

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

Portée : Les tests groupés peuvent aider à réduire le temps et les cartouches nécessaires aux tests de diagnostic à l'aide du test Xpert MTB/RIF Ultra. Il est recommandé d'utiliser le dépistage groupé pour les personnes à faible risque de tuberculose. Le dépistage en pool devrait généralement être utilisé dans les populations dont le taux de positivité à la tuberculose est de <15 %.

Remarque: Il est recommandé que les tests soient effectués avec des pool de 2, 3, 4 échantillons ou au besoin; si le taux de positivité dans la population est de >10%, il peut être préférable d'utiliser une taille de pool de 2; pour une positivité de <10%, une taille de pool de 3 à 8 est généralement recommandée en fonction du niveau de risque des patients. Veuillez contacter le laboratoire de référence si vous avez besoin de conseils sur la façon de choisir la meilleure taille de pool.

Type d'échantillons à utiliser pour les tests poolés et critères de pooling

- Uniquement les échantillons envoyés pour le diagnostic initial de la tuberculose;
- Spécimens de crachat uniquement;
- Échantillons de crachat d'un volume de 1,0mL ou plus;

Type d'échantillons à tester individuellement

- Échantillons pulmonaires extra-pulmonaires ou sans expectorations;
- Échantillons d'un volume inférieur à 1,0 ml;
- Les échantillons prélevés sur des personnes sous traitement antituberculeux ou soumis à un test de rifampicine après un premier résultat positif au MTB ou au frottis doivent être testés individuellement;

Matériel nécessaire :

- Cartouches Ultra (cartouches Xpert MTB/RIF Ultra, Cepheid).
- Registre de test Xpert (fourni par le laboratoire de référence).
- Pipettes Pasteur (ou pipette répétée avec embouts de pipettes); soit fourni avec des cartouches Ultra, soit fourni séparément.
- Réactif d'échantillon Xpert (fourni avec les cartouches); peut être utilisé pour plus d'un échantillon si les procédures aseptiques sont respectées pour éviter de **contaminer le contenant de réactif entre Spécimens**.
- Crachoir (pour créer un mélange spécimen/réactif).
- Marqueur gras (pour écrire les numéros de test sur les crachoirs et les cartouches Xpert)
- Instrument Xpert.
- Conteneurs d'élimination des déchets (pour la zone de préparation des échantillons et pour la zone de test Xpert).
- Matériaux de désinfection des surfaces de travail.

Procédure

Remarque IMPORTANTE : Avant de commencer les tests, assurez-vous que votre espace de travail est propre, sans encombrement et que **SEULS** les échantillons à pooler sont présents dans la zone de travail. Ceci est essentiel pour éviter de confondre un échantillon avec un autre et d'éviter une contamination croisée.

1. Prélevez/recevez les échantillons en suivant les protocoles de routine.
2. Lors de l'enregistrement, triez les formulaires de demande pour les personnes éligibles au pooling.
3. Évaluez visuellement les échantillons prélevés pour identifier ceux qui ont un volume $\geq 1,0$ mL.

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

Note:

- a. Si le volume du crachat est inférieur à environ 1,0 mL, exclure cet échantillon du pool et le tester individuellement (c'est pour s'assurer qu'il reste suffisamment de mélange échantillon/réactif pour les tests individuels ultérieurs, si nécessaire, si le résultat du pool est positif ou invalide/erreur/ pas de résultat).
 - b. Si le volume de l'échantillon est de >4 mL, ajouter environ 1,5 ml dans un nouveau crachoir étiquetée et l'utiliser pour les tests afin de maximiser le réactif.
4. Créez des numéros d'identification de patient et d'échantillon et inscrivez-les dans le registre Xpert.
- a. Pour les tests pooler, le champ Patient ID (à la fois dans le registre Xpert et dans l'instrument Xpert) est rempli en utilisant le prénom de chaque patient dans le pool séparé par un point. Par exemple, pour Mbacham Einstein, Ebot Rudinger, Tsala Mccay, ce serait:
Le champ ID du patient est : Mbacham.Ebot.Tsala
 - b. Le champ Sample ID (Numero ID de l'échantillon) est composé de l'ID du pool (à la fois dans l'instrument Xpert et dans le registre Xpert). Cet ID est créé à l'aide de « P(SN) » pour indiquer le « numéro de série du pool » suivi du dernier numéro du dossier de chaque spécimen, avec un tiret entre les deux, par exemple, pour un groupe de spécimens 00107-00129-00117, ce serait :
ID de l'échantillon : P001-7-9-7 (en supposant qu'il s'agit du pool numéro 1).
Remarque : En règle générale, le numéro de série du pool doit être attribué soit depuis le début des tests de pool, soit au début de l'année et redémarré au début de l'année suivante. Ce numéro de série de pool aide le laboratoire à suivre le nombre de pool effectuées.
 - c. Inscrivez le numéro complet du dossier de l'échantillon et les initiales du nom de chaque patient, c'est-à-dire 00107-ME, 00129-ER, 00117-TM dans le champ Notes I du registre Xpert
 - d. Entrez les noms de chaque patient et les numéros d'identification des échantillons testé dans ce pool dans les lignes suivantes, sous les informations pour le test de pool. Le registre Xpert pour l'exemple ci-dessus doit ressembler à ceci :

SN	N° d'enregistrement	ID du patient	Âge	Sexe	ID de l'échantillon
1	-	Mbacham, Ebot, Tsala	-	-	P001-7-9-7
	00107	Mbacham Einstein	29	M	1BRH-00107-ME
	00129	Ebot Rudinger	46	M	1BRH-00129-ER
	00117	Tsala Mccay	65	F	1BRH-00117-TM

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

5. Étiquetez un nouveau crachoir avec l'ID du pool, par exemple, P001-7-9-7. Ce contenant sera utilisé pour créer le mélange échantillon/réactif poolé. Placez ce contenant étiqueté derrière les spécimens à pooler.
6. Préparez chacun des échantillons individuels à pooler selon la procédure normale de préparation des échantillons pour le test Xpert MTB/RIF Ultra, c'est-à-dire :
 - i. Pour chaque échantillon, à l'aide d'une pipette Pasteur stérile (ou d'une pipette à embouts), ajouter 2 volumes de réactif d'échantillon Xpert à 1 volume d'échantillon de crachat, puis fermer le contenant. Par exemple, si le volume des crachats est de 1,5 mL, ajoutez 3,0 mL pour un volume total de 4,5 mL (notez que pendant le pooling, vous ajouterez 1,0 mL d'échantillons au pool, de sorte qu'il restera 3,5 mL au cas où le résultat Ultra du pool serait positif et que vous deviez retester cet échantillon individuellement pour Ultra). (Remarque : Si le volume de l'échantillon d'expectorations est proche de 1 mL, ajouter un peu plus de 2 mL de réactif d'échantillon. Ceci afin de vous assurer qu'il vous restera un peu plus de 2 mL du mélange échantillon/réactif au cas où vous auriez besoin de refaire le test individuellement).

Remarques importantes :

- Veillez à ne pas contaminer le réactif d'échantillon Xpert restant et fermez-le immédiatement après utilisation. Si le réactif d'échantillon est seulement pipeté avec une pipette stérile et n'entre jamais en contact avec l'échantillon, le contenant d'échantillon ou une pipette contaminée, il peut être utilisé comme source de réactif d'échantillon pour d'autres échantillons. Cela permettra d'étendre la disponibilité du réactif d'échantillon pour le pooling des échantillons.
 - Si vous utilisez une pipette Pasteur, utilisez une nouvelle pipette pour chaque échantillon et maintenez la pipette dans le plastique de la pipette entre les étapes. Assurez-vous de remettre la pipette Pasteur usagée dans le plastique de la pipette et de la garder de côté de l'échantillon, car elle sera également utilisée pour transférer le mélange échantillon/réactif dans le crachoir du pool pour cet échantillon.
 - Si vous utilisez une pipette standard, jetez l'embout de la pipette usagée immédiatement après utilisation.
- ii. Bien mélanger l'échantillon et le réactif d'échantillon en agitant vigoureusement 10 à 20 fois. Incuber 10 minutes à température ambiante.
 - iii. Bien mélanger et incuber pendant 5 minutes supplémentaires à température ambiante.
 - iv. Inspectez visuellement le mélange échantillon/réactif. S'il est complètement liquéfié, passez à l'étape suivante. S'il n'est que partiellement liquéfié, mélanger à nouveau vigoureusement et laisser reposer pendant 5 minutes supplémentaires ou jusqu'à ce qu'il soit complètement liquéfié. Évitez de pipeter des solides ou des débris dans la cartouche Ultra pour éviter les erreurs.
7. Une fois que chacun des mélanges d'échantillons individuels est liquéfié, créez l'échantillon groupé en ajoutant chaque mélange échantillon/réactif au crachoir étiquetée dédiée à l'échantillon poolé. Ouvrez soigneusement le crachoir individuel et, en fonction de la taille du

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

pool, transférez une quantité de chaque échantillon comme indiqué dans le tableau ci-dessous dans le crachoir dédié au test de pool à l'aide de la même pipette Pasteur utilisée à l'étape 6 (i) ci-dessus. Fermez le couvercle du crachoir individuel avant d'ouvrir le crachoir de l'échantillon suivant.

Taille du pool	Volume de chaque mélange échantillon/réactif à ajouter au pool	Volume du spécimen poolé
2	1,5 ml	3 mL
3	1 mL	3 mL
4	1 mL	4 mL
5	0,5 mL	2,5 mL
6	0,5 mL	3 mL
7	0.5ml	3,5 mL
8	0,5 mL	4 mL

8. Répétez l'étape 7 pour chaque mélange échantillon/réactif à inclure dans le pool.
9. Mettez de côté le crachoir contenant les mélanges échantillons individuels/réactifs pour une utilisation ultérieure si nécessaire (si le résultat du test poolé est positif ou invalide, chaque échantillon doit être retesté individuellement).
10. Étiquetez la cartouche à utiliser pour le test poolé avec les informations du pool provenant du champ d'identification de l'échantillon (p. ex., P001-7-9-7).
11. À l'aide de l'une des pipettes Pasteur utilisé pour le transfert d'échantillon individuel, aspirez l'échantillon poolé liquéfié, juste au-dessus de la ligne sur la pipette (juste au-dessus de 2 ml). Si le volume d'échantillon est insuffisant, ne fait pas effectuer le test. (Remarque : si le test est effectué avec ≤ 2 mL, il peut provoquer une erreur).
12. Effectuer un test Xpert Ultra en utilisant l'échantillon poolé selon le protocole Cepheid. Vérifiez que la cartouche est étiquetée avec le même ID de pool que celui du conteneur d'échantillons poolé (par exemple, P001-7-9-7).
13. Pour entrer des informations d'échantillon dans la machine Xpert,
 - a. Si le logiciel DataToCare est installé sur votre machine Xpert, procédez comme suit :
 - i. Dans la section Maladie et méthode, vérifiez que le champ choisi est: Tuberculose > moléculaire > Xpert MTB RIF Ultra.
 - ii. Pour le champ Patient, tapez la première lettre du nom, puis cliquez sur « Nouveau patient » et entrez les informations comme suit ; Dans le champ « Prénom », entrez <POOL> tandis que dans le champ « Deuxième nom », entrez les prénoms de chaque patient dans le pool séparé par un point », par exemple <Mbacham.Ebot.Tsala>
 - iii. Entrez femelle (F) pour Sexe d'un pool. (Utilisez ceci pour tous les tests poolé)
 - iv. Entrez 99 ans pour l'âge et enregistrez (utilisez cette option pour tous les tests poolé).
 - v. Pour Prescripteur, entrez ou choisissez le nom 'PoolTesting', avec le numéro de téléphone 6999999999

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

- vi. Sélectionnez Type d'échantillon : cliquez sur la liste déroulante et choisissez le type d'échantillon <CRACHAT>
- vii. Entrez l'ID de l'échantillon dans le champ ID de l'échantillon comme ci-dessus (point 4b): par exemple ID de l'échantillon: P001-7-9-7.

Les champs Data to Care doivent maintenant ressembler à ceci pour le test groupé :

Domaine Data to Care	Entrée pour le test groupé
Patient – Prénom	MARE
Patient – Nom de famille	À partir de 4b (par exemple Mbacham.Ebot.Tsala)
Sexe	Femelle
Âge	99
Prescripteur	Pool Testing (téléphone : 699999999)
Identification du spécimen	de 4b ci-dessus (par exemple. P001-7-9-7)

- viii. Établissement de santé : choisir le nom de l'établissement de santé dans la liste déroulante et double-cliquer sur le nom du CDT, s'il n'est pas affiché ; écrire manuellement le nom de l'établissement de santé.
- ix. Entrez des informations sur le <contexte du test> par exemple les tests de diagnostic, l'opérateur et la date à laquelle l'échantillon a été soumis.
- x. Cliquez sur <Envoyer la commande> pour procéder aux tests.
- xi. Remplir le dossier des patients en inscrivant le numéro d'échantillon et les initiales du nom de chaque patient, p. ex. 00107ME, 00129ER, 00117MC dans la section Notes de l'instrument Xpert. Ces renseignements sont les mêmes que ceux qui ont été inscrits dans le registre Xpert, tel que décrit à la section 4d.

Champ	Entrée d'instrument Xpert
Notes	1BRH-00107-ME 1BRH-00129-ER 1BRH-00117-TM

Remarque : Si le résultat du pool est MTB DETECTED ou INVALID ou ERROR, toutes les informations détaillées pour chaque patient du pool seront saisies dans le Data-To-Care lors de l'analyse des échantillons individuels.

- b. Si le logiciel DataToCare n'est pas installé ou hors d'usage, procédez comme suit :
 - xii. Pour entrer des informations sur les échantillons dans l'instrument GeneXpert, utilisez ce qui suit :

Type de champ	Registre de laboratoire	Instrument Xpert
Patient ID	Noms (p. ex. Mbacham, Ebot, Tsala)	Noms (p. ex. Mbacham.Ebot.Tsala)
Exemple d'ID	P001-7-9-7	P001-7-9-7

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

Notes	S.O. (voir 4d ci-dessus)	1BRH-00107-ME 1BRH-00129-ER 1BRH-00117-TM
-------	--------------------------	---

14. Lorsque les résultats sont prêts, enregistrez-les en suivant les étapes ci-dessous:

a. Pour un pool positif (MTB détecté)

- i. Si l'échantillon groupé est « MTB détecté », avec n'importe quel grade, enregistrez le résultat dans le registre Xpert avec l'ID d'échantillon regroupé comme MTB détecté et retestez les trois échantillons individuellement.
- ii. Répéter le test pour chaque patient dans un groupe positif individuellement, pour chaque échantillon :
 - Enregistrez le numéro de série dans le registre Xpert pour chaque ligne où une cartouche Ultra est utilisée.
 - Étiquetez une nouvelle cartouche avec l'ID d'échantillon individuel, par exemple, 00117-TM, comme sur le crachoir individuel.
 - À l'aide d'une nouvelle pipette Pasteur, aspirer le mélange individuel liquéfié échantillon/réactif réservé à l'étape 7 juste au-dessus de 2ml et transférer dans une nouvelle cartouche Ultra. Étiquetez la cartouche avec le numéro d'enregistrement du patient et les initiales.
 - Entrez les informations du patient dans le système Data to Care comme pour un test individuel standard ou directement dans l'instrument GeneXpert (selon le cas), en utilisant les éléments suivants:

Champ ID patient	Nom du patient, p. ex. Mbacham Einstein
Champ d'ID d'échantillon	1BRH-00107-ME

- iii. Entrez les informations du patient dans le système Data to Care comme pour un test individuel standard ou directement dans l'instrument GeneXpert (selon le cas), en utilisant les éléments suivants. Une fois que les résultats des tests individuels sont disponibles, consignez les résultats individuels dans le registre Xpert avec l'ID d'échantillon individuel obtenu à partir de l'instrument.

Exemple d'un registre Xpert pour un résultat de test poolé positif. Chaque fois qu'une cartouche Ultra est utilisée, la colonne du numéro de série est renseignée. Cela permet au laboratoire de suivre l'utilisation des cartouches Ultra.

SN	Exemple d'ID	Résultats Xpert	Si MTB (RR-IND, NON)
1	P001-7-9-7	MTB détectée Trace	IND
	1BRH-00107-ME		
	1BRH-00129-ER		
	1BRH-00117-TM		

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

- iv. Après avoir répété les tests individuels, remplissez le registre des résultats Xpert avec les résultats des tests individuels comme indiqué ci-dessous.

SN	Exemple d'ID	Résultats Xpert	Si MTB (RR-IND, NON)
1	P001-7-9-7	MTB détectée Trace	IND
2	1BRH-00107-ME	MTB Non détectée	N/A
3	1BRH-00129-ER	MTB Very Low	NOT
4	1BRH-00117-TM	MTB Non détectée	N/A

- v. Préparer les résultats individuels à remettre au client lorsqu'il vient chercher ses résultats.

b. Pour un pool avec un résultat INVALID ou ERROR, suivez les mêmes étapes que pour un pool positif.

Si l'échantillon poolé donne une erreur ou un résultat non valide, enregistrez ce résultat dans le registre Xpert à côté de l'ID de l'échantillon poolé comme « Erreur », ou « Non valide », ou « Aucun résultat », en fonction du résultat donné par l'instrument et répétez le test individuellement en suivant les mêmes étapes que pour un pool positif.

Remarque: Vous pouvez décider de répéter un pool avec une erreur ou un résultat non valide si vous considérez qu'après avoir effectué une répétition de pool, vous aurez encore suffisamment d'échantillons pour effectuer des tests individuels pour chaque échantillon dans le cas d'un résultat positif.

c. Pour un pool négatif (MTB non détecté) – suivez les étapes ci-dessous.

- i. Si le résultat du test est « MTB non détecté », les trois échantillons sont MTB non détectés, consigner le résultat dans le registre avec l'ID d'échantillon poolé et les ID d'échantillon individuels comme MTB non détecté. Exemple d'enregistrement d'un résultat de test poolé négatif. Chaque fois qu'une cartouche Ultra est utilisée, la colonne du numéro de série est renseignée. (Cela aide le laboratoire à suivre l'utilisation de la cartouche Ultra).

SN	Exemple d'ID	Résultats Xpert	Si MTB (RR-IND, NON)
1	P001-7-9-7	NOT	N/A
	1BRH-00107-ME	NOT	N/A
	1BRH-00129-ER	NOT	N/A
	1BRH-00117-TM	NOT	N/A

- ii. Préparer les résultats individuels pour le patient et les donner au patient lorsqu'il vient chercher ses résultats.

Test groupé d'échantillons d'expectoration pour la détection de la TB par le test Ultra

Remarques :

- Le but de la réanalyse individuelle de chaque échantillon est d'identifier quel(s) échantillon(s) est/sont positif(s); Si le résultat de l'échantillon individuel identifie un ou plusieurs échantillons positifs, indiquer le résultat de l'échantillon individuel obtenu en suivant la procédure normale de déclaration d'un résultat positif.
- Tout résultat positif (MTB détecté - trace, très faible, faible, moyen, élevé) indique que le patient doit commencer immédiatement le traitement de la tuberculose conformément aux directives nationales.
- Bien que cela soit rare, il peut arriver que vous testiez chaque échantillon d'un pool positif individuellement et qu'aucun d'entre eux n'ait de résultat «MTB détecté». Si tous les échantillons individuels ont un résultat « MTB NON détecté », prélevez un deuxième échantillon de chaque patient et retestez chacun individuellement. Si le résultat du test identifie l'échantillon avec « MTB détecté », signalez le résultat comme d'habitude. Si un nouveau test de tous les échantillons du pool positif n'entraîne aucun résultat « MTB détecté », signalez chaque résultat comme « MTB NON détecté ». Ajoutez chacun de ces patients au dossier de suivi du patient et continuez à suivre chaque patient jusqu'à ce qu'il aille mieux, y compris en fournissant des tests Ultra supplémentaires au besoin.
- Il est très important de tester les échantillons individuels de tout pool positif dans les 4 heures suivant l'ajout du réactif d'échantillon. Si cela n'est pas possible, conservez le mélange échantillon/réactif au réfrigérateur et testez dans les 24 heures. L'absence de test dans le délai indiqué peut entraîner une dégradation de l'ADN et pourrait entraîner un pool faux positif, par exemple.
- Contactez le laboratoire de référence si vous avez des questions ou si vous avez besoin de plus amples informations.