

Validation du milieu eSwab

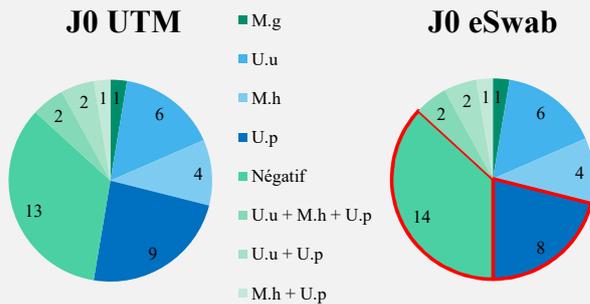
Objectifs

La conservation et le transport des prélèvements génitaux est possible grâce au milieu eSwab de Labelians. La première phase de l'étude a pour objectif de valider ce milieu de transport pour l'analyse des mycoplasmes par la technique PCR BioGX Mycoplasma-Ureaplasma OSR for BD Max. Il est comparé au milieu UTM qui est recommandé par le fournisseur.

Matériels et méthodes

De mars 2019 à juillet 2019, 38 échantillons sont analysés selon les recommandations du fabricant, à leur réception et 72h plus tard. 9 sont des contrôles, et 29 sont des échantillons de patients, tous transportés sur milieu UTM (3ml) et eSwab (1ml). Une analyse des résultats par micro organisme positif obtenus permet une vision globale de l'étude.

Résultats



Les volumes étant différents selon le milieu de transport, un écart de 3Ct est accepté entre les résultats des 2 milieux.

- Obtention d'une **corrélation dans 97.5 %** des cas lors de la réception des prélèvements (J0)
- Obtention d'une **corrélation dans 94.8 %** des cas à 72h

Absence d'impact clinique pour les 3 discordances (faible quantité dans l'échantillon)

➔ validation du milieu de transport eSwab

Figure 1 & 2 : répartition des échantillons selon les résultats positifs sur UTM (1) et eSwab (2)

Semi quantification

Objectifs

La PCR BioGX sur BD Max pour les mycoplasmes génitaux est plus rapide (2h environ) que la mise en culture (48h) mais est validée pour une analyse qualitative. Après avoir validé notre milieu de transport usuel, la seconde phase de l'étude a pour but d'obtenir des Ct de référence afin d'interpréter les résultats dans les intervalles de quantification donnés par le Rémic. *Mycoplasma genitalium* n'est pas représenté puisque son analyse est qualitative.

Matériels et méthodes

Les Ct sont déterminés à l'aide de 2 souches lyophilisées (*Mycoplasma hominis* et *Ureaplasma urealyticum*) qui sont utilisées pour mettre en place une courbe de corrélation. Une solution mère de quantité connue est reconstituée selon le mode opératoire du fournisseur et une gamme d'étalonnage est réalisée à partir des solutions filles.

Les seuils retenus ont été vérifiés : 31 échantillons positifs connus avec les techniques traditionnelles (galerie biochimiques et gélose A7) sont analysés sur les 2 BD Max avec une prise d'essai de 100µl. L'analyse informatique porte sur les résultats de PCR afin de les semi-quantifier selon les Ct obtenus par l'automate.

Résultats

Concentration connue des solutions filles	Moyenne des Ct BD Max 3	Moyenne des Ct BD Max 4	Moyenne des Ct des 2 automates	Gélose A7
M.h 10.5 UCC/ml	25,0	24,3	24,6	10.5
M.h 10.4 UCC/ml	27,8	27,3	27,5	10.4
M.h 10.3 UCC/ml	31,4	32,0	31,7	10.3
M.h 10.2 UCC/ml	34,7	35,1	34,9	10.2
U.u 10.5 UCC/ml	27,0	27,2	27,1	10.5
U.u 10.4 UCC/ml	30,2	29,9	30,1	10.4
U.u 10.3 UCC/ml	33,6	33,1	33,4	10.3
U.u 10.2 UCC/ml	36,0	35,6	35,8	10.3

Figure 3 : Tableau de détermination des Ct de références

Courbes de quantification

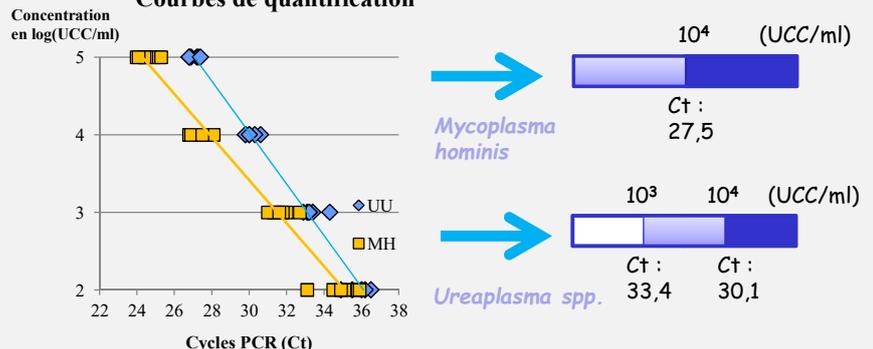


Figure 4 : courbes de corrélation de M.h et U.u

Conclusions

L'absence de différence significative des résultats en fonction des 2 milieux de transport permet de valider l'eSwab pour la PCR BioGx sur BD Max des mycoplasmes génitaux.

Des Ct ont pu être définis afin d'interpréter les résultats dans les intervalles de quantification recommandé par le Remic.

Les performances du kit BioGx sont suffisantes pour permettre une analyse semi quantitative et une utilisation fiable en pratique. Elle permet d'obtenir des résultats corrects dans 94.6% des cas comparés aux anciennes méthodes sur 31 échantillons testés.

Reste à déterminer sur le long terme, un suivi des Ct de référence afin que la méthode reste fiable.

Figure 5 : Comparaison de la semi-quantification par PCR avec les techniques traditionnelles

Résultats de la PCR		Comparaison avec les techniques traditionnelles		
Résultat	Nombre d'échantillons	Quantification concordante	Discordance non significative	Discordance significative
Négatif	2	0	2	0
U.u	6	5	1	0
M.h	10	8	2	0
U.p	23	17	1	5

Si on exclut les discordances non significatives qui n'ont pas d'impact clinique (c'est-à-dire un résultat inférieur au seuil de pathogénéicité) avec l'une des techniques et négatif avec l'autre technique : il reste 5 cas discordants sur 93 résultats c'est-à-dire 5.4% de discordance. Ces échantillons concernent tous U.p (bactérie la plus représentée dans notre étude) et présentaient une semi-quantification plus basse en culture qu'en PCR.