

FAUT-IL CONTRÔLER LES TESTS MOLECULAIRES DE DETECTION DE NEISSERIA GONORRHOEAE DANS LES PRELEVEMENTS ANAUX ET OROPHARYNGES ?

Day N.⁽¹⁾, Trombert-Paolantoni S.⁽²⁾, Ohayon M.⁽³⁾, Grandvoinet L.⁽¹⁾, Hedbaut E.⁽²⁾, Payant L.⁽²⁾

⁽¹⁾ Laboratoire CBCV, Paris 11^{ème}, France

⁽²⁾ Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise, France

⁽³⁾ Le 190 - Centre de Santé Sexuelle, Paris 20^{ème}, France

INTRODUCTION

L'infection à *Neisseria gonorrhoeae* (NG) est en recrudescence surtout dans la population HSH (hommes ayant des rapports sexuels avec des hommes). Des dépistages oropharyngés et ou anaux sont préconisés. En effet, les infections de sites multiples sont plus fréquentes au sein de cette population et le plus souvent asymptomatiques. Les tests moléculaires ont montré leur supériorité en terme de sensibilité par rapport à la culture pour ces sites⁽¹⁾. Néanmoins la mise en culture est nécessaire pour l'obtention d'un antibiogramme. Différentes trousse d'amplification génique en temps réel sont disponibles pour lesquelles les natures oropharyngée et anale ne sont pas validées par le fournisseur. Leur sensibilité et spécificité doivent être vérifiées.

OBJET DE L'ETUDE

Comparer les résultats positifs et négatifs obtenus par deux techniques : cobas 4800[®] (Roche) et m2000 Real Time[™] (Abbott) CT/NG ciblant, respectivement, la région DR9 et le gène *opa*. Contrôler les résultats discordants et réaliser une 3^{ème} technique par Aptima Combo 2[®] (Gen Probe), ciblant l'ARNr 16S, en cas de discordance contrôlée.

MATERIEL & METHODES

204 prélèvements réalisés entre février 2013 et juillet 2014 ont été analysés rétrospectivement :

- 45 prélèvements oropharyngés et 45 prélèvements anaux négatifs.
- 57 prélèvements oropharyngés et 57 prélèvements anaux positifs.

Les tests ont été effectués, selon les recommandations du fournisseur, avec la trousse de PCR en temps réel Abbott RealTime[™] CT/NG sur la plateforme m2000 au laboratoire Cerba et avec la trousse cobas[®] 4800 CT/NG au Centre Biologique du Chemin Vert. Les deux trousse comprennent un contrôle interne, additionné à l'échantillon avant l'extraction, afin de détecter la présence d'inhibiteurs du test.

RESULTATS

Un résultat est considéré négatif et positif quand concordant par les 2 techniques.

Les prélèvements anaux : Aucune discordance n'a été notée pour les prélèvements négatifs et positifs. La moyenne des Ct (cycle thresholds) des échantillons positifs est de 27.5 en Abbott versus 30.5 en Roche.

Les prélèvements oropharyngés :

- 44/45 prélèvements négatifs sont concordants. Un échantillon est discordant : positif contrôlé en Abbott (Ct=38.6) et négatif contrôlé en Roche. Le prélèvement anal du malade est détecté positif par les 2 techniques.
- 47/57 prélèvements sont positifs par les deux techniques : moyenne des Ct est de 32 en Abbott et de 34.6 en Roche.
 - . 7/10 prélèvements positifs avec Roche (moyenne des Ct = 37.5) sont négatifs en Abbott.
 - . 3/10 prélèvements positifs en Abbott (moyenne des Ct = 32.2) sont négatifs en Roche.
 - . Les discordants ont été contrôlés par les deux méthodes : 1 prélèvement négatif en Roche a été contrôlé positif (ct=39.9). A noter que le prélèvement anal du malade est positif par les 2 techniques. Un échantillon négatif en Abbott a été contrôlé positif (ct=37.2).
- Les 9 prélèvements discordants après contrôle ont été contrôlés négatifs par Aptima Combo 2[®].

TABLEAU 1 : Concordance/discordance des résultats des prélèvements anaux pour la détection de NG

	Cobas 4800 CT/NG	Positifs Moyenne des Ct=30.5	Négatifs
Abbott real time CT/NG			
Positifs moyenne des Ct=27.5		57	0
Négatifs		0	45

TABLEAU 2 : Concordance/discordance des résultats des prélèvements oropharyngés pour la détection de NG après contrôle des discordances

	Cobas 4800 CT/NG	Positifs Moyenne des Ct=34.6	Négatifs
Abbott real time CT/NG			
Positifs moyenne des Ct=32.0		49	3
Négatifs		6	44

TABLEAU 3 : Résultat des échantillons discordants avec la technique Aptima Combo 2

	Cobas 4800 moyenne des Ct=37.5	Abbott real time moyenne des Ct=32.4	Aptima Combo 2
Positifs	6	3	0

CONCLUSION

- La concordance de 100% des résultats de PCR NG au niveau anal montre l'absence de nécessité de contrôle.
- Pour les prélèvements oropharyngés :

Des faux positifs peuvent être observés dus aux réactions croisées avec les *Neisseria* commensales présentes dans la flore oropharyngée^(2,3). La positivité doit être confirmée par une seconde technique en tenant compte de la prévalence de l'infection dans la population étudiée.

Le risque de faux négatif existe, lié à une faible charge bactérienne. La moyenne des Ct des prélèvements oropharyngés positifs, respectivement de 32 et 34.6 en Abbott et en Roche est plus élevée que celle des prélèvements positifs dans les prélèvements anaux (27.5 en Abbott, 30.5 en Roche). Pour les négatifs, le résultat est à confronter à celui d'autres sites, notamment anal, et en cas de positivité de ce dernier, amener à un contrôle.

BIBLIOGRAPHIE

1. Schater J., Moncada J., Liska S., Shayevich C., Klausner J. Nucleic acid amplification tests in the diagnosis of chlamydial and gonococcal infections in the oropharynx and rectum in men who have sex with men. Sex Transm Dis 2008; 35: 637-42.

2. Walsh A., Rourke F.O., Crowley B. Molecular detection and confirmation of *Neisseria gonorrhoeae* in urogenital and extragenital specimens using the Abbott CT/NG real time assay and an in-house assay targeting the porA pseudogene. Eur J Microbiol Infect Dis 2011; 30: 561-7.

3. Perry M.D., Jones R.N., Corden S.A. Is confirmatory testing of Roche cobas 4800 CT/NG test *Neisseria gonorrhoeae* positive samples required? Comparison of the Roche cobas 4800 CT/NG test with an opalpap duplex assay for the detection of *N. gonorrhoeae*. Sex Transm Infect 2014; 90: 303-8.