

Evaluation du kit PCR multiplex Allplex™ Genital ulcer Assay (Seegene) pour la détection des virus Herpes Simplex de type 1 et 2 et du virus Herpes Zoster sur frottis cutanéomuqueux

E. Melnik, M. Verhaeghe, A. Vermeulen, A. Degey, V. Verbelen et G. Roussel
Clinique Saint-Pierre, laboratoire de microbiologie, Ottignies, Belgique

Introduction

- Etiologies infectieuses des ulcères et érosions des muqueuses génitales: virus Herpes simplex 1 et 2 (HSV1 et HSV2), virus Herpes zoster (VZV), *Treponema pallidum* (syphilis), *Haemophilus ducreyi* (chancre mou), *Klebsiella granulomatis* (granulome inguinal ou Donovanose), *Chlamydia trachomatis* sérotypes L1, L2, L3 (lymphogranulome vénérien), champignons (*Candida* spp.), Cytomégalovirus (CMV), infections bactériennes secondaires.
- Pour permettre un diagnostic, techniques usuelles : tests sérologiques (syphilis), moléculaires (*C. trachomatis*), cultures bactériennes (*Candida* spp., *H. ducreyi*) et virales (HSV, VZV, CMV), examen microscopique (*Klebsiella granulomatis*).
- Nouvelle approche diagnostique: l'approche syndromique avec des panels génitaux permettant un diagnostic différentiel plus aisé devant un tableau clinique d'ulcérations.
- Test multiplex PCR en temps réel Allplex™ Genital ulcer Assay (Seegene) permet la détection d'acides nucléiques du HSV-1, HSV-2, VZV, *H. ducreyi*, CMV, *C. trachomatis* Serovar L et *T. pallidum*.
- **Nous avons évalué ce kit pour la détection de HSV1, HSV 2 et VZV.**

Matériel et méthode

- Extraction sur STARlet (Hamilton) et amplification sur Biorad CFX96.
- Comparaison avec le kit RealStar® alpha Herpesvirus (extraction sur Abbott m24sp et amplification sur Abbott m2000rt) :
- 40 frottis cutanéomuqueux génitaux (24 frottis vulvaires, 6 vaginaux, 3 frottis de gland, 6 cutanés et 1 anal) et 4 frottis oraux issus d'une collection de notre routine (matrices : 40 UTM, 3 E-Swab amies et 1 Abbott multi-collect).
- Evaluation de la répétabilité et la reproductibilité (triplicat dans un même run et réparti sur 3 jours différents respectivement) avec deux pools de contrôles : Zeptomatrix NAT HSV1-2/VZV et Qnostics HSV1-2/VZV Analytical panel.

Résultats

- Concordance de 100% des résultats qualitatifs entre les deux kits :

Concordance		Allplex Genital ulcer Assay			
		Négatif	HSV1+	HSV2+	VZV+
RealStar alpha Herpesvirus	Négatif	13	0	0	0
	HSV1+	0	20	0	0
	HSV2+	0	0	7	0
	VZV+	0	0	0	4

- Moyenne et range des résultats de Ct (Cycle seuil) des échantillons positifs observés avec le kit RealStar® et Allplex™ :

Echantillons	RealStar alpha Herpesvirus			Allplex Genital ulcer Assay		
	HSV1	HSV2	VZV	HSV1	HSV2	VZV
moyenne Ct	21.68	26.25	20.25	18.28	21.79	17.10
range Ct	15.1 - 32.98	18.5 - 31.69	18.04 - 21.18	10.9 - 30.74	15.55 - 29.31	16.79 - 17.32

- Les tests de répétabilité et de reproductibilité effectués avec les deux pools de contrôles (n=3) sont satisfaisants :

Répétabilité	Contrôles Zeptomatrix NAT HSV1-2/VZV		
	HSV1	HSV2	VZV
moyenne de Ct	28.87	30.83	29.25
CV (%)	2.19	6.25	0.47
	Contrôles Qnostics HSV1-2/VZV Analytical panel		
	HSV1	HSV2	VZV
moyenne de Ct	21.79	31.93	21.59
CV (%)	1.3	1.3	2.26

Reproductibilité	Contrôles Zeptomatrix NAT HSV1-2/VZV		
	HSV1	HSV2	VZV
moyenne Ct	29.07	30.26	30.08
CV (%)	4.11	2.09	6.81
	Contrôles Qnostics HSV1-2/VZV Analytical panel		
	HSV1	HSV2	VZV
moyenne Ct	22.32	31.51	21.98
CV (%)	1.49	5.66	6.81

Conclusion

- Les performances du test Allplex™ Genital ulcer Assay (Seegene) pour la détection de HSV1, HSV2 et VZV sur frottis cutanéomuqueux sont satisfaisantes.