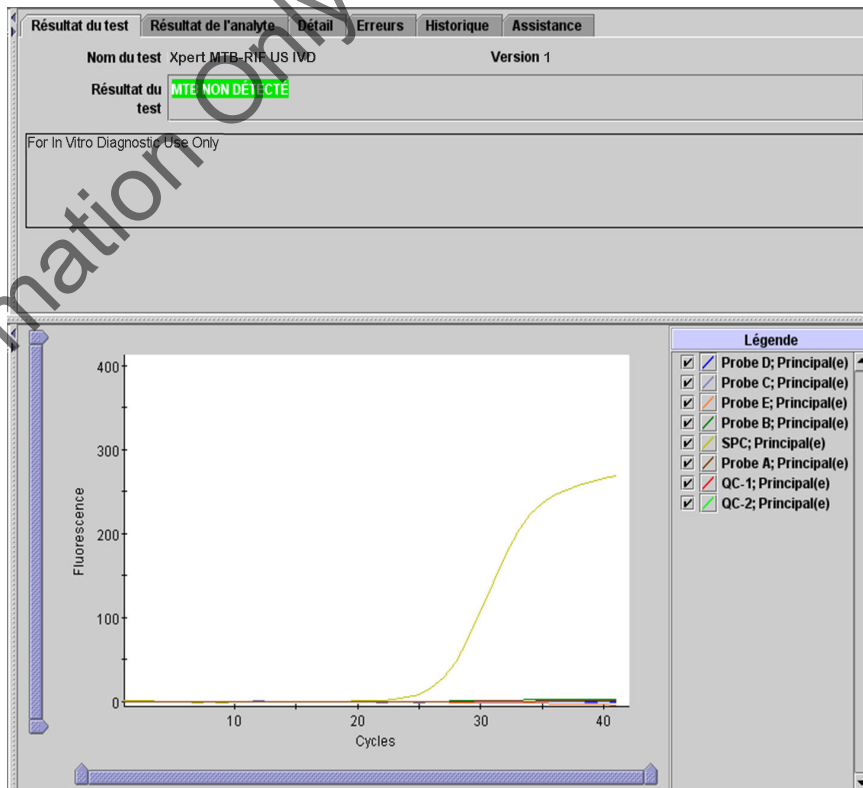


Figure 9. Exemple d'un résultat MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)

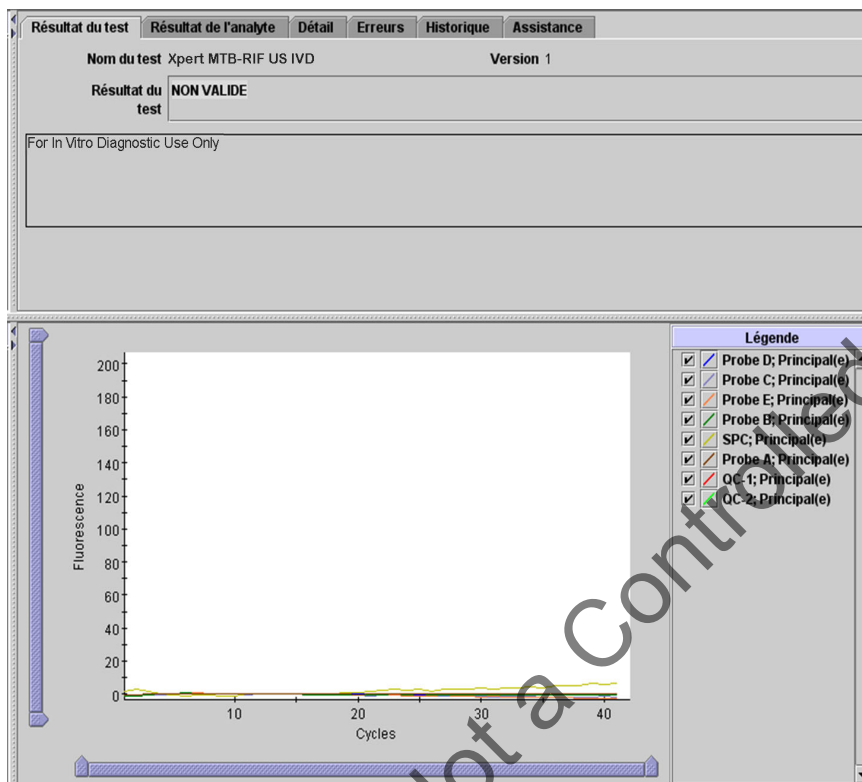


Figure 10. Exemple d'un résultat INVALID (NON VALIDE)

11.1 Raisons pour lesquelles le test doit être répété

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

- Un résultat **INVALID (NON VALIDE)** indique que le CTE a échoué. L'échantillon n'a pas été traité correctement ou la PCR a été inhibée.
- Un résultat **ERROR (ERREUR)** indique un échec du CVS (QC1 ou QC2) ou du système ainsi qu'une interruption du test. Ces erreurs sont peut-être dues à un remplissage incorrect du tube réactionnel, à la détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif, au dépassement des limites maximales de pression ou à la défaillance d'un module GeneXpert.
- Un résultat **NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT)** indique que les données recueillies étaient insuffisantes. Par exemple, l'opérateur a interrompu un test en cours.

11.2 Procédure de répétition du test

S'il reste du dépôt reconstitué ou du crachat brut, toujours utiliser un nouveau réactif pour échantillon afin de traiter le crachat avant de réaliser le test. Voir la Section 9.1, Échantillons de dépôt concentré de crachat ou la Section 9.2, Échantillons de crachat brut.

S'il reste suffisamment d'échantillon traité avec le réactif pour échantillon et si la préparation de l'échantillon date de moins de 4 heures, utiliser l'échantillon restant pour préparer et traiter immédiatement une nouvelle cartouche sur l'instrument GeneXpert.

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

Lors de la répétition du test, toujours utiliser une nouvelle cartouche. Voir la Section 9.3, Préparation de la cartouche.

12. Limites

- Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay ont été évaluées en utilisant des expectorations spontanées ou provoquées. Les tests menés sur d'autres échantillons cliniques (tels que le sang, le LCR, le liquide d'aspiration gastrique, les selles, les tissus, l'urine) n'ont pas été évalués et sont susceptibles d'altérer les performances du test.
- Les dépôts de crachats concentrés, utilisés pendant l'évaluation des performances du test Xpert MTB/RIF Assay, ont été préparés conformément aux procédures NALC-NaOH ou NaOH, recommandées par les Centers for Disease Control and Prevention (Centres pour le contrôle et la prévention des maladies aux États-Unis).⁸ L'utilisation d'autres méthodes de préparation des dépôts peut altérer les performances du test.
- L'utilisation du test Xpert MTB/RIF Assay n'est pas indiquée pour des échantillons de crachats provenant de patients sous traitement antituberculeux, que ce soit pour déterminer un traitement bactériologique ou pour contrôler la réponse à la thérapie.
- Un résultat de test négatif n'exclut pas la possibilité d'isoler le complexe MTB de l'échantillon de crachat. Le test Xpert MTB/RIF Assay doit être utilisé conjointement à une culture mycobactérienne pour faire face au risque de résultats faussement négatifs et pour récupérer les organismes en vue d'autres tests de caractérisation et de sensibilité médicamenteuse.
- Un résultat de test positif n'indique pas forcément la présence d'organismes viables.
- Le test Xpert MTB/RIF Assay ne différencie pas les espèces du complexe MTB (c'est-à-dire *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. canettii*, *M. microti*, *M. caprae*, *M. pinnipedi*, *M. mungi* et *M. orygis*). Par ailleurs, des cultures doivent également être réalisées pour déterminer si des mycobactéries autres que le complexe tuberculosis (MOTT, mycobacteria other than tuberculosis) sont présentes en plus du complexe MTB.
- On peut observer une sensibilité inférieure chez les patients pédiatriques en raison de la nature diffuse de l'infection par le bacille de Koch dans les poumons de ce groupe de patients et des difficultés rencontrées pour obtenir des échantillons adéquats.
- En raison de la faible prévalence de la tuberculose résistante à la rifampicine aux États-Unis et des implications de cette résistance en termes de traitement, un laboratoire de référence doit confirmer la présence des mutations du gène *rpoB*, associées à la résistance à la rifampicine, dans toutes les souches du complexe MTB reconnues comme résistantes à cet antibiotique par le test Xpert MTB/RIF Assay. Il est également nécessaire de mener d'autres tests pour détecter la présence de mutations associées à la résistance à d'autres médicaments du traitement contre la tuberculose.
- La fiabilité des résultats dépend de l'adéquation de la collecte, de la manipulation et du stockage de l'échantillon puisque la détection du complexe MTB repose sur le nombre d'organismes présents dans celui-ci. Des résultats de test erronés peuvent résulter d'une collecte d'échantillon incorrecte, du non-respect de la procédure recommandée pour la collecte des échantillons, de problèmes de manipulation ou de stockage, d'une erreur technique, d'un mélange des échantillons ou d'une concentration insuffisante dans le matériel de départ. Il est nécessaire de respecter scrupuleusement les instructions de cette notice afin d'éviter des résultats erronés.
- Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay n'ont pas été évaluées avec des échantillons provenant d'enfants.
- Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay dépendent des compétences de l'opérateur et de son respect des procédures de test. Les erreurs liées aux procédures de test peuvent entraîner des résultats faussement positifs ou faussement négatifs. Tous les opérateurs du dispositif doivent recevoir une formation appropriée à sa manipulation.
- Un professionnel de santé qualifié doit interpréter les résultats du test conjointement avec les antécédents médicaux, les signes et les symptômes cliniques du patient et doit s'appuyer sur des résultats issus d'autres tests diagnostiques.
- Des interférences peuvent être observées dans le test en présence de lidocaïne (> 20 % v/v), de mucine (> 1,5 % m/v), d'éthambutol (> 5 µg/mL), de guaïfénésine (> 2,5 mg/mL), de phényléphrine (> 25 % v/v) ou d'huile d'arbre à thé (< 0,008 % v/v).
- Des études ont démontré que *M. scrofulaceum*, testé à une concentration de 10⁸ UFC/mL, produit un résultat faussement positif avec le test Xpert MTB/RIF Assay.
- Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaison d'amorce ou de sonde peuvent affecter la détection de souches MDR-MTB ou résistantes à la RIF nouvelles ou inconnues, produisant un résultat faussement négatif ou un résultat indiquant erronément la présence d'une résistance dans les souches sensibles à la rifampicine.

13. Valeurs attendues d'un test Xpert MTB/RIF Assay

La probabilité qu'un résultat de test positif soit un vrai positif variera selon la prévalence de la tuberculose dans la population testée et selon que le frottis pour la détection des BAAR soit positif ou négatif.

Dans deux évaluations cliniques prospectives multicentriques des performances du test Xpert MTB/RIF Assay chez des sujets aux États-Unis avec une suspicion de TB active, la prévalence globale de maladie confirmée par culture était de 13,2 %. Parmi les sujets avec une TB confirmée par culture, 71,6 % présentaient un frottis positif pour les BAAR.

13.1 Valeurs prédictives pour un test Xpert MTB/RIF Assay

Les estimations des valeurs prédictives hypothétiques, négatives et positives, de détection du bacille de Koch, pour différents taux de prévalence, par le test Xpert MTB/RIF Assay, sont indiquées dans le Tableau 3. Ces calculs s'appuient sur des prévalences hypothétiques et sur la sensibilité et la spécificité globales (comparées aux cultures), observées pendant les études cliniques multicentriques. La sensibilité du test Xpert MTB/RIF Assay était de 99,4 % (479/482) pour les échantillons présentant un frottis positif pour les BAAR et de 67,2 % (135/201) pour ceux présentant un frottis négatif. La spécificité globale du test Xpert MTB/RIF Assay était de 98,7 % (1355/1373). La prévalence du bacille de Koch était de 11,8 % dans la première étude prospective et 14,2 % dans la deuxième étude prospective américaine.

Tableau 3. Valeurs prédictives hypothétiques d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture du bacille de Koch

| Prévalence des échantillons avec culture positive pour le bacille de Koch | Probabilité d'échantillons avec culture positive pour bacille de Koch parmi | | Probabilité d'échantillons avec culture négative pour bacille de Koch parmi |
|---|--|--|---|
| | Échant. avec frottis pos. pour BAAR, résultat Xpert MTB/RIF DETECTED (MTB/RIF DÉTECTÉ) | Échant. avec frottis nég. pour BAAR, résultat Xpert MTB/RIF DETECTED (MTB/RIF DÉTECTÉ) | Xpert MTB/RIF NOT DETECTED (MTB/RIF NON DÉTECTÉ) |
| 1 % | 89,69 % | 13,67 % | 99,90 % |
| 2 % | 94,61 % | 24,24 % | 99,80 % |
| 3 % | 96,38 % | 32,65 % | 99,70 % |
| 4 % | 97,29 % | 39,51 % | 99,59 % |
| 5 % | 97,84 % | 45,20 % | 99,48 % |
| 10 % | 98,97 % | 63,52 % | 98,91 % |
| 11,8 % | 99,14 % | 67,71 % | 98,70 % |
| 14,2 % | 99,30 % | 72,18 % | 98,39 % |
| 20 % | 99,54 % | 79,67 % | 97,59 % |
| 40 % | 99,83 % | 91,27 % | 93,82 % |
| 50 % | 99,88 % | 94,00 % | 91,01 % |

13.2 Valeurs prédictives basées sur deux résultats Xpert MTB/RIF Assays

Les estimations des valeurs prédictives hypothétiques, négatives et positives, de détection du bacille de Koch, pour différents taux de prévalence, par deux tests Xpert MTB/RIF Assay, sont indiquées dans le Tableau 4. Ces calculs sont basés sur une prévalence hypothétique et sur la sensibilité et la spécificité globales (quand ils sont comparés à une culture) observées dans le deuxième des deux études multicentriques où deux tests Xpert MTB/RIF Assays ont été réalisés sur chaque sujet. La sensibilité de deux tests Xpert MTB/RIF Assay était de 100 % (133/133) pour les échantillons présentant un frottis positif pour les BAAR et de 69,4 % (59/85) pour ceux présentant un frottis négatif pour les BAAR. La spécificité globale de deux résultats Xpert MTB/RIF assay était de 97,9 % (746/762).

Tableau 4. Valeurs prédictives hypothétiques de deux performances du test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture du bacille de Koch ^a

| Prévalence des échantillons avec culture positive pour le bacille de Koch | Probabilité d'échantillons avec culture positive pour bacille de Koch parmi | | Probabilité d'échantillons avec culture négative pour bacille de Koch parmi |
|---|---|---|---|
| | Deux Échant. avec frottis pos. pour BAAR, résultat Xpert MTB/RIF DETECTED (MTB/RIF DÉTECTÉ) | Deux Échant. avec frottis nég. pour BAAR, résultat Xpert MTB/RIF DETECTED (MTB/RIF DÉTECTÉ) | Deux Xpert MTB/RIF NOT DETECTED (NON DÉTECTÉ) |
| 1 % | 84,40 % | 9,19 % | 99,91 % |
| 2 % | 91,62 % | 16,98 % | 99,82 % |
| 3 % | 94,31 % | 23,66 % | 99,72 % |
| 4 % | 95,71 % | 29,46 % | 99,63 % |
| 5 % | 96,57 % | 34,54 % | 99,53 % |
| 10 % | 98,35 % | 52,69 % | 99,02 % |
| 11,8 % | 98,62 % | 57,28 % | 98,82 % |
| 14,2 % | 98,88 % | 62,39 % | 98,54 % |
| 20 % | 99,26 % | 71,48 % | 97,81 % |
| 40 % | 99,72 % | 86,98 % | 94,37 % |
| 50 % | 99,81 % | 90,93 % | 91,79 % |

^a La sensibilité de 100 % pour deux résultats Xpert MTB/RIF assay pour des sujets avec frottis positif pour les BAAR a été évaluée à 99,9 % dans ce tableau.

13.3 Valeurs prédictives pour le résultat MTB DETECTED, RIF Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ) d'un test Xpert MTB/RIF Assay

Les estimations des valeurs prédictives hypothétiques pour le résultat **MTB DETECTED, RIF Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ)**, pour différents taux de prévalence des sujets avec une culture positive pour le bacille de Koch, et différents taux de prévalence de la résistance à la rifampicine parmi ces sujets, sont indiquées dans le Tableau 5. Ces calculs s'appuient sur des prévalences hypothétiques et sur la sensibilité et la spécificité globales (comparées à l'analyse phénotypique de sensibilité médicamenteuse ou « drug susceptibility testing », DST), observées pendant la première des deux études cliniques multicentriques. La sensibilité du test Xpert MTB/RIF Assay, en termes de détection de la résistance à la rifampicine, était de 94,7 % (18/19) et la spécificité était de 99,0 % (404/408). La prévalence de la tuberculose dans l'étude prospective américaine était de 11,8 %. Dans la population américaine atteinte de tuberculose, la prévalence de la résistance à la rifampicine est d'environ 1,8 %.⁵

Tableau 5. Valeurs prédictives hypothétiques d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à l'analyse de sensibilité médicamenteuse

| Prévalence des échantillons avec culture positive pour le bacille de Koch | Prévalence de la résistance à la rifampicine parmi les échantillons avec une culture positive pour le bacille de Koch | Probabilité de la résistance à la rifampicine parmi les résultats Xpert « MTB DETECTED ; RIF Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ) » | Pourcentage de résultats Xpert « MTB DETECTED ; RIF Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ) » dans la population | Probabilité de la résistance à la rifampicine parmi les résultats Xpert « MTB DETECTED RIF Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ) » |
|---|---|---|---|---|
| 5 % | 1,0 % | 48,4 % | 0,09 % | 0,04 % |
| | 1,5 % | 58,6 % | 0,11 % | 0,06 % |
| | 2,0 % | 65,5 % | 0,13 % | 0,08 % |
| | 10 % | 91,2 % | 0,47 % | 0,45 % |
| | 50 % | 98,9 % | 2,17 % | 3,39 % |
| 11,8 % | 1,0 % | 48,4 % | 0,21 % | 0,05 % |
| | 1,5 % | 58,6 % | 0,26 % | 0,07 % |
| | 2,0 % | 65,5 % | 0,31 % | 0,10 % |
| | 10 % | 91,2 % | 1,11 % | 0,51 % |
| | 50 % | 98,9 % | 5,11 % | 4,16 % |
| 20 % | 1,0 % | 48,4 % | 0,35 % | 0,05 % |
| | 1,5 % | 58,6 % | 0,44 % | 0,07 % |
| | 2,0 % | 65,5 % | 0,52 % | 0,10 % |
| | 10 % | 91,2 % | 1,88 % | 0,54 % |
| | 50 % | 98,9 % | 8,66 % | 4,46 % |

14. Caractéristiques des performances – Performance clinique

14.1 Étude 1

14.1.1 Conception de l'étude

Les caractéristiques des performances du test Xpert MTB/RIF Assay en termes de détection de l'ADN du complexe MTB et de détection de la résistance à la rifampicine dans des échantillons de crachats, par rapport aux résultats de culture (solide et/ou liquide) suivis d'une analyse de sensibilité médicamenteuse (DST, drug susceptibility testing), ont été déterminées dans une étude multicentrique (Étude 1), à l'aide d'échantillons de crachats prospectifs et archivés, recueillis dans des populations américaines et non américaines. Un seul échantillon en surplus de crachat ou de dépôt concentré, conforme aux normes, préparé à partir d'expectorations spontanées ou provoquées, provenant de sujets participant à l'étude et présentant une suspicion de tuberculose, a été testé par le test Xpert MTB/RIF Assay. Tous les frottis de détection des BAAR ont été menés sur des dépôts concentrés.

Les échantillons de sujets âgés de 18 ans ou plus étaient admissibles dans l'étude multicentrique (Étude 1) si les sujets présentaient une suspicion de tuberculose pulmonaire, ne recevaient aucun traitement antituberculeux ou étaient traités depuis moins de 3 jours, si les échantillons avaient un volume suffisant pour être testés sur le test Xpert MTB/RIF Assay et s'ils disposaient des résultats du frottis de détection des BAAR, de la culture du bacille de Koch et de l'analyse phénotypique de sensibilité médicamenteuse (DST, phenotypic drug susceptibility testing). Sur les 1 126 échantillons admissibles et testés par le test Xpert MTB/RIF Assay, 1 096 ont été utilisés dans l'analyse. Trente échantillons ont été exclus de l'analyse ; 13 échantillons en raison de résultats non déterminés par le test Xpert MTB/RIF Assay (soit INVALID (NON VALIDE), ERROR (ERREUR) ou NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT) et 17 échantillons en raison d'une contamination de la culture du bacille de Koch.

Les échantillons provenaient de sujets de l'étude âgés de ≥ 18 ans, dont 62 % (n=679) d'hommes et 36 % de femmes (n=396) ; pour 1,9 % d'entre eux (n=21), le sexe des sujets était inconnu. Ils étaient issus de régions géographiques diverses : 49 % (n=542) venaient des États-Unis (Californie, New York et Floride) et 51 % (n=554) de pays hors États-Unis (Vietnam, Pérou, Afrique du Sud, Mexique et Bangladesh). Parmi les 542 échantillons américains, 450 ont été recueillis prospectivement et 92 étaient issus d'une banque d'échantillons archivés ; parmi les 554 échantillons non américains, 23 ont été recueillis prospectivement et 531 provenaient d'une banque d'échantillons archivés.

14.1.2 Performances d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à une culture de bacille de Koch

Un à trois échantillons de crachat ont été collectés chez chaque sujet participant à l'étude afin d'être utilisés dans l'étude clinique (33,9 % des sujets de l'étude ont fourni 1 échantillon de crachat, 44,2 % ont fourni 2 échantillons de crachat et 22,0 % ont fourni 3 échantillons de crachat). Si plus d'un échantillon était recueilli auprès d'un sujet, le premier échantillon disposant d'un volume suffisant a été testé par le test Xpert MTB/RIF Assay. Si le résultat du test s'est avéré non déterminé (c'est-à-dire ERROR (ERREUR), INVALID (NON VALIDE) ou NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT)), le même échantillon a été testé à nouveau, s'il disposait d'un volume suffisant. Globalement, 1,2 % des échantillons testés (13/1 126 ; IC à 95 % : 0,7 % à 2,0 %) se sont révélés non déterminés. Sur les 1 096 sujets disposant de résultats de culture du bacille de Koch, le test Xpert MTB/RIF Assay a fourni un résultat avec le premier échantillon pour 85,5 % des sujets, avec le deuxième échantillon pour 11,2 % des sujets et avec le troisième échantillon pour 0,3 % des sujets. Le statut du frottis de détection des BAAR d'un sujet a été établi d'après le résultat du frottis de l'échantillon, accompagné d'un résultat correspondant avec le test Xpert MTB/RIF Assay. Le statut de la culture du bacille de Koch d'un sujet a été défini d'après le résultat de la culture de ce bacille pour l'ensemble des échantillons pour ce sujet.

Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay pour la détection du bacille de Koch, par rapport à la culture du bacille, stratifiées selon le statut du frottis de détection des BAAR, sont indiquées dans le Tableau 6 et le Tableau 7. Les résultats discordants avec une culture positive pour le bacille de Koch et un résultat de test Xpert MTB/RIF Assay indiquant **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)** ont été évalués plus en détail à l'aide d'un séquençage bidirectionnel de la région *rpoB* du génome du bacille de Koch. Aucune analyse de discordance n'a été menée sur les échantillons de culture négatifs pour le bacille de Koch.

Tableau 6. Performances d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture du bacille de Koch chez les sujets avec un frottis positif pour les BAAR

| | | Culture | | |
|--|---|----------------|----------------|-------|
| | | + | - | Total |
| Xpert MTB/ RIF Assay | MTB DETECTED (MTB DÉTECTÉ) | 350 | 1 ^a | 351 |
| | MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ) | 1 ^b | 65 | 66 |
| | Total | 351 | 66 | 417 |
| Sensibilité = 99,7 % (350/351) avec un IC à 95 % : 98,4 % - 99,9 % Spécificité = 98,5 % (65/66) avec un IC à 95 % : 91,9 % - 99,7 % | | | | |

^a Le test Xpert MTB/RIF Assay a détecté le bacille de Koch dans un échantillon dont la culture était négative pour le bacille de Koch. Le résultat de la culture s'est appuyé, pour ce sujet, sur un échantillon de crachat.

^b Un échantillon dont la culture était positive pour le bacille de Koch n'a pas été détecté par le test Xpert MTB/RIF Assay. Une analyse de séquençage bidirectionnel a établi que cet isolat de culture était positif pour le bacille de Koch.

Tableau 7. Performances d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture du bacille de Koch pour les sujets avec un frottis négatif pour les BAAR

| | | Culture | | |
|---|---|-----------------|----------------|-------|
| | | + | - | Total |
| Xpert MTB/ RIF Assay | MTB DETECTED (MTB DÉTECTÉ) | 89 | 7 ^a | 96 |
| | MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ) | 28 ^b | 555 | 583 |
| | Total | 117 | 562 | 679 |
| Sensibilité = 76,1 % (89/117) avec un IC à 95 % : 67,6 % - 82,9 % Spécificité = 98,8 % (555/562) avec un IC à 95 % : 97,5 % - 99,4 % | | | | |

^a Le test Xpert MTB/RIF Assay a détecté le bacille de Koch dans sept échantillons disposant d'une culture négative pour ce bacille. Les résultats de ces cultures se sont appuyés sur un échantillon de crachat pour trois sujets, deux échantillons de crachat pour deux sujets et trois échantillons de crachat pour deux sujets.

^b Le test Xpert MTB/RIF Assay n'a pas détecté vingt-huit échantillons de culture positifs pour le bacille de Koch. Une analyse de séquençage bidirectionnel a établi que ces isolats de culture étaient positifs pour le bacille de Koch.

La sensibilité globale dépend du pourcentage de sujets avec un frottis positif pour les BAAR parmi les sujets présentant une culture positive pour le bacille de Koch. Pour les échantillons prélevés prospectivement à partir des sujets américains de l'Étude 1, ce pourcentage était de 75,5 % et la sensibilité globale était de 93,8 %. La spécificité globale était de 98,7 % (IC à 95 % : 97,5 % - 99,4 %).

Dans l'usage clinique, la sensibilité globale variera selon le pourcentage de patients atteints de tuberculose à frottis positif pour les BAAR dans la population testée ; la sensibilité globale sera inférieure dans une population de test où la probabilité d'être atteint d'une tuberculose à frottis positif pour les BAAR est plus faible, telle qu'une population de patients avec une prévalence plus élevée de co-infection par le VIH.

14.1.3 Les performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture pour le bacille de Koch par méthode de prélèvement

Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay en termes de détection du bacille de Koch ont été établies par rapport à la culture du bacille de Koch dans des échantillons d'expectorations spontanées ou provoquées. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 8 et le Tableau 9. Parmi les 1 096 échantillons, 535 étaient des échantillons spontanés, 234 des échantillons provoqués et 327 ont été recueillis selon une méthode de collecte inconnue.

Tableau 8. Performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture pour le bacille de Koch (expectoré)

| | Sujets avec un frottis positif pour les BAAR | Sujets avec un frottis négatif pour les BAAR |
|--------------------|--|--|
| Sensibilité | 99,6 % (271/272) IC de 95 % : 97,9 % - 99,9 % | 79,0 % (75/95) IC de 95 % : 69,7 % - 85,9 % |
| Spécificité | 97,6 % (164/168) IC de 95 % : 94,0 % - 99,1 % | |

Tableau 9. Performances d'un Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture MTB (Induite)

| | Sujets avec un frottis positif pour les BAAR | Sujets avec un frottis négatif pour les BAAR |
|--------------------|--|---|
| Sensibilité | 100 % (15/15) IC de 95 % : 79,6 % - 100 % | 40,0 % (4/10) IC de 95 % : 16,8 % - 68,7 % |
| Spécificité | 99,0 % (207/209) IC de 95 % : 96,6 % - 99,7 % | |

14.1.4 Performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture par type d'échantillon

Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay en termes de détection du bacille de Koch ont été établies par rapport à la culture du bacille de Koch dans des échantillons de crachats bruts et de dépôts concentrés de crachats. Les résultats sont indiqués dans le Tableau 10 et le Tableau 11. Sur 1 096 échantillons, 606 étaient composés d'échantillons de crachats bruts et 490 d'échantillons de dépôts concentrés de crachats.

Tableau 10. Performances d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture MTB (crachat Brut)

| | Sujets avec un frottis positif pour les BAAR | Sujets avec un frottis négatif pour les BAAR |
|--------------------|--|--|
| Sensibilité | 99,7 % (285/286) IC de 95 % : 98,0 % - 99,9 % | 79,4 % (77/97) IC de 95 % : 70,3 % - 86,2 % |
| Spécificité | 97,8 % (218/223) IC à 95 % : 94,9 % - 99,0 % | |

Tableau 11. Performances d'un résultat Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la culture pour le bacille de Koch (dépôt concentré)

| | Sujets avec un frottis positif pour les BAAR | Sujets avec un frottis négatif pour les BAAR |
|--------------------|--|--|
| Sensibilité | 100 % (65/65) IC de 95 % : 94,4 % - 100 % | 60,0 % (12/20) IC de 95 % : 38,7 % - 78,1 % |
| Spécificité | 99,3 % (402/405) IC de 95 % : 97,8 % - 99,7 % | |

14.1.5 Performances d'un test Xpert MTB/RIF Assay par rapport aux tests de sensibilité médicamenteuse pour RIF

Des isolats de culture positifs pour le bacille de Koch ont été testés pour évaluer leur sensibilité médicamenteuse à la rifampicine (DST, drug susceptibility testing), à l'aide des méthodes des proportions sur gélose, utilisant des milieux de Middlebrook ou de Lowenstein-Jensen, ou avec le test BD BACTEC™ MGIT™ 960 SIRE. Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay en termes de détection des mutations génétiques associées à la résistance à la rifampicine ont été établies par rapport aux résultats de l'analyse de sensibilité médicamenteuse des isolats de culture du bacille de Koch. Parmi les 1 096 sujets admissibles et testés par le test Xpert MTB/RIF Assay, 1 082 ont été inclus dans l'analyse. Quatorze sujets ont été exclus de l'analyse ; six sujets ont obtenu un résultat pour lequel le test Xpert MTB/RIF Assay indiquait **MTB DETECTED, Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ)** et huit sujets avec des cultures positives pour le bacille de Koch ne disposaient pas de résultats de l'analyse de sensibilité médicamenteuse.

Le test Xpert MTB/RIF Assay n'indique les résultats pour la détection des mutations associées à la résistance à la rifampicine que lorsque le complexe MTB a été détecté par le dispositif. Les résultats discordants ont été évalués plus en détail à l'aide du séquençage bidirectionnel de la région *rpoB* du génome du bacille de Koch. Les résultats globaux sont reportés dans le Tableau 12.

Tableau 12. Les performances d'un résultat Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la DST

| Analyse de sensibilité médicamenteuse | | | | | |
|--|--|----------------------------|---------------------------|--|-------|
| | | Résistant à la rifampicine | Sensible à la rifampicine | Analyse de sensibilité médicamenteuse non réalisée Culture TB négative | Total |
| Xpert MTB/RIF Assay | MTB DETECTED, Rif Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ) | 18 | 4 ^a | 0 | 22 |
| | MTB DETECTED, Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ) | 1 ^b | 404 | 7 | 412 |
| | MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ) ^c | 2 | 26 | 620 | 648 |
| | Total | 21 | 434 | 627 | 1 082 |
| Sensibilité : 94,7 % (18/19) avec IC à 95 % : 75,4 % - 99,1 % Spécificité : 99,0 % (404/408) avec IC à 95 % : 97,5 % - 99,6 % | | | | | |

- ^a Sur les quatre échantillons discordants, sensibles à la rifampicine selon l'analyse de sensibilité médicamenteuse, et ayant obtenu le résultat RIF resistance **NOT DETECTED (Rif Resistance NON DÉTECTÉ)** avec le test Xpert MTB/RIF Assay, un échantillon s'est révélé sensible à la rifampicine et trois s'y sont révélés résistants suite à une analyse par séquençage bidirectionnel.
- ^b Un échantillon discordant, résistant à la rifampicine selon l'analyse de sensibilité médicamenteuse et ayant obtenu le résultat RIF resistance **NOT DETECTED (Rif Resistance NON DÉTECTÉ)** avec le test Xpert MTB/RIF Assay, s'est révélé résistant à la rifampicine suite à une analyse par séquençage bidirectionnel.
- ^c Le bacille de Koch n'a pas été détecté ; par conséquent, la détection des mutations associées à la résistance à la rifampicine n'a pas pu être établie.

Les résultats **RIF Resistance INDETERMINATE (RIF Resistance INDÉTERMINÉ)** ont été signalés pour 1,3 % (6 447, IC à 95 % : 0,6 % - 2,9 %) de la totalité des échantillons pour lesquels le test Xpert MTB/RIF Assay a détecté le bacille de Koch ; 0,28 % (1/351, IC à 95 % : 0,01 % - 1,58 %) des échantillons avec un frottis positif pour les BAAR et 5,21 % (5/96, IC à 95 % : 2,24 % - 11,62 %) des échantillons avec un frottis négatif pour les BAAR.

14.2 Étude 2

14.2.1 Conception de l'étude

Une étude multicentrique prospective (Étude 2) a été réalisée sur plusieurs sites aux États-Unis, ainsi qu'en Afrique du Sud et au Brésil. Les performances du test MTB/RIF Assay a été évalué en tant qu'alternative à la microscopie du frottis BAAR fluorescent afin d'aider à déterminer le besoin d'isolement respiratoire continu chez des sujets pour lesquels on suspecte une tuberculose pulmonaire active. Les résultats du test Xpert MTB/RIF Assay de deux échantillons de crachat en série chez des sujets de l'étude avec une tuberculose pulmonaire suspectée ont été comparés aux résultats des frottis BAAR fluorescents des mêmes échantillons ; un sous-ensemble de sujets a vu un troisième échantillon de crachat testé par frottis BAAR mais pas par le test Xpert MTB/RIF Assay. Chaque échantillon a été mis en culture pour un complexe MTB en utilisant un milieu de culture liquide et solide, avec une croissance mycobactérienne confirmée pour le complexe MTB et le test de susceptibilité à la rifampicine réalisé via la méthode des proportions sur gélose Middlebrook. L'étude 2 a également été conçue pour évaluer les performances cliniques du test Xpert MTB/RIF Assay en utilisant des échantillons de crachat prélevés prospectivement chez les populations infectées par le VIH et non infectées par le VIH.

Les sujets de l'étude de 18 ans ou plus étaient éligibles pour l'inscription s'il y avait une suspicion de tuberculose pulmonaire, s'ils n'étaient pas sous traitement ou s'ils avaient eu moins de 48 heures de traitement TB dans les 180 jours avant le prélèvement du premier échantillon de crachat et avaient une détermination/documentation du statut VIH. Les sujets ont été inclus dans l'analyse s'ils ont produits au moins deux échantillons de crachat prélevés en volume suffisant pour un test Xpert MTB/RIF Assay, un frottis BAAR et une culture de bacille de Koch et des résultats interprétables ont été disponibles pour les trois méthodes. Un troisième échantillon pour l'analyse a été prélevé sur des sites basés sur un standard de protocoles de soin. Sur 992 sujets éligibles et testés, trente-deux sujets (3,2 %) ont été exclus de l'analyse : 7 en raison de l'absence des résultats de culture et 3 en raison d'une contamination de culture de bacille de Koch. Vingt-deux sujets (2,2 %) ont été exclus en raison des résultats indéterminés au test Xpert MTB/RIF Assay (c'est-à-dire **INVALID (NON VALIDE), ERROR (ERREUR) ou NO RESULT (PAS DE RÉSULTAT)**). Par conséquent, les données de 960 sujets ont été utilisées dans l'analyse selon le premier résultat du test Xpert MTB/RIF Assay. Vingt sujets sur 22 sujets exclus de l'analyse basée sur le premier résultat du test Xpert MTB/RIF Assay ont donné des résultats valides pour le deuxième échantillon de test Xpert MTB/RIF Assay, donc l'analyse basée sur deux échantillons de test Xpert MTB/RIF Assay incluait un total de 980 sujets.

Les sujets de l'étude étaient 62 % d'hommes et 38 % de femmes. Soixante-cinq (65 %) pour cent des sujets étaient américains et 35 % n'étaient pas américains. Quarante-cinq (45 %) pour cent des sujets de l'étude étaient infectés par le VIH et 55 % n'étaient pas infectés par le VIH. Les crachats expectorés et induits ont représentés 59,6 % et 33,6 % des échantillons respectivement ; 7 % d'échantillons de crachat n'ont pas été spécifiés. Vingt-huit pour cent des échantillons étaient des crachats bruts et 72 % étaient des dépôts concentrés de crachat.

14.2.2 Performances du test Xpert MTB/RIF Assay comme indicateur des résultats des frottis BAAR fluorescents en série

Sur 215 sujets d'étude avec un complexe MTB confirmé par une culture (14,2 % [88/618] des sujets américains et 37,1 % [127/342] des sujets non américains), 99 % des sujets (97 % des sujets américains et 100 % des sujets non américains) avec une suspicion de tuberculose pulmonaire où un complexe MTB a été détecté par une microscopie acido-résistante de deux ou trois échantillons de crachat en série ont également détecté un complexe MTB en testant un seul crachat par le test Xpert MTB/RIF Assay. Les résultats des tests de deux échantillons de crachat en série par le test Xpert MTB/RIF Assay ont détecté un complexe MTB chez tous les sujets avec frottis BAAR positif (100 % chez les sujets américains et 100 % chez les sujets non américains).

Un seul résultat négatif au test Xpert MTB/RIF Assay a indiqué l'absence de tuberculose pulmonaire avec frottis BAAR positif, avec une valeur prédictive négative globale (VPN) de 99,7 % (99,6 % chez les sujets américains et 100 % chez les sujets non américains). Deux résultats aux tests Xpert MTB/RIF Assay en série négatifs ont indiqué l'absence de tuberculose pulmonaire avec frottis BAAR positif avec un VPN global de 100 M %.

14.2.3 Un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay comme indicateur des résultats des frottis BAAR fluorescent en série

Le Tableau 13 et le Tableau 14 présentent les performances globales d'un résultat de test Xpert MTB/RIF Assay par rapport aux résultats de culture du bacille de Koch, stratifié par résultat de frottis BAAR (Tableau 13). Le Tableau 14 est une comparaison par juxtaposition des performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport au résultat composite de deux frottis BAAR chez des sujets américains et non américains (N=960).

Une sensibilité globale d'un test Xpert MTB/RIF Assay chez des sujets avec un frottis BAAR positif et un frottis BAAR négatif (selon deux frottis BAAR) était de 98,5 % (IC à 95 % : 94,6 %, 99,6 %) et 54,8 % (IC à 95 % : 44,1 %, 65,0 %) respectivement et la spécificité globale était de 98,7 % (IC à 95 % : 97,5 %, 99,3 %). Un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay indiquant « MTB Not Detected » (MTB non détecté) a été associé avec une probabilité de culture du bacille de Koch positive/des résultats de frottis BAAR positifs de 0,4 % pour des sujets américains et de 0,0 % pour des sujets non américains.

Tableau 13. Performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay stratifié par deux frottis BAAR par rapport à une culture du bacille de Koch chez des sujets américains et non américains Sujets

| | | Culture | | | | | | Total |
|---------------------|---------|----------------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|-------------------|-------|
| | | Positif | | | Négatif | | | |
| | | Frottis BAAR + | Frottis BAAR - | Culture globale + | Frottis BAAR + | Frottis BAAR - | Culture globale - | |
| Xpert MTB/RIF Assay | Positif | 129 | 46 | 175 | 1 | 9 | 10 ^a | 185 |
| | Négatif | 2 | 38 | 40 | 17 | 718 | 735 | 775 |
| | Total | 131 | 84 | 215 | 18 ^b | 727 | 745 | 960 |

Performances du test Xpert MTB/RIF Assay pour frottis positif :
Sensibilité : 98,5 % (129/131), IC à 95 % : 94,6 %, 99,6 %
Spécificité : 94,4 % (17/18), IC à 95 % : 74,2 %, 99,0 %

Performances du test Xpert MTB/RIF Assay pour frottis négatif :
Sensibilité : 54,8 % (46/84), IC à 95 % : 44,1 %, 65,0 %
Spécificité : 98,8 % (718/727), IC à 95 % : 97,7 %, 99,4 %

Prévalence des échantillons avec culture positive pour le bacille de Koch : 22,4 % (215/960)
Prévalence de culture positive pour le bacille de Koch chez les sujets américains : 14,2 % (88/618)
Prévalence de culture positive pour le bacille de Koch chez les sujets non américains : 37,1 % (127/342)

Pourcentage de sujets avec un frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec une culture positive pour le bacille de Koch : 60,9 % (131/215)

Probabilité globale de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF : 5,2 % (40/775), IC à 95 % : 3,8 %, 7,0 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF (sujets américains) : 2,4 % (13/539), IC à 95 % : 1,4 %, 4,1 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF (sujets non américains) : 11,4 % (27/236), IC à 95 % : 8,0 %, 16,1 %

Probabilité globale de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF : 0,3 % (2/775), IC à 95 % : <0,1 %, 0,9 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF (sujets américains) : 0,4 % (2/539), IC à 95 % : <0,1 %, 1,3 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec un résultat négatif au test Xpert MTB/RIF (sujets non américains) : 0,0 % (0/236), IC à 95 % : 0,0 %, 1,6 %

^a Sur les 10 échantillons de culture du bacille de Koch négatives qui étaient positifs selon le test Xpert MTB/RIF Assay, 5 ont développé des mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Le complexe MTB a été isolé et identifié en utilisant un standard de méthodes de soin non associé au protocole d'étude pour 4 des 5 échantillons.

^b Sur les 18 cultures du bacille de Koch négatives/frottis BAAR positifs, 14 ont développé des MNT.

Un test Xpert MTB/RIF Assay a été associé à une sensibilité de 81,4 % (IC à 95 % : 75,7 %, 86,0 %) pour identifier les sujets avec une culture positive pour le bacille de Koch par rapport à une sensibilité de 60,9 % (IC à 95 % : 54,3 %, 67,2 %) pour deux frottis BAAR.

Tableau 14. Comparaison de performances d'un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à deux frottis BAAR chacun par rapport à la culture du bacille de Koch chez les sujets américains et non américains

| Un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay | | Culture | | | Deux frottis BAAR | Culture | | | |
|---|---------|---------------------------------|---------|-------|---|---------|---------------------------------|-------|-----|
| | | Positif | Négatif | Total | | Positif | Négatif | Total | |
| Xpert | Positif | 175 | 10 | 185 | Frottis BAAR | Positif | 131 | 18 | 149 |
| | Négatif | 40 | 735 | 775 | | Négatif | 84 | 727 | 811 |
| | Total | 215 | 745 | 960 | | Total | 215 | 745 | 960 |
| Sensibilité : | | 81,4 % (IC à 95 % : 75,7, 86,0) | | | Sensibilité : | | 60,9 % (IC à 95 % : 54,1, 67,5) | | |
| Spécificité : | | 98,7 % (IC à 95 % : 97,5, 99,3) | | | Spécificité : | | 97,6 % (IC à 95 % : 96,2, 98,6) | | |
| Prévalence chez les sujets américains : | | 14,2 % (IC à 95 % : 11,7, 17,2) | | | Prévalence chez les sujets américains : | | 14,2 % (IC à 95 % : 11,7, 17,2) | | |
| VPP : | | 94,9 % (IC à 95 % : 87,7, 98,0) | | | VPP : | | 77,2 % (IC à 95 % : 66,8, 85,1) | | |
| VPN : | | 97,6 % (IC à 95 % : 95,9, 98,6) | | | VPN : | | 95,0 % (IC à 95 % : 92,8, 96,5) | | |
| Prévalence chez les sujets non américains : | | 37,1 % (IC à 95 % : 32,2, 42,4) | | | Prévalence chez les sujets non américains : | | 37,1 % (IC à 95 % : 32,2, 42,4) | | |
| VPP : | | 94,3 % (IC à 95 % : 88,2, 97,4) | | | VPP : | | 100 % (IC à 95 % : 94,8, 100) | | |
| VPN : | | 88,6 % (IC à 95 % : 83,9, 92,0) | | | VPN : | | 79,0 % (IC à 95 % : 73,8, 83,5) | | |

Chez les sujets américains, le VPN pour un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay était de 97,6 % (IC à 95 % : 95,9 %, 98,6 %) tandis que le VPN pour deux résultats d'échantillons de crachat AFB était de 95,0 % (IC à 95 % : 92,8 %, 96,5 %) avec une prévalence de TB chez des sujets américains de 14,2 %. La différence de VPN était de 2,6 % avec IC à 95 % : 1,2 %, 4,2 %.

14.2.4 Deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay comme indicateurs des résultats d'une série de frottis BAAR fluorescents

Le Tableau 15 et le Tableau 16 présentent les performances globales de deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay comparées aux résultats de la culture du bacille de Koch, stratifiées par résultat d'échantillon de frottis BAAR (Tableau 15). Le Tableau 16 compare les performances de deux tests Xpert MTB/RIF Assay par rapport au résultat composite de deux frottis BAAR chez des sujets américains et non américains (N=980).

La sensibilité globale de deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay chez des sujets avec frottis BAAR positifs et avec frottis BAAR négatifs basée sur deux frottis BAAR était de 100,0 % (IC à 95 % : 97,2 %, 100,0 %) et 69,4 % (IC à 95 % : 59,0 %, 78,2 %) respectivement et la spécificité globale était de 97,9 % (IC à 95 % : 96,6 %, 98,7 %). Aucun résultat de culture positive pour le bacille de Koch/de frottis positif pour les BAAR n'a été observé chez des sujets avec deux résultats en série au test Xpert MTB/RIF Assay.

Tableau 15. Performances de deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay par deux frottis BAAR par rapport à la culture du bacille de Koch chez des sujets américains et non américains Sujets

| | | Culture | | | | | | Total |
|---------------------|---------|----------------|----------------|-------------------|-----------------|----------------|-------------------|-------|
| | | Positif | | | Négatif | | | |
| | | Frottis BAAR + | Frottis BAAR - | Culture globale + | Frottis BAAR + | Frottis BAAR - | Culture globale - | |
| Xpert MTB/RIF Assay | Positif | 133 | 59 | 192 | 1 | 15 | 16 ^a | 208 |
| | Négatif | 0 | 26 | 26 | 17 | 729 | 746 | 772 |
| | Total | 133 | 85 | 218 | 18 ^b | 744 | 762 | 980 |

Performances du test Xpert MTB/RIF Assay pour frottis positif :

Sensibilité : 100 % (133/133), IC à 95 % : 97,2 %, 100 %

Spécificité : 94,4 % (17/18), IC à 95 % : 74,2 %, 99,0 %

Performances du test Xpert MTB/RIF Assay pour frottis négatif :

Sensibilité : 69,4 % (59/85), IC à 95 % : 59,0 %, 78,2 %

Spécificité : 98,0 % (729/744), IC à 95 % : 96,7 %, 98,8 %

Prévalence des échantillons avec culture positive pour le bacille de Koch : 22,2 % (218/980)

Prévalence de culture positive pour le bacille de Koch chez les sujets américains : 14,4 % (91/633)

Prévalence de culture positive pour le bacille de Koch chez les sujets non américains : 36,6 % (127/347)

Pourcentage de sujets avec un frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec un résultat de culture positif pour le bacille de Koch : 61,0 % (133/218)

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF : 3,4% (26/772), IC à 95 % : 2,3%, 4,9%

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF (sujets américains) : 1,5% (8/544), IC à 95 % : <0,7%, 2,9%

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF (sujets non américains) : 7,9% (18/228), IC à 95 % : 5,1%, 12,1%

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positifs pour les BAAR parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF : 0,0 % (0/772), IC à 95 % : 0,0 %, 0,5 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positifs pour les BAAR parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF (sujets américains) : 0,0 % (0/544), IC à 95 % : 0,0 %, 0,7 %

Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positifs pour les BAAR parmi les sujets avec des résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF (sujets non américains) : 0,0 % (0/228), IC à 95 % : 0,0 %, 1,7 %

^a Sur les 16 échantillons de culture du bacille de Koch négatives qui étaient positifs selon le test Xpert MTB/RIF Assay, 6 ont développé des mycobactéries non tuberculeuses (MNT). Le complexe MTB a été isolé et identifié en utilisant un standard de méthodes de soin non associé au protocole d'étude pour 4 des 6 échantillons.

^b Sur les 18 cultures du bacille de Koch négatives/frottis BAAR positifs, 14 ont développé des MNT.

Le Tableau 16 compare les performances de deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay et deux frottis BAAR par rapport à la culture du bacille de Koch. Résultats au test Xpert MTB/RIF Assay identifiés à 88,1 % (IC à 95 % : 83,1 %, 91,7 %) de sujets avec culture positive pour le bacille de Koch comparés à 61,0 % (IC à 95 % : 54,4 %, 67,2 %) deux frottis BAAR.

Tableau 16. Comparaison des performances de deux résultats au test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à deux frottis BAAR chacun par rapport à la culture du bacille de Koch chez les sujets américains et non américains

| Un résultat au test Xpert MTB/RIF Assay | | Culture | | | Deux frottis BAAR | | Culture | | |
|---|---------|---------------------------------|---------|-------|---|---------|---------------------------------|---------|-------|
| | | Positif | Négatif | Total | | | Positif | Négatif | Total |
| Xpert | Positif | 192 | 16 | 208 | Frottis BAAR | Positif | 133 | 18 | 151 |
| | Négatif | 26 | 746 | 772 | | Négatif | 85 | 744 | 829 |
| | Total | 218 | 762 | 980 | | Total | 218 | 762 | 980 |
| Sensibilité : | | 88,1 % (IC à 95 % : 83,1, 91,7) | | | Sensibilité : | | 61,0 % (IC à 95 % : 54,4, 67,2) | | |
| Spécificité : | | 97,9 % (IC à 95 % : 96,6, 98,7) | | | Spécificité : | | 97,6 % (IC à 95 % : 96,3, 98,5) | | |
| Prévalence chez les sujets américains : | | 14,4 % (IC à 95 % : 11,9, 17,3) | | | Prévalence chez les sujets américains : | | 14,4 % (IC à 95 % : 11,9, 17,3) | | |
| VPP : | | 93,3 % (IC à 95 % : 86,1, 96,9) | | | VPP : | | 77,8 % (IC à 95 % : 67,6, 85,5) | | |
| VPN : | | 98,5 % (IC à 95 % : 97,1, 99,3) | | | VPN : | | 94,9 % (IC à 95 % : 92,8, 96,5) | | |
| Prévalence chez les sujets non américains : | | 36,6 % (IC à 95 % : 31,7, 41,8) | | | Prévalence chez les sujets non américains : | | 36,6 % (IC à 95 % : 31,7, 41,8) | | |
| VPP : | | 91,6 % (IC à 95 % : 85,2, 95,4) | | | VPP : | | 100 % (IC à 95 % : 94,8, 100) | | |
| VPN : | | 92,1 % (IC à 95 % : 87,9, 94,9) | | | VPN : | | 79,4 % (IC à 95 % : 74,3, 83,8) | | |

Chez les sujets américains, le VPN pour deux résultats du test Xpert MTB/RIF Assay était de 98,5 % (IC à 95 % : 97,1 %, 99,3 %) tandis que le VPN pour deux résultats de frottis BAAR était de 94,9 % (IC à 95 % : 92,8 %, 96,5 %) quand la prévalence de la TB chez les sujets américains était de 14,4 %.

Les informations détaillées des performances du test Xpert MTB/RIF Assay comparées aux frottis BAAR par rapport à l'intervalle de temps entre les prélèvements d'échantillons de crachat chez des sujets américains sont présentées dans le Tableau 17.

Tableau 17. Performances du test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la microscopie de frottis BAAR par rapport à l'intervalle de temps entre les prélèvements d'échantillons de crachat

| Résultats Xpert | Résultats de frottis BAAR |
|---|---|
| Un résultat Xpert Sensibilité = 85,2 % (75/88) Spécificité = 99,2 % (526/530) Prévalence = 14,2 % (88/618) VPN = 97,6 % (526/539) Probabilité de sujets avec culture positive pour le bacille de Koch/ de frottis positif pour les BAAR- parmi les résultats négatifs Xpert MTB/RIF = 0,4 % (2/539) | Données non analysées pour un frottis BAAR |
| Deux résultats Xpert Sensibilité = 91,2 % (83/91) Spécificité = 98,9 % (536/542) Prévalence = 14,4 % (91/633) VPN = 98,5 % (536/544) Probabilité de sujets avec culture positive pour le bacille de Koch/ frottis positif pour les BAAR parmi les résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF Assay = 0,0 % (0/544) | Deux résultats de frottis BAAR Sensibilité = 69,2 % (63/91) Spécificité = 96,7 % (524/542) Prévalence = 14,4 % (91/633) VPN = 94,9 % (524/552) |
| Deux résultats Xpert avec deux échantillons de crachat prélevés à ≥8 heures^a Sensibilité = 92,5 % (49/53) Spécificité = 98,9 % (342/346) Prévalence = 13,3 % (53/399) VPN = 98,9 % (342/346) Probabilité de sujets avec culture positive pour le bacille de Koch/ frottis positif pour les BAAR parmi les résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF Assay = 0,0 % | Deux résultats de frottis BAAR avec deux échantillons prélevés à ≥8 heures d'intervalle^a Sensibilité = 71,7 % (38/53) Spécificité = 98,0 % (339/346) Prévalence = 13,3 % (53/399) VPN = 95,8 % (339/354) |
| Deux résultats au test Xpert avec deux échantillons prélevés à <8 d'intervalle^b Sensibilité = 89,5 % (34/38) Spécificité = 99,0 % (194/196) Prévalence = 16,2 % (38/234) VPN = 98,0 % (194/198) Probabilité de sujets avec culture positive pour le bacille de Koch/ frottis positif pour les BAAR parmi les résultats négatifs au test Xpert MTB/RIF Assay = 0,0 % | Deux résultats de frottis BAAR avec deux échantillons prélevés à <8 heures d'intervalle^b Sensibilité = 65,8 % (25/38) Spécificité = 99,4 % (185/196) Prévalence = 16,2 % (38/234) VPN = 93,4 % (185/198) |

Tableau 17. Performances du test Xpert MTB/RIF Assay par rapport à la microscopie de frottis BAAR par rapport à l'intervalle de temps entre les prélèvements d'échantillons de crachat (Suite)

| Résultats Xpert | Résultats de frottis BAAR |
|--|--|
| Aucun sujet n'a eu trois échantillons testés par le test Xpert MTB/RIF Assay | Trois résultats de frottis BAAR Sensibilité = 60,4 % (29/48) Spécificité = 96,6 % (284/294) Prévalence = 14,0 % (48/342) VPN = 93,7 % (284/303) |
| | Trois résultats de frottis BAAR avec trois échantillons prélevés à ≥8 heures d'intervalle^c Sensibilité = 69,2 % (9/13) Spécificité = 95,7 % (112/117) Prévalence = 10,0 % (13/130) VPN = 96,6 % (112/116) |
| | Trois résultats de frottis BAAR avec trois échantillons prélevés à <8 heures d'intervalle^d Sensibilité = 57,1 % (20/35) Spécificité = 97,2 % (172/177) Prévalence = 16,5 % (35/212) VPN = 92,0 % (172/187) |

^a L'intervalle de temps entre le prélèvement du premier échantillon de crachat et le deuxième échantillon de crachat est supérieur ou égal à 8 heures.

^b L'intervalle de temps entre le prélèvement du premier échantillon de crachat et le deuxième échantillon de crachat est de moins de 8 heures.

^c L'intervalle de temps entre le prélèvement du premier échantillon de crachat et le deuxième échantillon de crachat était supérieur ou égal à 8 heures et l'intervalle de temps entre le prélèvement du second échantillon de crachat et le troisième échantillon de crachat était supérieur ou égal à 8 heures.

^d La présence de trois frottis BAAR de moins de 8 heures signifie qu'au moins un des intervalles de temps entre le prélèvement d'échantillons était de moins de 8 heures.

Le Tableau 13, le Tableau 14, le Tableau 15, le Tableau 16 et le Tableau 17 présentent des données dans lesquelles les résultats pour le crachat brut et les dépôts concentrés de crachat sont combinés. Le Tableau 18 est un résumé du VPN exclusivement pour les sujets américains délimités par crachat brut et dépôts concentrés de crachat.

Tableau 18. Résumé du VPN pour du crachat brut et des dépôts concentrés de crachat chez des sujets américains^{a, b}

| | | Crachat brut (%) [IC à 95 %] | Dépôts concentrés de crachat (%) [IC à 95 %] |
|----------------------|--|---------------------------------|---|
| Un résultat Xpert | Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec un résultat de test Xpert MTB/RIF négatif | 3,7 % (9/242) [1,7 %, 6,9%] | 1,3 % (4/297) [0,4 %, 3,4 %] |
| | Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec un résultat de test Xpert MTB/RIF négatif | 0,8 % (2/242) [0,1 %, 3,0%] | 0,0 % (0/297) [0,0 %, 1,2 %] |
| Deux résultats Xpert | Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets avec des résultats de test Xpert MTB/RIF négatifs | 2,5 % (6/239) [0,9 %, 5,4 %] | 0,7 % (2/283) [0,1 %, 2,5 %] |
| | Probabilité de culture positive pour le bacille de Koch et de frottis positif pour les BAAR parmi les sujets avec des résultats de test Xpert MTB/RIF négatifs | 0,0 % (0/239) [0,0 %, 1,5 %] | 0,0 % (0/283) [0,0 %, 1,3 %] |

^a Valeur prédictive négative (NPV) = (1 – %Probabilité)

^b Prévalence de la culture positive pour le bacille de Koch parmi les sujets de l'étude américaine = 14,3 %

Remarque

Pour deux résultats Xpert, le tableau ci-dessus n'inclut que des paires d'échantillons où à la fois le premier et le second échantillon étaient du même type. Pour 239 échantillons, à la fois le premier et le second test ont été faits sur des échantillons de crachat brut ; pour 283 échantillons, à la fois le premier et le second test ont été faits sur des dépôts concentrés de crachat ; pour 2 paires, le premier échantillon était un crachat brut et le second était un dépôt concentré de crachat (données non incluses dans le tableau ci-dessus, mais les paires d'échantillon ont montré 100 % de résultats concordants) ; enfin, pour 20 paires, le premier échantillon était un dépôt concentré de crachat et le second un crachat brut (données non incluses dans le tableau ci-dessus, mais les paires d'échantillons ont montré 100 % de résultats concordants).

14.3 Xpert MTB/RIF Assay Performances chez une population infectée par le VIH

Pour comparer les performances du test Xpert MTB/RIF Assay chez les sujets infectés par le VIH et non infectés par le VIH, les données de l'Étude 2 ont été analysées par statut de frottis et par statut VIH de la population. Le Tableau 19 et le Tableau 20 comparent les sensibilités d'un résultat de test Xpert MTB/RIF Assay pour des échantillons obtenus à partir de sujets infectés par le VIH et non infectés par le VIH stratifiés respectivement par des résultats positifs pour les BAAR et négatifs pour les BAAR. À la fois pour les sujets infectés par le VIH et ceux non infectés par le VIH, la sensibilité du test Xpert MTB/RIF Assay pour la détection du complexe MTB était supérieure dans les frottis positifs pour les BAAR (100,0 % et 97,8 %, respectivement) par rapport aux échantillons de frottis négatifs pour les BAAR (52,1 % et 58,3 %, respectivement). Ces données sont résumées dans le Tableau 20.

Tableau 19. Comparaison de la sensibilité et de la spécificité d'un résultat du test Xpert MTB/RIF Assay chez les sujets infectés par le VIH et non infectés par le VIH – frottis positifs pour les BAAR uniquement

| Xpert MTB/RIF | Global | Infecté par le VIH | Non infecté par le VIH | Différence (IC à 95 %) |
|----------------|---------------------|--------------------|------------------------|-------------------------|
| de sensibilité | 98,5 % (129/131) | 100 % (39/39) | 97,8 % (90/92) | 2,2 % (-0,8%, 5,2%) |
| de spécificité | 94,4 % (17/18) | 100 % (7/7) | 90,9 % (10/11) | 9,1 % (-7,9%, 26,1%) |

Tableau 20. Comparaison de la sensibilité et de la spécificité d'un résultat du test Xpert MTB/RIF Assay chez les sujets infectés par le VIH et non infectés par le VIH – frottis négatif pour les BAAR uniquement

| Xpert MTB/RIF | Global | Infecté par le VIH | Non infecté par le VIH | Différence (IC à 95 %) |
|----------------|---------------------|---------------------|------------------------|---------------------------|
| de sensibilité | 54,8 % (46/84) | 52,1 % (25/48) | 58,3 % (21/36) | -6,3 % (-27,7%, 15,2%) |
| de spécificité | 98,8 % (718/721) | 98,2 % (332/338) | 99,2 % (386/389) | -1,0 % (-2,7%, 0,7%) |

15. Caractéristiques de performances-Performances analytiques

15.1 Réactivité analytique (inclusivité)

La réactivité analytique du test Xpert MTB/RIF Assay a été évaluée par rapport à 62 isolats de *Mycobacterium tuberculosis* bien caractérisés, représentatifs d'une diversité géographique et phénotypique. Le Tableau 21 répertorie 26 souches sensibles à la rifampicine et 36 souches qui y sont résistantes, tel qu'établi par une analyse phénotypique de sensibilité médicamenteuse (DST, drug susceptibility testing).

Les résultats du test Xpert **MTB DETECTED ; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ)**, comparés à l'analyse de susceptibilité médicamenteuse, se sont révélés exacts à 87 % (67/77) dans les tests de réplicats valides utilisant 26 souches sensibles à la rifampicine, qui ont été testées en triple. Un réplicat sur 78 tests n'était pas valide et n'a pas été répété. Il est apparu que trois des souches sensibles selon l'analyse de susceptibilité médicamenteuse (voir la note de pied de page « c » dans le Tableau 21), testées comme résistantes à la rifampicine par le test Xpert MTB/RIF Assay, contenaient des mutations associées à la résistance à la rifampicine, selon une analyse des séquences d'ADN. L'un des trois réplicats de la souche de type sauvage TDR 33 a obtenu le résultat **MTB DETECTED ; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ)**. Les résultats du test Xpert **MTB DETECTED ; Rif Resistance DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance DÉTECTÉ)**, comparés à l'analyse de sensibilité médicamenteuse, se sont révélés exacts à 100 % (107/107) dans les tests en parallèle valides utilisant 36 souches résistantes à la rifampicine, qui ont été testées en triple. Un réplicat sur 108 tests n'était pas valide et n'a pas été répété. Les résultats par souche sont indiqués dans le Tableau 21.

Tableau 21. Réactivité analytique (inclusivité) du test Xpert MTB/RIF Assay

| ID de souche | Origine | Sensibilité selon la DST (analyse de sensibilité médicamenteuse) ^a | Sensibilité selon le test Xpert ^b |
|----------------------|------------|---|--|
| TDR 116 | S Corée | R | R |
| TDR 21 | RD Congo | R | R |
| TDR 28 ^c | Bangladesh | R | R |
| TDR 191 ^c | Pérou | R | R |
| TDR 125 | Brésil | R | R |
| TDR 34 | Bangladesh | R | R |
| TDR 73 | Pérou | R | R |
| TDR 35 | Bangladesh | R | R |
| TDR 190 ^c | Espagne | R | R |
| TDR 117 | S Corée | R | R |
| TDR 129 | Brésil | R | R |
| TDR 186 ^c | Maroc | R | R |
| TDR 59 ^c | Burundi | R | R |

Tableau 21. Réactivité analytique (inclusivité) du test Xpert MTB/RIF Assay (Suite)

| ID de souche | Origine | Sensibilité selon la DST (analyse de sensibilité médicamentée) ^a | Sensibilité selon le test Xpert ^b |
|-----------------------|-----------------------|---|--|
| TDR 185 ^c | Nigéria | R | R |
| TDR 6 | Bangladesh | R | R |
| TDR 19 | Azerbaïdjan | R | R |
| TDR 148 | Népal | R | R |
| TDR 13 ^c | Bangladesh | R | R |
| TDR 12 | Bangladesh | R | R |
| H37Rv ^d | Souche de laboratoire | S | S |
| TDR 22 | RD Congo | S | S |
| TDR 29 | Azerbaïdjan | S | S |
| TDR 33 | Belgique | S | S |
| CDC 1551 ^c | É-U | S | S |
| TDR 146 ^c | Népal | S | S |
| TDR 78 ^c | S Corée | S | S |
| TDR 54 ^c | Bangladesh | S | S |
| TDR 215 ^c | Pérou | S | S |
| TDR 158 ^c | Pérou | S | S |
| TDR 178 ^c | Guinée | S | S |
| TDR 64 ^c | S Afrique | S | S |
| 97-05193 | Pérou | R | R |
| 97-05201 | Pérou | R | R |
| 97-06877 | Pérou | R | R |
| 97-08341 | Pérou | R | R |
| 97-12004 | Pérou | R | R |
| 97-17582 | Pérou | R | R |
| 97-18875 | Pérou | R | R |
| 97-20784 | Pérou | R | R |
| 97-20985 | Pérou | R | R |
| 99-09120 | Pérou | R | R |
| 99-R396 | Pérou | R | R |
| 01-R0612 | Pékin | R | R |
| 02-R1141 | Pékin | R | R |
| 02-R1794 | Pékin | R | R |
| 02-R1840 | Pékin | R | R |
| 03-R1517 | Pékin | R | R |
| TDR 0116 | S Corée | R | R |
| 01-R1403 ^e | Pérou | S | R |

Tableau 21. Réactivité analytique (inclusivité) du test Xpert MTB/RIF Assay (Suite)

| ID de souche | Origine | Sensibilité selon la DST (analyse de sensibilité médicamentée) ^a | Sensibilité selon le test Xpert ^b |
|-----------------------|------------|---|--|
| 97-15246 ^e | Pérou | S | R |
| 98-R839 ^e | Pérou | S | R |
| 99-R460 | Pérou | S | S |
| 99-R485 | Pérou | S | S |
| 00-06461 | États-Unis | S | S |
| 00-R0222 | Pérou | S | S |
| 00-R0454 | États-Unis | S | S |
| 00-R0460 | Pérou | S | S |
| 01-10979 | États-Unis | S | S |
| 01-1118 | Pérou | S | S |
| 02-02880 | États-Unis | S | S |
| 02-03222 | Pérou | S | S |
| 02-R0040 | Pérou | S | S |

^a R = résistante à la rifampicine S = sensible à la rifampicine

^b R = mutations associées à la résistance à la rifampicine détectées,
S = mutations associées à la résistance à la rifampicine non détectées

^c De l'ADN a été utilisé ; les souches cultivées quantifiées n'étaient pas disponibles.

^d La souche de référence ATCC H37Rv a été testée sous forme de cellules et d'ADN.

^e Isolats sensibles à la rifampicine selon l'analyse de sensibilité médicamenteuse mais résistants à la rifampicine d'après la séquence ADN et le test Xpert MTB/RIF Assay.

Cinq souches supplémentaires du complexe *Mycobacterium tuberculosis*, à savoir *M. africanum* (taxid:33894), *M. bovis* (taxid:1765), *M. canettii* (taxid:78331), *M. caprae* (taxid:115862) et *M. microti* (taxid:1806) n'ont pas été testées en milieu humide mais ont été évaluées *in silico* pour analyser la réactivité analytique ou l'inclusivité. Les résultats des analyses *in silico* prévoient une très forte probabilité d'amplification et de détection avec le test Xpert MTB/RIF Assay. Voir le Tableau 22.

Tableau 22. Alignement des amorces et des sondes sur les séquences du *rpoB* du *M. africanum*, *M. bovis*, *M. canettii*, *M. caprae* et *M. microti*

| Organisme du complexe MTB | Alignement des séquences (nombre de résidus identiques) de l'amorce/sonde Xpert MTB/RIF Assay sur les organismes du complexe MTB | | | | | | | |
|---|--|-----------|----------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| | RpoB For1 | RpoB For2 | RpoB Rev | Sonde A du RpoB ^a | Sonde B du RpoB ^a | Sonde C du RpoB ^a | Sonde D du RpoB ^a | Sonde E du RpoB ^a |
| <i>Mycobacterium africanum</i> (taxid:33894) ^b | 24/24 | 24/24 | 23/24 | 17/17 | 24/24 | 17/17 | 18/18 | 18/18 |
| <i>Mycobacterium bovis</i> (taxid:1765) ^b | 24/24 | 24/24 | 23/24 | 17/17 | 24/24 | 17/17 | 18/18 | 18/18 |
| <i>Mycobacterium canettii</i> (taxid:78331) ^b | 24/24 | 24/24 | 23/24 | 17/17 | 24/24 | 17/17 | 18/18 | 18/18 |
| <i>Mycobacterium caprae</i> (taxid:115862) ^b | 24/24 | 24/24 | 23/24 | 17/17 | 24/24 | 17/17 | 18/18 | 18/18 |
| <i>Mycobacterium microti</i> (taxid:1806) ^b | 24/24 | 24/24 | 23/24 | 17/17 | 24/24 | 17/17 | 18/18 | 18/18 |

^a Alignement de la séquence des sondes réalisé sans séquence tige.

^b taxid – identifiant unique attribué à un organisme dans la base de données taxonomiques du NCBI (National Center for Biotechnology Information).

15.2 Spécificité analytique (exclusivité)

Cent trente-deux (132) microorganismes différents, représentant des pathogènes respiratoires courants, susceptibles d'être présents dans les voies buccales/respiratoires, ont été testés à une concentration d'au moins 10^8 UFC/mL (ou ADN à 1×10^7 copies/mL) pour les bactéries et les champignons ; une concentration de 10^5 DICT50/mL (ou acide nucléique à 2×10^9 copies/mL) pour les virus ; une concentration de 10^6 corps élémentaires (CE) par mL pour Chlamydia ; et une concentration de 10^6 UFC/mL pour deux mycobactéries non tuberculeuses. Voir le Tableau 23. La spécificité analytique du test Xpert MTB/RIF Assay est de 100 % à une concentration de 10^8 UFC/mL (ou ADN à 1×10^7 copies/mL) pour les bactéries et les champignons ; une concentration de 10^5 DICT50/mL (ou acide nucléique à 2×10^9 copies/mL) pour les virus ; et une concentration de 10^6 corps élémentaires (CE) par mL pour Chlamydia. La spécificité analytique du test Xpert MTB/RIF Assay est de 100 % à une concentration de 10^8 UFC/mL pour 21 des 24 mycobactéries non tuberculeuses (MNT) testées. Une réactivité croisée a été observée dans l'un des trois réplicats utilisant *M. scrofulaceum* à 10^8 UFC/mL ; cependant, aucune réactivité croisée n'a été relevée à 10^7 UFC/mL. Deux MNT (*M. genavense* et *M. smegmatis*) n'ont pas été testées au-dessus de 10^6 UFC/mL, en raison d'une croissance faible. La spécificité analytique du test Xpert MTB/RIF Assay est de 100 % à une concentration de 10^6 UFC/mL pour ces 2 organismes. Des contrôles positifs et négatifs étaient inclus dans l'étude.

Tableau 23. Microorganismes testés pour la spécificité analytique

| | | |
|---|---|---|
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | Virus influenza humain B ^a | <i>Neisseria lactamica</i> |
| <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> | Métapneumovirus humain | <i>Neisseria meningitidis</i> |
| <i>Actinomyces israelii</i> ^b | Virus parainfluenza humain de type 1 | <i>Neisseria mucosa</i> |
| <i>Actinomyces odontolyticus</i> | Virus parainfluenza humain de type 2 | <i>Neisseria sicca</i> |
| Adénovirus | Virus parainfluenza humain de type 3 | <i>Nocardia asteroides</i> ^b |
| <i>Aspergillus fumigatus</i> ^c | Virus A respiratoire syncytial humain ^a | <i>Nocardia cyriacigeorgica</i> ^b |
| <i>Bacillus cereus</i> | Virus B respiratoire syncytial humain ^a | <i>Pasteurella multocida</i> ssp. <i>tigris</i> |
| <i>Bacillus subtilis</i> ssp. <i>subtilis</i> | <i>Kingella kingae</i> | <i>Pediococcus pentosaceus</i> ^b |
| <i>Bacteroides fragilis</i> | <i>Klebsiella oxytoca</i> | <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> |
| <i>Bordetella parapertussis</i> ^b | <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrice de carbapénémase KPC-3 | <i>Porphyromonas asaccharolytica asaccharolytica</i> |
| <i>Bordetella pertussis</i> | <i>Klebsiella pneumoniae</i> ssp. <i>pneumoniae</i> | <i>Prevotella melaninogenica</i> |
| <i>Burkholderia cepacia</i> | <i>Lactobacillus acidophilus</i> | <i>Propionibacterium acnes</i> |
| <i>Campylobacter jejuni</i> ssp. <i>jejuni</i> ^b | <i>Lactobacillus casei</i> | <i>Proteus mirabilis</i> |
| <i>Candida albicans</i> | <i>Legionella pneumophila</i> ssp. <i>pneumophila</i> | <i>Proteus vulgaris</i> |
| <i>Candida glabrata</i> | <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ssp. <i>mesenteroides</i> | <i>Providencia stuartii</i> |
| <i>Candida krusei</i> | <i>Listeria monocytogenes</i> | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |
| <i>Candida parapsilosis</i> | <i>Moraxella catarrhalis</i> | Souche de rhinovirus A1 |
| <i>Candida tropicalis</i> | <i>Morganella morganii</i> ssp. <i>morganii</i> | <i>Rhodococcus equi</i> |
| <i>Chlamydia trachomatis</i> | <i>Mycobacterium abscessus</i> | <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sérotype <i>Dublin</i> |
| <i>Chlamydophila pneumoniae</i> ^b | <i>Mycobacterium asiaticum</i> | <i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> sérotype <i>typhimurium</i> |
| <i>Citrobacter freundii</i> | <i>Mycobacterium avium</i> ssp. <i>avium</i> | <i>Serratia marcescens</i> ssp. <i>marcescens</i> |
| <i>Clostridium perfringens</i> | <i>Mycobacterium celatum</i> | <i>Shigella flexneri</i> |
| <i>Corynebacterium diphtheriae</i> ^b | <i>Mycobacterium chelonae</i> | <i>Shigella sonnei</i> |
| <i>Corynebacterium jeikeium</i> | <i>Mycobacterium flavescens</i> | <i>Staphylococcus aureus</i> ssp. <i>aureus</i> |
| <i>Corynebacterium pseudodiphtheriticum</i> | <i>Mycobacterium fortuitum</i> ssp. <i>fortuitum</i> | <i>Staphylococcus capitis</i> ssp. <i>capitis</i> |
| <i>Corynebacterium xerosis</i> | <i>Mycobacterium gastri</i> | <i>Staphylococcus epidermidis</i> |
| <i>Cryptococcus neoformans</i> | <i>Mycobacterium genavense</i> | <i>Staphylococcus haemolyticus</i> |
| Cytomegalovirus | <i>Mycobacterium gordonae</i> | <i>Staphylococcus hominis</i> ssp. <i>hominis</i> |
| <i>Eikenella corrodens</i> | <i>Mycobacterium haemophilum</i> | <i>Staphylococcus lugdunensis</i> |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | <i>Mycobacterium intracellulare</i> | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> |
| <i>Enterobacter cloacae</i> ssp. <i>cloacae</i> | <i>Mycobacterium kansasii</i> | <i>Streptococcus agalactiae</i> |
| <i>Enterococcus avium</i> | <i>Mycobacterium malmoeense</i> | <i>Streptococcus constellatus</i> ssp. <i>constellatus</i> |

Tableau 23. Microorganismes testés pour la spécificité analytique (Suite)

| | | |
|--|---|---|
| <i>Enterococcus faecalis</i> | <i>Mycobacterium marinum</i> | <i>Streptococcus equi</i> ssp. <i>equi</i> |
| <i>Enterococcus faecium</i> | <i>Mycobacterium scrofulaceum</i> | <i>Streptococcus mitis</i> |
| Entérovirus de type 71/NY | <i>Mycobacterium simiae</i> | <i>Streptococcus mutans</i> |
| <i>Escherichia coli</i> | <i>Mycobacterium smegmatis</i> | <i>Streptococcus parasanguinis</i> |
| <i>Escherichia coli</i> productrice de BLSE CTX-M-15 | <i>Mycobacterium szulgai</i> | <i>Streptococcus pneumoniae</i> |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> ssp. <i>nucleatum</i> | <i>Mycobacterium terrae</i> | <i>Streptococcus pyogenes</i> |
| <i>Haemophilus influenzae</i> | <i>Mycobacterium thermoresistibile</i> | <i>Streptococcus salivarius</i> ssp. <i>salivarius</i> |
| <i>Haemophilus parahaemolyticus</i> | <i>Mycobacterium triviale</i> | <i>Streptococcus sanguinis</i> |
| <i>Haemophilus parainfluenzae</i> | <i>Mycobacterium vaccae</i> | <i>Streptococcus uberis</i> |
| Virus Herpes simplex de type 1 ^a | <i>Mycobacterium xenopi</i> | <i>Veillonella parvula</i> |
| Virus Herpes simplex de type 2 ^a | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> ^b | <i>Weissella paramesenteroides</i> |
| Virus influenza humain A ^a | <i>Neisseria gonorrhoeae</i> | <i>Yersinia enterocolitica</i> ssp. <i>enterocolitica</i> |

^a ADN génomique ou ARN utilisé ; les concentrations testées variaient de $3,1 \times 10^9$ à $1,2 \times 10^{11}$ copies/mL.

^b ADN génomique utilisé ; les concentrations testées variaient de 1×10^7 à 1×10^{10} copies/mL.

^c ADN génomique utilisé ; la concentration a été testée à $3,2 \times 10^8$ copies/mL.

La possibilité d'une réactivité croisée concernant 25 microorganismes qui n'ont pas pu être testés en milieu liquide à l'aide d'organismes entiers ou d'acide nucléique a été évaluée par le biais d'une analyse *in silico*. Vingt des 25 microorganismes testés n'ont révélé aucune possibilité de réactivité croisée. Voir le Tableau 24, le Tableau 25 et le Tableau 26.

Cinq isolats ont démontré une faible possibilité de réactivité croisée, qui peut entraîner des résultats faussement positifs avec le test Xpert MTB/RIF Assay. Voir le Tableau 27.

Tableau 24. Micro-organismes dont on prédit à activité non croisée par des analyses *in silico* (RpoB pour 1 + RpoB Rév sonde)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|--|----------------|------------|-----------|----------|----------|
| <i>Kingella oralis</i> Taxid:505 | GU561427.1 | 16,4 | 69 % | 20 | 100 % |
| <i>Legionella micdadei</i> Taxid:451 | NR_041791.1 | 18,3 | 34 % | 3,6 | 100 % |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> Taxid:37326 | JN215639.1 | 40,1 | 73 % | 0,000003 | 100 % |
| <i>Streptomyces anulatus</i> Taxid:1892 | AB431435.1 | 28,2 | 61 % | 0,026 | 100 % |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> Taxid:339724 | XM_001536322.1 | 28,2 | 28 % | 1,5 | 100 % |
| <i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>) Taxid:559298 | XM_002624017.1 | 28,2 | 48 % | 1,5 | 100 % |

Tableau 24. Micro-organismes dont on prédit à activité non croisée par des analyses *in silico* (RpoB pour 1 + RpoB Rév sonde) (Suite)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|---|----------------|------------|-----------|----------|----------|
| <i>Penicillium</i> spp. Taxid:500485 | XM_002566094.1 | 30,2 | 38 % | 2 | 95 % |
| <i>Rhizopus</i> spp. Taxid:4847 | AY847625.1 | 22,3 | 28 % | 8,1 | 93 % |
| <i>Scedosporium</i> spp. Taxid:563467 | HQ231813.1 | 18,3 | 57 % | 23 | 100 % |
| Virus de la rubéole Taxid:111041 | AB588191.1 | 24,3 | 97 % | 2,4 | 100 % |
| Virus de la rougeole Taxid:884098 | JN635408.1 | 22,3 | 22 % | 36 | 100 % |
| Rubulavirus Taxid:11161 | EU606317.1 | 22,3 | 22 % | 13 | 100 % |
| Virus varicelle-zona Taxid:10335 | JQ972914.1 | 22,3 | 89 % | 45 | 100 % |
| <i>Mycobacterium franklinii</i> Taxid:948102 | HQ662080.1 | 22,3 | 83 % | 0,36 | 100 % |
| <i>M. massiliense</i> , <i>M. bolletii</i> , <i>M.</i> <i>abscessus</i> <i>subsp. bolletii</i> Taxid:319705 | NC_018150.2 | 32,2 | 100 % | 0,21 | 95 % |
| <i>Mycobacterium chimaera</i> Taxid:222805 | AY943187.1 | 26,3 | 83 % | 0,016 | 90 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. paratuberculosis</i> Taxid:1770 | AF057479.1 | 36,2 | 85 % | 0,005 | 100 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. silvaticum</i> Taxid:44282 | AY544889.1 | 28,2 | 85 % | 0,004 | 94 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. hominissuis</i> Taxid:439334 | AP012555.1 | 30,2 | 100 % | 0,15 | 100 % |
| <i>Mycobacterium immunogenum</i> Taxid:83262 | HM454251.1 | 32,2 | 48 % | 5E-04 | 95 % |

Tableau 25. Microorganismes présentant une non réactivité croisée selon les prévisions de l'analyse *in silico* (Sonde RpoB For2 + RpoB Rév)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|---|----------------|------------|-----------|----------|----------|
| <i>Kingella oralis</i> Taxid:505 | GU561427.1 | 14,4 | 57 % | 79 | 100 % |
| <i>Legionella micdadei</i> Taxid:451 | X57520.1 | 18,3 | 55 % | 3,6 | 100 % |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> Taxid:37326 | DQ085110.1 | 38,2 | 46 % | 0,00001 | 100 % |
| <i>Streptomyces anulatus</i> Taxid:1892 | AB431435.1 | 28,2 | 71 % | 0,026 | 100 % |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> Taxid:339724 | XM_001536322.1 | 28,2 | 28 % | 1,5 | 100 % |
| <i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>) Taxid:559298 | XM_002625196.1 | 30,2 | 30 % | 0,38 | 100 % |
| <i>Penicillium</i> spp. Taxid:500485 | XM_002565312.1 | 30,2 | 44 % | 2 | 91 % |
| <i>Rhizopus</i> spp. Taxid:4847 | HM130700.1 | 20,3 | 73 % | 32 | 100 % |
| <i>Scedosporium</i> spp. Taxid:563467 | AY625497.1 | 20,3 | 44 % | 5,7 | 100 % |
| Virus de la rubéole Taxid:111041 | AB588191.1 | 24,3 | 81 % | 2,4 | 100 % |
| Virus de la rougeole Taxid:884098 | JN635410.1 | 24,3 | 38 % | 9,1 | 100 % |
| Rubulavirus Taxid:11161 | BK005918.1 | 24,3 | 85 % | 3,2 | 100 % |
| Virus varicelle-zona Taxid:10335 | JQ972914.1 | 20,3 | 91 % | 177 | 100 % |
| <i>Mycobacterium franklinii</i> Taxid:948102 | HQ662038.1 | 22,3 | 83 % | 0,36 | 100 % |
| <i>M. massiliense</i> , <i>M. bolletii</i> , <i>M. abscessus</i> subsp. <i>bolletii</i> Taxid:319705 | NC_018150.2 | 32,2 | 100 % | 0,21 | 100 % |
| <i>Mycobacterium chimaera</i> Taxid:222805 | AY943187.1 | 40,1 | 91 % | 1E-06 | 96 % |

Tableau 25. Microorganismes présentant une non réactivité croisée selon les prévisions de l'analyse *in silico* (Sonde RpoB For2 + RpoB Rév) (Suite)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|---|------------|------------|-----------|----------|----------|
| <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>paratuberculosis</i> Taxid:1770 | AF057479.1 | 36,2 | 59 % | 0,005 | 100 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>silvaticum</i> Taxid:44282 | AY544889.1 | 28,2 | 79 % | 0,004 | 94 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> subsp. <i>hominissuis</i> Taxid:439334 | AP012555.1 | 32,2 | 100 % | 0,38 | 100 % |
| <i>Mycobacterium immunogenum</i> Taxid:83262 | HQ662101.1 | 24,3 | 36 % | 0,13 | 100 % |

Tableau 26. Microorganismes présentant une non réactivité croisée selon les prévisions de l'analyse *in silico* (Toutes les sondes RpoB avec aucune séquence souche)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|---|----------------|------------|-----------|----------|----------|
| <i>Kingella oralis</i> Taxid:505 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |
| <i>Legionella micdadei</i> Taxid:451 | AF367743.1 | 33,7 | 72 % | 0,0001 | 72 % |
| <i>Nocardia brasiliensis</i> Taxid:37326 | DQ085110.1 | 77 | 100 % | 4E-17 | 81 % |
| <i>Streptomyces anulatus</i> Taxid:1892 | U64692.1 | 26,5 | 27 % | 0,14 | 86 % |
| <i>Histoplasma capsulatum</i> Taxid:339724 | XM_001538897.1 | 30,1 | 27 % | 0,63 | 91 % |
| <i>Blastomyces dermatitidis</i> (<i>Ajellomyces dermatitidis</i>) Taxid:559298 | XM_002623914.1 | 28,3 | 18 % | 2,3 | 100 % |
| <i>Penicillium</i> spp. Taxid:500485 | XM_002557696.1 | 30,1 | 20 % | 3,5 | 100 % |
| <i>Rhizopus</i> spp. Taxid:4847 | AY147870.1 | 22,9 | 15 % | 8,8 | 0 |
| <i>Scedosporium</i> spp. Taxid:563467 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |
| Virus de la rubéole Taxid:111041 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |
| Virus de la rougeole Taxid:884098 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |
| Rubulavirus Taxid:11161 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |

Tableau 26. Microorganismes présentant une non réactivité croisée selon les prévisions de l'analyse *in silico* (Toutes les sondes RpoB avec aucune séquence souche) (Suite)

| Microorganisme | Accession | Score max. | Query Cov | Valeur E | Identité |
|---|------------|------------|-----------|----------|----------|
| Virus varicelle-zona Taxid:10335 | 0 | 0 | 0 % | | 0 |
| <i>Mycobacterium franklinii</i> Taxid:948102 | HQ662092.1 | 24,3 | 88 % | 0,16 | 100 % |
| <i>M. massiliense</i> , <i>M. bolletii</i> , <i>M. abscessus</i> <i>subsp. bolletii</i> Taxid:319705 | DQ987717.1 | 75,8 | 75 % | 3E-14 | 92 % |
| <i>Mycobacterium chimaera</i> Taxid:222805 | AY943187.1 | 91,7 | 100 % | 6E-22 | 90 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. paratuberculosis</i> Taxid:1770 | CP005928.1 | 83,8 | 100 % | 4E-17 | 89 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. silvaticum</i> Taxid:44282 | AY544889.1 | 107 | 100 % | 8E-27 | 90 % |
| <i>Mycobacterium avium</i> <i>subsp. hominissuis</i> Taxid:439334 | AP012555.1 | 107 | 100 % | 1E-24 | 90 % |
| <i>Mycobacterium immunogenum</i> Taxid:83262 | HM454251.1 | 95,1 | 97 % | 1E-22 | 87 % |

Tableau 27. Microorganismes présentant une éventuelle réactivité croisée selon les prévisions de l'analyse *in silico*

| |
|-------------------------------------|
| <i>Mycobacterium kumamontonense</i> |
| <i>Mycobacterium leprae</i> |
| <i>Mycobacterium mucogenicum</i> |
| <i>Tsukamurella spp.</i> |
| <i>Nocardia otitidiscaviarum</i> |

15.3 Sensibilité analytique (limite de détection)

Des études ont été menées pour déterminer la limite de détection (LDD) d'isolats humains du *Mycobacterium tuberculosis* et du *Mycobacterium bovis* BCG (Bacille de Calmette-Guérin) dilués dans des crachats humains et des dépôts de crachats humains. La LDD constitue la plus faible concentration rapportée en UFC/mL pouvant être différenciée, à plusieurs reprises, des échantillons négatifs avec un niveau de confiance de 95 %. Vingt répliquats ont été évalués par le biais de cinq à huit concentrations et la limite de détection a été établie par la méthode des probits, à l'exception du test réalisé avec des cellules de la souche TDR125 de *M. tuberculosis* mutante résistante à la rifampicine dans un dépôt de crachats, qui a été réalisé à une seule concentration en répliquats de 40. Voir le Tableau 28.

Tableau 28. Données d'analyse Probit et LDD arrogé en CFU/mL

| Microorganisme (souche) | Type d'échantillon | Estimation de la LDD | LDD revendiquée |
|--------------------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------|
| <i>M. bovis</i> (BCG) | Crachat | 486 | 525 |
| | Dépôt de crachat | 703 | 700 |
| Tuberculose <i>M.</i> (H37Rv) | Crachat | 414 | 600 |
| | Dépôt de crachat | 2 046 | 3 000 |
| Tuberculose <i>M.</i> (TDR125) | Crachat | 872 | 1 000 |
| | Dépôt de crachat | ND (Non déterminé) ^a | 4 000 |

^a Non déterminé (ND) par l'analyse Probit.

15.4 Étude sur les substances interférentes

Les performances du test Xpert MTB/RIF Assay ont été évaluées en présence de 32 substances potentiellement interférentes. Les substances endogènes potentiellement interférentes peuvent inclure, sans s'y limiter, du sang, du pus (globules blancs sanguins), des cellules des voies respiratoires, de la mucine, de l'ADN humain et de l'acide gastrique provenant de l'estomac. D'autres substances potentiellement interférentes peuvent inclure des anesthésiques, des antibiotiques, des antibactériens, des médicaments antituberculeux, des médicaments antiviraux, des bronchodilatateurs, des bronchodilatateurs en inhalation, le vaccin antigrippal intranasal à virus vivant, des bains de bouche germicides, des réactifs de traitement de l'échantillon, des médicaments contre *Pneumocystis jirovecii*, des médicaments homéopathiques pour soulager les allergies, des corticostéroïdes ainsi que des gels et des vaporisateurs par voie nasale, des anesthésiques oraux, des expectorants oraux, des tampons neutralisants et le tabac. Ces substances figurent dans le Tableau 29 avec les principes actifs et les concentrations testées. Des échantillons positifs et négatifs étaient inclus dans cette étude. Les échantillons positifs ont été testés près de la limite de détection analytique en utilisant une souche inactivée sensible à la rifampicine, H37Rv, et une souche inactivée résistante à la rifampicine, TDR6 (sonde E mutante). Les deux souches ont été testées en répliquats de 8. Les échantillons négatifs, composés de la substance sans la souche du bacille de Koch, ont été testés en répliquats de 8 par substance, afin de déterminer l'effet produit sur la performance du contrôle du traitement de l'échantillon (CTE). Une inhibition du test Xpert MTB/RIF Assay a été observée en présence de lidocaïne à 30 % ; de mucine à 5 % et à 2,5 % ; d'éthambutol à 50 µg/mL, 25 µg/mL et 10 µg/mL ; de guaifénésine à 5 mg/mL ; de phényléphrine à 100 % et à 50 % ; et d'huile d'arbre à thé de 0,5 % à 0,015 %, entraînant un résultat faussement négatif **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)** ou un résultat **Rif Resistance INDETERMINATE (Rif Resistance INDETERMINÉ)**.

Tableau 29. Substances potentiellement interférentes avec le test Xpert MTB/RIF

| Substance | Description/Principe actif | Concentration testée |
|--|--|---|
| Sang (humain) | | 5 % (v/v) |
| Bain de bouche germicide | Gluconate de chlorhexidine (0,12 %), solution à 20 % | 20 % (v/v) |
| Réactifs de traitement de l'échantillon | Chlorure de cétylpyridinium, 1 % dans du NaCl à 2 % | 0,5 % (v/v) dans du NaCl à 1 % |
| Réactifs de traitement de l'échantillon | Chlorure de cétylpyridinium, 1 % dans de la NALC à 2 % | 0,5 % (v/v) dans de la NALC à 1 % |
| Réactifs de traitement de l'échantillon | Chlorure de cétylpyridinium, 1 % dans de la NALC à 2 % plus 25 mM de citrate | 0,5 % (v/v) dans de la NALC à 1 % plus 12,5 mM de Citrate |
| Acide gastrique | Solution de pH 3 à 4 dans de l'eau, neutralisée par du bicarbonate de sodium | 100 % (v/v) |
| ADN/cellules humains | HELA 229 | 10 ⁶ cellules/mL |
| Antifongique ; Antibiotique | Suspension orale de nystatine, 20 % | 20 % (v/v) |
| Globules blancs sanguins (humains) | Matrice GBS/pus (30 % de couche leuco-plaquettaire ; 30 % de plasma ; 40 % de STP) | 100 % (v/v) |
| Anesthésiques (intubation endotrachéale) | HCl de lidocaïne à 4 % | 20 % à 30 % (v/v) |
| Solutions de nébulisation | NaCl 5 % (m/v) | 5 % (m/v) |
| Mucine | Mucine 5 % (m/v) | 1,5 % à 5 % (m/v) |
| Antibactérien, systémique | Lévofloxacine 25 mg/mL | 5 mg/mL |
| Corticostéroïdes par voie nasale | Fluticasone 500 mcg/pulvérisation | 5 µg/mL |
| Bronchodilatateurs en inhalation | Sulfate d'albutérol 2,5 mg/3 mL | 50 µg/mL ; 100 µg/mL |
| Anesthésiques oraux | Orajel (benzocaïne à 20 %) | 5 % (m/v) |
| Médicaments antiviraux | Acyclovir, 50 mg/mL en IV | 50 µg/mL |
| Antibiotique, onguent nasal | Neosporin (400 U de bacitracine, 3,5 mg de néomycine, 5 000 U de polymyxine B) | 5 % (m/v) |
| Tabac | Nicogel (extrait de tabac à 40 %) | 0,5 % (m/v) |
| Médicaments anti-tuberculeux | Streptomycine 1 mg/mL | 25 µg/mL |
| Médicaments anti-tuberculeux | Éthambutol 1 mg/mL | 5 µg/mL à 50 µg/mL |
| Médicaments anti-tuberculeux | Isoniazide 1 mg/mL | 50 µg/mL |
| Expectorants oraux | Guaïfénésine (400 mg/comprimé) | 2,5 mg/mL ; 5 mg/mL |
| Médicaments anti-tuberculeux | Pyrazinamide 10 mg/mL | 100 µg/mL |
| Gel par voie nasale (homéopathique) | Gel Zicam | 50 % (m/v) |
| Vaporisateur nasal | Phényléphrine 0,5 % | 25 % à 100 % (v/v) |
| Médicaments anti-tuberculeux | Rifampicine 1 mg/mL | 25 µg/mL |
| Médicament pour soulager les allergies (homéopathique) | Huile d'arbre à thé (cinéole < 5 %, terpinène-4-ol > 35 %) | 0,008 % à 0,5 % (v/v) |
| Vaccin antigrippal intranasal à virus vivant | Vaccin antigrippal à virus vivant | 5 % (v/v) |
| Médicaments contre Pneumocystis jiroveci | Pentamidine | 300 ng/mL |
| Bronchodilatateur | Épinéphrine (préparation injectable) | 1 mg/mL |
| Tampon neutralisant | Tampon neutralisant XPR-plus™ | phosphate > 67 mM |

15.5 Étude de contamination par transfert

Une étude a été menée pour démontrer l'absence d'un éventuel transfert ou contamination croisée lorsque l'opérateur utilise les cartouches closes à usage unique Xpert MTB/RIF Assay. L'étude s'est appuyée sur un échantillon négatif, traité dans un module GeneXpert qui venait de traiter un échantillon hautement positif contenant *M. bovis* BCG à une concentration de près de 1×10^6 UFC/mL, ajoutée dans un tampon TET. Cette opération a été répétée 20 fois sur deux modules GeneXpert, pour un total de 42 séries, qui ont donné 20 échantillons positifs et 22 échantillons négatifs. La totalité des 20 échantillons positifs a été correctement signalée comme **MTB DETECTED ; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ)** et la totalité des 22 échantillons négatifs a été correctement signalée comme **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)**.

15.6 Étude sur la résistance à la rifampicine

En raison de la faible prévalence de la résistance à la rifampicine, une étude non clinique supplémentaire a été menée pour évaluer les performances du test Xpert MTB/RIF Assay concernant la détection de mutations génétiques associées à la résistance à la rifampicine dans des isolats cliniques sensibles et résistants à la rifampicine, tous bien caractérisés, qui ont été ajoutés à un groupe de crachats connus pour être négatifs au bacille de Koch. Cinquante aliquots de crachats humains groupés, négatifs pour le bacille de Koch, ont été mélangés de manière aléatoire pour être testés parmi des échantillons positifs. La sensibilité et la spécificité du test Xpert MTB/RIF Assay en termes de détection des mutations associées à la résistance à la rifampicine, par rapport à l'analyse de sensibilité médicamenteuse utilisant les méthodes des proportions sur milieu de Middlebrook, se sont élevées à 97,7 % (85/87) avec un IC à 95 % : 92,0 % - 99,4 % ; et 90,8 % (89/98) avec un IC à 95 % : 83,5 % - 95,1 %, respectivement.

Sur les 11 échantillons présentant des résultats discordants concernant la rifampicine, le séquençage bidirectionnel a été concordant avec le test Xpert MTB/RIF Assay pour 10 des 11 échantillons et discordant avec 1 des 11 échantillons.

16. Reproductibilité

La reproductibilité du test Xpert MTB/RIF Assay a été évaluée sur trois sites différents, en utilisant des échantillons composés de souches cultivées de *M. tuberculosis*, qui ont été ajoutées à un groupe de crachats humains négatifs pour le bacille de Koch. Les échantillons ont été préparés à des niveaux de concentrations faiblement positifs (~1X LDD) et modérément positifs (2-3X LDD) pour les souches sensibles à la rifampicine ainsi que pour celles qui y sont résistantes. Des échantillons du panel négatif ont également été inclus et étaient composés de crachats humains groupés, négatifs au bacille de Koch. Un panel de cinq échantillons a été testé pendant cinq jours différents, par deux opérateurs différents, trois fois par jour sur trois sites (30 tests sur chaque site = 2 opérateurs x 5 jours x 3 réplicats par jour). Un lot de kit de réactif Xpert MTB/RIF Assay a été utilisé pendant l'étude. Le pourcentage de concordance pour chaque échantillon du panel est présenté par site dans le Tableau 30.

Tableau 30. Résumé des résultats de reproductibilité - concordance par site d'étude/instrument

| Echantillon | Site 1 (Infinity-80) | Site 2 (GeneXpert Dx) | Site 3 (Infinity-48) | % de concordance globale par échantillon |
|--|-------------------------|-----------------------------|-------------------------|---|
| Résistant au bacille de Koch/ à la rif. 2-3x LDD | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (30/30) | 100,0% (90/90) |
| Résistant au bacille de Koch/ à la rif. 1X LDD | 93,3 % (28/30) | 96,7% (29/30) | 96,7 % (29/30) | 95,6% (86/90) |
| Sensible au bacille de Koch/ à la rif. 2-3x LDD | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (30/30) | 100,0% (90/90) |
| Sensible au bacille de Koch/ à la rif. 1X LDD | 96,7 % (29/30) | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (30/30) | 98,9% (89/90) |
| Négatif | 100,0 % (30/30) | 100,0 % (29/29) | 100,0 % (30/30) | 100,0% (89/89) ^a |

^a Un échantillon s'est révélé non déterminé après le test initial et une répétition du test.

La reproductibilité du test Xpert MTB/RIF Assay a également été évaluée en termes de signal de fluorescence exprimé en valeurs de cycle seuil (Ct, cycle threshold) pour chaque cible détectée. La moyenne, l'écart type (ET) et le coefficient de variation (CV) pour les composants inter-sites, inter-jours, inter-opérateurs et intra-série, pour chaque échantillon du panel, sont présentés dans le Tableau 31. Une série correspond aux trois échantillons, par membre du panel, qui sont testés par un opérateur, dans un site, pendant un jour.

Tableau 31. Résumé des données de reproductibilité^a

| Sonde | Cible | | Accord/ Nombre total (%) | Ct moyen | Inter-sites | | Inter-jours | | Inter-opérateurs | | Intra-série | | Total | |
|-------|--------------------------|---------------|-----------------------------------|-------------|-------------|-----------|-------------|-----------|------------------|-----------|-------------|-----------|-------|-----------|
| | Bac. de Koch/ Rif. | Conc (LDD) | | | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) |
| A | POS/R | 2-3X | 90/90 (100) | 26,23 | 0,19 | 0,7 | 0,09 | 0,4 | 0,00 | 0,0 | 1,36 | 5,2 | 1,37 | 5,2 |
| | POS/R | 1X | 86/90 (95,6) | 27,13 | 0,00 | 0,0 | 0,78 | 2,9 | 0,00 | 0,0 | 1,74 | 6,4 | 1,91 | 7,0 |
| | POS/S | 2-3X | 90/90 (100) | 25,89 | 0,00 | 0,0 | 0,38 | 1,5 | 0,00 | 0,0 | 1,43 | 5,5 | 1,48 | 5,7 |
| | POS/S | 1X | 89/90 (89,9) | 27,25 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,36 | 1,3 | 1,28 | 4,7 | 1,33 | 4,9 |
| | Nég | Nég | 89/89 (100) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| B | POS/R | 2-3X | 90/90 (100) | 38,41 | 0,26 | 0,7 | 0,72 | 1,9 | 0,00 | 0,0 | 1,59 | 4,1 | 1,76 | 4,6 |
| | POS/R | 1X | 86/90 (95,6) | 38,47 | 0,00 | 0,0 | 0,82 | 2,1 | 0,16 | 0,4 | 1,68 | 4,4 | 1,88 | 4,9 |
| | POS/S | 2-3X | 90/90 (100) | 27,01 | 0,00 | 0,0 | 0,33 | 1,2 | 0,00 | 0,0 | 1,42 | 5,3 | 1,46 | 5,4 |
| | POS/S | 1X | 89/90 (89,9) | 28,21 | 0,03 | 0,1 | 0,00 | 0,0 | 0,34 | 1,2 | 1,25 | 4,4 | 1,29 | 4,6 |
| | Nég | Nég | 89/89 (100) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| C | POS/R | 2-3X | 90/90 (100) | 26,52 | 0,21 | 0,8 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 1,30 | 4,9 | 1,31 | 4,9 |
| | POS/R | 1X | 86/90 (95,6) | 27,37 | 0,00 | 0,0 | 0,79 | 2,9 | 0,00 | 0,0 | 1,66 | 6,1 | 1,84 | 6,7 |
| | POS/S | 2-3X | 90/90 (100) | 26,13 | 0,00 | 0,0 | 0,36 | 1,4 | 0,00 | 0,0 | 1,44 | 5,5 | 1,49 | 5,7 |
| | POS/S | 1X | 89/90 (89,9) | 27,44 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,35 | 1,3 | 1,25 | 4,6 | 1,30 | 4,7 |
| | Nég | Nég | 89/89 (100) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| D | POS/R | 2-3X | 90/90 (100) | 27,65 | 0,18 | 0,6 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 1,33 | 4,8 | 1,35 | 4,9 |
| | POS/R | 1X | 86/90 (95,6) | 28,51 | 0,00 | 0,0 | 0,81 | 2,9 | 0,00 | 0,0 | 1,63 | 5,7 | 1,82 | 6,4 |
| | POS/S | 2-3X | 90/90 (100) | 27,35 | 0,00 | 0,0 | 0,36 | 1,3 | 0,00 | 0,0 | 1,36 | 5,0 | 1,41 | 5,2 |
| | POS/S | 1X | 89/90 (89,9) | 28,62 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,26 | 0,9 | 1,16 | 4,1 | 1,19 | 4,2 |
| | Nég | Nég | 89/89 (100) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| E | POS/R | 2-3X | 90/90 (100) | 27,77 | 0,27 | 1,0 | 0,13 | 0,5 | 0,00 | 0,0 | 1,50 | 5,4 | 1,53 | 5,5 |
| | POS/R | 1X | 86/90 (95,6) | 28,72 | 0,22 | 0,8 | 0,79 | 2,8 | 0,00 | 0,0 | 1,84 | 6,4 | 2,01 | 7,0 |
| | POS/S | 2-3X | 90/90 (100) | 27,47 | 0,23 | 0,8 | 0,34 | 1,2 | 0,00 | 0,0 | 1,52 | 5,5 | 1,57 | 5,7 |
| | POS/S | 1X | 89/90 (89,9) | 28,86 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,51 | 1,8 | 1,37 | 4,8 | 1,46 | 5,1 |
| | Nég | Nég | 89/89 (100) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |

^a Conc. = concentration ; Ct = cycle seuil ; CV = coefficient de variation ; LDD = limite de détection ; N = nombre ; S/O = sans objet pour les échantillons négatifs ; ET = écart type ; R = résistant à la rifampicine ; S = sensible à la rifampicine

17. Précision du système d'instrument

Une étude de précision interne a été menée pour comparer les performances des systèmes d'instrument GeneXpert Dx et Infinity-80, en utilisant des échantillons composés de souches cultivées de *M. tuberculosis*, qui ont été ajoutés dans un groupe de crachats humains négatifs pour le bacille de Koch. Les échantillons ont été préparés à des niveaux de concentrations faiblement positifs (~1X LDD) et modérément positifs (2-3X LDD) pour les souches sensibles à la rifampicine ainsi que pour celles qui y sont résistantes. Des échantillons du panel négatifs ont également été inclus et étaient composés de crachats humains négatifs pour le bacille de Koch. Un panel de cinq échantillons a été testé pendant 12 jours différents, par deux opérateurs. Chaque opérateur a mené quatre séries par jour, pour chaque échantillon du panel, sur chacun des deux systèmes d'instrument (96 tests sur chaque instrument = 4 tests x 12 jours x 2 opérateurs). Un lot de kits de réactifs Xpert MTB/RIF Assay a été utilisé pour l'étude. Le pourcentage de concordance pour chaque échantillon du panel est présenté par instrument dans le Tableau 32.

Tableau 32. Résumé des résultats de précision de l'instrument ; pourcentage de concordance

| Echantillon | GeneXpert Dx | Infinity-80 | % de concordance globale par échantillon |
|--|--------------------|--------------------|--|
| Résistant au bacille de Koch/ à la rif. 2-3x LDD | 100,0 % (94/94) | 99,0 % (95/96) | 99,5 % (189/190) ^{a,b} |
| Résistant au bacille de Koch/ à la rif. 1X LDD | 97,9 % (94/96) | 99,0 % (95/96) | 98,4 % (189/192) ^c |
| Sensible au bacille de Koch/ à la rif. 2-3x LDD | 100,0 % (96/96) | 100,0 % (96/96) | 100,0 % (192/192) |
| Sensible au bacille de Koch/ à la rif. 1X LDD | 91,6 % (87/95) | 86,5 % (83/96) | 89,0 % (170/191) ^{a,d} |
| Négatif | 99,0 % (95/96) | 97,9 % (94/96) | 98,4 % (189/192) ^e |

^a Deux échantillons modérément positifs au bacille de Koch/résistants à la rifampicine et 1 échantillon faiblement positif au bacille de Koch/sensible à la rifampicine ont été interprétés comme non déterminés par le test Xpert MTB/RIF Assay à l'issue du test initial et de la répétition du test.

^b 1 échantillon **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)**.

^c Deux échantillons **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)** et 1 échantillon **MTB DETECTED ; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ)**.

^d 17 échantillons **MTB NOT DETECTED (MTB NON DÉTECTÉ)** et 4 échantillons **MTB DETECTED ; Rif Resistance INDETERMINATE (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance INDÉTERMINÉ)**.

^e 3 échantillons **MTB DETECTED ; Rif Resistance NOT DETECTED (MTB DÉTECTÉ ; Rif Resistance NON DÉTECTÉ)**.

La précision du test Xpert MTB/RIF Assay a également été évaluée en termes de signal de fluorescence exprimé en valeurs Ct pour chaque cible détectée. La moyenne, l'écart type (ET) et le coefficient de variation (CV) pour les composants inter-instruments, inter-jours, inter-opérateurs et intra-série, pour chaque échantillon du panel, sont présentés dans le Tableau 33. Une série correspond aux quatre échantillons, par membre du panel, qui sont testés par un opérateur, sur un instrument, pendant un jour.

Tableau 33. Résumé des données sur la précision des instruments^a

| Sonde | Cible | | Accord/ Nombre total (%) | Ct moyen | Inter-instruments | | Inter-jours | | Inter-opérateurs | | Intra-série | | Total | |
|-------|----------------------|---------------|--------------------------------|-------------|-------------------|-----------|-------------|-----------|------------------|-----------|-------------|-----------|-------|-----------|
| | Bac. de Koch/Rif. | Conc (LDD) | | | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) | ET | CV (%) |
| A | POS/R | 2-3X | 189/190 (99,5) | 25,52 | 0,00 | 0,0 | 0,62 | 2,4 | 0,00 | 0,0 | 1,23 | 4,8 | 1,37 | 5,4 |
| | POS/R | 1X | 189/192 (98,4) | 27,03 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,59 | 2,2 | 1,36 | 5,0 | 1,48 | 5,5 |
| | POS/S | 2-3X | 192/192 (100) | 25,43 | 0,23 | 0,9 | 0,41 | 1,6 | 0,00 | 0,0 | 1,28 | 5,0 | 1,36 | 5,4 |
| | POS/S | 1X | 170/191 (89,0) | 27,44 | 0,00 | 0,0 | 1,24 | 4,5 | 1,16 | 4,2 | 1,79 | 6,5 | 2,46 | 9,0 |
| | Nég | Nég | 189/192 (98,4) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| B | POS/R | 2-3X | 189/190 (99,5) | 37,45 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 2,00 | 5,3 | 2,00 | 5,3 |
| | POS/R | 1X | 189/192 (98,4) | 38,06 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,66 | 1,7 | 1,76 | 4,6 | 1,88 | 4,9 |
| | POS/S | 2-3X | 192/192 (100) | 26,44 | 0,30 | 1,1 | 0,25 | 0,9 | 0,00 | 0,0 | 1,31 | 5,0 | 1,37 | 5,2 |
| | POS/S | 1X | 170/191 (89,0) | 28,16 | 0,00 | 0,0 | 0,96 | 3,4 | 1,01 | 3,6 | 1,79 | 6,4 | 2,26 | 8,0 |
| | Nég | Nég | 189/192 (98,4) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| C | POS/R | 2-3X | 189/190 (99,5) | 25,77 | 0,00 | 0,0 | 0,62 | 2,4 | 0,00 | 0,0 | 1,19 | 4,6 | 1,34 | 5,2 |
| | POS/R | 1X | 189/192 (98,4) | 27,27 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,54 | 2,0 | 1,32 | 4,8 | 1,42 | 5,2 |
| | POS/S | 2-3X | 192/192 (100) | 25,63 | 0,23 | 0,9 | 0,36 | 1,4 | 0,00 | 0,0 | 1,29 | 5,0 | 1,36 | 5,3 |
| | POS/S | 1X | 170/191 (89,0) | 27,62 | 0,00 | 0,0 | 1,01 | 3,6 | 1,09 | 4,0 | 2,06 | 7,4 | 2,54 | 9,2 |
| | Nég | Nég | 189/192 (98,4) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| D | POS/R | 2-3X | 189/190 (99,5) | 27,00 | 0,00 | 0,0 | 0,57 | 2,1 | 0,00 | 0,0 | 1,17 | 4,3 | 1,30 | 4,8 |
| | POS/R | 1X | 189/192 (98,4) | 28,44 | 0,10 | 0,3 | 0,00 | 0,0 | 0,53 | 1,9 | 1,31 | 4,6 | 1,42 | 5,0 |
| | POS/S | 2-3X | 192/192 (100) | 26,98 | 0,24 | 0,9 | 0,34 | 1,3 | 0,00 | 0,0 | 1,26 | 4,7 | 1,33 | 4,9 |
| | POS/S | 1X | 170/191 (89,0) | 28,79 | 0,00 | 0,0 | 1,22 | 4,2 | 1,11 | 3,8 | 1,64 | 5,7 | 2,33 | 8,1 |
| | Nég | Nég | 189/192 (98,4) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |
| E | POS/R | 2-3X | 189/190 (99,5) | 28,84 | 0,00 | 0,0 | 0,61 | 2,3 | 0,00 | 0,0 | 1,20 | 4,5 | 1,35 | 5,0 |
| | POS/R | 1X | 189/192 (98,4) | 28,44 | 0,00 | 0,0 | 0,00 | 0,0 | 0,63 | 2,2 | 1,38 | 4,8 | 1,52 | 5,3 |
| | POS/S | 2-3X | 192/192 (100) | 26,89 | 0,18 | 0,7 | 0,42 | 1,6 | 0,00 | 0,0 | 1,31 | 4,9 | 1,39 | 5,2 |
| | POS/S | 1X | 170/191 (89,0) | 28,86 | 0,00 | 0,0 | 1,41 | 4,9 | 0,81 | 2,8 | 1,74 | 6,0 | 2,38 | 8,2 |
| | Nég | Nég | 189/192 (98,4) | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O | S/O |

^a Conc=concentration, Ct=seuil de cycle (cycle threshold), CV=coefficient de variation, LDD=limite de détection, N=nombre, N/A=Non applicable pour des échantillons négatifs, SD=déviations standard ; R=résistant à la RIF ; S=sensible à la RIF

18. Bibliographie

1. WHO report 2008. Tuberculosis (TB). http://www.who.int/tb/publications/global_report/2008/en/index.html
2. WHO report 2011. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
3. Center for Disease Control and Prevention. Trends in Tuberculosis, 2012. <http://www.cdc.gov/tb/publications/factsheets/statistics/Trends.pdf>.
4. Hoyert DL, Xu J. Deaths: Preliminary data for 2011. National Vital Statistics Reports. 2012;61(6);p. 16.
5. Reported Tuberculosis in the United States, 2011. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC, October 2012.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Guidelines for preventing the transmission of *Mycobacterium tuberculosis* in health-care settings, 2005. MMWR 2005;54(No. RR-17).
7. 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.
8. Clinical and Laboratory Standards Institute. Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline. Document M29 (refer to latest edition).
9. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. 2009. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 5th Edition HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Available from: <http://www.cdc.gov/biosafety/publications/bml15/BMBL.pdf>. Accessed December 14, 2012.
10. Kent, PT, Kubica, GP, 1985. Public health mycobacteriology: a guide for the level III laboratory. U.S. Department of Public Health and Human Services, Atlanta, GA.
11. Centers for Disease Control and Prevention. Summary of Notifiable Diseases. MMWR. <http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm6153.pdf>
12. Council to Improve Foodborne Outbreak Response. Analysis of State Legal Authorities. <http://www.cifor.us/documents/CIFORAnalysisStateLegalAuthorities.pdf>.

19. Localisation des sièges de Cepheid

Siège social

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

Siège européen

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

20. Assistance Technique

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

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










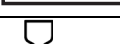





Coordonnées

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

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

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

21. Tableau des symboles

| Symbole | Signification |
|---|--|
|  | Numéro de référence |
|  | Dispositif médical de diagnostic in vitro |
|  | Ne pas réutiliser |
|  | Code du lot |
|  | Consulter les instructions d'utilisation |
|  | Attention |
|  | Fabricant |
|  | Pays de fabrication |
|  | Quantité suffisante pour <n> tests |
|  | Contrôle |
|  | Date de péremption |
|  | Limite de température |
|  | Risques biologiques |
|  | Liquide et vapeur inflammables |
|  | Entraîne des brûlures cutanées et des lésions oculaires graves |



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



For Information Only - Not a Controlled Copy