



BOITE À OUTILS DE SOS

Méthode de traitement des selles
simplifiées en une étape (SOS)
et test Xpert
MTB/RIF (Ultra) pour la détection
du complexe *Mycobacterium*
Tuberculosis et résistance
à la rifampicine

Procédures
Opérationnelles Standard
(SOP)

TABLE DES MATIÈRES

ABRÉVIATIONS UTILISÉES DANS CETTE SOP

1. introduction	4
2. But	4
3. Principe	5
4. Personnel responsable	5
5. Sécurité	6
6. Matériels	6
7. Procédure	6
7.1 Prélèvement d'échantillons de selles	6
7.2 Préparation des échantillons de selles	8
7.3 Chargement de l'échantillon dans la cartouche Xpert MTB/RIF (Ultra)	11
8. Les références	12

ABRÉVIATIONS UTILISÉES DANS CETTE SOP

Ufc	des unités formant des colonies
ADN	acide désoxyribonucléique
VIH :	Virus de l'Immunodéficience Humaine
	séquence d'insertion
LOD	limite de détection
MDR	multi résistance aux médicaments (résistance à la rifampicine et à l'isoniazide)
FDS	fiche de données de sécurité
VTT(C)	Mycobacterium tuberculosis (complexe)
PCC	Contrôle de vérification de la sonde
PCR	Réaction en chaîne par polymérase
PVVIH	Personne vivant avec le VIH
FRR	rifampicine
SOS	Une étape simple
CPS	contrôle du traitement des échantillons
RS	Échantillon réactif (fourni par Cepheid)
TB	Tuberculose
OMS	Organisation mondiale de la santé

Procédures opérationnelles standard (SOP) pour la détection du complexe *Mycobacterium tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine dans les selles en utilisant la méthode de traitement des selles Simple One-Step (SOS) et le test Xpert MTB/RIF (Ultra)

1: Introduction

Le diagnostic de la tuberculose pulmonaire (TB) chez les enfants et les personnes vivant avec le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) (PVVIH) est entravé car ils présentent fréquemment des signes et symptômes non spécifiques rendant difficilement possible la confirmation en laboratoire de leur maladie en raison de sa nature paucibacillaire et de la difficulté à obtenir des crachats. En 2020, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) avait publié des directives actualisées qui incluent l'utilisation du test Xpert MTB/RIF sur les selles comme test de diagnostic initial pour la détection de la tuberculose et de la résistance à la rifampicine (RIF) chez les enfants présentant des signes et symptômes de tuberculose pulmonaire ^{1,2}. De plus, en cas de résultat négatif au test initial, des tests répétés avec le test Xpert MTB/RIF (pour un total de deux tests) peuvent être effectués dans des contextes/endroits à forte prévalence de TB (probabilité pré-test $\geq 5\%$). De plus, l'utilisation du test Xpert MTB/RIF Ultra dans des conditions de recherche opérationnelle est encouragée par l'OMS ^{1,2}. Deux études de revue systématique récentes ont démontré que le test Xpert MTB/RIF et le test Xpert MTB/RIF Ultra, plus sensible, peuvent être utilisés pour détecter les bacilles du complexe *Mycobacterium tuberculosis* (MTBC) dans les selles avec une spécificité élevée ^{3,4}. Ainsi, les tests Xpert et Xpert Ultra sur les selles peuvent être utilisés comme test de référence à proximité du point de soins. Compte tenu de la sensibilité et de la spécificité élevées des selles par rapport au test Xpert des expectorations, les selles peuvent probablement également être utilisées comme alternative aux expectorations pour le diagnostic de

la tuberculose chez les adultes, y compris les PVVIH, qui ne peuvent pas dégager les expectorations ⁵.

Diverses méthodes de traitement des selles pour les tests Xpert ont été décrites ⁶⁻¹². Cependant, certaines de ces méthodes sont complexes, laborieuses, chronophages, incluent la centrifugation et nécessitent une infrastructure bien équipée ^{6,7,9}. Les méthodes sans centrifugation ^{8,10-12} comprennent au moins deux étapes de traitement des échantillons et toutes ces méthodes nécessitent des fournitures supplémentaires, des réactifs et des mesures de biosécurité spécifiques car l'échantillon doit être manipulé avant que les bacilles MTB ne soient inactivés. De Haas et al. ¹³ a avaient développé une méthode qui utilise les mêmes intrants et équipements que ceux utilisés pour le test Xpert des expectorations, et qui ne comprend qu'une seule étape de libération et de sédimentation : la méthode des selles Simple One-Step (SOS) pour la détection de la résistance MTBC et RIF dans la boîte d'outils. Cette méthode a le potentiel d'une application généralisée du test Xpert pour la détection de MTBC dans les selles au niveau des soins de santé primaires.

2: But

Cette SOP décrit comment collecter les selles et traiter les échantillons de selles en utilisant la méthode de selles SOS à utiliser dans le test Xpert MTB/RIF (Ultra) pour la détection de la résistance MTBC et RIF. Il ne fournit pas de conseils sur la manipulation de la machine GeneXpert, la performance du test Xpert et l'interprétation des résultats Xpert.

3: Principe

Les selles sont un type d'échantillon alternatif pour le diagnostic de la tuberculose, car les expectorations contenant du MTBC sont crachées et, par la suite, avalées et passées dans le système gastro-intestinal pour finalement se retrouver dans les selles.

En utilisant la méthode des selles SOS ¹³, le traitement des selles à utiliser dans le test Xpert est aussi simple que le traitement des expectorations ¹⁴. Environ 0,8 à 1,0 g de selles sont ajoutés directement au réactif d'échantillon (SR) fourni avec le kit Xpert MTB/RIF (Ultra) (Cepheid, California, USA) ^{14,15}, et ce mélange SR-selles est agité vigoureusement. Au cours de cette étape, les selles se désintègrent, et les bactéries sont libérées dans les bacilles SR et MTBC sont inactivés. Par la suite, la sédimentation par gravité des selles se produit pendant l'incubation de la suspension SR-selles, et les bacilles MTBC resteront en suspension. Après que la suspension SR-selles a été à nouveau agitée vigoureusement et incubée à température ambiante, 2 ml de cette suspension sont transférés dans la cartouche Xpert. Le transfert doit être effectué très soigneusement, en évitant le transfert de toute particule de selles, car cela pourrait provoquer le colmatage du filtre dans la cartouche. De plus, les selles peuvent contenir plus d'inhibiteurs de PCR que les expectorations. Pour ces deux raisons, on s'attend à un taux plus élevé de résultats invalides/d'erreurs que pour les tests d'expectoration.

Le système de test Xpert MTB/RIF permet la détection rapide de la résistance MTBC et RIF en combinant la purification automatisée des échantillons, l'amplification des acides nucléiques et la détection des séquences d'ADN cibles dans une cartouche autonome qui est exécutée sur un système GeneXpert ^{14,16}. Les cartouches étant autonomes, le risque de contamination croisée entre les échantillons est minimisé. Dans la cartouche de test Xpert MTB/RIF, une PCR en temps réel emboîtée a lieu avec des amorces dirigées sur le gène *rpoB*, contenant la région de point chaud de 81 paires de bases. Le gène *rpoB* est sondé avec cinq balises moléculaires

qui permettent de différencier la séquence de type sauvage et les mutations dans la région centrale qui sont associées à la résistance au RIF. Le RIF est l'un des médicaments antituberculeux de première intention les plus puissants et est un marqueur de substitution de la tuberculose multirésistante (MDR-TB). Un contrôle de traitement de l'échantillon (SPC), constitué de spores de *Bacillus globigii*, est inclus dans le dosage en tant que contrôle interne pour assurer un traitement adéquat de l'échantillon ainsi que pour surveiller la présence d'inhibiteurs de PCR. Un contrôle de vérification de la sonde (PCC) vérifie la réhydratation du réactif, le remplissage du tube PCR dans la cartouche, l'intégrité de la sonde et la stabilité du colorant ^{14,16,17}.

Le test Xpert MTB/RIF Ultra utilise le même système GeneXpert que le test Xpert MTB/RIF et s'est avéré non inférieur à ce dernier test ¹⁸, mais a été ajusté pour augmenter la sensibilité du test pour détecter le MTBC. Le test Ultra détecte le MTBC par amplification des séquences d'insertion multi copies (IS) IS 6110 et IS 1081 et utilise un volume de réaction PCR plus important que le Xpert MTB/RIF (50 µL contre 25 µL de chambre de réaction PCR). Le test Ultra a une limite de détection (LOD) inférieure à celle du Xpert MTB/RIF (16 contre 113 unités de formation de colonies bactériennes (cfu) par mL 19) car il utilise une amplification d'acide nucléique imbriquée, un cycle thermique plus rapide et des microfluides améliorés. Le test Xpert Ultra intègre une analyse basée sur la température de fusion au lieu de la PCR en temps réel pour la détection de la résistance RIF. Plus précisément, quatre sondes identifient des mutations conférant une résistance au RIF dans le gène *rpoB* en déplaçant la température de fusion loin de la valeur de référence de type sauvage ¹⁹.

4: Personnel responsable

Personnel de laboratoire formé sur le traitement des selles en utilisant la méthode des selles SOS et le test Xpert MTB/RIF (Ultra).

5: Sécurité

- Traiter tous les échantillons comme du matériel biologique potentiellement infectieux.
- Toujours porter une blouse de laboratoire, des lunettes de protection et des gants jetables.
- L'échantillon tampon de réactif du kit Xpert contient les substances irritantes NaOH et isopropanol. Se référer aux informations de la fiche signalétique pour plus de détails ²⁰.
- Le traitement des échantillons doit avoir lieu sous une hotte ventilée ou dans une pièce bien ventilée.
- En cas de déversement de selles, la zone affectée doit être nettoyée avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% (eau de Javel) et, par la suite, avec de l'alcool à 70%.
- Jeter tous les déchets dans une poubelle médicale à risques biologiques.
- Vous référer aux directives nationales de votre pays sur la sécurité et la gestion des déchets de laboratoire de santé et de gestion des déchets pour de plus amples considérations.

6: Matériels

- Remarque:** Cette liste de matériaux doit être personnalisée en fonction des besoins spécifiques du pays.
- Contenants à selles jetables à bouchon à vis avec une cuillère (ou, à défaut, contenants/gobelets universels à crachats ou à urine avec bouchon à vis).
 - Papier toilette ou feuille plastique pour la collecte des selles (en cas de collecte sur place des selles).
 - Sac en plastique avec matériel absorbant.
 - Gants jetables.
 - Blouse de laboratoire.
 - Lunettes de protection.
 - Des bâtons de bois.
 - Minuteur.
 - Stylo marqueur permanent.
 - Solution d'hypochlorite de sodium à 0,5% et alcool à 70% ou autre désinfectant tuberculoïde.
 - Kit Xpert VTT/RIF (Ultra), comprenant :

- cartouches jetables Xpert MTB/RIF (Ultra) à usage unique ;
- pipettes de transfert stériles jetables ;
- flacons avec échantillon de réactif (SR).
- Pipettes de transfert stériles de rechange avec marquage 2 ml (en cas de nombreux échantillons de selles liquides).
- Instrument GeneXpert avec infrastructure appropriée, équipé d'un ordinateur, du logiciel GX 4.7b et d'un lecteur de code-barres (Cepheid Inc. Sunnyvale, USA).
- Imprimante, si un rapport de test Xpert standard doit être fait.

7: Procédure

- Remarques importantes avant de commencer le traitement des échantillons :**
- Avant de commencer la procédure, nettoyer le bureau avec une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 % (eau de Javel) puis avec de l'alcool à 70 %.
 - Ne traiter qu'autant d'échantillons à la fois qu'il y a de modules GeneXpert disponibles pour réaliser les tests.
 - Éviter le traitement simultané de plusieurs échantillons, traiter les échantillons un par un dans une série de trois échantillons maximum pour éviter les étapes de traitement concurrentes entre les échantillons.
 - Tous les échantillons, flacons SR et cartouches doivent être soigneusement étiquetés avec un identifiant de patient (ID) unique.
 - La procédure ci-dessous détaille les étapes du prélèvement des échantillons de selles, de la préparation des échantillons de selles et du chargement de l'échantillon sur la cartouche Xpert MTB/RIF (Ultra) spécifique au test Xpert des selles. Il ne fournit pas de conseils sur la manipulation de l'instrument GeneXpert, la performance du test Xpert et l'interprétation des résultats Xpert. Pour ces étapes, les instructions du fabricant pour le traitement des expectorations ou les instructions existantes dans la SOP nationale pour le test Xpert MTB/RIF peuvent être utilisées.

THE BRISTOL
STOOL CHART

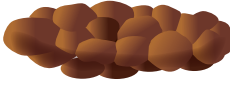
TYPE 1		Séparer les grumeaux durs, comme les noix (difficiles à passer)
TYPE 2		En forme de saucisse mais grumeleux
TYPE 3		Comme une saucisse mais avec des fissures à sa surface
TYPE 4		Comme une saucisse ou un serpent, lisse et doux
TYPE 5		Gouttes/taches souples avec des bords coupés nets (passés facilement)
TYPE 6		Morceaux moelleux aux bords irréguliers, selles pâteuses
TYPE 7		Aqueux, pas de morceaux solides. Entièrement liquide

Figure 1.

L'échelle de selles Bristol, du nom de l'Université de Bristol où elle a été décrite pour la première fois par Lewis et Heaton 21 ; du type 1, étant le plus solide, au type 7, étant le plus liquide

7.1 Prélèvement d'échantillons de selles

La collecte des selles est généralement effectuée par les patients eux-mêmes ou, dans le cas des patients pédiatriques, par leurs gardiens. Le prélèvement peut avoir lieu soit dans la formation sanitaire, soit au domicile du patient. Suite aux procédures locales, le patient ou le gardien doit être informé par une infirmière, un médecin ou un autre personnel médical ou de laboratoire sur la manière de collecter les selles. Ci-dessous, nous décrivons une méthode simple pour la collecte des selles. Alternativement, des kits de collecte de selles dédiés peuvent être utilisés.

1. Fournir au patient ou au soignant un récipient pour selles et un sac en plastique contenant un matériel absorbant.
2. Fournir au patient ou au soignant les instructions suivantes sur la façon de prélever l'échantillon de selles :
 - a. Idéalement, prélever l'échantillon de selles lors de la première selle quotidienne. Essayer d'éviter de mélanger l'échantillon de selles avec l'urine en vidant d'abord la vessie.
 - b. Mettre du papier toilette ou une feuille de plastique propre à l'endroit où les selles seront déposées pour assurer le prélèvement d'un échantillon propre. Éviter que les selles n'entrent en contact avec de la terre, du détergent ou du désinfectant provenant des toilettes.
 - c. Si des selles doivent être prélevées sur un enfant qui utilise une couche, collecter les selles directement sur la couche, dès que possible après défécation. Éviter tout contact prolongé avec la surface de la couche, car certaines couches peuvent contenir des substances inconnues susceptibles d'inhiber le test.
 - d. Remplir au maximum la moitié du récipient pour selles avec des selles en utilisant par exemple la cuillère fournie avec le récipient, un sac en plastique propre, un morceau de carton propre ou une cuillère propre. Ne pas remplir le conteneur à ras bord car il est difficile pour le personnel de laboratoire de manipuler des conteneurs pleins. Seule une petite quantité de selles est nécessaire pour le test.

- e. Fermer hermétiquement le récipient et scellez-le dans le sac en plastique fourni. Laisser le matériel absorbant dans le sac en plastique, afin que ce matériel puisse absorber toutes les substances qui pourraient s'échapper du récipient.
- f. Immédiatement après la collecte des selles, conserver le récipient pour selles dans un endroit propre et frais (par exemple dans un réfrigérateur, si disponible), en évitant l'exposition à la lumière directe du soleil. Ne pas congeler l'échantillon.
- g. Apporter l'échantillon de selles au laboratoire, de préférence le jour même du prélèvement des selles.

7.2 Préparation des échantillons de selles

1. À votre arrivée au laboratoire, noter la date et l'heure du prélèvement des selles ainsi que la date et l'heure d'arrivée des selles au laboratoire.
2. Stocker les conteneurs d'échantillon de selles dans le réfrigérateur (2-8 °C) jusqu'à ce que les tests peuvent être effectués. Idéalement, la préparation et l'analyse des échantillons doivent commencer dès que possible, et les échantillons de selles ne doivent pas être conservés plus de 5 jours au réfrigérateur ou 48 heures à température ambiante.
3. Prendre un flacon contenant 8 ml de réactif d'échantillon (flacon SR) du kit Xpert MTB/RIF (Ultra) et étiquetez-le avec l'ID patient unique.
4. Avant le test, déterminer le type de consistance de l'échantillon de selles à l'aide de l'échelle de selles Bristol 21 (voir figure 1) et le noter sur le formulaire de laboratoire. Le type de selles détermine comment manipuler les selles ; passer à l'étape suivante pour les types de selles 1 à 5 ou à l'étape 6 pour les types de selles 6 ou 7.
5. Si les selles sont de type 1 à 5 (types allant de selles plus solides à des gouttes/taches molles) (figure 1):
 - a. Utiliser la cuillère reliée au couvercle du récipient à selles, ou un bâton en bois, pour prélever une partie des selles d'environ la taille d'un ongle de pouce (cela correspond à 0,8-1 gramme ou une

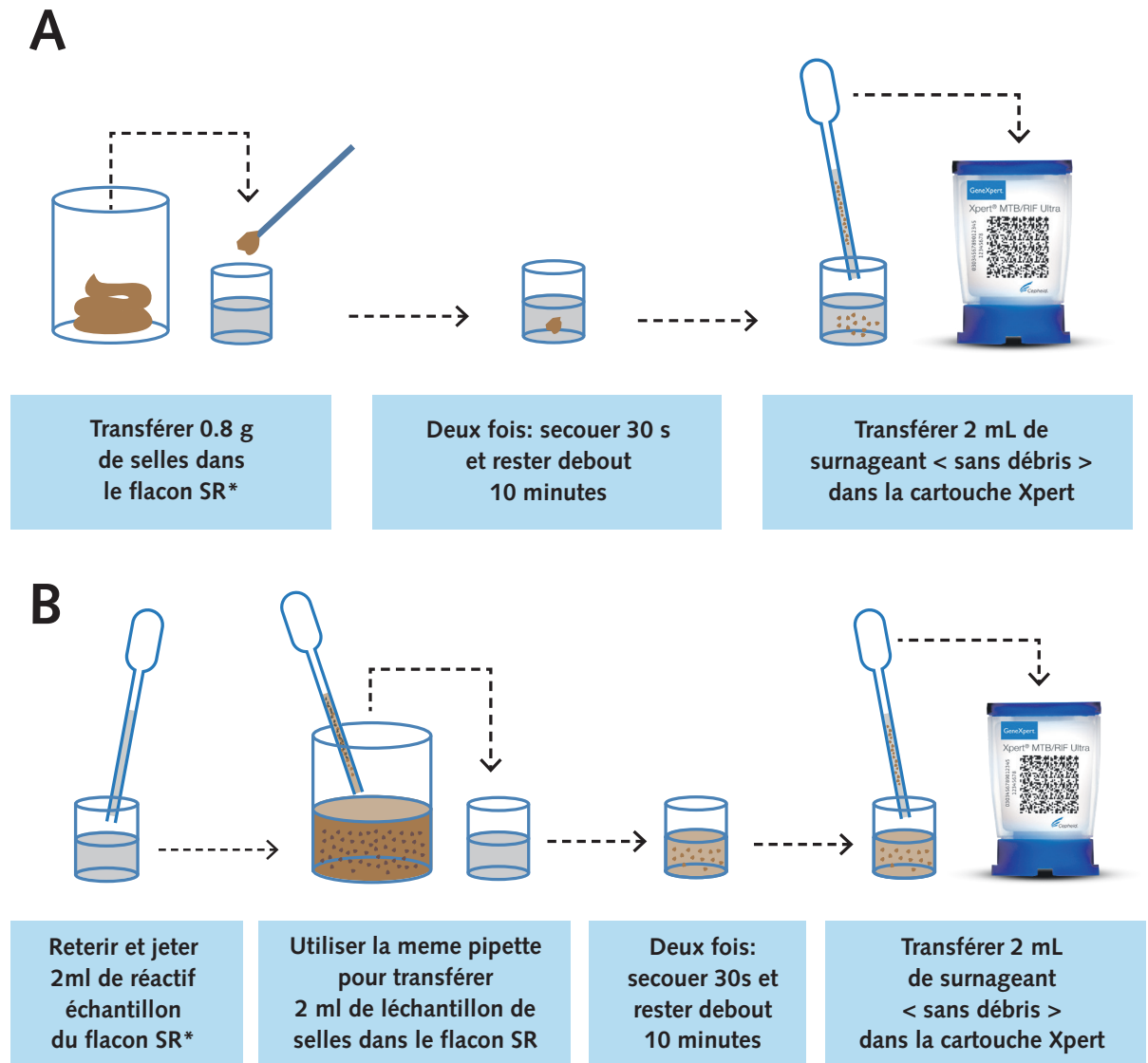


Figure 2.

Aperçu schématique de SOP pour la détection du complexe *M. tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine dans les selles en utilisant la méthode de traitement des selles SOS et le test Xpert MTB/RIF (Ultra) pour différents types de selles. Le panneau A montre la procédure pour les selles Bristol de type 1 à 5 (selles solides) et le panneau B pour les selles Bristol types 6 et 7 (selles liquides).

*Réactif d'échantillon SR (Cepheid), mélange de 8 ml d'hydroxyde de sodium (pH>12,5) avec de l'isopropanol fourni ensemble avec chaque cartouche Xpert Ultra

#Après sédimentation par gravitation des débris organiques, avec précaution - sans soulever le flacon et sans perturber la sédimentation – veuillez transférer 2 mL de la couche supérieure du surnageant « sans débris » dans la cartouche Xpert.



Figure 3.

Photographies d'exemples typiques de manipulation de selles par la méthode de traitement des selles SOS pour le test Xpert MTB/RIF. Le panneau A montre des images pour les selles Bristol de type 1 à 5 (solides); prélèvement de 0,8 g (environ 1 x 1,5 cm) soit à l'aide d'un bâton en bois (photo de gauche) soit à la cuillère d'un contenant de selles (photo du milieu) et ajout de selles dans le flacon SR à l'aide d'un bâton en bois (photo de droite). Le panneau B montre des images pour les selles Bristol de type 6 et 7 (selles liquides) ; un exemple typique (photo de gauche), aspiration de selles liquides du flacon de selles (photo du milieu) et ajout des selles dans le flacon SR (photo de droite).

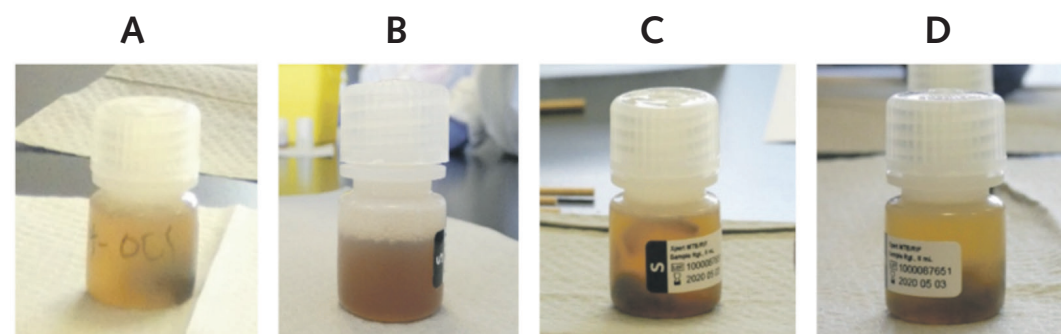


Figure 4.

Exemple de selles mélangées à un échantillon de réactif dans un flacon SR ; A) avant agitation, B) après agitation, C) après sédimentation incomplète, c'est-à-dire avec encore quelques particules solides dans le surnageant D) après sédimentation, avec un surnageant clair.

- touffe d'environ 1 sur 1,5 cm), comme indiqué sur les figures 2A et 3A, et transférez-le dans le flacon SR.
- Utiliser un bâton en bois pour retirer les selles de la cuillère ou du bâton si nécessaire (voir figure 3A).
 - Dans le cas où les selles sont de type 1 ou 2

(très dures), puis, une fois transférées dans le flacon SR, couper prudemment les selles en petits morceaux à l'aide d'une baguette en bois pour assurer une meilleure suspension dans le tampon SR. Veuillez vous assurer que l'échantillon de selles ne sort pas du SR pendant la procédure!

- Si les selles sont de type 6 ou 7 (morceaux duveteux aux bords irréguliers (selles molles) et selles aqueuses (entièrement liquides)) (figure 1), alors utiliser une pipette de transfert pour prélever 2 ml de SR du flacon de SR et le jeter. Ensuite, utiliser la même pipette pour transférer 2 ml de l'échantillon de selles dans la bouteille SR (voir les figures 2B et 3B).
- Fermer hermétiquement le couvercle du flacon SR et agiter vigoureusement le flacon pendant 30 secondes. Ne pas vortexer car cela pourrait entraîner la formation d'une suspension stable de fines particules qui pourraient ne pas bien sédimenter.
- Incuber le flacon 10 minutes à température ambiante.
- Agiter à nouveau vigoureusement le flacon pendant 30 secondes (ne pas vortexer).
- Desserrer légèrement le bouchon à vis de la bouteille SR et placer la bouteille dans une position telle que le surnageant puisse être facilement aspiré à l'étape 7.3.4.
- Laisser la bouteille reposer pendant 10 minutes à température ambiante pour permettre aux particules solides et aux débris de se déposer.
- Si les débris de selles ne se sont pas complètement sédimentés, le temps d'incubation peut être prolongé de 10 minutes supplémentaires.
- S'il reste des parties solides visibles dans le surnageant (couche supérieure) après le temps d'incubation prolongé, veuillez répéter les étapes 7 et 8 (voir figure 4).

7.3 Loading of the specimen into the Xpert MTB/RIF (Ultra) assay cartridge

Remarque: En principe, les échantillons doivent être chargés dans les cartouches Xpert MTB/RIF (Ultra) immédiatement après le traitement des échantillons et, contrairement au traitement des expectorations, il n'est pas recommandé de réutiliser la suspension SR des selles dans le flacon SR pour des tests répétés, pour éviter le risque d'aspiration de particules de la couche sédimentaire. Habituellement, il restera suffisamment d'échantillon de selles pour traiter une autre partie du même échantillon (à partir de l'étape 7.2.4).

- Étiqueter une cartouche Xpert MTB/RIF (Ultra) avec l'ID patient unique.
- Ouvrir le couvercle de la cartouche.
- Ouvrir le flacon SR contenant la suspension SR-selles. Pour éviter que des débris ne tourbillonnent, ne pas déplacer pas et ne pas soulever la bouteille SR, mais tenir soigneusement la bouteille entre vos doigts tout en la laissant sur la table.
- En utilisant une nouvelle pipette, veuillez aspirer soigneusement 2 ml du surnageant dans le flacon SR et le transférez dans la cartouche Xpert MTB/RIF (Ultra) en le distribuant lentement dans le port ouvert de la cartouche.

Important : attention à ne pas emporter de débris. Éviter de toucher les débris au fond du flacon de SR et ne pas déplacer ni soulever le flacon pendant l'aspiration du surnageant. Aspirer le surnageant à partir de la couche supérieure du surnageant et éviter les bulles d'air. Veuillez le faire comme suit :

- Appuyer assez fort sur la pipette de transfert pour pouvoir aspirer les 2 ml en une seule fois.
 - Placer la pointe de la pipette juste sous la surface de la solution contre la paroi de la bouteille et descendre lentement avec la surface tout en aspirant l'échantillon dans la pipette de transfert.
 - Si, accidentellement, des bulles d'air sont aspirées dans la pipette ou si le ballon n'a pas été suffisamment pressé pour prélever 2 mL en une seule fois, veuillez transférer alors lentement la solution dans le flacon SR, en maintenant la pointe de la pipette contre la paroi et sans soulever la bouteille de la table. Veuillez laisser la bouteille SR se reposer pendant 10 minutes pour vous assurer que la sédimentation est rétablie avant de réessayer. S'il n'est pas possible de prélever 2 ml de la couche supérieure sans inclure de débris, veuillez répéter les étapes 7 et 8 de la section précédente.
- Fermer le couvercle de la cartouche et le couvercle du flacon SR.
 - Placer la cartouche dans la machine GeneXpert et suivre les instructions du fabricant mentionnées dans la notice pour le traitement des expectorations^{14,15,22,23} ou les instructions mentionnées dans les directives opérationnelles nationales concernant le test Xpert MTB/RIF

8: Les références

1. World Health Organization. <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-3-diagnosis---rapid-diagnostics-for-tuberculosis-detection> (2020).
2. World Health Organization. [WHO operational handbook on tuberculosis. Module 3: Diagnosis - Rapid diagnostics for tuberculosis detection](#) (2020).
3. MacLean, E. et al. Diagnostic accuracy of stool Xpert MTB/RIF for detection of pulmonary tuberculosis in children: A systematic review and meta-analysis. *J. Clin. Microbiol.* 57, 1–12 (2019).
4. Mesman, A. W. et al. Diagnostic accuracy of molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* in pediatric stool samples: A systematic review and meta-analysis. *Tuberculosis* 119, 101878 (2019).
5. Mazidur Rahman, S. M. et al. Evaluation of xpert MTB/RIF assay for detection of *Mycobacterium tuberculosis* in stool samples of adults with pulmonary tuberculosis. *PLoS One* 13, 1–12 (2018).
6. Nicol, M. P. et al. Xpert MTB/RIF testing of stool samples for the diagnosis of pulmonary tuberculosis in children. *Clin. Infect. Dis.* 57, 18–21 (2013).
7. Marcy, O. et al. Performance of Xpert MTB/RIF and alternative specimen collection methods for the diagnosis of tuberculosis in HIV-Infected children. *Clin. Infect. Dis.* 62, 1161–1168 (2016).
8. Banada, P. P. et al. A novel sample processing method for rapid detection of tuberculosis in the stool of pediatric patients using the Xpert MTB/RIF assay. *PLoS One* 11, 1–13 (2016).
9. Welay, S. H. et al. Stool as appropriate sample for the diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* by GeneXpert test. *Open J. Respir. Dis.* 04, 83–89 (2014).
10. Walters, E. et al. Molecular detection of *Mycobacterium tuberculosis* from stools in young children by use of a novel centrifugation-free processing method. *J. Clin. Microbiol.* 56, 1–13 (2018).
11. Lounnas, M. et al. Laboratory development of a simple stool sample processing method diagnosis of pediatric tuberculosis using Xpert Ultra. *Tuberculosis* 125, 102002 (2020).
12. Andriyoko, B. et al. Simple stool processing method for the diagnosis of pulmonary tuberculosis using GeneXpert MTB/RIF. *Eur. Respir. J.* 53, 30–32 (2019).
13. de Haas, P. & et al. The Simple One-Step (SOS) stool processing method for use with the Xpert MTB/RIF assay for a child-friendly diagnosis of tuberculosis closer to the point-of-care. Submitted for publication (2021).
14. Cepheid. Xpert MTB/RIF package insert.
15. Cepheid. Xpert MTB/RIF Ultra package insert. vols 301-5987 (2019).
16. Helb, D. et al. Rapid Detection of *Mycobacterium tuberculosis* and rifampin resistance by use of on-demand, near-patient technology. 48, 229–237 (2010).
17. Cepheid. GeneXpert quality controls for all Cepheid assays. vols D15044, Re.
18. World Health Organization. WHO meeting report of a technical expert consultation: non-inferiority analysis of Xpert MTB/RIF Ultra compared to Xpert MTB/RIF (2017).
19. Chakravorty, S. et al. The new Xpert MTB/RIF ultra: Improving detection of *Mycobacterium tuberculosis* and resistance to rifampin in an assay suitable for point-of-care testing. *MBio* 8, 1–12 (2017).
20. [Cepheid. Xpert MTB/RIF \(Ultra\) material safety data sheet.](#)
21. Lewis, S. J. & Heaton, K. W. Stool form scale as a useful guide to intestinal transit time. *Scand. J. Gastroenterol.* 32, 920–924 (1997).
22. Bodmer, T. & Ströhle, A. Diagnosing pulmonary tuberculosis with the Xpert MTB/RIF test. *J. Vis. Exp.* 1–6 (2012) doi:10.3791/3547.
23. [Cepheid. GeneXpert DX system operator manual, software version 6.1 \(2019\).](#)