# cobas® MRSA/SA Test

**à utiliser avec le système cobas® 4800**

Destiné au diagnostic *in vitro*

IVD

| | | |
|---|---|---|
| **cobas® 4800 System Sample Preparation Kit** | 240 Tests<br>960 Tests | P/N 05235782190<br>P/N 05235804190 |
| **cobas® 4800 System Lysis Kit 1** | 240 Tests<br>960 Tests | P/N 06768253190<br>P/N 06768270190 |
| **cobas® 4800 System Wash Buffer Kit** | 240 Tests<br>960 Tests | P/N 05235863190<br>P/N 05235871190 |
| **cobas® 4800 System Internal Control Kit 1** | 20 Runs | P/N 06768318190 |
| **cobas® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit** | 80 Tests<br>240 Tests | P/N 06768113190<br>P/N 06768172190 |
| **cobas® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit** | 10 Runs | P/N 06768288190 |

# TABLE DES MATIÈRES


## Usage prévu

## Résumé et explication du test / Principes de la procédure

Contexte : Dépistage du SARM et du SA ..... 4

Explication du test ..... 5

Principes de la procédure ..... 5

Préparation des échantillons ..... 5

Amplification PCR et détection TaqMan® ..... 5

Amplification sélective ..... 6

## Matériel, réactifs et échantillons

Matériel et réactifs fournis ..... 7

Conservation et manipulation des réactifs ..... 9

Matériel supplémentaire nécessaire ..... 15

Matériel en option ..... 16

Instruments et logiciels nécessaires mais non fournis ..... 16

## Précautions et conditions de manipulation

Avertissements et précautions ..... 16

Bonnes pratiques de laboratoire ..... 17

Contamination ..... 17

Intégrité ..... 17

Élimination ..... 18

Éclaboussures et nettoyage ..... 18

Prélèvement, transport et conservation des échantillons ..... 18

Prélèvement des échantillons ..... 18

Conservation et stabilité des échantillons lors du transport ..... 18

## Instructions d'utilisation

Exécution du test ..... 19

Procédure de travail ..... 19

Procédure de test ..... 19

## Résultats

Contrôle qualité et validité des résultats ..... 23

Contrôle positif ..... 23

Contrôle négatif ..... 23

Contrôle interne ..... 23

Interprétation des résultats ..... 25

Liste des messages de résultats ..... 27

Mise en culture des échantillons cliniques ..... 27
Limites du test ..... 27

## Évaluation des performances non cliniques

Sensibilité analytique ..... 29
Détection des génotypes de SARM et de SA ..... 29
Inclusivité géographique ..... 31
Précision ..... 32
Inhibition compétitive ..... 33
Spécificité analytique ..... 34
Interférence ..... 37
Performances cliniques avec des échantillons cliniques ..... 38
Résultats de reproductibilité du SARM ..... 40
Résultats de reproductibilité du SA ..... 41
Performances cliniques ..... 43
Résultats ..... 43
Valeurs attendues ..... 46

## Informations supplémentaires

Caractéristiques clés du test ..... 48
Symboles ..... 49
Assistance technique ..... 50
Fabricant et importateur ..... 50
Marques commerciales et brevets ..... 50
Copyright ..... 50
Bibliographie ..... 51
Révision du document ..... 52

# Usage prévu

Le test **cobas**® MRSA/SA sur le système **cobas**® 4800 est un dosage de PCR en temps réel automatisé destiné à la détection *in vitro* qualitative rapide de l'ADN de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et de l'ADN de *Staphylococcus aureus* (SA) à partir d'écouvillons nasaux chez les patients exposés au risque de colonisation nasale afin de contribuer à la prévention et au contrôle des infections au SARM et au SA dans les infrastructures de soin. Le test **cobas**® MRSA/SA n'est pas destiné à diagnostiquer, orienter ou surveiller le traitement des infections par SARM ou SA, ni à fournir des résultats de susceptibilité à la méticilline. Un résultat négatif n'exclut pas une colonisation nasale par SARM/SA. Des cultures concomitantes sont nécessaires pour recueillir des micro-organismes à des fins de typage épidémiologique ou pour des tests de sensibilité supplémentaires.

# Résumé et explication du test / Principes de la procédure

## Contexte : Dépistage du SARM et du SA

Le SA est un pathogène opportuniste et un organisme commensal résidant sur la peau et dans les narines de près de 30 % de la population normale. Il peut provoquer un large spectre de maladies.[1] Le SA peut s'adapter rapidement à la pression sélective des traitements antibiotiques, ce qui entraîne l'apparition et la propagation de souches de SARM. La résistance à la méticilline et à d'autres antibiotiques β-lactame est exprimée par le gène mecA, situé sur un élément génétique mobile appelé Staphylococcal Cassette Chromosome mec (SCCmec). Le gène mecA code la protéine liant la pénicilline (PBP) 2a. Cela empêche la liaison normale des antibiotiques β-lactame à la PBP à la paroi cellulaire qui auraient normalement interrompu la synthèse de la couche de peptidoglycane, tuant ainsi les cellules bactériennes. Il existe plusieurs types de SCCmec.[2] Plusieurs souches de SARM sont apparues et se sont propagées dans le monde entier, tandis que le gène SCCmec a été acquis par différentes lignées de SA.[2]

Les souches de SA et SARM sont une source majeure d'infections nosocomiales et ont été responsables d'épidémies bactériennes dans des infrastructures de santé du monde entier depuis de nombreuses années.[3, 4] Les infections par SA et SARM ont un poids important pour les systèmes de santé et les hôpitaux et sont associées à des coûts de santé significatifs.[5] Les directives et recommandations[6] ainsi que les procédures standards hospitalières conseillent un dépistage actif, un isolement et/ou une décolonisation des patients comme mesures de contrôle de la propagation du SARM et du SA.[7]

Dans des situations épidémiques, des mesures supplémentaires telles que le dépistage des patients hospitalisés et des professionnels de la santé ainsi que la fermeture des services peuvent être mises en place. Malgré les directives publiques, les procédures opérationnelles standards pour le contrôle des infections peut varier entre les pays et les hôpitaux.

La sensibilité des méthodes utilisées et la durée d'obtention du résultat constituent des facteurs clés pour la réussite du dépistage et des stratégies de traitement.[8] Les méthodes conventionnelles à base de culture demandent plusieurs jours pour obtenir un résultat. Elles ne permettent pas de mise en place rapide des mesures de contrôles spécifiques de l'infection et demandent davantage de mesures générales de contrôles de l'infection à réaliser sur l'ensemble des patients. Seules les techniques rapides comme les méthodes moléculaires permettent une détection précoce du SARM et du SA chez les patients colonisés et donc la mise en place de mesures de précaution appropriées.[9] Un certain nombre de rapports ont démontré la valeur des tests moléculaires rapides pour la détection rapide de la colonisation par SARM et SA.[10-13]

Le test **cobas**® MRSA/SA traite les échantillons nasaux prélevés sur écouvillon avec le kit de prélèvement, de transport et de conservation COPAN MSwab. Les tubes contenant les échantillons primaires sont chargés sur le système **cobas**® 4800 ; l'extraction des acides nucléiques et la réaction de PCR se font via un processus automatisé. Puis la PCR en temps réel détecte les cibles d'ADN spécifiques du SARM et du SA si elles sont présentes. Le test peut être exécuté avec les tests **cobas**® Cdiff et **cobas**® HSV 1 et 2 au sein d'une seule série. Les trois tests partagent le même protocole d'extraction automatisée des échantillons ainsi que le même profil de PCR pour l'amplification et la détection.

## Explication du test

Le test **cobas**® MRSA/SA présente deux étapes majeures : (1) la préparation automatisée des échantillons afin d'extraire des acides nucléiques des échantillons nasaux ; (2) l'amplification par PCR de séquences d'ADN cibles en utilisant des amorces spécifiques de SARM et SA et la détection en temps réel de sondes oligonucléotidiques fluorescentes distinctes permettant la détection spécifique de SARM et SA. Un contrôle interne, contenant une séquence d'ADN randomisée non liée, est ajouté à tous les échantillons avant la préparation automatisée de ces derniers et est amplifié et détecté simultanément avec chaque échantillon pour contrôler l'ensemble du processus.

## Principes de la procédure

### Préparation des échantillons

La préparation des échantillons pour le test **cobas**® MRSA/SA est automatisée grâce à l'instrument **cobas**® x 480. Les micro-organismes sont lysés avec un agent chaotropique, de la protéinase K et des réactifs SDS. Les acides nucléiques libérés, avec le contrôle interne d'ADN ajouté, sont liés par des particules magnétiques de verre. Ils sont lavés puis élués dans un faible volume de tampon. L'instrument prélève ensuite une fraction de l'éluat et prépare la réaction de PCR avec un mélange réactionnel activé.

### Amplification PCR et détection TaqMan®

Les étapes de cycles PCR et la détection du signal cible s'effectuent sur l'analyseur **cobas**® z 480. Le mélange réactionnel contient des paires d'amorces et des sondes pour trois cibles : la région de la jonction de l'extrémité droite (right extremity, RE) de la cassette SCCmec spécifique au SARM, une cible génomique pour tous les SA (y compris le SARM) et le contrôle interne. En cas de présence des séquences cibles d'acide nucléique, l'amplification avec les amorces correspondantes interviendra avec une ADN polymérase thermostable générant des produits de PCR (amplicon). Ces produits sont détectés par des sondes TaqMan spécifiques contenant un fluorophore et un quencher. Initialement, le quencher supprime la fluorescence du marqueur. En présence de produit PCR, la sonde s'hybride au produit puis est clivée par l'activité nucléase 5' à 3' de la polymérase. Cette réaction permet d'émettre la fluorescence à partir du marqueur et le signal est enregistré en temps réel à chaque cycle de PCR par l'analyseur **cobas**® z 480. Le signal est interprété par le logiciel du système **cobas**® 4800 et rapporté comme résultats finaux.

## Amplification sélective

L'amplification sélective de l'acide nucléique cible à partir des échantillons est réalisée avec le test **cobas**® MRSA/SA par l'utilisation de l'enzyme AmpErase (uracile-N-glycosylase) et du désoxyuridine triphosphate (dUTP). L'enzyme AmpErase reconnaît et catalyse la destruction des brins d'ADN contenant de la désoxyuridine[11], mais pas de l'ADN contenant de la désoxythymidine. L'ADN naturel ne contient pas de désoxyuridine mais les amplicons en contiennent toujours du fait que l'un des dNTPs du réactif du master mix, la désoxyuridine triphosphate, remplace la thymidine triphosphate ; c'est pourquoi seuls les amplicons renferment de la désoxyuridine. La désoxyuridine rend l'amplicon potentiellement contaminant susceptible d'être détruit par l'enzyme AmpErase avant l'amplification de l'ADN cible. L'enzyme AmpErase, comprise dans le mélange réactionnel, catalyse le clivage de l'ADN contenant de la désoxyuridine au niveau des résidus de désoxyuridine en ouvrant la chaîne de désoxyribose à la position C1. Une fois chauffée lors de la première étape de thermocyclage au pH alcalin du master mix, la chaîne d'ADN de l'amplicon se casse à la position de la désoxyuridine, rendant ainsi l'ADN non amplifiable. L'AmpErase est inactive à une température supérieure à 55 °C (c'est-à-dire pendant toutes les étapes du cycle thermique) et ne détruit donc pas l'amplicon cible. Il a été démontré que le test **cobas**® MRSA/SA désactive par PCR au moins $10^3$ copies d'amplicon de SARM/SA contenant de la désoxyuridine.

# Matériel, réactifs et échantillons

## Matériel et réactifs fournis

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de préparation des échantillons du système **cobas**® 4800)<br>240 tests<br>(P/N : 05235782190) | **MGP**<br>(Particules magnétiques de verre du système **cobas**® 4800)<br>Particules magnétiques de verre<br>93 % d'isopropanol** | 10 × 4,5 mL | <br>**DANGER**<br>H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.<br>H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.<br>H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.<br>P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.<br>P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive.<br>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.<br>P370 + P378 : En cas d'incendie : utiliser du sable sec, de la poudre chimique sèche ou de la mousse résistant à l'alcool pour l'extinction.<br>67-63-0 Propan-2-ol |
| | **EB**<br>(Tampon d'élution du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>0,09 % d'azoture de sodium | 10 × 18 mL | N/A |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit (Kit de préparation des échantillons du système **cobas**® 4800)<br>960 tests<br>(P/N : 05235804190) | **MGP**<br>(Particules magnétiques de verre du système **cobas**® 4800)<br>Particules magnétiques de verre<br>93 % d'isopropanol** | 10 × 13,5 mL | <br>**DANGER**<br>H225 : Liquide et vapeurs très inflammables.<br>H319 : Provoque une sévère irritation des yeux.<br>H336 : Peut provoquer somnolence ou vertiges.<br>P210 : Tenir à l'écart de la chaleur, des surfaces chaudes, des étincelles, des flammes nues et de toute autre source d'inflammation. Ne pas fumer.<br>P233 : Maintenir le récipient fermé de manière étanche.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive.<br>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.<br>P370 + P378 : En cas d'incendie : utiliser du sable sec, de la poudre chimique sèche ou de la mousse résistant à l'alcool pour l'extinction.<br>67-63-0 Propan-2-ol |
| | **EB**<br>(Tampon d'élution du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>0,09 % d'azoture de sodium | 10 × 18 mL | N/A |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Lysis Kit 1<br>240 tests<br>(P/N : 06768253190) | **LYS-1**<br>(Tampon de lyse 1 du système **cobas**® 4800)<br>Citrate de sodium<br>5 % de polidocanol**<br>42,6 % de thiocyanate de guanidinium**<br>Dithiothréitol** | 10 × 10 mL | <br>**DANGER**<br>H302 : Nocif en cas d'ingestion.<br>H314 : Provoque des brûlures de la peau et des graves lésions des yeux.<br>H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.<br>EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.<br>EUH071 : Corrosif pour les voies respiratoires.<br>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.<br>P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive.<br>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.<br>P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>P391 : Recueillir le produit déversé.<br>593-84-0 Thiocyanate de guanidinium<br>9002-92-0 Polidocanol<br>3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Lysis Kit 1<br>240 tests<br>(P/N : 06768253190) | **PK**<br>(Protéinase K du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>EDTA<br>Chlorure de calcium<br>Acétate de calcium<br>< 2,0 % de protéinase K*<br>Glycérine | 10 × 0,9 mL | <br>**DANGER**<br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P284 : Porter un équipement de protection respiratoire.<br>P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>39450-01-6 Protéinase, sérine, *Tritirachium album* |
| | **SDS**<br>(Réactif SDS du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>Dodécylsulfate de sodium<br>0,09 % d'azoture de sodium | 10 × 3 mL | N/A |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Lysis Kit 1<br>960 tests<br>(P/N : 06768270190) | **LYS-1**<br>(Tampon de lyse 1 du système **cobas**® 4800)<br>Citrate de sodium<br>5 % de polidocanol**<br>42,6 % de thiocyanate de guanidinium**<br>Dithiothréitol** | 10 × 36 mL | <br>**DANGER**<br>H302 : Nocif en cas d'ingestion.<br>H314 : Provoque des brûlures de la peau et des graves lésions des yeux.<br>H411 : Toxique pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme.<br>EUH032 : Au contact d'un acide, dégage un gaz très toxique.<br>EUH071 : Corrosif pour les voies respiratoires.<br>P273 : Éviter le rejet dans l'environnement.<br>P280 : Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage/un équipement de protection auditive.<br>P303 + P361 + P353 : EN CAS DE CONTACT AVEC LA PEAU (ou les cheveux) : enlever immédiatement tous les vêtements contaminés. Rincer la peau à l'eau.<br>P304 + P340 + P310 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>P305 + P351 + P338 + P310 : EN CAS DE CONTACT AVEC LES YEUX : rincer avec précaution à l'eau pendant plusieurs minutes. Enlever les lentilles de contact si la victime en porte et si elles peuvent être facilement enlevées. Continuer à rincer. Appeler immédiatement un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>P391 : Recueillir le produit déversé.<br>593-84-0 Thiocyanate de guanidinium<br>9002-92-0 Polidocanol<br>3483-12-3 (R*,R*)-1,4-dimercaptobutane-2,3-diol |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Lysis Kit 1<br>960 tests<br>(P/N : 06768270190) | **PK**<br>(Protéinase K du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>EDTA<br>Chlorure de calcium<br>Acétate de calcium<br>< 2,0 % de protéinase K**<br>Glycérine | 20 × 1,2 mL | <br>**DANGER**<br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>H334 : Peut provoquer des symptômes allergiques ou d'asthme ou des difficultés respiratoires par inhalation.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P284 : Porter un équipement de protection respiratoire.<br>P304 + P340 : EN CAS D'INHALATION : transporter la personne à l'extérieur et la maintenir dans une position où elle peut confortablement respirer.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P342 + P311 : En cas de symptômes respiratoires : appeler un CENTRE ANTIPOISON/un médecin.<br>39450-01-6 Protéinase, sérine, *Tritirachium album* |
| | **SDS**<br>(Réactif SDS du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>Dodécylsulfate de sodium<br>0,09 % d'azoture de sodium | 10 × 9 mL | N/A |
| **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit<br>240 tests<br>(P/N : 05235863190) | **WB**<br>(Tampon de lavage du **cobas**® 4800 System)<br>Citrate de sodium dihydraté<br>0,05 % de N-méthylisothiazolone-HCl | 10 × 55 mL | <br>**AVERTISSEMENT**<br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.<br>P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.<br>26172-54-3 Chlorhydrate de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit<br>960 tests<br>(P/N : 05235871190) | **WB**<br>(Tampon de lavage du **cobas**® 4800 System)<br>Citrate de sodium dihydraté<br>0,05 % de N-méthylisothiazolone-HCl | 10 × 200 mL | <br>**AVERTISSEMENT**<br>H317 : Peut provoquer une allergie cutanée.<br>P261 : Éviter de respirer les brouillards ou vapeurs.<br>P272 : Les vêtements de travail contaminés ne doivent pas sortir du lieu de travail.<br>P280 : Porter des gants de protection.<br>P333 + P313 : En cas d'irritation ou d'éruption cutanée : consulter un médecin.<br>P362 + P364 : Enlever les vêtements contaminés et les laver avant réutilisation.<br>P501 : Éliminer le contenu/récipient dans une installation d'élimination des déchets agréée.<br>26172-54-3 Chlorhydrate de 2-méthyl-2H-isothiazol-3-one |
| **cobas**® 4800 System Internal Control Kit 1<br>20 runs<br>(P/N : 06768318190) | **IC-1**<br>(**cobas**® 4800 IC-1)<br>Tampon Tris<br>EDTA<br>< 0,01 % d'ARN Poly rA (synthétique)<br>0,05 % d'azoture de sodium<br>< 0,01 % d'ADN synthétique de contrôle interne non infectieux encapsulé dans la protéine enveloppe bactériophage lambda | 20 × 0,5 mL | N/A |
| **cobas**® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit<br>80 tests<br>(P/N : 06768113190) | **MRSA/SA MMX**<br>(**cobas**® MRSA/SA Master Mix)<br>Tampon tricine<br>EDTA<br>Acétate de potassium<br>Hydroxyde de potassium<br>Tween 20<br>Glycérol<br>0,09 % d'azoture de sodium<br>< 0,19 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP<br>< 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de SARM, SA et contrôle interne<br>< 0,01 % de sondes marquées par fluorescence de SARM, SA et contrôle interne<br>< 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide<br>< 0,01 % d'ADN polymérase Z05 (microbien)<br>< 0,02 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracile-N-glycosylase) | 10 × 0,3 mL | N/A |

| Kit/cassettes | Composants et ingrédients des réactifs | Quantité par test | Symboles de sécurité et avertissements* |
|---|---|---|---|
| **cobas**® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit<br>240 tests<br>(P/N : 06768172190) | **MRSA/SA MMX**<br>(**cobas**® MRSA/SA Master Mix)<br>Tampon tricine<br>EDTA<br>Acétate de potassium<br>Hydroxyde de potassium<br>Tween 20<br>Glycérol<br>0,09 % d'azoture de sodium<br>< 0,19 % de dATP, dCTP, dGTP, dUTP<br>< 0,01 % d'amorces d'amont et d'aval de SARM, SA et contrôle interne<br>< 0,01 % de sondes marquées par fluorescence de SARM, SA et contrôle interne<br>< 0,01 % d'aptamère d'oligonucléotide<br>< 0,01 % d'ADN polymérase Z05 (microbien)<br>< 0,02 % d'enzyme (microbienne) AmpErase (uracile-N-glycosylase) | 10 × 0,7 mL | N/A |
| **cobas**® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit<br>10 runs<br>(P/N : 06768288190) | **MRSA/SA (+) C**<br>(Contrôle positif **cobas**® MRSA/SA)<br>Tampon Tris<br>EDTA<br>< 0,01 % d'ARN Poly rA (synthétique)<br>0,05 % d'azoture de sodium<br>< 0,01 % d'ADN plasmide non infectieux (microbien) contenant une séquence SARM<br>< 0,01 % d'ADN plasmide non infectieux (microbien) contenant une séquence SA | 10 × 0,5 mL | N/A |
| | **(–) C**<br>(Contrôle négatif du système **cobas**® 4800)<br>Tampon Tris<br>EDTA<br>< 0,01 % d'ARN Poly rA (synthétique)<br>0,05 % d'azoture de sodium | 10 × 0,5 mL | N/A |
| | **Cofactor-1**<br>(Cofacteur-1 **cobas**® 4800)<br>Acétate de manganèse<br>Acétate de magnésium<br>0,09 % d'azoture de sodium | 10 × 1,7 mL | N/A |

* Les mentions de sécurité du produit sont conformes en premier lieu au SGH de l'UE.

** Substance dangereuse.

## Conservation et manipulation des réactifs

| Réactif | Température de conservation | Durée de conservation |
|---|---|---|
| **cobas**® 4800 System Sample Preparation Kit<br>(Kit de préparation des échantillons du système **cobas**® 4800) | 2–8 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |
| **cobas**® 4800 System Lysis Kit 1<br>(Kit de lyse 1 du système **cobas**® 4800) | 2–8 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |
| **cobas**® 4800 System Internal Control Kit 1<br>(Kit de contrôle interne 1 du système **cobas**® 4800) | 2–8 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |
| **cobas**® 4800 MRSA/SA Amplification/Detection Kit<br>(Kit d'amplification/détection de SARM/SA du système **cobas**® 4800) | 2–8 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |
| **cobas**® 4800 MRSA/SA Controls and Cofactor Kit<br>(Kit de contrôles et de cofacteur de SARM/SA du système **cobas**® 4800) | 2–8 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |
| **cobas**® 4800 System Wash Buffer Kit<br>(Kit de tampons de lavage du système **cobas**® 4800) | 15-25 °C | Stable jusqu'à la date d'expiration mentionnée |

Ne pas congeler les réactifs.

La date d'expiration des réactifs s'appuie sur l'heure UTC (Coordinated Universal Time). L'heure locale de l'expiration des réactifs peut ainsi différer de plus ou moins 12 heures en fonction du fuseau horaire local.

## Matériel supplémentaire nécessaire

| Matériel | P/N |
|---|---|
| Embouts CO-RE, 1 000 µL, rack de 96 | 04639642001 |
| Réservoir de réactif 50 mL | 05232732001 |
| Réservoir de réactif 200 mL | 05232759001 |
| Plaque (à puits profonds) d'extraction du système **cobas**® 4800 | 05232716001 |
| Plaque AD (à micropuits) de 0,3 mL et film d'étanchéité du système **cobas**® 4800 | 05232724001 |
| Applicateur pour film d'étanchéité | 04900383001 |
| Portoir à 32 emplacements | 04639529001 |
| Sac à déchets solide | 05530873001 (petit) ou 04691989001 (grand) |
| Dévidoir à déchets Hamilton STAR | Roche 04639669001 |
| Système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab | 07007248190 ou COPAN P/N 404C.R ou 404C |
| Gants jetables, non poudrés | Tous les gants jetables non poudrés sont acceptables. |
| Mélangeur Vortex (tube unique) | Tous les mélangeurs Vortex sont acceptables. |

Pour de plus amples informations sur le matériel vendu séparément, veuillez vous adresser à votre représentant local Roche.

## Matériel en option

| Matériel | P/N |
|---|---|
| Tablette de scellage ou couvercle de plaques à puits profonds | Roche 04789288001 ou Hamilton 6474-01 |
| Bouchons de couleur blanche (pour reboucher les échantillons primaires post-run) | 07033893001 ou COPAN 2U008N100.R ou 2U008N100 |

Pour de plus amples informations sur le matériel en option, veuillez vous adresser à votre représentant local Roche.

## Instruments et logiciels nécessaires mais non fournis

| Instruments et logiciels nécessaires, non fournis |
|---|
| Système **cobas**® 4800<br>Instrument **cobas**® x 480<br>Analyseur **cobas**® z 480<br>Unité de contrôle |
| Logiciel **cobas**® MRSA/SA AP version 1.0.0 ou ultérieure pour système **cobas**® 4800 |
| Logiciel d'application (Core) version 2.2.0 ou ultérieure pour système **cobas**® 4800 |

Pour de plus amples informations sur le matériel vendu séparément, veuillez vous adresser à votre représentant local Roche.

# Précautions et conditions de manipulation

## Avertissements et précautions

Comme pour le déroulement de tout test, de bonnes pratiques de laboratoire sont indispensables pour assurer la qualité de cette analyse. Du fait de la sensibilité analytique élevée de ce test, il est indispensable d'éviter toute contamination des réactifs, des échantillons et des mélanges d'amplification.

- Destiné uniquement au diagnostic *in vitro*.
- Éviter toute contamination microbienne ou contamination ADN des réactifs et des échantillons. Le SA est porté par ~30 % de la population ; il peut résider dans les narines et sur la peau. Faire particulièrement attention lors de la manipulation des échantillons et des réactifs pour éviter toute contamination potentielle par le SA.
- Les fiches de sécurité (ou SDS pour Safety Data Sheets) sont disponibles sur demande auprès de votre distributeur local Roche.
- Le réactif LYS-1 contient du thiocyanate de guanidine. Éviter les contacts directs entre le thiocyanate de guanidine et l'hypochlorite de sodium (eau de javel) ou d'autres produits hautement réactifs tels que les acides ou les basiques. Ces mélanges peuvent libérer un gaz nocif.
- Les particules de verre magnétiques (MGP) contiennent de l'isopropanol et sont facilement inflammables. Maintenir à l'écart des flammes et d'environnements pouvant produire des étincelles.
- EB, MRSA/SA MMX, SDS, Cofactor-1, (–)C, MRSA/SA (+)C et IC-1 contiennent de l'azide de sodium.

- Pour plus d'informations sur les avertissements, précautions et procédures visant à réduire le risque de contamination pour le **cobas**® x 480 instrument ou le **cobas**® z 480 analyzer, consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System. Si une contamination est suspectée, effectuer un nettoyage et une maintenance hebdomadaire comme décrit dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
- Informez votre autorité locale compétente et votre fabricant au sujet de tout incident grave pouvant survenir lors de l'utilisation de ce test.

**Remarque : pour des instructions spécifiques, voir « Prélèvement, transport et conservation des échantillons ».**

## Bonnes pratiques de laboratoire

- Ne pas pipeter à la bouche.
- Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail du laboratoire.
- Bien se laver les mains après la manipulation des échantillons et des réactifs du kit.
- Porter des gants de protection jetables, une blouse de laboratoire et des lunettes de protection lors de la manipulation des réactifs. Éviter tout contact de ces produits avec la peau, les yeux ou les muqueuses. En cas de contact, rincer immédiatement et abondamment à l'eau. Sans traitement, des brûlures peuvent être occasionnées. En cas de déversement de réactif, diluer avec de l'eau avant d'essuyer.
- Nettoyer et désinfecter soigneusement tous les plans de travail du laboratoire avec une solution à 0,5 % d'hypochlorite de sodium préparée extemporanément avec de l'eau distillée ou déionisée (eau de javel domestique diluée au 1:10). Puis essuyer les surfaces avec de l'éthanol à 70 %.

## Contamination

- Il est indispensable de porter des gants et de les changer entre les manipulations d'échantillons et de réactifs de **cobas**® MRSA/SA afin d'éviter toute contamination. Éviter la contamination des gants lors de la manipulation des échantillons et des contrôles. Porter des gants de laboratoire, des blouses de laboratoire et des protections pour les yeux lors de la manipulation d'échantillons et de kit de réactifs.
- Éviter la contamination des réactifs par des micro-organismes ou par des ribonucléases.
- Il existe un risque de faux positifs si la contamination croisée des échantillons n'est pas évitée lors de la manipulation et du traitement des échantillons.
- Les échantillons doivent être manipulés comme s'ils étaient infectieux en suivant les procédures de sécurité de laboratoire, telles que celles mentionnées dans *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*[14] ainsi que dans le document M29-A4 du CLSI.[15]

## Intégrité

- Ne pas utiliser les kits après leur date limite d'utilisation.
- Ne pas mélanger les réactifs.
- Ne pas utiliser les articles jetables au-delà de leur date de péremption.
- Ne pas utiliser de réactifs ou de récipients présentant des dommages visibles ou des signes de fuite.
- Tous les articles jetables sont à usage unique. Ne pas réutiliser.
- Tout le matériel doit être entretenu correctement, conformément aux instructions du fabricant.

## Élimination

- Les réactifs du système **cobas**® 4800 et les réactifs spécifiques du test **cobas**® MRSA/SA contiennent de l'azide de sodium (voir « **Avertissements et précautions** »). L'azide de sodium peut réagir avec les conduits en plomb ou en cuivre pour former des azides métalliques très explosifs. Lors de l'élimination des solutions contenant de l'azide de sodium dans les éviers du laboratoire, il convient de rincer la tuyauterie abondamment avec de l'eau froide afin d'éviter la formation d'azides.
- Éliminer les réactifs inutilisés et les déchets conformément à la réglementation nationale et locale applicable.

**Remarque : pour l'élimination de déchets liquides, voir l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.**

## Éclaboussures et nettoyage

- Le réactif LYS-1 contient du thiocyanate de guanidine. En cas de déversement de liquide contenant du thiocyanate de guanidine, nettoyer avec du détergent de laboratoire adéquat et de l'eau. Si le liquide déversé contient des agents potentiellement infectieux, nettoyer la zone affectée D'ABORD avec du détergent de laboratoire et de l'eau, puis avec de l'hypochlorite de sodium à 0,5 %.
- En cas d'éclaboussures sur le **cobas**® 4800 instrument, suivre les instructions de nettoyage de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
- Ne pas utiliser de solution d'hypochlorite de sodium (eau de Javel) pour nettoyer le **cobas**® x 480 instrument ou le **cobas**® z 480 analyzer. Nettoyer le **cobas**® x 480 instrument ou le **cobas**® z 480 analyzer en suivant les procédures détaillées dans l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.

## Prélèvement, transport et conservation des échantillons

**Remarque : manipuler tous les spécimens comme s'ils pouvaient tous potentiellement transmettre des agents infectieux.**

### Prélèvement des échantillons

Les échantillons nasaux prélevés sur écouvillon avec le système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab ont été validés pour une utilisation avec le test **cobas**® MRSA/SA. Les échantillons doivent être prélevés conformément à la procédure détaillée dans la section « Procédure de prélèvement des échantillons » et aux procédures opérationnelles standards de votre établissement.

### Conservation et stabilité des échantillons lors du transport

Les échantillons nasaux prélevés sur écouvillon avec le système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab sont stables à une température comprise entre 2 et 30 °C pendant 4 jours ou entre 2 et 8 °C pendant 9 jours, ou congelés à -20 °C pendant 30 jours avant d'être testés sur le système **cobas**® 4800 (stabilité prouvée en testant les échantillons après une conservation successive à 15 $\pm$ 1 °C et 31 $\pm$ 1 °C pendant 4 jours puis entre 2 et 8 °C pendant 5 jours et enfin à -20 $\pm$ 5 °C pendant 30 jours).

Le transport des échantillons de MRSA/SA doit satisfaire aux normes locales, fédérales et nationales pour le transport d'agents étiologiques.

# Instructions d'utilisation

## Exécution du test

### Procédure de travail

**Figure 1 :** Procédure de travail **cobas**® MRSA/SA

| | |
|---|---|
| 1 | Démarrer le système |
| 2 | Procéder aux tâches d'entretien du matériel |
| 3 | Retirer les échantillons et réactifs du lieu de conservation |
| 4 | Lancer le run :<br>• Charger les échantillons sur les portoirs |
| 5 | Avec SIL : confirmer l'ordre de travail<br>Sans SIL : établir l'ordre de travail |
| 6 | Charger les consommables (plaque à puits profonds, plaque à micropuits, portoirs d'embouts) et les réactifs |
| 7 | Démarrer le run de préparation des échantillons |
| 8 | Décharger et sceller la plaque à micropuits |
| 9 | Retirer les échantillons, les réactifs usagés et la plaque à micropuits |
| 10 | Charger la plaque à micropuits sur l'analyseur |
| 11 | Examiner les résultats |
| 12 | Avec SIL : envoyer les résultats au SIL |
| 13 | Décharger l'analyseur |

### Procédure de test

#### Procédure de prélèvement des échantillons

1. Utiliser l'écouvillon floqué fourni dans le kit de prélèvement MSwab. Utiliser l'écouvillon sec ou préhumidifié avec deux gouttes de solution saline physiologique stérile.
2. Insérer soigneusement l'écouvillon dans la narine du patient (la pointe de l'écouvillon doit être insérée à 2,5 cm du bord des narines).
3. Tourner l'écouvillon trois fois dans la muqueuse des narines.
4. Répéter les étapes 2 et 3 dans la seconde narine avec le même écouvillon.
5. Remettre l'écouvillon dans son tube de transport. Appuyer la tige de l'écouvillon sur le bord du tube pour la briser au niveau de la marque correspondante.
6. Refermer soigneusement en veillant à ce que l'extrémité supérieure de la tige de l'écouvillon soit au centre du bouchon.
7. Étiqueter l'échantillon et le transporter au laboratoire de test conformément aux procédures opérationnelles standards de votre établissement (voir la section « **Conservation et stabilité des échantillons lors du transport** »). Voir la section « **Procédure de travail** » pour des remarques sur les échantillons.

À l'exception de MRSA/SA MMX et Cofactor-1, tous les réactifs doivent être à température ambiante avant d'être chargés sur l'instrument **cobas**® x 480. Les réactifs MRSA/SA MMX et Cofactor-1 peuvent être sortis directement de leur emplacement de conservation compris entre 2 et 8 °C car ils seront portés à température ambiante une fois chargés sur l'instrument **cobas**® x 480 avant d'être utilisés dans le processus.

**Remarque : se référer à l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir des instructions d'utilisation détaillées.**

#### Taille des runs

Le système **cobas**® 4800 est conçu pour prendre en charge des runs mixtes entre les tests **cobas**® MRSA/SA, **cobas**® Cdiff et **cobas**® HSV 1 et 2. Le kit générique de préparation des échantillons du système **cobas**® 4800, le kit générique de lyse 1 pour le système **cobas**® 4800 et le kit générique de tampons de lavage du système **cobas**® 4800 sont disponibles en deux tailles de kit, chacun suffisant pour 10 runs de 24 ou 96 échantillons en incluant les contrôles et les échantillons pour tous les tests à analyser. Le kit d'amplification/de détection du SARM/SA pour le système **cobas**® 4800 est disponible en deux tailles, chacun suffisant à tester 80 ou 240 échantillons en incluant les contrôles SARM/SA et les échantillons à analyser. Plusieurs flacons de mélange réactionnel **cobas**® 4800 MRSA/SA peuvent être utilisés pour un run dans la mesure où le conditionnement est le même. Le kit générique de contrôle interne 1 du système **cobas**® 4800 et le kit de contrôles et cofacteurs **cobas**® 4800 MRSA/SA sont disponibles en une seule taille de kit, ce qui suffit respectivement pour 20 et 10 runs et pour une prise en charge de toutes les configurations de run. Pour chaque run contenant des échantillons de SARM/SA, un contrôle positif **cobas**® 4800 MRSA/SA et un contrôle négatif du système **cobas**® 4800 doivent être utilisés (voir « **Contrôle qualité** »). Pour un seul run de test, le nombre maximal d'échantillons autorisé est de 94 échantillons et deux contrôles.

**Remarque : bien qu'il ne s'agisse pas d'une utilisation optimale des réactifs, un réactif générique de 96 tests peut être utilisé pour un run de 1 à 22 échantillons. Toutefois, il n'est pas possible de mélanger différentes tailles du kit de tampon de lavage du système cobas® 4800, du kit de préparation des échantillons du système cobas® 4800 et de kit de lyse 1 du système cobas® 4800. Par exemple, si un flacon de tampon de lavage pour 96 tests est scanné au début du run, des réactifs de taille 96 tests doivent aussi être utilisés pour les deux autres kits.**

**Remarque : bien qu'il ne s'agisse pas d'une utilisation optimale des réactifs, un réactif MRSA/SA MMX cobas® 4800 de 24 tests peut être utilisé pour un run de 1 à 6 échantillons SARM/SA. Pour plus d'informations sur le changement des tailles de kit, voir l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System.**

#### Procédure de travail

Le test **cobas**® MRSA/SA est exécuté en suivant la procédure de travail du logiciel **cobas**® 4800. Celle-ci comprend la préparation des échantillons sur le **cobas**® x 480 instrument suivie de l'amplification/la détection sur le **cobas**® z 480 analyzer. Le run peut être uniquement MRSA/SA ou mixte avec les tests **cobas**® Cdiff et/ou **cobas**® HSV 1 et 2. Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions détaillées.

#### Échantillons

**Remarque : le test cobas® MRSA/SA a été validé pour une utilisation avec le système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab. Ne pas utiliser d'autres dispositifs de prélèvement d'échantillon ou types de milieu.**

**Remarque : un échantillon nasal prélevé sur écouvillon correctement doit contenir un seul écouvillon floqué avec la tige tenue par le bouchon. Les échantillons reçus sans écouvillon ou avec plus d'un écouvillon n'ont pas été prélevés conformément aux instructions et ne doivent donc pas être testés.**

**Remarque : ne pas traiter les échantillons nasaux sur écouvillon comportant du sang ou une couleur marron foncé.**

**Remarque : les échantillons doivent se trouver dans des tubes primaires d'échantillon étiquetés avec un code-barres adéquat pour être traités sur l'instrument cobas® x 480. Consulter l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour les procédures d'identification par code-barres et la liste des codes-barres acceptables dans le cobas® 4800 System.**

**Remarque : pour éviter une contamination croisée, il est recommandé que les tubes primaires soient traités sur le système cobas® 4800 avant tout autre traitement ou test.**

**Remarque : pour éviter toute contamination croisée des échantillons traités, des bouchons supplémentaires pour les tubes d'échantillon MSwab, d'une autre couleur (blanc, voir « Matériel en option »), doivent être utilisés pour refermer les échantillons une fois traités.**

**Remarque : les échantillons nasaux prélevés sur écouvillon dans le milieu MSwab contiennent suffisamment de volume pour être testés deux fois dans le système cobas® 4800. Ils peuvent aussi être utilisés pour tout éventuel traitement de culture (voir « Mise en culture des échantillons cliniques ») à condition qu'aucun déversement ne soit survenu au cours de la manipulation des échantillons précédant le test. Voir la notice du système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab pour des instructions sur l'inoculation par culture. Le volume d'échantillon minimum pour mener un run cobas® MRSA/SA est de 700 µL dans le conteneur d'échantillon primaire MSwab.**

#### Exécution du test cobas® MRSA/SA

**Remarque : il est possible d'exécuter des runs mixtes entre les tests cobas® MRSA/SA et cobas® Cdiff et/ou cobas® HSV 1 et 2. Se référer à l'Assistance Utilisateur du cobas® 4800 System pour obtenir de plus amples informations.**

1. Procéder au démarrage du système et aux procédures de maintenance en suivant les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
2. Préparer tous les réactifs et consommables requis. Les réactifs doivent être à température ambiante au moment du début du run, à l'exception des réactifs **cobas**® MRSA/SA MMX et Cofactor-1.

**Remarque : tous les réactifs et réservoirs de réactifs sont munis de codes-barres et sont destinés à un usage unique. Le logiciel cobas® 4800 suit l'utilisation des réactifs et des réservoirs de réactif et rejette les réactifs ou réservoirs de réactif précédemment utilisés.**

3. Vérifier l'apparence des échantillons nasaux prélevés sur écouvillon dans le milieu MSwab pour vérifier qu'ils satisfont aux critères de la section « **Échantillons** ». Vérifier que tous les bouchons ont été correctement refermés. Mélanger l'échantillon au vortex pendant au moins 10 secondes. Déboucher le tube (l'extrémité supérieure de l'écouvillon doit être prise par le bouchon) et faire tourner l'écouvillon le long de la paroi interne du tube pour éliminer l'excès de liquide. Éliminer le bouchon avec l'écouvillon juste avant le chargement sur le système **cobas**® 4800. S'assurer que l'écouvillon est bien pris avec le bouchon. Si l'écouvillon est laissé dans le flacon d'échantillon, cela interfèrera avec le test **cobas**® MRSA/SA.

4. Démarrer un nouveau run et définir son ordre de travail. Il existe trois façons de créer un ordre de travail :
   - En utilisant l'éditeur d'échantillons avant le chargement du portoir d'échantillons sur l'instrument **cobas**® x 480 (bouton « Editor » sur la droite du menu principal). Les ordres de travail peuvent être enregistrés, édités et rechargés si nécessaire.
   - En suivant l'assistant du logiciel pour le nouveau run et en chargeant les échantillons sur l'instrument **cobas**® x 480 lorsque l'on vous y invite. Les codes-barres seront automatiquement scannés et les résultats demandés pour chaque échantillon doivent être définis.
   - En utilisant le SIL de votre établissement.

   Se référer à l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions détaillées. En sélectionnant les résultats requis, cocher « MRSA » uniquement, « MRSA » et « SA » ou « SA » uniquement en fonction des tests devant être exécutés. Par exemple, si seul « SA » est sélectionné, les résultats SARM ne seront pas disponibles.
5. Charger les échantillons et définir/sélectionner l'ordre de travail ou utiliser le SIL comme approprié. L'option « Unload sample carriers after transferring to deep well plate » est sélectionnée par défaut. Cela permet à l'opérateur de récupérer aussi vite que possible le reste des échantillons une fois qu'ils ont été aliquotés pour traitement par l'instrument **cobas**® x 480. Les tubes d'échantillon doivent être refermés avec des bouchons neufs (voir « **Matériel en option** ») si une conservation est requise.
6. Suivre l'assistant du logiciel et charger les consommables. Ne pas charger ou retirer les embouts individuels sur un portoir d'embouts partiellement utilisé car le logiciel effectue le suivi du nombre d'embouts restant. Si le nombre d'embouts n'est pas suffisant pour effectuer le run, le logiciel en avertira l'utilisateur.
7. Charger les réactifs de préparation des échantillons dans les réservoirs de réactifs à code-barres. Les réservoirs de réactifs sont disponibles en deux tailles : 200 mL et 50 mL. Suivre l'assistant du logiciel pour sélectionner les bonnes tailles du réservoir de réactif. Les codes-barres du réservoir de réactif doivent être alignés à droite du portoir. Utiliser la méthode « double-scan-versement-mise en place » pour charger les réactifs de préparation des échantillons :
   - Scanner le code-barres du flacon de réactif
   - Scanner le code-barres du réservoir de réactif
   - Verser le réactif dans le réservoir
   - Placer le réservoir de réactif rempli dans la position correspondante du portoir de réactifs

**Remarque : le système cobas® 4800 possède une horloge interne pour surveiller la durée des réactifs sur le système. Une fois que le tampon de lavage est scanné, une heure est autorisée pour terminer le processus de chargement et cliquer sur le bouton « Start ». Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ». Le système n'autorisera pas le run à démarrer si le temps sur le système a expiré.**

**Remarque : pour garantir un transfert correct de MGP, passer au vortex ou agiter vigoureusement le flacon de MGP immédiatement avant de le verser dans le réservoir de réactif.**

8. Charger les réactifs d'amplification/de détection (MRSA/SA MMX et Cofactor-1), la protéinase K (PK) et les contrôles [MRSA/SA (+) C, IC et (–) C] directement sur le portoir de réactifs. Pour éviter toute contamination, il est nécessaire de changer de gants après avoir manipulé des contrôles positifs.

**Remarque : l'assistant du logiciel calculera le nombre optimal et la taille de réactif cobas® MRSA/SA MMX à utiliser. Cela sera indiqué dans la colonne « Kit size » de l'écran de chargement MMX et Cofactor. Pour utiliser une autre taille de réactif cobas® MRSA/SA MMX, cliquer sur le bouton « Change kit size ».**

9. Démarrer la préparation des échantillons en cliquant sur « Start run ».

10. Une fois le run de préparation des échantillons correctement effectué, les boutons « Sample Preparation results » et « Unload » deviennent disponibles. Il est possible de sélectionner le bouton « Sample Preparation results » pour examiner les résultats avant de sélectionner « Unload » pour décharger le portoir de plaques. Il est également possible de sélectionner « Unload » pour décharger les portoirs de plaques sans examiner les résultats. Voir l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.
11. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour sceller la plaque à micropuits, transporter la plaque vers le **cobas**® z 480 analyzer et démarrer le run d'amplification et de détection.

**Remarque : le système cobas® 4800 possède une horloge interne pour surveiller la durée après l'ajout des échantillons préparés au mélange réactionnel activé. L'amplification et la détection doivent être démarrées le plus tôt possible mais pas plus tard que 90 minutes après la fin du run de l'instrument cobas® x 480. Un compte à rebours s'affiche dans l'onglet « Workplace ». Le système interrompra le run si l'horloge a expiré.**

12. Une fois le run d'amplification et de détection effectué, décharger la plaque à micropuits de l'analyseur **cobas**® z 480.
13. Suivre les instructions de l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour consulter et accepter les résultats.

# Résultats

## Contrôle qualité et validité des résultats

Un set de contrôles positifs et négatifs pour le test **cobas**® MRSA/SA est inclus dans chaque run. Dans chaque run, des résultats valides doivent être obtenus à la fois pour le contrôle positif et pour le contrôle négatif afin que le logiciel **cobas**® 4800 affiche les résultats reportables du test **cobas**® MRSA/SA de ce run.

### Contrôle positif

Le contrôle MRSA (+) contient des plasmides d'ADN non infectieux de SARM et de *Staphylococcus aureus*. Le contrôle MRSA/SA (+) surveille les étapes d'extraction des acides nucléiques, d'amplification et de détection dans un run donné du test. Le résultat du contrôle MRSA/SA (+) doit être valide (« Valid »). Si le contrôle MRSA/SA (+) produit régulièrement des résultats invalides, contactez votre bureau Roche local pour une assistance technique.

### Contrôle négatif

Le résultat du contrôle (–) doit être valide (« Valid »). Si le contrôle (–) produit régulièrement des résultats invalides, contactez votre bureau Roche local pour une assistance technique.

### Contrôle interne

Le contrôle interne est une molécule phage lambda qui contient des séquences randomisées et des cibles pour les amorces et la sonde spécifiques au contrôle interne. Le contrôle interne est ajouté à tous les échantillons et aux contrôles positifs et négatifs lors de la préparation des échantillons sur l'instrument

**cobas**® x 480. Le contrôle interne surveille les étapes d'extraction des acides nucléiques, d'amplification et de détection pour un échantillon donné. Le contrôle interne est également requis pour la validation des contrôles du run.

## Interprétation des résultats

**Remarque : l'ensemble des validations d'analyses et de runs est déterminé par le logiciel cobas® 4800.**

**Remarque : un run valide peut comporter des résultats d'échantillon valides et invalides.**

Pour un run valide, les résultats d'échantillons sont interprétés comme illustré dans le Tableau 1.

**Tableau 1** Interprétation des résultats du test **cobas**® MRSA/SA

| Test cobas® MRSA/SA | Rapport et interprétation des résultats |
|---|---|
| **Résultat demandé « MRSA/SA »** | |
| POS MRSA, POS SA | **Positif au SARM, positif au SA**<br>L'échantillon est positif à la présence de SARM et de SA. |
| NEG MRSA, NEG SA | **Négatif au SARM*, négatif au SA***<br>Ni le SARM, ni le SA, si présent, n'ont pu être détectés. |
| NEG MRSA, POS SA | **Négatif au SARM*, positif au SA**<br>Le SARM, si présent, n'a pas pu être détecté.<br>L'échantillon est positif à la présence de SA. |
| Invalid MRSA, POS SA | **SARM invalide, positif au SA**<br>**Le résultat de SARM est invalide. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir un résultat de SARM valide.**<br>L'échantillon est positif à la présence de SA. |
| Invalid MRSA, NEG SA | **SARM invalide, négatif au SA***<br>Le résultat de SARM est invalide. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir un résultat de SARM valides.<br>Le SA, si présent, n'a pas pu être détecté. |
| NEG MRSA, Invalid SA | **Négatif au SARM***, **SA invalide**<br>Le SARM, si présent, n'a pas pu être détecté.<br>Le résultat de SA est invalide. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir un résultat de SA valide. |
| Invalid MRSA, Invalid SA | **SARM invalide, SA invalide**<br>Les résultats de SARM et de SA sont tous deux invalides. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir des résultats de SARM et de SA valides. |
| Failed | **Aucun résultat pour l'échantillon**<br>Consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions relatives aux messages de run et aux actions recommandées. Si un caillot a été détecté et qu'il reste un volume suffisant, l'échantillon original peut être agité au vortex pendant au moins 10 secondes avant d'être retesté pour obtenir des résultats de SARM et de SA valides. |

**Tableau 1** Interprétation des résultats du test **cobas**® MRSA/SA (suite)

| Test cobas® MRSA/SA | Rapport et interprétation des résultats |
|---|---|
| **Résultat demandé « MRSA »** | |
| POS MRSA | **Positif au SARM**<br>L'échantillon est positif à la présence de SARM. |
| NEG MRSA | **Négatif au SARM***<br>Le SARM, si présent, n'a pas pu être détecté. |
| Invalid MRSA | **SARM invalide**<br>Le résultat de SARM est invalide. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir un résultat de SARM valide. |
| Failed | **Aucun résultat pour l'échantillon**<br>Consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions relatives aux messages de run et aux actions recommandées. Si un caillot a été détecté et qu'il reste un volume suffisant, l'échantillon original peut être agité au vortex pendant au moins 10 secondes avant d'être retesté pour obtenir des résultats de SARM valides. |
| **Résultat demandé « SA »** | |
| POS SA | **Positif au SA**<br>L'échantillon est positif à la présence de SA. |
| NEG SA | **Négatif au SA***<br>Le SA, si présent, n'a pas pu être détecté. |
| Invalid SA | **SA invalide**<br>Le résultat de SA est invalide. L'échantillon initial doit être retesté pour obtenir un résultat de SA valide. |
| Failed | **Aucun résultat pour l'échantillon**<br>Consulter l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System pour obtenir des instructions relatives aux messages de run et aux actions recommandées. Si un caillot a été détecté et qu'il reste un volume suffisant, l'échantillon original peut être agité au vortex pendant au moins 10 secondes avant d'être retesté pour obtenir des résultats de SA valides. |

* Un résultat négatif n'exclut pas une infection de SARM et/ou de SA car les résultats dépendent d'un prélèvement adéquat de l'échantillon, de l'absence d'inhibiteurs et de la présence d'ADN en quantité suffisante pour la détection.

Des résultats invalides peuvent être obtenus si l'échantillon contient des substances inhibitrices qui empêchent l'extraction cible des acides nucléiques et/ou l'amplification et la détection. Voir « **Limites du test** » pour les substances pouvant provoquer des interférences.

Les résultats peuvent échouer si l'échantillon contient des caillots qui interfèrent avec la procédure de préparation des échantillons sur l'instrument **cobas**® 4800.

## Liste des messages de résultats

Le tableau suivant répertorie les messages utiles à l'interprétation des résultats.

**Tableau 2** Liste des messages pour le test **cobas**® MRSA/SA

| Test cobas® MRSA/SA | Test cobas® MRSA/SA | Rapport et interprétation des résultats |
|---|---|---|
| R20 | Le contrôle positif est invalide. | Un contrôle externe est invalide.<br>1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs.<br>2. Si le problème persiste, contacter le service Roche. |
| R21 | Le contrôle négatif est invalide. | Un contrôle externe est invalide.<br>1. Répéter l'ensemble du run avec de nouveaux réactifs.<br>2. Si le problème persiste, contacter le service Roche. |
| X3 | Erreur : caillot détecté. L'échantillon n'a pas été traité. | Assurez-vous que les échantillons ont été manipulés conformément à la description de la procédure de travail.<br>1. Vérifier la présence de caillots dans l'échantillon.<br>2. Réanalyser l'échantillon. |
| X4 | Erreur : une erreur de pipetage s'est produite. L'échantillon n'a pas été traité. | Un volume d'échantillon insuffisant ou une erreur mécanique lors du pipetage est la raison la plus probable.<br>1. S'assurer que le volume d'échantillon est suffisant.<br>2. Vérifier que la plaque d'éjection des embouts est correctement placée.<br>3. Réanalyser l'échantillon. |

## Mise en culture des échantillons cliniques

Les échantillons cliniques peuvent être mis en culture à partir du milieu de prélèvement afin d'effectuer un test de susceptibilité antimicrobienne ou un typage épidémiologique. Voir la notice du système de prélèvement, de transport et de conservation COPAN MSwab pour des instructions sur le traitement par culture.

**Remarque : le volume d'échantillon minimum pour mener un seul test cobas® MRSA/SA est de 700 µL dans le conteneur d'échantillon primaire MSwab. Pour éviter une contamination croisée, il est recommandé que les tubes primaires soient traités sur le système cobas® 4800 avant d'éliminer les aliquots pour une culture bactérienne. Si les aliquots de l'échantillon doivent être pris pour une culture avant le test cobas® MRSA/SA, veiller à ce qu'un volume d'au moins 700 µL soit présent et faire particulièrement attention lors de la manipulation de l'échantillon. Le test des échantillons dans un volume inférieur à 700 µL peut entraîner des résultats faux négatifs.**

## Limites du test

1. Le test **cobas**® MRSA/SA a été uniquement validé pour une utilisation avec les échantillons nasaux prélevés sur écouvillons avec le système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab.
2. Pour des résultats fiables, les échantillons doivent avoir été prélevés, transportés, conservés et traités de façon appropriée. Suivre les procédures du présent document d'instructions d'utilisation (aussi mentionné sous le terme de notice), de la notice pour le système de prélèvement, de transport et de conservation MSwab et l'Assistance Utilisateur du **cobas**® 4800 System.

3. La détection du SARM et du SA dépend du nombre d'organismes présents dans l'échantillon et peut être affectée par les méthodes de prélèvement de l'échantillon, les facteurs liés au patient (c'est-à-dire l'étape de colonisation, les antécédents d'hospitalisation, le traitement antibiotique, la proximité avec un porteur SARM) et/ou les souches SARM/SA.
4. Des résultats faux négatifs ou invalides peuvent survenir en raison de l'interférence provoquée par différentes substances. Le contrôle interne est inclus dans le test **cobas**® MRSA/SA afin d'aider à identifier les substances pouvant interférer avec l'isolement des acides nucléiques et l'amplification par PCR. Les interférences connues incluent, sans s'y limiter :
   - Les échantillons contenant plus de 75 % (v/v) de sang par écouvillon peuvent donner des faux négatifs. Ne pas tester les échantillons de couleur rouge ou marron foncé.
   - Les échantillons contenant plus de 10 % (m/v) de mucine par écouvillon peuvent donner des faux négatifs.
   - Les échantillons contenant plus de 15 % (m/v) de gel nasal Rhinaris® par écouvillon peuvent donner des faux négatifs.
   - Les échantillons contenant plus de 25 % (v/v) de Releev par écouvillon peuvent donner des faux négatifs.
5. Un résultat positif indique la présence d'ADN de SARM et pas nécessairement d'organismes viables. Ainsi, un résultat positif ne signifie pas nécessairement un échec du traitement d'éradication. Un résultat négatif suivant un test précédemment positif peut indiquer la réussite du traitement d'éradication ou peut survenir en raison d'une colonisation intermittente.
6. Le test **cobas**® MRSA/SA ne détecte pas directement le gène mecA ni la protéine liant la pénicilline (PBP 2a) encodée par ce gène. Un résultat SARM faux positif peut survenir si une « variante de cassette vide » de *Staphylococcus aureus* est présente.
7. Des mutations ou des polymorphismes dans les régions de liaisons d'amorces ou de sondes peuvent affecter la détection de variantes nouvelles ou inconnues, ce qui produit un résultat faux négatif avec le test **cobas**® MRSA/SA.
8. La valeur prédictive d'un test dépend de la prévalence de la maladie dans une population donnée.
9. L'ajout de l'enzyme AmpErase au mélange réactionnel **cobas**® 4800 MRSA/SA permet une amplification sélective de l'ADN cible. Cependant, il est nécessaire de respecter les bonnes pratiques de laboratoire et les procédures présentées dans le présent document d'instructions d'utilisation afin d'éviter une contamination des réactifs et des mélanges d'amplification.
10. L'utilisation de ce produit doit être limitée au personnel formé aux techniques de PCR et à l'utilisation du système **cobas**® 4800.
11. Seuls l'instrument **cobas**® x 480 et l'analyseur **cobas**® z 480 ont été validés pour une utilisation avec ce produit. Aucun autre instrument de préparation d'échantillons ou de système de PCR ne peut être utilisé avec ce produit.
12. En raison des différences inhérentes à chaque technologie, il est recommandé aux utilisateurs, avant de passer d'une technologie à l'autre, de mener des études de corrélation de méthodes au sein de leur laboratoire afin de caractériser les différences entre les diverses technologies. En raison des différences susmentionnées entre les technologies, une corrélation de cent pour cent entre les résultats ne peut être attendue.
13. La contamination croisée peut provoquer des résultats faux positifs. Une étude non clinique a évalué le taux de contamination croisée inter-échantillons du test **cobas**® MRSA/SA sur le système **cobas**® 4800 à 0 %. Aucune contamination inter-runs n'a été observée.

# Évaluation des performances non cliniques

## Sensibilité analytique

La sensibilité analytique (limite de détection ou LoD) du test **cobas**® MRSA/SA a été déterminée par l'analyse d'isolats de culture quantifiés SARM et SA à de multiples niveaux, avec au moins 61 réplicats par niveau. Les échantillons de test ont été préparés en repiquant la culture sur écouvillon floqué puis en incubant l'écouvillon dans une matrice simulée d'écouvillon nasal. La matrice simulée, composée de mucine et de cellules humaines, reproduit l'effet de l'échantillon nasal clinique sur le test **cobas**® MRSA/SA. Tous les membres des panels ont été testés à l'aide du test **cobas**® MRSA/SA à travers trois lots de réactifs du test **cobas**® MRSA/SA. La LoD de ce test est définie comme la concentration cible pouvant être détectée comme positive dans ≥ 95 % des réplicats testés, ce qui s'appuie sur les résultats générés par le lot de réactifs le moins performant.

Deux isolats de SARM et un isolat de SA ont été testés dans l'étude de sensibilité analytique. La LoD du test **cobas**® MRSA/SA sur ces derniers est présentée dans le Tableau 3.

**Tableau 3** LoD (limite de détection) du test **cobas**® MRSA/SA

| Organisme | Origine | ID d'origine | Type RE | Type SCCmec | Type spa | PFGE | Valeur MIC | Niveaux testés | LoD (UFC/écouvillon) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| SARM | NARSA | NRS384 | 2 | IVa | t008 | USA300-0114 | 32 | 9 | 650 |
| SARM | ATCC | 43300 | 2 | II | t007 | Sac-15 | N/A | 8 | 700 |
| SA | NARSA | NRS164 | N/A | N/A | t084 | N/A | N/A | 8 | 700 |

N/A = Non applicable

## Détection des génotypes de SARM et de SA

Les limites de détection du test **cobas**® MRSA/SA sur 35 isolats de SARM et cinq isolats de SA représentant des génotypes communs (y compris les types RE 1, 2, 3, 4, 6, les types SCCmec de SARM I, II, III, IV, V, VI et VIII, ainsi que les types PFGE (pulse-field gel electrophoresis, électrophorèse en champ pulsé) de SARM USA 100 à 1000) ont été vérifiés en testant 40 réplicats par niveau, à plusieurs niveaux. La diversité génétique de SARM/SA pour ce prélèvement est couverte par différents types SCCmec, types MREJ et types spa trouvés dans l'espèce *Staphylococcus aureus* en fonction de sa structure phylogénétique et par des souches représentatives de divers types PFGE. Les dilutions et les échantillons de test ont été préparés de manière similaire à l'étude de limite de détection (LoD) décrite précédemment. Les niveaux les plus faibles qui avaient un taux de succès observé d'au moins 95 % sont présentés dans le Tableau 4 et le Tableau 5. Les résultats ont démontré que le test **cobas**® MRSA/SA détecte les 35 souches MRSA et les cinq souches SA correctement avec une limite de détection (LoD) comprise entre 175 et 750 UFC/écouvillon. Les souches détectées représentent au moins huit types SCCmec (I, II, III, IV, V, VI, VIII et nouveau), 10 types MREJ, 21 types spa, neuf types PFGE et des valeurs MIC de céfoxitine de 8 à plus de 32.

**Tableau 4** Limite de détection (LoD) du test **cobas**® MRSA/SA sur les génotypes de SARM

| Nº d'isolat de SARM | Type RE | Type SCCmec | Type *spa* | Valeur MIC | Type PFGE | LoD (UFC/écouvillon) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 11 | Nouveau | t002 | > 32 | Inconnu | 485 |
| 2 | 6 | II | t242 | > 32 | Inconnu | 720 |
| 3 | 9/11 | Nouveau | t024 | 16 | Inconnu | 175 |
| 4 | 14 | Inconnu | Inconnu | Inconnu | Inconnu | 700 |
| 5 | 25 | Inconnu | t003 | > 32 | Inconnu | 175 |
| 6 | 6 | II | t216 | > 32 | USA100 | 720 |
| 7 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 350 |
| 8 | 2 | II | t037 | 32 | USA200 | 700 |
| 9 | 2 | IV | t1578 | > 32 | USA300 | 700 |
| 10 | 2 | II | t002 | > 32 | USA100 | 720 |
| 11 | 2 | IV | t008 | 16 | USA800 | 750 |
| 12 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 266 |
| 13 | 2 | IV | t064 | 32 | USA500 | 260 |
| 14 | 2 | IV | t148 | 32 | USA700 | 700 |
| 15 | 2 | IV | t688 | 32 | USA800 | 271 |
| 16 | 2 | IV | t688 | > 32 | USA300 | 700 |
| 17 | 2 | II | t042 | 32 | USA100 | 463 |
| 18 | 2 | II | t018 | > 32 | USA200 | 350 |
| 19 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 410 |
| 20 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 175 |
| 21 | 2 | IV | t5576 | 32 | USA800 | 202 |
| 22 | 2 | II | t004 | 32 | USA600 | 350 |
| 23 | 2 | IV | t216 | 32 | USA1000 | 350 |
| 24 | 2 | IV | t064 | 32 | Ibérien | 175 |
| 25 | 2 | II | t266 | > 32 | USA600 | 700 |
| 26 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 700 |
| 27 | 2 | IV | t008 | 32 | USA300 | 350 |
| 28 | 2 | IV | t002 | > 32 | USA800 | 350 |
| 29 | 3 | V | t242 | 32 | USA1000 | 350 |
| 30 | 24 | Nouveau | t476 | 8 | Inconnu | 350 |
| 31 | 1 | I | t149 | > 32 | Inconnu | 175 |
| 32 | 3 | VIII | Inconnu | 16 | Inconnu | 700 |
| 33 | 4 | IV | Inconnu | 12 | Inconnu | 350 |
| 34 | 2 | III | t030 | > 32 | Inconnu | 700 |
| 35 | 25 | VI | Inconnu | Inconnu | Inconnu | 175 |

**Tableau 5** Limite de détection (LoD) du test **cobas**® MRSA/SA sur les génotypes SA

| N° d'isolat de SA | Type *spa* | LoD (UFC/écouvillon) |
|---|---|---|
| 1 | t238 | 175 |
| 2 | t018 | 175 |
| 3 | t008 | 175 |
| 4 | t002 | 175 |
| 5 | t088 | 175 |

## Inclusivité géographique

En plus des 37 isolats de SARM et des six isolats de SA inclus dans les études de sensibilité analytique et d'inclusivité des génotypes indiquées ci-dessus, 281 isolats de SARM et 85 isolats de SA prélevés dans divers sites géographiques ont été testés à des concentrations proches de la limite de détection du test **cobas**® MRSA/SA. Le prélèvement de 281 isolats de SARM provenant de 16 pays comprenait des isolats de SARM de différents types SCCmec (I, II, III, IV, IVa, V, VI, VII et nouveau), de 71 types spa, avec des valeurs MIC de céfoxitine comprises entre 6 et plus de 256. Le prélèvement de 85 isolats de SA provenant de sites géographiques différents aux États-Unis contenait des isolats de SA de 75 types spa différents. Le test **cobas**® MRSA/SA a détecté les 85 isolats de SA. Sur les 281 isolats de SARM, 277 ont été détectés. Les quatre isolats de SARM qui n'ont pas été détectés par le test **cobas**® MRSA/SA ont été séquencés ; les résultats suggéraient que les régions cibles contenaient des séquences non reconnues par les amorces et sondes du test **cobas**® MRSA/SA. L'un des quatre isolats était une souche mec ALGA251 (aussi connue sous le nom de mec C). Les sources géographiques du prélèvement SARM sont indiquées dans le Tableau 6.

**Tableau 6** Inclusivité géographique du test **cobas**® MRSA/SA

| Origine géographique | Nombre total d'isolats de SARM | Nombre d'isolats détectés par le test cobas® MRSA/SA |
|---|---|---|
| Royaume-Uni | 58 | 58 |
| Allemagne | 51 | 51 |
| Danemark | 37 | 36 |
| France | 33 | 31 |
| États-Unis | 20 | 20 |
| Espagne | 20 | 20 |
| Suisse | 18 | 18 |
| Japon | 15 | 15 |
| Suède | 7 | 7 |
| Australie | 6 | 5 |
| Pays-Bas | 5 | 5 |
| Italie | 4 | 4 |
| Belgique | 3 | 3 |
| Écosse | 2 | 2 |
| Irlande | 1 | 1 |
| Norvège | 1 | 1 |
| **Total** | **281** | **277** |

## Précision

Une étude de précision interne a été menée à partir de deux isolats de SARM et un isolat de SA dilués dans une matrice simulée d'écouvillon nasal, à des niveaux de concentration inférieurs à la limite de détection (LoD), proches de la LoD et supérieurs à la LoD du test **cobas**® MRSA/SA. Un niveau négatif composé uniquement de la matrice simulée d'écouvillon nasal a également été testé. L'étude a utilisé trois lots distincts de réactifs de test **cobas**® MRSA/SA et trois instruments pour un total de 36 runs sur 12 jours. Une description des panels de précision et du taux de succès de l'étude figure dans le Tableau 7. L'analyse de la variance des valeurs de Ct à partir des tests effectués sur les membres de panel positifs situés au-dessus de la limite de détection (voir Tableau 8 et Tableau 9) a donné des résultats de CV (%) allant de 0,8 % à 1,3 % pour le Ct de SARM et de 1,2 % pour le Ct de SA.

**Tableau 7** Analyse du taux de succès de l'étude de précision interne

| Membre du panel | Isolat | Concentration cible | N testés | N positifs | Taux de succès | IC 95 % | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | | | | Inférieur | Supérieur |
| 1 | NRS164 (SA) | < 1 x LoD | 71 | 67 | 94,4 % | 86,2 % | 98,4 % |
| 2 | NRS164 (SA) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 3 | NRS164 (SA) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 4 | NRS384 (SARM) | < 1 x LoD | 72 | 57 | 79,2 % | 68,0 % | 87,8 % |
| 5 | NRS384 (SARM) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 6 | NRS384 (SARM) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 7 | ATCC43300 (SARM) | < 1 x LoD | 72 | 63 | 87,5 % | 77,6 % | 94,1 % |
| 8 | ATCC43300 (SARM) | ~ 1 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 9 | ATCC43300 (SARM) | ~ 3 x LoD | 72 | 72 | 100,0 % | 95,0 % | 100,0 % |
| 10 | Aucune | Négatif | 72 | 0 | 0,0 % | 0,0 % | 5,0 % |

**Tableau 8** Analyse des composants de variance pour les membres de panel de précision au-dessus de la LoD

| Souche | Ct moyenne | Composants de variation/contribution en pourcents par rapport au total | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Lot | Taille de kit | Instrument | Run | Aléatoire | |
| NRS 164 (SA) | 35,6 | 0,050 | 0,023 | 0,007 | 0,032 | 0,082 | 0,193 |
| | | 25,9% | 11,7% | 3,6% | 16,5% | 42,3% | 100,0% |
| NRS 384 (SARM) | 36,9 | 0,057 | 0,003 | 0,027 | 0,057 | 0,101 | 0,244 |
| | | 23,2% | 1,2% | 11,1% | 23,3% | 41,2% | 100,0% |
| ATCC 43300 | 38,0 | 0,003 | 0,024 | 0,007 | 0,010 | 0,037 | 0,082 |
| | | 4,1% | 29,6% | 8,9% | 12,5% | 44,9% | 100,0% |

**Tableau 9** Analyse des déviations standard et des coefficients de variation (%) pour les membres des panels de précision

| Souche | Ct moyenne | Composants DS/CV (%) | | | | | Total |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Lot | Taille de kit | Instrument | Run | Aléatoire | |
| NRS164 (SA) | 35,6 | 0,224 | 0,150 | 0,084 | 0,178 | 0,286 | 0,440 |
| | | 0,6% | 0,4% | 0,2% | 0,5% | 0,8% | 1,2% |
| NRS 384 (SARM) | 36,9 | 0,238 | 0,054 | 0,165 | 0,239 | 0,317 | 0,494 |
| | | 0,6% | 0,1% | 0,4% | 0,6% | 0,9% | 1,3% |
| ATCC 43300 | 38,0 | 0,058 | 0,156 | 0,086 | 0,102 | 0,192 | 0,287 |
| | | 0,2% | 0,4% | 0,2% | 0,3% | 0,5% | 0,8% |

## Inhibition compétitive

Les panels ont été construits avec deux isolats de SARM comme cibles à 3 x la limite de détection (LoD) du test **cobas**® MRSA/SA et des isolats de *Staphylococcus aureus* et de *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline (SERM) en concurrence avec des concentrations croissantes. La concentration croissante du SA ou du SERM n'a pas affecté la détection des cibles de SARM/SA, comme le montre leur valeur de Ct relativement stable (Tableau 10).

**Tableau 10** Étude d'inhibition compétitive pour le SARM par SA (valeurs de Ct)

| Organisme en concurrence (concentration) | Cible | | |
|---|---|---|---|
| | SARM 10364 | SARM 8065 | SA 10851 |
| *Staphylococcus aureus* 10851 (1 x cible) | 38,2 | 38,8 | N/A |
| *Staphylococcus aureus* 10851 (100 x cible) | 38,1 | 39,1 | N/A |
| *Staphylococcus aureus* 10851 (10000 x cible) | 38,4 | 38,8 | N/A |
| *Staphylococcus aureus* 10852 (1 x cible) | 38,1 | 39,0 | N/A |
| *Staphylococcus aureus* 10852 (100 x cible) | 38,5 | 39,3 | N/A |
| *Staphylococcus aureus* 10852 (10000 x cible) | 37,4 | 39,0 | N/A |
| *Staphylococcus epidermidis* 5649 (1 x cible) | 37,9 | 39,5 | 36,5 |
| *Staphylococcus epidermidis* 5649 (100 x cible) | 38,6 | 38,6 | 36,5 |
| *Staphylococcus epidermidis* 5649 (10000 x cible) | 38,1 | 39,7 | 37,0 |
| *Staphylococcus epidermidis* 5657 (1 x cible) | 39,0 | 40,1 | 36,9 |
| *Staphylococcus epidermidis* 5657 (100 x cible) | 38,4 | 39,1 | 36,5 |
| *Staphylococcus epidermidis* 5657 (10000 x cible) | 38,3 | 39,7 | 36,7 |

## Spécificité analytique

Pour évaluer la spécificité analytique du test **cobas**® MRSA/SA, les panels suivants ont été testés : 1) 92 bactéries, champignons et virus pouvant être trouvés dans des échantillons nasaux sur écouvillon (Tableau 11) ; 2) cellules humaines (Tableau 11) ; 3) 43 *Staphylococcus* à coagulase négative (SCoN) et *Staphylococcus* à coagulase négative résistants à la méticilline (SCoN-RM) (Tableau 12) ; 4) 10 isolats de SA à bas niveau de résistance à la méticilline (BORSA) et deux isolats de SA uniquement pour la spécificité SARM (Tableau 13).

Toutes les bactéries et cellules humaines ont été repiquées à 1 x $10^6$ unités*/mL ou plus à l'exception de la *Chlamydia pneumoniae*, et tous les virus ont été repiqués à la plus haute concentration autorisée par les stocks respectifs (1 x $10^5$ unités*/mL à l'exception de l'adénovirus 1 et du virus Influenza A/H1N1). Les tests ont été menés uniquement avec les organismes ou avec deux isolats de SARM et un isolat de SA présents à 3 x la limite de détection (LoD) du test **cobas**® MRSA/SA. Les résultats ont indiqué qu'aucun de ces organismes n'a interféré avec la détection des cibles prévues de SARM ou de SA. Aucun résultat faux positif n'a été donné si la cible prévue de SARM/SA n'était pas présente.

*Toutes les bactéries ont été quantifiées en unités formant des colonies (UFC) à l'exception de *Chlamydia pneumoniae* qui a été quantifiée en copies d'ADN. Le métapneumovirus humain a été quantifié en particules virales. Les adénovirus 1, 7 et 40, l'entérovirus humain, le virus HSV1, le virus Influenza A/H3N2A/Hong Kong/8/68, le virus de la rougeole, le virus ourlien, les virus parainfluenza 1, parainfluenza 2 et parainfluenza 3, le coronavirus 229E, le coronavirus OC43, le cytomégalovirus et le rhinovirus ont tous été quantifiés en unités formant des plaques (UFP). Les virus VRS A et VRS B ont été quantifiés en unités $DICT_{50}$. Les virus de la grippe A/H1N1 et de la grippe B ont été quantifiés en unités $DIE_{50}$. L'EBV a été quantifié en copies.

**Tableau 11** Microorganismes communément trouvés dans la flore nasale et dont la spécificité analytique a été testée

| | | |
|---|---|---|
| *Acinetobacter baumannii* | *Haemophilus parainfluenzae* | *Streptococcus anginosus* |
| *Acinetobacter haemolyticus* | *Issatchenkia orientalis* | *Streptococcus mitis* |
| *Bacillus cereus* | *Klebsiella oxytoca* | *Streptococcus mutans* |
| *Bordetella bronchiseptica* | *Klebsiella pneumoniae (productrice de KPC) ATCC # 700603* | *Streptococcus pneumoniae* |
| *Bordetella parapertussis* | *Klebsiella pneumoniae (productrice de KPC) ATCC # BAA1900* | *Streptococcus pyogenes* |
| *Bordetella pertussis* | *Lactobacillus crispatus* | *Streptococcus salivarius* |
| *Burkholderia cepacia* | *Lactobacillus delbrueckii* | *Streptococcus sanguinis* |
| *Candida albicans* | *Legionella pneumophila* | *Streptococcus suis* |
| *Candida glabrata* | *Leifsonia aquatica* | *Yersinia enterocolitica* |
| *Candida parapsilosis* | *Listeria monocytogenes* | *Adénovirus 40* |
| *Candida tropicalis* | *Microbacterium testaceum* | *Coronavirus 229E* |
| *Chlamydia pneumoniae** | *Micrococcus luteus* | *Coronavirus OC43* |
| *Citrobacter freundii* | *Moraxella catarrhalis* | *Cytomégalovirus* |
| *Citrobacter koseri* | *Mycobacterium tuberculosis avirulent* | *Virus d'Epstein Barr* |
| *Corynebacterium amycolatum* | *Mycoplasma pneumoniae* | *HSV 1* |
| *Corynebacterium bovis* | *Mycoplasma salivarium* | *Adénovirus humain de type 1** |
| *Corynebacterium flavescens* | *Neisseria meningitidis* | *Adénovirus humain de type 7A* |
| *Corynebacterium genitalium* | *Parvimonas micra* | *Entérovirus humain 71* |
| *Corynebacterium glutamicum* | *Pasteurella aerogenes* | *Métapneumovirus humain* |
| *Corynebacterium jeikeium* | *Planococcus maritimus* | Grippe A/H1N1 |
| *Cryptococcus neoformans* | *Proteus mirabilis* | Influenza A/H3N2 A/ Hong Kong/8/68 |
| *Eikenella corrodens* | *Proteus vulgaris* | Influenza B |
| *Enterobacter aerogenes* | *Providencia stuartii* | Virus de la rougeole |
| *Enterobacter cloacae* | *Pseudomonas aeruginosa* | Virus ourlien |
| *Enterococcus flavescens* | *Pseudomonas fluorescens* | Parainfluenza 1 |
| *Enterococcus gallinarum* | *Rhodococcus equi* | Parainfluenza 2 |
| *Enterococcus hirae* | *Rothia mucilaginosa* | Parainfluenza 3 |
| *Escherichia coli* | *Salmonella enterica subsp. Enterica* | Rhinovirus type 1A |
| *Finegoldia magna* | *Serratia marcescens* | VRS A |
| *Haemophilus aphrophilus* | *Shigella sonnei* | VRS B |
| *Haemophilus influenzae* | *Streptococcus agalactiae* | Cellules HCT-15 (ADN génomique humain) |

* *Chlamydia pneumoniae* a été testée à 1,0 x $10^5$ copies/mL et l'adénovirus de type 1 à 1,0 x $10^4$ UFP/mL.

**Tableau 12** Organismes SCoN et SCon-RM étroitement liés dont la spécificité a été testée

| | | |
|---|---|---|
| *Staphylococcus arlettae* | *Staphylococcus epidermidis ATCC27676 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus pasteuri* |
| *Staphylococcus auricularis (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus equorum* | *Staphylococcus pseudointermedius* |
| *Staphylococcus caprae (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus felis* | *Staphylococcus pulvereri* |
| *Staphylococcus capitis* | *Staphylococcus gallinarum* | *Staphylococcus saprophyticus* |
| *Staphylococcus carnosus* | *Staphylococcus haemolyticus ATCC29970* | *Staphylococcus schleiferi* |
| *Staphylococcus chromogenes* | *Staphylococcus haemolyticus ATCC29968 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus sciuri* |
| *Staphylococcus cohnii* | *Staphylococcus haemolyticus ATCC43252* | *Staphylococcus simulans ATCC27848 (résistant à la méticilline)* |
| *Staphylococcus delphini* | *Staphylococcus hominis ATCC25615* | *Staphylococcus simulans ATCC11631* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC14990 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus hominis ATCC35982* | *Staphylococcus warneri ATCC27836 (résistant à la méticilline)* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC35547 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus hominis ATCC27844* | *Staphylococcus warneri ATCC27839 (résistant à la méticilline)* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC35983 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus hominis ATCC27845* | *Staphylococcus warneri RMSCC1224* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC35984 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus intermedius* | *Staphylococcus xylosus ATCC35663* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC51624 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus kloosii* | *Staphylococcus xylosus ATCC29971* |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC51625 (résistant à la méticilline)* | *Staphylococcus lentus* | - |
| *Staphylococcus epidermidis ATCC700583* | *Staphylococcus lugdunensis* | - |

**Tableau 13** Isolats de SA et de BORSA dont la spécificité SARM a été testée

| | |
|---|---|
| *Staphylococcus aureus 10851* | *Staphylococcus aureus 10323 (BORSA)* |
| *Staphylococcus aureus 10852* | *Staphylococcus aureus 10324 (BORSA)* |
| *Staphylococcus aureus 10319 (BORSA)* | *Staphylococcus aureus 10325 (BORSA)* |
| *Staphylococcus aureus 10320 (BORSA)* | *Staphylococcus aureus 10326 (BORSA)* |
| *Staphylococcus aureus 10321 (BORSA)* | *Staphylococcus aureus 10327 (BORSA)* |
| *Staphylococcus aureus 10322 (BORSA)* | *Staphylococcus aureus 10328 (BORSA)* |

## Interférence

Vingt-cinq composants de médicaments couramment utilisés pour le nez ou la gorge ainsi que du sang entier et de la mucine ont été testés pour des effets d'interférence potentiels avec le test **cobas®** MRSA/SA. Toutes les substances ont été testées à des niveaux supérieurs à ceux que l'on pourrait raisonnablement attendre à partir d'un échantillon nasal sur écouvillon. La quantité de substance interférente est exprimée comme le pourcentage de la quantité maximale qu'un écouvillon peut absorber ou porter. Deux isolats de SARM et un isolat de SA ont été repiqués à 3 x la limite de détection (LoD) du test **cobas®** MRSA/SA et utilisés comme cibles dans les tests. Aucune interférence n'a été observée jusqu'à 100 % de la capacité de l'écouvillon pour les substances exogènes, à l'exception du Relenza® (aucune interférence jusqu'à 6,25 % de la capacité de l'écouvillon), du gel nasal Rhinaris® (aucune interférence jusqu'à 15 % de la capacité de l'écouvillon) et du Releev (aucune interférence jusqu'à 25 % de la capacité de l'écouvillon). Il est à noter que le Relenza® a été testé seulement jusqu'à 6,25 % de la capacité de l'écouvillon car cela représentait déjà la quantité totale d'une application normale selon la posologie. Pour le sang entier, aucune interférence n'a été observée jusqu'à 75 % de la capacité de l'écouvillon et pour la mucine, aucune interférence n'a été observée jusqu'à 10 % de la capacité de l'écouvillon. Ces résultats sont présentés dans le Tableau 14.

**Tableau 14** Résultats des tests de substances interférentes

| Substance | Résultats |
|---|---|
| Sang entier | Pas d'interférence jusqu'à 75 % de la capacité de l'écouvillon |
| Mucine | Pas d'interférence jusqu'à 10 % de la capacité de l'écouvillon |
| Pulvérisateur nasal Afrin | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal Beconase | Pas d'interférence |
| Onguent nasal Bepanthen® | Pas d'interférence |
| Pastilles pour la gorge Chloraseptic Max | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal de propionate de fluticasone (50 mcg) | Pas d'interférence |
| FluMist© (Afluria, vaccin contre le virus de la grippe) | Pas d'interférence |
| Solution nasale Flunisolide USP, 0,025 % | Pas d'interférence |
| Onguent à la mupirocine | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal Dristan™ | Pas d'interférence |
| Luffeel™ | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal d'acétonide de triamcinolone | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal NasalCrom | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal Nasonex | Pas d'interférence |
| Néosynéphrine | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur nasal Otrivine | Pas d'interférence |
| Relenza® | Pas d'interférence jusqu'à 6,25 % de la capacité de l'écouvillon |
| Suspension pour inhalation Budesonide 0,25 mg/2 mL | Pas d'interférence |
| Solution nasale Azelastine HCl | Pas d'interférence |
| Pulvérisateur hydratant nasal Equate Saline | Pas d'interférence |
| Gel nasal Rhinaris® | Pas d'interférence jusqu'à 15 % de la capacité de l'écouvillon |
| Solution ophtalmique de tobramycine et de dexaméthasone | Pas d'interférence |
| Releev (pour boutons de fièvre) | Pas d'interférence jusqu'à 25 % de la capacité de l'écouvillon |
| Gel nasal Zicam | Pas d'interférence |
| Aérosol pour inhalation QVAR (40 mcg) | Pas d'interférence |
| Nostrilla | Pas d'interférence |

* Cette concentration représente la quantité totale de Relenza® à appliquer en une seule utilisation conformément à la posologie.

## Performances cliniques avec des échantillons cliniques

Les performances du test **cobas**® MRSA/SA ont été comparées à un test de comparaison NAT approuvé par la FDA et marqué CE, en utilisant une culture directe et une culture d'enrichissement combinées comme méthode de référence. Deux échantillons nasaux ont été prélevés sur écouvillon chez tous les sujets participant à l'étude. L'échantillon pour le test **cobas**® MRSA/SA a été prélevé avec le système de prélèvement, de transport et de préservation MSwab tandis que l'échantillon pour le test comparatif a été prélevé avec les écouvillons Liquid Stuart. L'échantillon MSwab a été utilisé pour inoculer une plaque de milieu chromogène sélectif et différentiel pour le SARM et une pour le SA (culture directe) ainsi qu'un tube contenant du bouillon trypticase-soja (BTS) avec 6,5 % de NaCl pour un enrichissement sur la nuit (culture d'enrichissement). La culture d'enrichissement a ensuite été plaquée sur un milieu chromogène. Les colonies positives supposées de SA sur milieux chromogènes ont été confirmées par un test d'agglutination au latex (Staphraurex®, Remel Microbiology Products, Thermo Scientific, Inc.). Les colonies supposées de SARM ont en plus été confirmées par un test de diffusion du disque de céfoxitine.

Un total de 383 sujets ont participé sur deux sites dans l'UE. Quatre sujets ont été exclus en raison de résultats incomplets pour l'un des tests. 27 échantillons étaient positifs au SARM et 144 échantillons étaient positifs au SA par culture directe et culture d'enrichissement combinées (prévalence : SARM 7,1 %, SA 38,0 %). Les performances du test **cobas**® MRSA/SA et du test de comparaison NAT par rapport à la culture directe sont présentées dans le Tableau 15.

**Tableau 15** Test **cobas**® MRSA/SA et test de comparaison NAT (test d'amplification des acides nucléiques) par rapport à la culture directe

| **SARM** | | **Culture directe** | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **15** | **18** |
| | **Négatif** | **1** | **345** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 94 % | 70 % | 100 % |
| **Spécificité** | 95 % | 92 % | 97 % |

| **SA** | | **Culture directe** | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **121** | **29** |
| | **Négatif** | **5** | **224** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 96 % | 91 % | 99 % |
| **Spécificité** | 89 % | 84 % | 92 % |

| **SARM** | | **Culture directe** | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **Test de comparaison NAT** | **Positif** | **14** | **16** |
| | **Négatif** | **2** | **347** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 88 % | 62 % | 98 % |
| **Spécificité** | 96 % | 93 % | 97 % |

| **SA** | | **Culture directe** | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **Test de comparaison NAT** | **Positif** | **122** | **31** |
| | **Négatif** | **4** | **222** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 97 % | 92 % | 99 % |
| **Spécificité** | 88 % | 83 % | 92 % |

Les performances du test **cobas**® MRSA/SA et du test de comparaison NAT par rapport à la culture directe/d'enrichissement sont présentées dans le Tableau 16. Dans cette analyse, un résultat positif par culture directe ou culture d'enrichissement est considéré comme positif. Un résultat négatif ne peut être obtenu que si les résultats de culture directe et d'enrichissement sont tous deux négatifs.

**Tableau 16** Test **cobas**® MRSA/SA et test de comparaison NAT (test d'amplification des acides nucléiques) par rapport à la culture directe/d'enrichissement

| SARM | | Culture directe/ d'enrichissement | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **25** | **8** |
| | **Négatif** | **2** | **344** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 93 % | 76 % | 99 % |
| **Spécificité** | 98 % | 96 % | 99 % |

| SA | | Culture directe/ d'enrichissement | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **137** | **13** |
| | **Négatif** | **7** | **222** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 95 % | 90 % | 98 % |
| **Spécificité** | 94 % | 91 % | 97 % |

| SARM | | Culture directe/ d'enrichissement | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **Test de comparaison NAT** | **Positif** | **24** | **6** |
| | **Négatif** | **3** | **346** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 89 % | 71 % | 98 % |
| **Spécificité** | 98 % | 96 % | 99 % |
| **VPN** | 99 % | 98 % | 100 % |
| **VPP** | 80 % | 61 % | 92 % |

| SA | | Culture directe/ d'enrichissement | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **Test de comparaison NAT** | **Positif** | **138** | **15** |
| | **Négatif** | **6** | **220** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Sensibilité** | 96 % | 91 % | 98 % |
| **Spécificité** | 94 % | 90 % | 96 % |
| **VPN** | 97 % | 94 % | 99 % |
| **VPP** | 90 % | 84 % | 94 % |

Enfin, les performances du test **cobas**® MRSA/SA en comparaison directe à un test de comparaison NAT référence, approuvé par la FDA et marqué CE, sont présentées dans le Tableau 17.

**Tableau 17** Test **cobas**® MRSA/SA par rapport au test de comparaison NAT (test d'amplification des acides nucléiques)

| SARM | | Test de comparaison NAT | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **28** | **5** |
| | **Négatif** | **2** | **344** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Corrélation positive** | 93 % | 78 % | 99 % |
| **Corrélation négative** | 99 % | 97 % | 100 % |

| SA | | Test de comparaison NAT | |
|---|---|---|---|
| | | **Positif** | **Négatif** |
| **cobas® MRSA/SA** | **Positif** | **144** | **6** |
| | **Négatif** | **9** | **220** |
| | Estimation | IC 95 % LL | IC 95 % UL |
| **Corrélation positive** | 94 % | 89 % | 97 % |
| **Corrélation négative** | 97 % | 94 % | 99 % |

## Reproductibilité

La reproductibilité du test **cobas**® MRSA/SA sur le **cobas**® 4800 System a été établie lors d'une étude multisite au moyen d'échantillons cliniques artificiels évalués sur plusieurs lots, sites/instruments, opérateurs, jours et runs.

Les panels de test de la reproductibilité de SARM/SA ont été préparés en introduisant les souches de SARM NRS384 (SARM-384) et ATCC 43300 (SARM-43300) ou la souche SA RMSCC 10851 dans une matrice d'échantillons artificiels (échantillons nasaux MSwab cliniques simulés avec mucine et cellules épithéliales humaines) à trois différentes concentrations (sous la LoD, 1 × LoD et 3 × LoD) ; un membre de panel négatif au SARM/SA a été inclus en tant que contrôle de membre de panel. Au total, il y avait 10 membres par panel de test, avec 3 réplicats par membre de panel dans chaque run. Les panels ont été testés sur 3 sites par 2 opérateurs par site avec 1 run par opérateur par jour, pendant 5 jours par lot, sur 2 lots pour un total de 1 800 tests (180 tests/membre du panel ou 90 tests/membre du panel/lot). Au total, 60 runs ont été effectués et tous se sont révélés valides. Aucun test n'a échoué ou n'a été invalidé.

## Résultats de reproductibilité du SARM

Le Tableau 18 résume les résultats de la reproductibilité du SARM pour les valeurs de Ct et le pourcentage de corrélation (IC exact bilatéral à 95 %) par site et par membre du panel. Le pourcentage de corrélation positive pour les membres du panel positifs au SARM, « inférieur à la LoD SARM-384 » et « inférieur à la LoD SARM-43300 », était respectivement de 85,6 % (IC à 95 % : 79,6 % à 90,3 %) et de 87,2 % (IC à 95 % : 81,4 % à 91,7 %) ; le pourcentage de corrélation positive pour tous les autres membres du panel positifs au SARM était de 100,0 % (IC à 95 % : 98,0 % à 100,0 %). L'écart-type total et le CV total (%) des valeurs de Ct pour tous les membres du panel positifs au SARM étaient ≤ 0,51 % et ≤ 1,4 %, respectivement.

**Tableau 18** Résumé des résultats de la reproductibilité du SARM – valeurs de Ct et pourcentage de corrélation par site et par membre du panel

| Membre du panel | Résultats de test valides (n) | Ct | | | Pourcentage de corrélation par site (n/N)[a] | | | Corrélation totale | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Moyenne | ET | CV (%) | 1 | 2 | 3 | Pourcentage (n/N) | (IC à 95 %)[b] |
| Négatif | 180 | N/A | N/A | N/A | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Inférieur à la LoD SARM-384 | 180 | 40,3 | 0,43 | 1,1 | 95,0 (57/60) | 83,3 (50/60) | 78,3 (47/60) | 85,6 % (154/180) | (79,6 %, 90,3 %) |
| 1 × LoD SARM-384 | 180 | 38,0 | 0,49 | 1,3 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD SARM-384 | 180 | 36,3 | 0,44 | 1,2 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Inférieur à la LoD SARM-43300 | 180 | 40,4 | 0,40 | 1,0 | 91,7 (55/60) | 81,7 (49/60) | 88,3 (53/60) | 87,2 % (157/180) | (81,4 %, 91,7 %) |
| 1 × LoD SARM-43300 | 180 | 38,9 | 0,45 | 1,1 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD SARM-43300 | 180 | 37,4 | 0,51 | 1,4 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |

[a] Pour les membres du panel négatifs, pourcentage de corrélation = (nombre de résultats négatifs ÷ résultats valides totaux) × 100 ; pour les membres du panel positifs, pourcentage de corrélation = (nombre de résultats positifs ÷ résultats valides totaux) × 100.

[B] IC à 95 % = intervalle de confiance binomial exact bilatéral à 95 %.

IC = intervalle de confiance ; Ct = valeur seuil du cycle ; CV = coefficient de variation ; LoD = limite de détection ; SARM = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; SARM-384 = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, souche NRS384 ; SARM-43300 = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, souche ATCC 43300 ; N/A = non applicable ; SA = *Staphylococcus aureus*.

Le Tableau 19 présente l'ET et le CV (%) des valeurs de Ct pour les membres du panel positifs au SARM dans l'ensemble et attribuables au lot, au site/instrument, à l'opérateur, au jour et au sein du run.

**Tableau 19** Moyenne générale, écarts-type et coefficients de variation (%) pour les valeurs de Ct des résultats valides pour les membres du panel positifs - SARM

| SARM | | | Écart-type et coefficient de variation en pourcent | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Lot | | Site/Inst. | | Opérateur | | Jour | | Intra-run | | Total | |
| **Membre du panel** | **N** | **Ct moyenne** | **ET** | **CV** | **ET** | **CV** | **ET** | **CV** | **ET** | **CV** | **ET** | **CV** | **ET** | **CV** |
| Inférieur à la LoD SARM-384 | 154 | 40,3 | 0,00 | 0,0 % | 0,06 | 0,2 % | 0,00 | 0,0 % | 0,23 | 0,6 % | 0,36 | 0,9 % | 0,43 | 1,1 % |
| 1 × LoD SARM-384 | 180 | 38,0 | 0,07 | 0,2 % | 0,18 | 0,5 % | 0,00 | 0,0 % | 0,17 | 0,5 % | 0,41 | 1,1 % | 0,49 | 1,3 % |
| 3 × LoD SARM-384 | 180 | 36,3 | 0,12 | 0,3 % | 0,20 | 0,6 % | 0,02 | 0,1 % | 0,15 | 0,4 % | 0,35 | 1,0 % | 0,44 | 1,2 % |
| Inférieur à la LoD SARM-43300 | 157 | 40,4 | 0,03 | 0,1 % | 0,07 | 0,2 % | 0,06 | 0,1 % | 0,02 | 0,0 % | 0,39 | 1,0 % | 0,40 | 1,0 % |
| 1 × LoD SARM-43300 | 180 | 38,9 | 0,00 | 0,0 % | 0,11 | 0,3 % | 0,00 | 0,0 % | 0,19 | 0,5 % | 0,39 | 1,0 % | 0,45 | 1,1 % |
| 3 × LoD SARM-43300 | 180 | 37,4 | 0,13 | 0,4 % | 0,24 | 0,6 % | 0,12 | 0,3 % | 0,10 | 0,3 % | 0,40 | 1,1 % | 0,51 | 1,4 % |

Ct = valeur seuil du cycle ; CV = coefficient de variation ; Inst. = instrument ; LoD = limite de détection ; SARM = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; SARM-384 = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, souche NRS384 ; SARM-43300 = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline, souche ATCC 43300 ; ET = écart-type.

## Résultats de reproductibilité du SA

Le Tableau 20 résume les résultats de la reproductibilité du SA pour les valeurs de Ct et le pourcentage de corrélation (IC exact bilatéral à 95 %) par site et par membre du panel. Les pourcentages de corrélation positive pour les membres du panel positifs au SA « Inférieurs à la LoD SA », « 1 × LoD SA » et « 3 × LoD SA » étaient respectivement de 50,0 % (IC à 95 % : 42,5 % à 57,5 %), 99,4 % (IC à 95 % : 96,9 % à 100,0 %) et 100,0 % (IC à 95 % : 98,0 % à 100,0 %). L'écart-type total et le CV total (%) des valeurs de Ct pour tous les membres du panel positifs au SA étaient ≤ 0,49 % et ≤ 1,3 %, respectivement. Le pourcentage de corrélation négative pour les membres du panel négatifs à SARM/SA était de 100,0 % (IC à 95 % : 98,0 % à 100,0 %).

**Tableau 20** Résumé des résultats de la reproductibilité du SA - valeurs de Ct et pourcentage de corrélation par site et par membre du panel

| Membre du panel | Résultats de test valides (n) | Ct | | | Pourcentage de corrélation par site (n/N)[a] | | | Corrélation totale | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | Moyenne | ET | CV (%) | 1 | 2 | 3 | Pourcentage (n/N) | (IC à 95 %)[b] |
| Négatif | 180 | N/A | N/A | N/A | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |
| Sous la LoD SA | 180 | 38,6 | 0,46 | 1,2 | 23,3 (14/60) | 60,0 (36/60) | 66,7 (40/60) | 50,0 % (90/180) | (42,5 %, 57,5 %) |
| 1 × LoD SA | 180 | 36,8 | 0,49 | 1,3 | 100,0 (60/60) | 98,3 (59/60) | 100,0 (60/60) | 99,4 % (179/180) | (96,9 %, 100,0 %) |
| 3 × LoD SA | 180 | 35,1 | 0,38 | 1,1 | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 (60/60) | 100,0 % (180/180) | (98,0 %, 100,0 %) |

[a] Pour les membres du panel négatifs, pourcentage de corrélation = (nombre de résultats négatifs ÷ résultats valides totaux) × 100 ; pour les membres du panel positifs, pourcentage de corrélation = (nombre de résultats positifs ÷ résultats valides totaux) × 100.

[B] IC à 95 % = intervalle de confiance binomial exact bilatéral à 95 %.

IC = intervalle de confiance ; Ct = valeur seuil du cycle ; CV = coefficient de variation ; LoD = limite de détection ; N/A = non applicable ; SA = *Staphylococcus aureus*.

Le Tableau 21 présente l'ET et le CV (%) des valeurs de Ct pour les membres du panel positifs au SA dans l'ensemble et attribuables au lot, au site/instrument, à l'opérateur, au jour et au sein du run.

**Tableau 21** Moyenne générale, écarts-type et coefficients de variation (%) pour les valeurs de Ct des résultats valides pour les membres du panel positifs - SA

| SA | | | Écart-type et coefficient de variation en pourcent | | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | | Lot | | Site/Inst. | | Opérateur | | Jour | | Intra-run | | Total | |
| Membre du panel | N | Ct moyenne | ET | CV | ET | CV | ET | CV | ET | CV | ET | CV | ET | CV |
| Sous la LoD SA | 90 | 38,6 | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,00 | 0,0 % | 0,46 | 1,2 % | 0,46 | 1,2 % |
| 1 × LoD SA | 179 | 36,8 | 0,14 | 0,4 % | 0,29 | 0,8 % | 0,13 | 0,3 % | 0,16 | 0,4 % | 0,31 | 0,8 % | 0,49 | 1,3 % |
| 3 × LoD SA | 180 | 35,1 | 0,11 | 0,3 % | 0,14 | 0,4 % | 0,12 | 0,3 % | 0,02 | 0,1 % | 0,31 | 0,9 % | 0,38 | 1,1 % |

Ct = valeur seuil du cycle ; CV = coefficient de variation ; LoD = limite de détection ; SA = *Staphylococcus aureus* ; ET = écart-type.

## Performances cliniques

Les performances cliniques du test **cobas**® MRSA/SA ont été établies dans le cadre d'une étude prospective multisite approuvée par un comité de révision institutionnel, comparant les résultats à ceux d'une culture chromogène directe et ceux d'une culture chromogène directe combinée à une culture d'enrichissement, à partir d'écouvillons nasaux prélevés sur des hommes et des femmes éligibles.

Les échantillons ont été prélevés sur 6 sites géographiques différents aux États-Unis. Un ou deux échantillons sur écouvillons ont été prélevés chez chaque sujet ; un échantillon sur écouvillon a été prélevé pour la vérification de standard de soin (le cas échéant) et un échantillon sur écouvillon MSwab (Copan Flock Technologies Srl., Brescia, Italie), a été prélevé pour le test **cobas**® MRSA/SA et pour les cultures directes et d'enrichissement.

Le test **cobas**® MRSA/SA a été réalisé sur trois sites et la culture directe et d'enrichissement a été réalisée dans un laboratoire de référence spécialisé dans la culture et la détection moléculaire du SARM (résistant à la méthicilline) et du SA. En bref, un aliquote de 100 µL de l'échantillon sur MSwab de chaque sujet a été transféré directement sur une plaque de milieu chromogène sélectif et différentiel pour SARM et SA (culture directe), et sur un tube contenant du bouillon de soja tryptique (BST) avec 6,5 % de NaCl (culture d'enrichissement). Les isolats suspects et les cultures positives en bouillon d'enrichissement ont été mis en sous-culture sur de la gélose au sang de mouton à 5 % et les isolats ont été identifiés comme SA par coloration de Gram et test d'agglutination au latex. Les isolats putatifs de SARM ont été confirmés par un test de diffusion du disque de céfoxitine de Kirby-Bauer pour la résistance à la méthicilline.

Un échantillon positif à la culture de SARM/SA a été défini comme échantillon positif au SARM/SA par la technique de la culture directe ou par la technique de la culture d'enrichissement. Un échantillon négatif à la culture de SARM/SA a été défini comme échantillon négatif au SARM/SA par les deux techniques : culture directe et culture d'enrichissement.

Une analyse de discordance a été réalisée sur tous les échantillons dont les résultats étaient discordants, ainsi que sur un sous-ensemble d'échantillons sélectionnés au hasard dont les résultats étaient concordants et qui étaient inclus comme contrôles, entre le test **cobas**® MRSA/SA et la culture directe et d'enrichissement combinée, à l'aide d'un deuxième test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) homologué par la FDA et d'une culture directe et d'enrichissement non sélective. En bref, un aliquote de 100 µL de l'échantillon sur écouvillon MSwab restant a été transféré sur une plaque de gélose chocolat (culture directe non sélective) et un deuxième aliquote de 100 µL a été transféré dans du BST sans NaCl (culture d'enrichissement non sélective). Les isolats provenant de cultures directes et d'enrichissement non sélectives ont été caractérisés comme décrit ; en outre, l'identification des isolats suspects et atypiques a été confirmée à l'aide d'un test PCR développé en laboratoire pour les gènes *fem*A et *mec*A, conformément à la pratique établie du laboratoire de référence.

### Résultats

Les échantillons ont été prélevés chez 2 528 sujets avec 2 504 (99,1 %) résultats évaluables provenant de 1 372 sujets masculins (54,8 %) et 1 132 (45,2 %) de sujets féminins. La majorité des sujets était âgée de plus de 50 ans (67,2 %), l'âge se situant entre 18 et 101 ans (âge médian = 57). Il y avait au total 160 échantillons positifs au SARM et 660 échantillons positifs au SA.

**Performance du test cobas® MRSA/SA comparée à celle de la culture directe et de la culture d'enrichissement combinées (méthode de référence)**

Les performances du test **cobas®** MRSA/SA comparées à celles de la culture directe et de la culture d'enrichissement combinées, déterminées avec 2 500 résultats évaluables pour le SARM et 2 501 résultats évaluables pour le SA sont indiquées au Tableau 22.

La sensibilité et la spécificité pour le SARM par rapport à la culture directe et à la culture d'enrichissement combinées étaient respectivement de 93,1 % (149/160) et 97,5 % (2 281/2 340). La prévalence, la VPP et la VPN étaient respectivement de 6,4 %, 71,6 % et 99,5 %.

La sensibilité et la spécificité pour le SA par rapport à la culture directe et à la culture d'enrichissement combinées étaient respectivement de 93,9 % (620/660) et 94,2 % (1 734/1 841). La prévalence, la VPP et la VPN étaient respectivement de 26,4 %, 85,3 % et 97,7 %.

**Tableau 22** Comparaison des résultats du test **cobas®** MRSA/SA avec ceux de la culture directe et de la culture d'enrichissement (méthode de référence)

| | | **Culture directe et culture d'enrichissement (méthode de référence)** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **SARM** | | | **SA** | | |
| | | Positifs | Négatif | Total | Positifs | Négatif | Total |
| **Test cobas® MRSA/SA** | Positifs | 149 | 59 | 208 | 620 | 107 | 727 |
| | Négatif | 11 | 2 281 | 2 292 | 40 | 1 734 | 1 774 |
| | Total | 160 | 2 340 | 2 500 | 660 | 1 841 | 2 501 |

SARM
Sensibilité : 93,1 % (149/160) (IC à 95 % : 88,1-96,1 %)
Spécificité : 97,5 % (2 281/2 340) (IC à 95 % : 96,8-98,0 %)
Prévalence : 6,4 %
VPP : 71,6 %
VPN : 99,5 %

SA
Sensibilité : 93,9 % (620/660) (IC à 95 % : 91,9-95,5 %)
Spécificité : 94,2 % (1734/1841) (IC à 95 % : 93,0-95,2 %)
Prévalence : 26,4 %
VPP : 85,3 %
VPN : 97,7 %

Remarque : les sujets avec des résultats de culture directe et des résultats de test **cobas®** MRSA/SA valides sont considérés comme évaluables et ils sont inclus dans ce tableau.

SARM = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; VPN = valeur prédictive négative ; VPP = valeur prédictive positive ; SA = *Staphylococcus aureus*.

**Comparaison des résultats du test cobas® MRSA/SA avec la culture directe**

Les résultats du test **cobas®** MRSA/SA comparés aux 2 504 résultats évaluables obtenus avec la culture directe sont indiqués au Tableau 23.

Le pourcentage de corrélation globale, le pourcentage de corrélation positive et le pourcentage de corrélation négative du test **cobas®** MRSA/SA pour le SARM, comparés à ceux de la culture directe, étaient respectivement de 96,9 % (2 427/2 504), 97,1 % (135/139) et 96,9 % (2 292/2 365) ; la prévalence était de 5,6 %.

Le pourcentage de corrélation globale, le pourcentage de corrélation positive et le pourcentage de corrélation négative du test **cobas**® MRSA/SA pour le SA, comparés à ceux de la culture directe, étaient respectivement de 93,3 % (2 336/2 504), 97,0 % (577/595) et 92,1 % (1 759/1 909) ; la prévalence était de 23,8 %.

**Tableau 23** Comparaison des résultats du test **cobas**® MRSA/SA à ceux de la culture directe

| | | **Culture directe** | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | **SARM** | | | **SA** | | |
| | | Positifs | Négatif | Total | Positifs | Négatif | Total |
| **Test cobas® MRSA/SA** | Positifs | 135 | 73 | 208 | 577 | 150 | 727 |
| | Négatif | 4 | 2 292 | 2 296 | 18 | 1 759 | 1 777 |
| | Total | 139 | 2 365 | 2 504 | 595 | 1 909 | 2504 |

SARM

Pourcentage de corrélation positive : 97,1 % (135/139) (IC à 95 % : 92,8-98,9 %)
Pourcentage de corrélation négative : 96,9 % (2 292/2 365) (IC à 95 % : 96,1-97,5 %)
Pourcentage de corrélation globale : 96,9 % (2 427/2 504) (IC à 95 % : 96,2-97,5 %)
Prévalence : 5,6 %

SA

Pourcentage de corrélation positive : 97,0 % (577/595) (IC à 95 % : 95,3-98,1 %)
Pourcentage de corrélation négative : 92,1 % (1 759/1 909) (IC à 95 % : 90,8-93,3 %)
Pourcentage de corrélation globale : 93,3 % (2 336/2 504) (IC à 95 % : 92,2-94,2 %)
Prévalence : 23,8 %

Remarque : les sujets avec des résultats de culture directe et des résultats de test **cobas**® MRSA/SA valides sont considérés comme évaluables et ils sont inclus dans ce tableau.

SARM = *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline ; SA = *Staphylococcus aureus*.

**Analyse de discordance des échantillons discordants et concordants**

Une analyse de discordance a été réalisée sur tous les échantillons discordants (Tableau 22) ainsi que sur un sous-ensemble aléatoire d'échantillons concordants inclus comme contrôles, entre le test **cobas**® MRSA/SA et les cultures directe et d'enrichissement combinées (méthode de référence), à l'aide d'un deuxième test d'amplification de l'acide nucléique (TAAN) homologué par la FDA et d'une culture directe et d'enrichissement non sélective.

Au total, 70 échantillons présentaient des résultats discordants : 11 résultats faux négatifs au SARM et 59 résultats faux positifs au SARM (Tableau 22). Sur les 11 échantillons faux négatifs au SARM, 5 ont été testés négatifs pour le SARM par une deuxième méthode TAAN et une culture directe et d'enrichissement non sélective. Sur les 59 échantillons faux positifs au SARM, 20 ont été testés positifs au SARM par une deuxième méthode TAAN ou une culture directe non sélective et/ou une culture d'enrichissement.

Au total, 147 échantillons présentaient des résultats discordants pour le SA : 40 résultats faux négatifs au SA et 107 résultats faux positifs au SA (Tableau 22). Sur les 40 échantillons faux négatifs au SA, 31 ont été testés négatifs pour le SA par une deuxième méthode TAAN et une culture directe et d'enrichissement non sélective. Sur les 107 échantillons faux positifs au SA, 24 ont été testés positifs pour le SA par une deuxième méthode TAAN ou une culture directe non sélective et/ou une culture d'enrichissement.

74 échantillons concordants sélectionnés au hasard ont été inclus comme contrôles dans l'analyse des discordances : 25 échantillons positifs au SARM, 25 échantillons négatifs au SA et 24 échantillons concordants positifs au SA et négatifs au SARM. Sur les 74 contrôles, les 25 échantillons positifs au SARM ont tous été testés positifs au SARM par une seconde méthode TAAN ou par une culture directe et/ou d'enrichissement non sélective ; les 25 échantillons négatifs au SA ont tous été testés négatifs au SA par une seconde méthode TAAN et par une culture directe et d'enrichissement non sélective ; sur les 24 échantillons positifs au SA, 21 ont été testés positifs au SA par une deuxième méthode TAAN ou une culture directe et/ou d'enrichissement non sélective, 1 a été testé positif au SARM par une culture d'enrichissement non sélective et 2 ont été testés négatifs au SA par une deuxième méthode TAAN et une culture directe et d'enrichissement non sélective.

## Valeurs attendues

### Prévalence

La prévalence du portage nasal du SARM et du SA dépend de divers facteurs, notamment de la résidence dans un établissement de soins de longue durée, d'une infection ou d'une colonisation antérieure au SARM, d'un diabète sucré, d'un contact étroit avec un porteur de SARM/SA et de l'utilisation antérieure d'antibiotiques. La prévalence globale de SARM et de SA observée avec le test **cobas**® MRSA/SA par rapport à la culture directe et à la culture d'enrichissement combinées au cours d'un essai clinique multicentrique était de 6,4 % et de 26,4 %, respectivement.

### Valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques du test cobas® MRSA/SA pour le SARM

Les valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques (VPP et VPN) dérivées des taux de portage de 1 à 30 % pour le test **cobas**® MRSA/SA pour le SARM sont indiquées au Tableau 24. La sensibilité et la spécificité du test **cobas**® MRSA/SA par rapport à la culture directe et à la culture d'enrichissement combinées (référence) pour le SARM était de 93,1 % et de 97,5 %, respectivement.

**Tableau 24** Valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques pour le SARM dérivées de la prévalence du portage nasal

| Prévalence (%) | Sensibilité (%) | Spécificité (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 93,1 % | 97,5 % | 27,2 % | 99,9 % |
| 5 | 93,1 % | 97,5 % | 66,0 % | 99,6 % |
| 10 | 93,1 % | 97,5 % | 80,4 % | 99,2 % |
| 15 | 93,1 % | 97,5 % | 86,7 % | 98,8 % |
| 20 | 93,1 % | 97,5 % | 90,2 % | 98,3 % |
| 25 | 93,1 % | 97,5 % | 92,5 % | 97,7 % |
| 30 | 93,1 % | 97,5 % | 94,1 % | 97,1 % |

Remarque : la sensibilité et la spécificité ont été établies en comparant les résultats du test **cobas**® MRSA/SA à ceux de la culture directe et de la culture d'enrichissement combinées pour des échantillons sur écouvillons nasaux de patients soumis à un test de colonisation au SARM ou au SA.

VPN = valeur prédictive négative ; VPP = valeur prédictive positive.

### Valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques du test cobas® MRSA/SA pour le SA

Les valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques (VPP et VPN) dérivées des taux de portage de 1 à 30 % pour le test **cobas**® MRSA/SA pour le SA sont indiquées au Tableau 25. La sensibilité et la spécificité du test **cobas**® MRSA/SA par rapport à la culture directe et à la culture d'enrichissement combinées (référence) pour le SA était de 93,9 % et de 94,2 %, respectivement.

**Tableau 25** Valeurs prédictives positives et négatives hypothétiques pour le SA dérivées de la prévalence du portage nasal

| Prévalence (%) | Sensibilité (%) | Spécificité (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---|---|---|---|---|
| 1 | 93,9 % | 94,2 % | 14,0 % | 99,9 % |
| 5 | 93,9 % | 94,2 % | 46,0 % | 99,7 % |
| 10 | 93,9 % | 94,2 % | 64,2 % | 99,3 % |
| 15 | 93,9 % | 94,2 % | 74,0 % | 98,9 % |
| 20 | 93,9 % | 94,2 % | 80,2 % | 98,4 % |
| 25 | 93,9 % | 94,2 % | 84,3 % | 97,9 % |
| 30 | 93,9 % | 94,2 % | 87,4 % | 97,3 % |

Remarque : la sensibilité et la spécificité ont été établies en comparant les résultats du test **cobas**® MRSA/SA à ceux de la culture directe et de la culture d'enrichissement combinées pour des échantillons sur écouvillons nasaux de patients soumis à un test de colonisation au SARM ou au SA.

VPN = valeur prédictive négative ; VPP = valeur prédictive positive.

# Informations supplémentaires

## Caractéristiques clés du test

| | |
|---|---|
| **Type d'échantillon** | Écouvillon nasal |
| **Quantité d'échantillon requise** | 1,6 mL du milieu MSwab dans le flacon primaire et un minimum de 700 µL est requis pour le test **cobas**® MRSA/SA. |
| **Durée du test** | Les résultats sont disponibles 2,5 heures après le chargement de l'échantillon sur le système (1 à 22 échantillons). |
| **Sensibilité analytique** | De 175 à 750 UFC/écouvillon en fonction de l'isolat. |
| **Spécificité** | Pas de réactivité croisée avec 147 organismes étroitement liés ou trouvés généralement dans les échantillons nasaux. |
| **Inclusivité** | Un total de 314 isolats de SARM et 91 isolats de SA de 16 pays, représentant au moins 7 types SCCmec, 10 types RE et 71 types spa ont été testés et détectés. |

## Symboles

Les symboles suivants sont utilisés dans toute la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche.

**Tableau 26** Symboles utilisés dans la documentation accompagnant les produits de diagnostic par PCR de Roche

| | |
|---|---|
| Age/DOB | Âge ou date de naissance |
| SW | Logiciel auxiliaire |
| Assigned Range [copies/mL] | Plage assignée (copies/mL) |
| Assigned Range [IU/mL] | Plage assignée (UI/mL) |
| EC REP | Mandataire dans la Communauté européenne |
| BARCODE | Fiche technique à code-barres |
| LOT | Code de la série |
| | Risques biologiques |
| REF | Référence du catalogue |
| CE | Marquage CE de conformité ; ce dispositif est conforme aux exigences en vigueur concernant le marquage CE d'un dispositif médical de diagnostic *in vitro* |
| Collect Date | Date de collecte |
| | Consulter les instructions d'utilisation |
| Σ | Contenu suffisant pour <*n*> tests |
| CONTENT | Contenu du kit |
| CONTROL | Contrôle |
| | Date de fabrication |
| | Dispositif pour tests à proximité du patient |
| | Dispositif pour auto-test |
| | Dispositif non adapté aux tests à proximité du patient |
| | Dispositif non adapté à l'auto-test |
| | Distributeur *(Remarque : le pays/la région applicable peut être indiqué(e) sous le symbole.)* |
| | Ne pas réutiliser |
| | Femme |
| | Pour évaluation des performances DIV uniquement |
| GTIN | Code article international |
| | Importateur |
| IVD | Dispositif médical de diagnostic *in vitro* |
| LLR | Limite inférieure de la plage assignée |
| | Homme |
| | Fabricant |
| CONTROL − | Contrôle négatif |
| NON STERILE | Non stérile |
| | Nom du patient |
| | Numéro patient |
| | Retirer ici |
| CONTROL + | Contrôle positif |
| QS copies / PCR | Copies QS par réaction de PCR, utiliser les copies QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats. |
| QS IU/PCR | UI QS par réaction de PCR, utiliser les unités internationales (UI) QS par réaction de PCR pour le calcul des résultats. |
| SN | Numéro de série |
| Site | Site |
| Procedure Standard | Procédure standard |
| STERILE EO | Stérilisé à l'aide d'oxyde d'éthylène |
| | Conserver dans un endroit sombre |
| | Limites de température |
| TDF | Fichier de définition de tests |
| | Orienté vers le haut |
| Procedure UltraSensitive | Procédure ultrasensible |
| UDI | Identification de dispositif unique |
| ULR | Limite supérieure de la plage assignée |
| Urine Fill Line | Ligne de remplissage d'urine |
| Rx Only | États-Unis uniquement : la législation fédérale américaine limite la vente de ce dispositif aux professionnels de santé autorisés à exercer. |
| | Date limite d'utilisation |

## Assistance technique

Pour bénéficier d'une assistance technique, merci de vous adresser à votre filiale locale : https://www.roche.com/about/business/roche_worldwide.htm

## Fabricant et importateur

**Tableau 27** Fabricant et importateur

Roche Molecular Systems, Inc.
1080 US Highway 202 South
Branchburg, NJ 08876 USA
www.roche.com

Fabriqué aux États-Unis

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Strasse 116
68305 Mannheim, Germany

EC REP

Roche Diagnostics GmbH
Sandhofer Str. 116
68305 Mannheim
Germany

CE
2797

## Marques commerciales et brevets

Voir https://diagnostics.roche.com/us/en/about-us/patents

## Copyright

©2025 Roche Molecular Systems, Inc.

## Bibliographie


1. Kuehnert MJ, Kruszon-Moran D, Hill HA, et al. Prevalence of *Staphylococcus aureus* nasal colonization in the United States, 2001-2002. J Infect Dis. 2006;193(2):172-179. Epub 2005/12/20.
2. Deurenberg RH, Stobberingh EE. The molecular evolution of hospital- and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Curr Mol Med. 2009;9(2):100-115. Epub 2009/03/12.
3. Bode LG, Kluytmans JA, Wertheim HF, et al. Preventing surgical-site infections in nasal carriers of *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med. 2010;362(1):9-17. Epub 2010/01/08.
4. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, et al. Survey of infections due to *Staphylococcus* species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. Clin Infect Dis. 2001;32 Suppl 2:S114-132. Epub 2001/04/26.
5. Reed SD, Friedman JY, Engemann JJ, et al. Costs and outcomes among hemodialysis-dependent patients with methicillin-resistant or methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. Infect Control Hosp Epidemiol. 2005;26(2):175-183. Epub 2005/03/11.
6. Muto CA, Jernigan JA, Ostrowsky BE, et al. SHEA guideline for preventing nosocomial transmission of multidrug-resistant strains of *Staphylococcus aureus* and *enterococcus*. Infect Control Hosp Epidemiol. 2003;24(5):362-386. Epub 2003/06/06.
7. Huang SS, Yokoe DS, Hinrichsen VL, et al. Impact of routine intensive care unit surveillance cultures and resultant barrier precautions on hospital-wide methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* bacteremia. Clin Infect Dis. 2006;43(8):971-978. Epub 2006/09/20.
8. Peterson LR, Diekema DJ. To screen or not to screen for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol. 2010;48(3):683-689. Epub 2010/01/15.
9. Cunningham R, Jenks P, Northwood J, Wallis M, Ferguson S, Hunt S. Effect on MRSA transmission of rapid PCR testing of patients admitted to critical care. J Hosp Infect. 2007;65(1):24-28. Epub 2006/12/06.
10. French GL. Methods for screening for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage. Clin Microbiol Infect. 2009;15 Suppl 7:10-16. Epub 2009/12/03.
11. Hardy K, Price C, Szczepura A, et al. Reduction in the rate of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* acquisition in surgical wards by rapid screening for colonization: a prospective, cross-over study. Clin Microbiol Infect. 2010;16(4):333-339. Epub 2009/07/23.
12. Peterson LR, Liesenfeld O, Woods CW, et al. Multicenter evaluation of the LightCycler methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) advanced test as a rapid method for detection of MRSA in nasal surveillance swabs. J Clin Microbiol. 2010;48(5):1661-1666. Epub 2010/03/26.
13. Struelens MJ, Hawkey PM, French GL, Witte W, Tacconelli E. Laboratory tools and strategies for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* screening, surveillance and typing: state of the art and unmet needs. Clin Microbiol Infect. 2009;15(2):112-119. Epub 2009/03/18.
14. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Centers for Disease Control and Prevention, National Institutes of Health. HHS Publication No. (CDC) 21-1112. Biosafety in microbiological and biomedical laboratories. 5th edition. Revised December 2009.
15. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Protection of laboratory workers from occupationally acquired infections. Approved Guideline-Fourth Edition. CLSI Document M29-A4:Wayne, PA;CLSI, 2014.

# Révision du document

| **Informations sur la révision du document** | |
|---|---|
| Doc. Rev. 8.0<br>10/2025 | Mise à jour de la section Usage prévu afin de préciser la population de patients visée.<br>Veuillez contacter votre représentant local Roche si vous avez des questions. |

Le résumé du rapport sur la sécurité et les performances peut être consulté en utilisant le lien suivant : https://ec.europa.eu/tools/eudamed