



Projet de validation des TAAN pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* à partir de prélèvements extra-génitaux

Volet 1 – analyse de la compatibilité des milieux de conservation et de transport des différentes trousse commerciales

RAPPORT

Projet de validation des TAAN pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* à partir de prélèvements extra-génitaux

Volet 1 – analyse de la compatibilité des milieux de conservation et de transport des différentes trousses commerciales

RAPPORT

Laboratoire de santé publique du Québec

Octobre 2015

AUTEURS

Donald Murphy, Ph.D.

Jean Longtin, Pharm. D., M.D.

Cécile Tremblay, M.D.

Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Annie-Claude Labbé, M.D.

CIUSSS de l'Est de l'Île de Montréal, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Isabelle Tétrault, M.D.

CHU de Québec, Hôpital de l'Enfant-Jésus

Claude Fortin, M.D.

CHUM, Hôpital Notre-Dame

Catherine Riberdy, M.D.

Jean-Guy Levreault, M.D.

CISSS des Laurentides

AVEC LA COLLABORATION DE

Brigitte Lefebvre, Ph.D.

Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

ET AVEC LA COLLABORATION DES AUTRES MEMBRES DU CALI

Membres du CALI (annexe 1)

MISE EN PAGES

Kim Bétournay, agente administrative

Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

REMERCIEMENTS

Martine Morin, technologiste de laboratoire

Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Nous remercions les entreprises pour leur soutien financier et collaboration à la réalisation de cette étude :

Abbott Molecular Inc. (RealTime CT/NG)

Becton Dickinson (BD ProbeTec™ ET CT/GC, BD ProbeTec™ CT/GC Qx)

Cepheid (Xpert® CT/NG)

Hologic Gen-Probe Inc. (Test APTIMA COMBO 2®)

Roche Molecular Diagnostics (Cobas® 4800 CT/NG Test)

Table des matières

Liste des tableaux	III
1 Introduction	1
2 Objectifs de l'étude	3
3 Méthodologie	5
4 Résultats	7
4.1 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Aptima Combo 2 (Hologic Gen-Probe Inc.).....	7
4.2 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Cobas 4800 (Roche Molecular Diagnostics)	8
4.3 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur BD ProbeTec ET (Becton Dickinson)	10
4.4 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur BD ProbeTec Qx avec le système Viper (Becton Dickinson).....	11
4.5 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur RealTime (Abbott)	12
4.6 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Xpert (Cepheid)	13
4.7 Compatibilité des milieux de conservation et de transport entre trousses.....	14
5 Discussion	17
Références	19
ANNEXE 1 Liste des membres du CALI (en ordre alphabétique)	21

Liste des tableaux

Tableau 1	Combinaison des milieux de conservation et de transport à évaluer sur les différentes trousse analytiques	5
Tableau 2	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur Aptima Combo 2	7
Tableau 3	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant un volume équivalent du milieu Aptima Combo 2 et différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé avec la trousse Aptima Combo 2	8
Tableau 4	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant un volume équivalent du milieu Cobas 4800 et différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé avec la trousse Cobas 4800	9
Tableau 5	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sans ajout du milieu Cobas 4800	9
Tableau 6	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur Cobas 4800	10
Tableau 7	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur BD ProbeTec ET	11
Tableau 8	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur BD ProbeTec Qx avec système Viper.. ..	12
Tableau 9	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur RealTime	13
Tableau 10	Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de <i>N. gonorrhoeae</i> analysé sur Xpert	14
Tableau 11	Résumé de la compatibilité les divers milieux de conservation avec chaque trousse	14

1 Introduction

Les trousse commerciales de tests d'amplification des acides nucléiques (TAAN) disponibles pour la détection de *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* ne sont homologuées par Santé Canada que pour les spécimens génitaux. Toutefois, plusieurs études ont démontré une sensibilité supérieure des TAAN pour les sites extra-génitaux, en comparaison avec la culture de *N. gonorrhoeae* (1-4). En ce qui concerne la recherche de *C. trachomatis*, il a été démontré, dans des populations à risque élevé tels les hommes ayant des relations sexuelles avec d'autres hommes, que le nombre d'infections détectées était plus important lorsque les prélèvements rectaux étaient analysés comparativement aux prélèvements urinaires (ou urétraux) seuls (1-4).

Un sondage réalisé à l'automne 2012 auprès des laboratoires de microbiologie cliniques de la province de Québec indique que 40 laboratoires offraient la recherche de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* par TAAN. Ce sondage a également relevé que l'absence d'homologation pour les spécimens extra-génitaux représentait une barrière au dépistage de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* à partir des sites extra-génitaux : plus du tiers des laboratoires rejetaient ces échantillons.

Au Québec, 6 trousse de 5 fabricants peuvent être utilisées par les laboratoires cliniques pour la détection de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* par TAAN. Ces trousse sont Test APTIMA COMBO 2[®] (Hologic Gen-Probe Inc.), BD ProbeTec[™] ET CT/NG (Becton Dickinson), BD ProbeTec[™] CT/GC Qx (Becton Dickinson), Cobas[®] 4800 CT/NG Test (Roche Molecular Diagnostics), RealTime CT/NG (Abbott Molecular Inc.) et Xpert[®] CT/NG (Cepheid). Chacune de ces trousse possède un milieu de conservation et de transport de prélèvement qui lui est propre. **Un milieu de conservation et de transport d'une trousse n'est pas forcément compatible avec les autres trousse de détection de *C. trachomatis* et/ou *N. gonorrhoeae*.**

Les lignes directrices en matière de procédures de laboratoires stipulent qu'une validation locale doit être effectuée pour les analyses qui ne sont pas homologuées (5, 6). En octobre 2013, dans un rapport de l'INSPQ, les membres du Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) recommandaient l'utilisation du TAAN pour le dépistage de *C. trachomatis* et *N. gonorrhoeae* à partir d'un prélèvement rectal ou pharyngé (7). Toutefois, étant donné que la détection par TAAN à partir de ces types de spécimens n'est pas homologuée par Santé Canada et qu'il n'existe pas d'étalon d'or pour la confirmation des tests, le CALI était d'avis qu'une stratégie de validation provinciale des résultats positifs devait être effectuée.

2 Objectifs de l'étude

Le but de cette étude est de procéder à la validation des résultats TAAN positifs à partir de prélèvements de gorge et de rectum par leur analyse sur une trousse d'un fabricant différent. Cette validation sera effectuée en deux volets :

- **Volet 1** : analyse de la compatibilité des milieux de conservation et de transport de prélèvement entre fabricants;
- **Volet 2** : validation des résultats TAAN positifs de prélèvements de gorge et de rectum par l'analyse de l'échantillon sur une trousse d'un autre fabricant dont le milieu de transport et de conservation aura été trouvé compatible (volet 1).

Le présent document rapporte les résultats du premier volet de ce projet dont les objectifs spécifiques sont :

1. Pour chacun des milieux de conservation et de transport de prélèvement, déterminer si le TAAN pour la détection de *N. gonorrhoeae* réalisée à partir d'une trousse commerciale différente est aussi sensible que celle réalisée avec la trousse du même fabricant;
2. Évaluer, de façon sommaire, la spécificité des différentes trousses en réalisant un TAAN à partir de deux milieux contenant des *Neisseria* autres que *N. gonorrhoeae*.

Nous voulons établir clairement que les observations tirées de ce rapport et des tableaux de résultats ne doivent pas être interprétées comme un jugement de valeur sur la qualité des trousses commerciales utilisées.

3 Méthodologie

La validation des différents milieux de transport et de conservation a été établie à partir d'une souche de *N. gonorrhoeae* (ATCC 49226) et de 2 isolats non-gonococciques de *Neisseria* soit *N. cinerea* (ATCC 14685) et *N. perflava* (ATCC 14799). Nous présumons que les résultats obtenus pour *N. gonorrhoeae* sur la compatibilité des milieux de conservation et de transport s'appliquent également à *C. trachomatis*. La préparation des souches et l'ensemencement des milieux ont été effectués au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ). Les milieux de conservation et de transport ont été fournis par les fabricants.

Les divers milieux de conservation et de transport ont été ensemencés par l'ajout de dilutions successives à raison de 1:10 de *N. gonorrhoeae* fraîchement préparés dans un bouillon Muller-Hinton (MH) avec des concentrations finales variant de 1×10^6 à 1×10^0 unités formatrices de colonie (UFC)/ml. Deux tubes de chaque milieu de conservation ont été ensemencés pour chaque dilution. Chacun des tubes a été analysé une fois. Le résultat correspond à la moyenne des 2 valeurs, à moins d'indications contraires. Lors de discordance dans l'interprétation du résultat entre les 2 valeurs (exemple : positif/négatif), celles-ci sont rapportées individuellement. Le décompte a été confirmé à posteriori par étalement de l'inoculum sur gélose chocolat suivie d'une incubation à 35°C en présence de 5% de CO₂ pendant au moins 24 heures.

Les 2 isolats non-gonococcique, soit *N. cinerea* et *N. perflava*, ont été analysés à une concentration finale d'environ 1×10^6 UFC/ml en duplicata. Ceci a permis d'évaluer si les diverses trousses génèrent des réactions croisées avec ces espèces de *Neisseria*.

Les milieux de conservation et de transport ensemencés ont été maintenus au réfrigérateur (2-8 °C) et envoyés aux différents sites participants sur sachet de glace. Les échantillons aux différents sites ont été entreposés au réfrigérateur en attendant que l'analyse soit effectuée.

La compatibilité de chaque milieu a été évaluée sur les autres trousses telles que présentées au tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 Combinaison des milieux de conservation et de transport à évaluer sur les différentes trousses analytiques

	Aptima Combo 2	Cobas 4800	ProbeTec		RealTime	Xpert CT/NG
			ET	Qx Viper		
Aptima Combo 2		X	X	X	X	X
Cobas 4800	X		X	X	X	X
ProbeTec – ET	X	X			X	X
ProbeTec - Qx Viper	X	X			X	X
RealTime	X	X	X	X		X
Xpert CT/NG	X	X	X	X	X	

Les analyses ont été effectuées par des établissements dont l'équipement analytique était déjà en place, soit :

- Centre de santé et de services sociaux de Saint-Jérôme – APTIMA COMBO 2 et Xpert CT/NG;
- CHU de Québec, Hôpital de l'Enfant-Jésus – ProbeTec ET;
- CHUM; Hôtel-Dieu de Montréal – ProbeTec Qx sur le système BD Viper;
- Hôpital Maisonneuve-Rosemont – Cobas 4800 CT/NG;
- LSPQ – RealTime CT/NG.

4 Résultats

4.1 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Aptima Combo 2 (Hologic Gen-Probe Inc.)

Le tableau 2 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur Aptima Combo 2 (AC2). Le test APTIMA Combo 2 fait appel aux technologies de capture de cible, de la TMA (*transcription-mediated amplification*), et du DKA (*dual kinetic assay*). Pour cette étude, 255 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 2,8 ml de chaque milieu de conservation.

La trousse Aptima Combo 2 s'est avérée plus sensible à partir de son propre milieu de conservation, comparativement au milieu de conservation des autres trousse, soit une dilution plus sensible que le milieu Xpert, une à deux dilutions plus sensibles que le milieu RealTime et deux dilutions plus sensibles que les milieux Cobas 4800, ProbeTec ET et ProbeTec Qx.

Tableau 2 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur Aptima Combo 2

Dilution	Nb. UFC /ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats (URL) [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	1 500 000	1329*	1303	1281	1302	1341	1351
2	150 000	1350*	1289	1319	1299	1318	1304
3	15 000	1395*	1318	1285	1262	1356	1312
4	1 500	1314*	1328	1051	1108	1347	1328
5	150	1339*	1056	329	533	953	1284
6	15	1255	Équivoque/Nég [‡]	Nég	Équivoque	362/Nég	1146
7	1,5	881	Nég	Équi	Nég	Nég	Nég

[†] Unités relatives de lumière (URL).

* Valeur d'un résultat seulement.

[‡] Nég, négatif.

Dans le but d'explorer si la sensibilité était affectée par le diluant utilisé, un volume équivalent du milieu Aptima Combo 2 a été ajouté aux autres milieux sur certaines concentrations de *N. gonorrhoeae*. Pour cette étude, 255 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à un milieu combiné constitué de 1,4 ml de milieu du fabricant et 1,4 ml de milieu Aptima Combo 2. Cette étude a été réalisée sur les dilutions 1, 3 et 5 (tableau 3). L'ajout du milieu Aptima Combo 2 à ceux du Cobas 4800 et RealTime a eu l'effet contraire, soit d'inhiber la détection de *N. gonorrhoeae*. L'ajout du milieu Aptima Combo 2 à celui du Xpert n'a pas eu d'effet sur la détection aux dilutions évaluées de *N. gonorrhoeae*. L'ajout du Aptima Combo 2 à ceux du ProbeTec ET et ProbeTec Qx a donné des valeurs RLU plus élevées que celles obtenues sans l'ajout de milieu Aptima Combo 2 à la dilution 5. Il peut être présumé que l'ajout d'un volume équivalent d'Aptima Combo 2 à ceux des milieux ProbeTec pourrait augmenter la sensibilité de détection. Il ne s'agit que d'une supposition étant donné que la dilution 6 n'a pas été évaluée.

Tableau 3 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant un volume équivalent du milieu Aptima Combo 2 et différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé avec la trousse Aptima Combo 2

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats (URL) [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	1 500 000	1329*	Nég‡	1317	1309	1387	1319
3	15 000	1395*	Nég	1286	1372	Nég	1290
5	150	1339*	Nég	1317	1272	Nég	1212

[†] Unités relatives de lumière (URL).

* Valeur d'un résultat seulement.

‡ Nég, négatif.

Aptima Combo 2 n'a pas détecté la présence de *N. cinerea* à une concentration de 835 000 UFC/ml, ni de *N. perflava* à une concentration de 317 000 UFC/ml.

4.2 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Cobas 4800 (Roche Molecular Diagnostics)

Le tableau 4 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysés sur Cobas 4800. Le test Cobas 4800 allie les technologies de capture de cible et de la PCR (*polymerase chain reaction*) avec détection en temps réel. Pour cette étude, 200 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 2,0 ml de milieu de conservation. Le milieu de conservation était constitué de 1 ml de milieu du fabricant et de 1 ml de milieu Cobas 4800. Un volume équivalent du milieu Cobas 4800 a été ajouté au milieu des autres fabricants selon les recommandations de Roche qui évalue que certains des milieux seraient non compatibles avec leur trousse.

La trousse Cobas 4800 a démontré une sensibilité similaire avec tous les milieux de conservation à l'exception du milieu de conservation ProbeTec Qx. Le milieu de conservation ProbeTec Qx s'est avéré une dilution moins sensible que les autres milieux de conservation.

Tableau 4 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant un volume équivalent du milieu Cobas 4800 et différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé avec la trousse Cobas 4800

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats (Ct) [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	1 640 000	23,2	22,5	22,2	24,5	22,3	22,0
2	164 000	26,8	25,9	25,3	28,6	25,6	25,3
3	16 400	29,8	29,0	29,2	31,5	29,1	28,5
4	1 640	34,2	32,3	33,1	35,4	32,5	31,9
5	164	36,4	35,4	35,9	40,7	35,4	35,6
6	16,4	39,2	39,1	38,1	Nég	39,0	37,8
7	1,64	Nég [‡]	Nég	Nég	Nég	39,4/Nég	40,4/Nég

[†] Valeur Ct, *cycle threshold* de la fluorescence.

[‡] Nég, négatif.

Nous avons également analysé la compatibilité de la trousse Cobas 4800 avec les milieux de conservation des autres fabricants sans l'ajout d'un volume équivalent de milieu Cobas 4800. Cette étude a été réalisée uniquement sur les dilutions 1, 3 et 5 (tableau 5).

Les valeurs Ct obtenu avec les milieux RealTime et Xpert indiquent que l'ajout d'un volume équivalent de milieux Cobas 4800 à ces derniers ne serait pas requis. Les valeurs de Ct obtenus avec les milieux Aptima Combo 2 et ProbeTec ET sans ajout de milieu Cobas 4800 indiquent une moins bonne sensibilité de la trousse Cobas 4800 comparativement à l'ajout d'un volume équivalent de milieu Cobas 4800. L'absence d'ajout d'un volume équivalent de milieu Cobas 4800 au milieu ProbeTec Qx semble avoir amélioré la sensibilité de la détection, mais la valeur de Ct à la dilution 5 indique néanmoins une baisse de sensibilité par rapport aux autres milieux. Malgré la baisse de sensibilité indiquée par les valeurs de Ct avec les milieux ProbeTec ET et ProbeTec Qx sans ajout de milieu Cobas 4800, ces dernières génèrent des résultats positifs à une dilution près du milieu Cobas 4800.

Tableau 5 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sans ajout du milieu Cobas 4800

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	1 640 000	30,6	22,5	25,3	23,2	22,0	22,4
3	16 400	40,0	29,0	31,8	29,3	28,8	29,1
5	164	Nég [‡]	35,4	39,2	38,4	35,9	36,0

[†] Valeur Ct, *cycle threshold* de la fluorescence.

[‡] Nég, négatif.

Suite aux résultats obtenus, nous avons évalué la compatibilité du milieu de conservation RealTime et Xpert sans ajout de milieu Cobas 4800 sur toutes les dilutions. Pour cette étude, 200 µl d'une autre préparation bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 2,0 ml de milieu de conservation RealTime et Xpert. Le tableau 6 démontre que la trousse Cobas 4800 est compatible avec les milieux RealTime et Xpert sans ajout de milieu Cobas 4800. Une limite de cette étude est que cette nouvelle préparation bactérienne n'a pas été analysée avec le milieu Cobas 4800. Toutefois, les valeurs de Ct observées sont comparables à celles obtenues avec l'ajout du milieu Cobas 4800 (voir tableau 4).

Tableau 6 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur Cobas 4800

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Abbott RealTime	Cepheid Xpert
1	2 640 000	22,4 [†]	21,4
2	264 000	25,3	24,9
3	26 400	29,0	28,4
4	2 640	34	31,9
5	264	35,6	35,6
6	26,4	39,2	38,5
7	2,64	41,1/Nég [‡]	40,4/Nég

[†] Valeur Ct, *cycle threshold* de la fluorescence.

[‡] Nég, négatif.

Cobas 4800 n'a pas détecté la présence de *N. cinerea* à une concentration de 909 000 UFC/ml et de *N. perflava* à une concentration de 345 000 UFC/ml.

4.3 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur BD ProbeTec ET (Becton Dickinson)

Le tableau 7 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysés sur ProbeTec ET. Le test ProbeTec ET allie les technologies de capture de cible et de la SDA (*strand displacement amplification*). Pour cette étude, 200 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 2,0 ml de chaque milieu de conservation.

La trousse ProbeTec ET ne s'est avérée compatible qu'avec son propre milieu de conservation. Les milieux de conservation des autres trousse, incluant le milieu ProbeTec Qx, ont tous eu un effet d'inhibition de l'amplification.

Tableau 7 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur BD ProbeTec ET

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	2 450 000	Inh	Inh	28281	2169/Nég	Inh	Inh
2	245 000	Inh	Inh	29777	9493/Nég	Inh	Inh
3	24 500	Inh	Inh	26238	8748/Inh	Inh	Inh
4	2 450	Inh	Inh	19203	Nég/Inh	Inh	Inh
5	245	Inh	Inh	4339	Nég/Inh	Inh	Inh
6	24,5	Inh	Inh	Nég	Nég/Inh	Inh	Inh
7	2,45	Inh	Inh	Nég	Inh	Inh	Inh

[†] Unités relatives de fluorescence.

[‡] Nég, négatif.

ProbeTec ET n'a pas détecté la présence de *N. cinerea* à une concentration de 1 180 000 UFC/ml et de *N. perflava* à une concentration de 354 000 UFC/ml.

4.4 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur BD ProbeTec Qx avec le système Viper (Becton Dickinson)

Le tableau 8 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysés sur ProbeTec Qx avec système Viper. Le test ProbeTec Qx fait appel aux technologies de capture de cible et de la SDA (*strand displacement amplification*). Pour cette étude, 200 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 2,0 ml de chaque milieu de conservation.

La trousse ProbeTec Qx avec le système Viper s'est avérée compatible avec tous les milieux de conservation à l'exception du milieu de conservation Aptima Combo 2. En effet, même aux concentrations les plus élevées de *N. gonorrhoeae*, un résultat négatif a été obtenu sur le milieu Aptima Combo 2. La trousse ProbeTec Qx s'est avérée une à deux dilutions moins sensibles avec son propre milieu de conservation comparativement au milieu de conservation Cobas 4800, RealTime et Xpert.

Tableau 8 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur BD ProbeTec Qx avec système Viper

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	1 640 000	Nég [‡]	1393	1651	1161	870	1688
2	164 000	Nég	1737	865	1656	1215	1448
3	16 400	Nég	1591	1291	2042	1706	1408
4	1 640	Nég	1581	1833	1478	2085	1818
5	164	Nég	1830	1973	1961	1598	2089
6	16,4	Nég	1582	971	1154/Nég	1012	1766
7	1,64	Nég	1351/Nég	Nég	Nég	1112	1996

[†] MaxRFU (nombre maximum d'unités relatives de fluorescence).

[‡] Nég, négatif.

Une réaction croisée avec *N. cinerea* de *N. perflava* n'a pu être évaluée pour la trousse ProbeTec Qx, cette dernière n'était plus en utilisation au CHUM au moment de la préparation de ces souches bactériennes.

4.5 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur RealTime (Abbott)

Le tableau 9 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysés sur RealTime. Le test RealTime fait appel aux technologies de capture de cible et de la PCR en temps réel. Pour cette étude, 100 µl d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH ont été ajoutés à 1,2 ml de chaque milieu de conservation.

La trousse RealTime s'est avérée compatible avec tous les milieux de conservation à l'exception du milieu de conservation ProbeTec Qx. En effet, pour le milieu de conservation ProbeTec Qx la valeur du cycle delta (CD) s'est avérée plus basse aux dilutions 1 et 2 comparativement à la valeur obtenue avec les autres milieux et a inhibé la réaction d'amplification aux dilutions 3 à 7.

Tableau 9 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur RealTime

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport – moyenne de 2 résultats [†]					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	2 920 000	19,27	18,14	18,11	5,45	16,14	18,56
2	292 000	15,29	14,37	14,33	3,28	12,87	14,46
3	29 200	12,00	11,43	10,93	Inh [‡]	9,30	10,86
4	2 920	8,77	7,85	7,49	Inh	5,62	7,73
5	292	5,32	4,19	4,17	Inh	2,67	4,47
6	29,2	1,67	1,12	0,2/Nég	Inh	0,35/Nég	1,40
7	2,92	Nég [‡]	Nég	0,3/Nég	Inh	Nég	0,2/Nég

[†] Le résultat numérique (Cycle Delta ou CD) correspond à la différence entre le nombre de cycles de la valeur seuil (-40) et le nombre de cycles de l'échantillon.

[‡] Nég, négatif; Inh, inhibition.

RealTime n'a pas détecté la présence de *N. cinerea* à une concentration de 508 000 UFC/ml et de *N. perflava* à une concentration de 231 000 UFC/ml.

4.6 Compatibilité des milieux de conservation analysés sur Xpert (Cepheid)

Le tableau 10 présente les résultats obtenus des divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysés sur Xpert. Le test Xpert combine à bord l'extraction de l'acide nucléique et la PCR en temps réel. Pour cette étude, un volume de 10% d'une suspension bactérienne dans un bouillon MH a été ajouté à chaque milieu de conservation (exemple, 200 µl dans 2 ml).

La trousse Xpert s'est avérée compatible avec tous les milieux de conservation à l'exception du milieu de conservation Aptima Combo 2. En effet, un résultat invalide ou avec mention d'une erreur a été obtenu pour toutes les dilutions à l'exception d'un résultat positif obtenu pour un des 2 tests à la dilution 3. Curieusement, un résultat négatif a été obtenu à la dilution 4 avec le milieu ProbeTec Qx alors que les analyses aux autres dilutions étaient positives à l'exception de la dilution 7.

Tableau 10 Résultats obtenus pour les divers milieux de conservation contenant différentes concentrations de *N. gonorrhoeae* analysé sur Xpert

Dilution	Nb. UFC dans 1 ml	Milieu de conservation et de transport†					
		GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
				ET	Qx		
1	2 600 000	Inv*	Pos	Pos/Err‡	Pos	Pos	Pos
2	260 000	Inv	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
3	26 000	Pos/Err	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
4	2 600	Inv	Pos	Pos	Pos/Nég	Pos	Pos
5	260	Inv/Err	Pos	Pos	Pos	Pos	Pos
6	26	Inv	Pos	Pos/Nég	Pos	Pos	Pos
7	2,6	Inv	Pos/Inv	Inv	Inv	Pos/Inv	Nég

† Le résultat correspond à celui obtenu sur les deux analyses. Les discordances sont indiquées.

* Inv, invalide; Pos, positif, Nég, négatif.

‡ Un résultat Erreur (Err) indique que la validation de la sonde (*Probe Check Control*) n'a pas réussi et que le test a été interrompu, peut-être en raison du remplissage incorrect du tube réactionnel, de la détection d'un problème d'intégrité de la sonde de réactif, du dépassement des limites de pression ou de la détection d'une erreur de positionnement de vanne.

Xpert n'a pas détecté la présence de *N. cinerea* à une concentration de 1 180 000 UFC/ml et de *N. perflava* à une concentration de 354 000 UFC/ml dans son propre milieu de conservation.

4.7 Compatibilité des milieux de conservation et de transport entre trousses

Le tableau 11 résume la compatibilité des milieux de conservation et de transport entre les trousses des différents fabricants. Un milieu de conservation a été jugé compatible s'il présentait un résultat positif à ± 1 dilution comparativement au milieu spécifique à chaque trousse, incompatible s'il présentait un résultat moins sensible de > 2 dilutions et compatible, mais avec une sensibilité réduite s'il présentait un résultat moins sensible de > 1 à ≤ 2 dilutions.

Tableau 11 Résumé de la compatibilité les divers milieux de conservation avec chaque trousse

Appareil et trousse	Milieu de conservation et de transport†					
	GenProbe AC2	Roche Cobas 4800	BD ProbeTec		Abbott RealTime	Cepheid Xpert
			ET	Qx		
GenProbe AC2	-	SR	SR	SR	SR	C
Roche Cobas 4800 avec ajout milieu Roche	C	-	C	C	C	C
Roche Cobas 4800 sans ajout milieu Roche	I	-	C	C	C	C
BD ProbeTec ET	I	I	-	I	I	I
BD ProbeTec Qx	I	C	C	-	C	C
Abbott RealTime	C	C	C	I	-	C
Cepheid Xpert	I	C	C	C	C	-

†C, compatible; SR, compatible avec sensibilité réduite; I, incompatible.

Ces résultats indiquent que les trousse Cobas 4800, ProbeTec Qx, RealTime et Xpert sont compatibles avec 4 des 5 différents milieux de conservation. La trousse 4800 est compatible avec les 5 milieux de conservation si on leur ajoute du milieu de transport de la compagnie Roche. Les trousse Cobas 4800 (sans ajout de milieu), ProbeTec Qx et Xpert se sont avérées incompatibles avec le milieu Aptima Combo 2 tandis que la trousse RealTime s'est avérée incompatible avec le milieu ProbeTec Qx. Le milieu de conservation de la trousse Aptima Combo 2 n'est compatible qu'avec les trousse RealTime et Cobas 4800 (avec ajout de milieu) tandis que le milieu BD ProbeTec Qx n'est compatible qu'avec les trousse Xpert et Roche (avec ajout de milieu). La trousse BD ProbeTec ET n'est pas compatible avec les milieux de conservation des autres trousse.

5 Discussion

Cette étude nous a permis d'évaluer la compatibilité des milieux de conservation et de transport de prélèvement entre fabricants. Les résultats révèlent une variabilité de compatibilité des milieux entre les trouses. En effet, un milieu (Aptima Combo 2) s'est avéré compatible qu'avec une seule autre trousse (RealTime) tandis que d'autres milieux se sont avérés compatibles avec plusieurs trouses. De plus, une des trouses (BD ProbeTec ET) n'était pas compatible avec les milieux des autres trouses.

Pour la trousse Cobas 4800, bien que celle-ci se soit avérée compatible avec tous les autres milieux suite à l'ajout d'un volume équivalent de son propre milieu, cette pratique sur des échantillons clinique aura pour effet de diminuer la concentration de *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae* de moitié.

Des études ont démontré que certaines trouses peuvent détecter des espèces commensales de *Neisseria* pouvant être retrouvées dans des échantillons pharyngés, telles que *N. cinerea* et *N. perflava*, générant ainsi des résultats faussement positifs (2, 3, 8). Dans notre étude aucune réaction croisée n'a été obtenue pour ces isolats avec les diverses trouses. La trousse ProbeTec Qx n'a pu être évaluée à cet égard. Il faut être prudent dans l'interprétation de ces données, car dans les études citées ci-dessous seulement certains isolats de *N. cinerea* et *N. perflava* avaient généré des réactions croisées.

Les résultats de cette étude serviront pour le deuxième volet dans lequel nous proposons de valider les résultats *C. trachomatis*/*N. gonorrhoeae* TAAN positifs de prélèvement de gorge et de rectum par l'analyse de l'échantillon sur une trousse d'un autre fabricant dont le milieu aura été trouvé des plus compatibles. Les laboratoires qui réalisent la recherche de *N. gonorrhoea* et de *C. trachomatis* à partir de prélèvements de gorge et de rectum sont sollicités pour participer à cette étude. Les prélèvements trouvés positifs par les laboratoires participants seront envoyés au LSPQ pour être codés et ensuite acheminés à un des laboratoires choisis pour la validation du résultat positif. Ce laboratoire utilisera une trousse différente dont le milieu de conservation aura été trouvé compatible.

Références

1. Bachmann LH, Johnson RE, Cheng H, Markowitz L, Papp JR, Palella FJ Jr, Hook EW 3rd. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* rectal infections. *J Clin Microbiol* 2010;48:1827-1832.
2. Bachmann LH, Johnson RE, Cheng H, Markowitz L, Papp JR, Hook EW 3rd. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* oropharyngeal infections. *J Clin Microbiol* 2009;47:902-907.
3. Ota KV, Tamari IE, Smieja M, Jamieson F, Jones KE, Towns L, Juzkiw J, Richardson SE. Detection of *Neisseria gonorrhoeae* and *Chlamydia trachomatis* in pharyngeal and rectal specimens using the BD ProbeTec ET system, the Gen-Probe Aptima Combo 2 assay and culture. *Sex Transm Infect* 2009;85:182-186.
4. Lowe P, Dubedat S, Turra M. Performance of the Hologic Gen-Probe APTIMA Assays and PANTHER instrumentation for the confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* in genital and non-genital samples. 20th meeting of the ISSTDR. 2013;P2.001.
5. Burd EM. Validation of laboratory-developed molecular assays for infectious diseases. *Clin Microbiol Rev* 2010;23:550-576.
6. Wallace PS, MacKay WG. Quality in the molecular microbiology laboratory. In: Mark Wilks (ed) *PCR detection of microbial pathogens: Second edition, methods in molecular biology*, 2013;943:49-79.
7. Tétrault I, Trudelle A, Labbé AC, Venne S, Charest L. Analyses de laboratoire recommandées lors du dépistage des infections à *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*. Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Octobre 2013.
8. Tabrizi SN, Unemo M, Limnios AE, Hogan TR, Hjelmevoll SO, Garland SM, Tapsall J. Evaluation of six commercial nucleic acid amplification tests for detection of *Neisseria gonorrhoeae* and other *Neisseria* species. *J Clin Microbiol* 2011;49:3610-3615.

ANNEXE 1

Liste des membres du CALI (en ordre alphabétique)

Isabelle Alarie, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUS Hôpital Fleurimont

Louise Charest, omnipraticienne, Clinique médicale l'Actuel

Marc Dionne (membre d'office), directeur scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Patrick Dolcé, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital régional de Rimouski

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUM Hôpital Notre-Dame

Éric Frost, microbiologiste, Université de Sherbrooke

Lise Guérard (membre d'office), chef de service, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI, Hôpital Maisonneuve-Rosemont

Diane Lambert, médecin-conseil, Direction de santé publique des Laurentides

Gilles Lambert, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital général de Montréal

Brigitte Lefebvre, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

France Morin, omnipraticienne, CLSC la Pommeraie

Donald Murphy, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Raymond Parent (membre d'office), chef d'unité scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Marc Steben, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus

Cécile Tremblay (membre d'office), directrice scientifique (jusqu'en mai 2015), Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI, Institut national de santé publique du Québec

Sylvie Venne, médecin-conseil, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Karl Weiss (membre d'office), médecin microbiologiste-infectiologue, président de l'AMMIQ

www.inspq.qc.ca