

## Détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe

Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*

Une production de l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS)

Direction des services de santé et de l'évaluation des technologies

Le contenu de cette publication a été rédigé et édité par l'INESSS.

**Membres de l'équipe projet**

**Auteure principale**

Emmanuelle Tchekanda, Ph. D.

**Soutien administratif**

Annabelle Suire

**Coordonnateur scientifique**

Éric Potvin, Ph. D.

**Directrice**

Michèle de Guise, M.D., FRCPC

---

**Équipe de l'édition**

Patricia Labelle

Denis Santerre

Hélène St-Hilaire

**Sous la coordination de**

Renée Latulippe, M.A.

**Avec la collaboration de**

Josée De Angelis, révision linguistique

---

**Dépôt légal**

Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2020

Bibliothèque et Archives Canada, 2020

ISSN 1915-3104 INESSS (PDF) ISBN 978-2-550-86340-3 (PDF)

© Gouvernement du Québec, 2020

La reproduction totale ou partielle de ce document est autorisée à condition que la source soit mentionnée.

Pour citer ce document : Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS). Détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe Évaluation pour la mise à jour du *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale* Rapport rédigé par E. Tchekanda, Québec, Qc : INESSS; 2020. 19 p.

L'Institut remercie les membres de son personnel qui ont contribué à l'élaboration du présent document.

# DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGENES VIRAUX PAR PCR MULTIPLÈXE

**(RÉFÉRENCE – 2017.01.007BV)**

Avis - validité analytique

## **1. INFORMATION GÉNÉRALE**

### **1.1. Demandeur : Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine**

#### **Mise en garde**

Le présent avis est fondé sur l'information fournie par les personnes responsables de l'analyse dans les laboratoires concernés ainsi que sur une recherche documentaire complémentaire selon les données disponibles au moment de l'évaluation de l'analyse par l'INESSS.

#### **Conflits d'intérêts**

Tous les membres ont participé à la délibération et aucun ne s'est retiré au moment de formuler la recommandation.

## 2. INTRODUCTION

L'avis intitulé Détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe a été transmis au ministre de la Santé et des Services sociaux le 10 janvier 2018 et publié le 12 mars 2018. Cet avis avait pour objectif d'évaluer l'ajout au *Répertoire québécois et système de mesure des procédures de biologie médicale*, ci-après nommé *Répertoire*, d'une nouvelle analyse permettant de détecter l'agent causal d'une gastroentérite virale à partir d'un échantillon de selle du patient. Les virus visés sont les adénovirus (40/41 et totaux), rotavirus, norovirus, sapovirus et astrovirus.

Dans son avis, l'INESSS a recommandé l'introduction de l'analyse au *Répertoire* en précisant que cette introduction était conditionnelle à la production d'un plan complet et détaillé de validation analytique. L'INESSS demandait également de fournir les résultats lorsqu'ils seraient disponibles.

Suite à la publication de l'avis, le centre demandeur a transmis à l'INESSS des données de validation et l'objectif du présent avis est de présenter ces données.

### 3. RÉSUMÉ DE L'ÉVALUATION PRÉCÉDENTE

Un survol de l'évaluation menée en phase I par l'INESSS est présenté dans le tableau 1.

**Tableau 1 Résumé exécutif de l'évaluation de l'utilité clinique en phase I**

	Détection moléculaire des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe
<b>Demandeur</b>	Centre hospitalier universitaire Sainte-Justine (CHU SJ)
<b>Objectif de l'analyse</b>	L'analyse permettrait la détection des entéropathogènes viraux par PCR multiplexe en identifiant des agents étiologiques des diarrhées virales chez des personnes greffées et en contexte d'éclosion.
<b>Situation actuelle</b>	La détection antigénique est utilisée par plusieurs centres pour le rotavirus et l'adénovirus avec une sensibilité discutable. Certains centres font appel au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour la détection d'entéropathogènes viraux par TAAN. Les temps de réponse de deux à trois semaines ne permettent pas d'assurer une prise en charge optimale des cas vulnérables et des épidémies.
<b>Nombre d'analyses prévues</b>	Il a été estimé que 575 analyses seraient réalisées au CHU SJ au cours des trois prochaines années.
<b>Utilité clinique</b>	Une revue de la documentation scientifique a permis de recenser trois études traitant de la détection d'entéropathogènes viraux à l'aide d'une technique de PCR multiplexe en temps réel développée en laboratoire (LDT). Selon les résultats présentés, la PCR multiplexe est plus simple, plus fiable et procure un taux de positivité plus élevé que la détection d'antigènes (45 % contre 14 %) à cause du gain de sensibilité et du nombre de cibles plus élevé. Lorsque comparé aux analyses PCR individuelles, le multiplexage des tests n'a que peu ou pas d'effet sur les performances analytiques (concordance des résultats entre 98 % et 100 %).
<b>Impact budgétaire</b>	Pour le CHU SJ, l'ajout de l'analyse pourrait générer une réduction des coûts d'environ 8 000 \$ par année pour un total de 24 000 \$ pour les trois premières années suivant son introduction.
<b>Positions et orientations d'organismes d'intérêt</b>	Selon l'Association of Public Health Laboratories (2015), les tests moléculaires sont plus rapides, permettent de détecter simultanément plusieurs pathogènes, et procurent des données dans des délais cliniquement plus pertinents pour le clinicien et son patient. Ces analyses peuvent être plus économiques que les techniques microbiologiques classiques et requièrent moins de personnel. Selon le Public Health England (2013), les méthodes moléculaires peuvent être supérieures aux conventionnelles et devraient être considérées lorsque disponibles.
<b>Enjeux particuliers</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• En limitant l'analyse aux patients présentant des symptômes gastro-intestinaux graves, le risque de faux positifs associé à une trop grande sensibilité de la méthode est négligeable.</li> <li>• Bien que les gènes de virulence ciblés soient généralement des régions fortement conservées, les amorces pourraient ne pas détecter de nouvelles variantes et produire des faux négatifs.</li> <li>• Des analyses supplémentaires devraient être réalisées en cas de résultats négatifs malgré des symptômes cliniques clairs comme la présence de sang dans les selles.</li> </ul>

## 4. ANALYSE ÉVALUÉE

### 4.1. Description de la méthode

En 2017, la demande adressée à l'INESSS portait sur le développement de tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) dans le but d'augmenter la sensibilité et la spécificité envers les virus déjà recherchés par des tests de détection d'antigènes (*enzyme immunoassays* : EIA), mais aussi d'élargir le spectre d'agents étiologiques recherchés. Cependant, cette démarche n'exclura pas la possibilité d'utiliser une trousse commerciale. Ce qu'elle vise est d'évaluer l'utilité et les coûts/bénéfices des analyses potentielles servant à identifier les entéropathogènes viraux suivants :

- adénovirus 40/41 et totaux;
- rotavirus;
- norovirus;
- sapovirus;
- astrovirus.

De nombreux protocoles de RT-PCR en temps réel pour la recherche de virus de gastroentérite ont été publiés au cours des 20 dernières années. Les méthodes de type TaqMan<sup>MC</sup> présentées par Van Maarseveen et ses collaborateurs [2010] ont servi de base au développement de la présente analyse. Dans cet article, les auteurs regroupent des sélections d'amorces et de sondes publiées par plusieurs groupes. Parmi ces tests, des analyses ont été sélectionnées sur la base de leur potentiel à détecter une vaste majorité de virus, en considérant la nécessité de réduire le nombre de cibles au minimum, car limiter la complexité des essais favorise le multiplexage.

### 4.2. Homologation

Il s'agit d'une analyse maison qui n'a fait l'objet d'aucune homologation auprès de Santé Canada ou de la Food and Drug Administration (FDA).

## 5. DONNÉES DE VALIDITÉ ANALYTIQUE

### 5.1. Données fournies par le demandeur

#### Provenance des échantillons utilisés pour la validation analytique

Le CHU SJ ne possède pas de banques de spécimens cliniques positifs pour les virus entériques. Ainsi, des demandes ont été faites à d'autres laboratoires afin d'obtenir des échantillons ayant des charges virales élevées, et de différents génotypes et sérogroupes, le cas échéant.

Des préparations d'acides nucléiques connues positives pour les deux génogroupes de norovirus, pour les sapovirus (deux génogroupes différents) et les rotavirus (4 sérogroupes différents) ont été obtenues du LSPQ.

Des échantillons positifs pour les adénovirus et les astrovirus ont été obtenus du laboratoire du Centre hospitalier universitaire Dr-Georges-L.-Dumont (CHUDGLD) à Moncton au Nouveau-Brunswick. Les acides nucléiques ont été extraits au CHU SJ. Les échantillons d'adénovirus ont été soumis, via le LSPQ, au LNM de microbiologie de Winnipeg pour sérotypage, afin de préciser s'il s'agissait d'adénovirus entériques F40 ou F41, puisque le développement d'épreuves incluait la recherche de tous les sérotypes ainsi que la détection spécifique de ces derniers.

#### Sélection des protocoles

Des dilutions sériées d'acides nucléiques de spécimens positifs pour chacun des types de virus entériques ont été utilisées pour sélectionner les protocoles les plus sensibles et spécifiques, en monoplexe, et pour calibrer les concentrations d'amorces et de sondes dans les réactions. Les épreuves sélectionnées à cette étape sont les suivantes :

#### Astrovirus

Les astrovirus entériques, dits classiques, du groupe MastV1 sont très diversifiés et regroupés en 8 sérotypes [Bosch *et al.*, 2014]. Le protocole décrit par Van Maarseveen [2010] a servi de base pour le design des oligonucléotides conçus pour détecter tous les virus du groupe MastV1 (figure 1). La RT-PCR cible un gène codant pour une protéine non-structurale ORF1a.

Les nouvelles souches d'astrovirus caractérisées récemment et associées à des syndromes neurologiques [Brown *et al.*, 2015], soit les souches MLB du groupe MastV6 et VA/HMO des groupes MastV8 et 9, ne seraient pas détectées par cet essai. Deux RT-PCR distinctes ont donc été dessinées pour ces trois groupes de souches dites neurotropes (figures 2 et 3). Les deux tests ciblent la jonction entre les gènes de la transcriptase et de la capsid. Il est à noter qu'aucun échantillon n'a pu être obtenu pour le développement des RT-PCR pour les astrovirus neurotropes. Ainsi, ces réactions seront incluses dans la mesure où elles n'entraveraient ni la sensibilité ni la spécificité des autres PCR.

## **Adénovirus**

Les adénovirus entériques du groupe F sont souvent associés à des éclosions de gastroentérites. Les autres adénovirus causent une vaste gamme de pathologies.

Deux PCR sont utilisées d'emblée. La première (protocole général) détecte l'ensemble (ou la très grande majorité) de la cinquantaine de souches connues avec une grande sensibilité. La deuxième détecte les souches F40 et F41.

Le protocole général tiré de Heim et ses collaborateurs [2003] est celui implanté au CHU SJ pour la détection et la quantification des adénovirus chez des patients immunosupprimés. La deuxième, plus spécifique, est adaptée de l'article de Van Maarseveen [2010]. L'amorce en 3' (adenogr3 ; voir figure 4) a été redessinée afin de reconnaître spécifiquement les adénovirus F40 et F41.

## **Sapovirus**

Comme pour les norovirus et les astrovirus, les protocoles RT-PCR avec détection en temps réel ciblent habituellement la région de la jonction entre les gènes de la transcriptase et de la capsid.

Les séquences d'oligonucléotides sélectionnées sont celles décrites par Oka et ses collaborateurs [2006] (figures 6 et 7). En 5', trois amorces sont nécessaires : deux pour amplifier les souches GI, GII et GIV, et une supplémentaire pour les souches GV. Une sonde reconnaît les amplicons des génogroupes GI à GIV, une deuxième ceux des génogroupes GV.

## **Norovirus GI et GII**

La très grande majorité des protocoles RT-PCR avec détection en temps réel publiés ciblent la région se situant à la jonction des gènes codant pour la transcriptase et la capsid. Pour la RT-PCR du génogroupe GI, les amorces ont été très légèrement modifiées afin d'harmoniser les Tm. La sonde retenue est celle décrite par Van Maarseveen [2010] (figure 7).

Pour les génotypes GII, les amorces et sondes décrites par Van Maarseveen [2010] sont adaptées de celles de Kageyama et ses collaborateurs [2003], des protocoles qui sont largement utilisés par les laboratoires de référence en microbiologie (figure 8). Cependant, plusieurs nouvelles séquences de souches ont été ajoutées aux banques de référence, telles que dénotées par Vinje [2015]. Les protocoles ont été révisés de façon que les oligonucléotides puissent détecter le plus grand nombre de génotypes des génogroupes GI et GII.

## **Rotavirus**

Le protocole décrit par Pang et ses collaborateurs [2004], ciblant une région conservée du fragment codant pour la protéine non-structurale NS3, a été sélectionné, en incluant l'amorce supplémentaire [Pang *et al.*, 2011] ajoutée pour amplifier les souches de sérotype G2Px (généralement G2P4). Quatre sérotypes différents et circulant dans la province, incluant G1P8 dont est dérivée la souche vaccinale, ont pu être détectés.

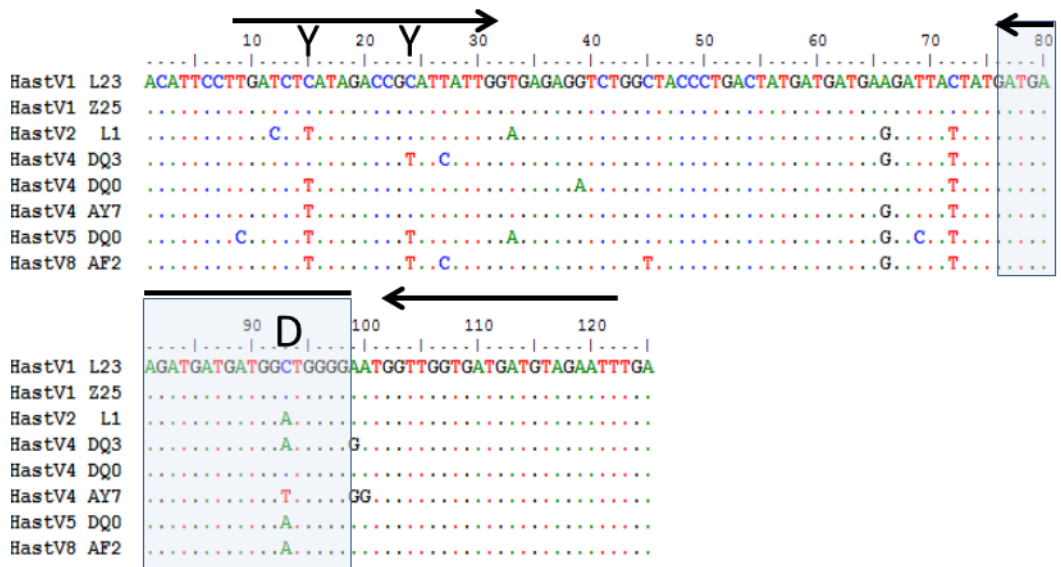


Figure 1 : Séquences des amorces et sondes pour amplifier les astrovirus dits « classiques »

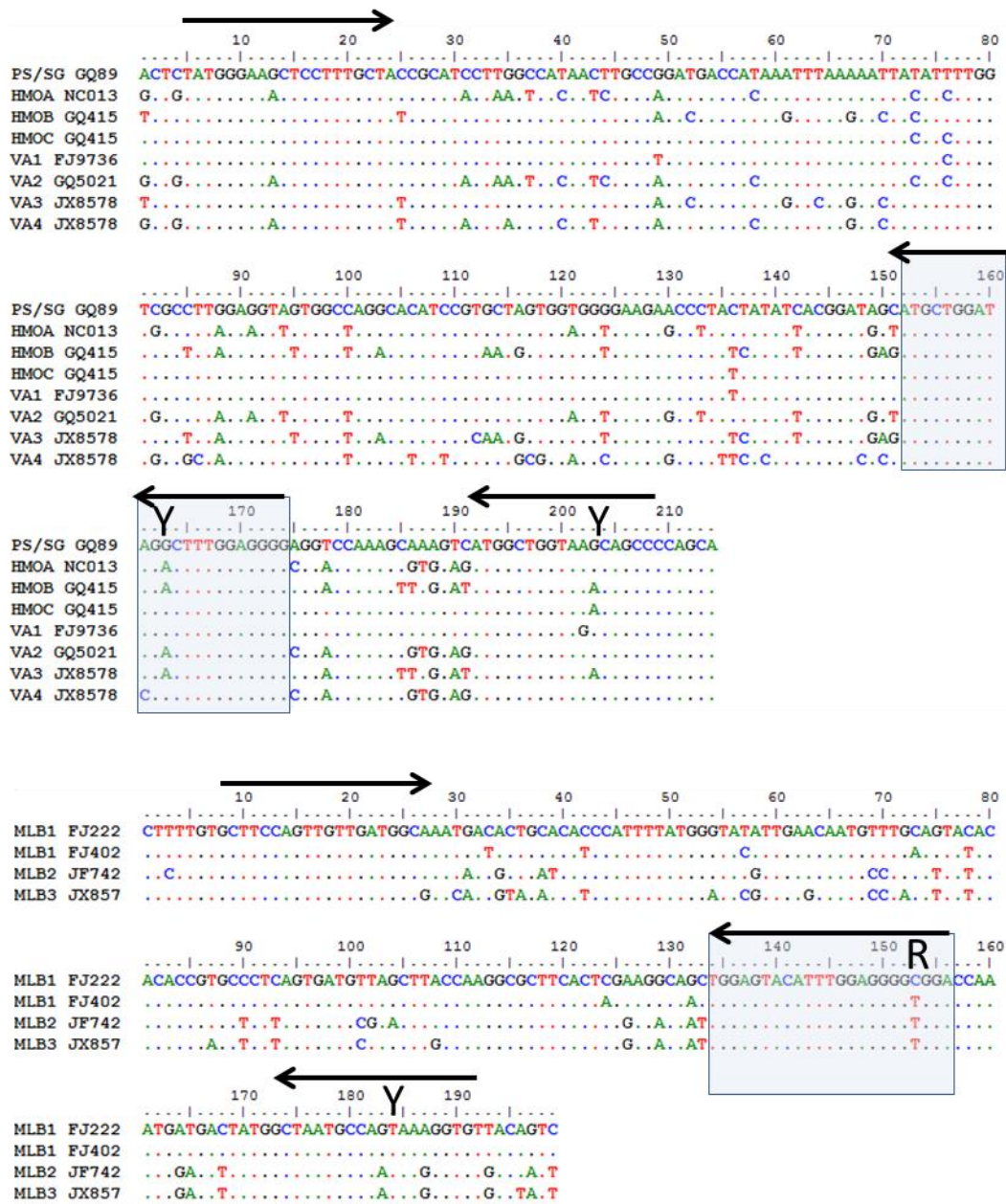


Figure 2 : Séquences des amorces et sondes pour amplifier les astrovirus dits neurotropiques des groupes HMO et VA (A) ou du groupe MLB (B)



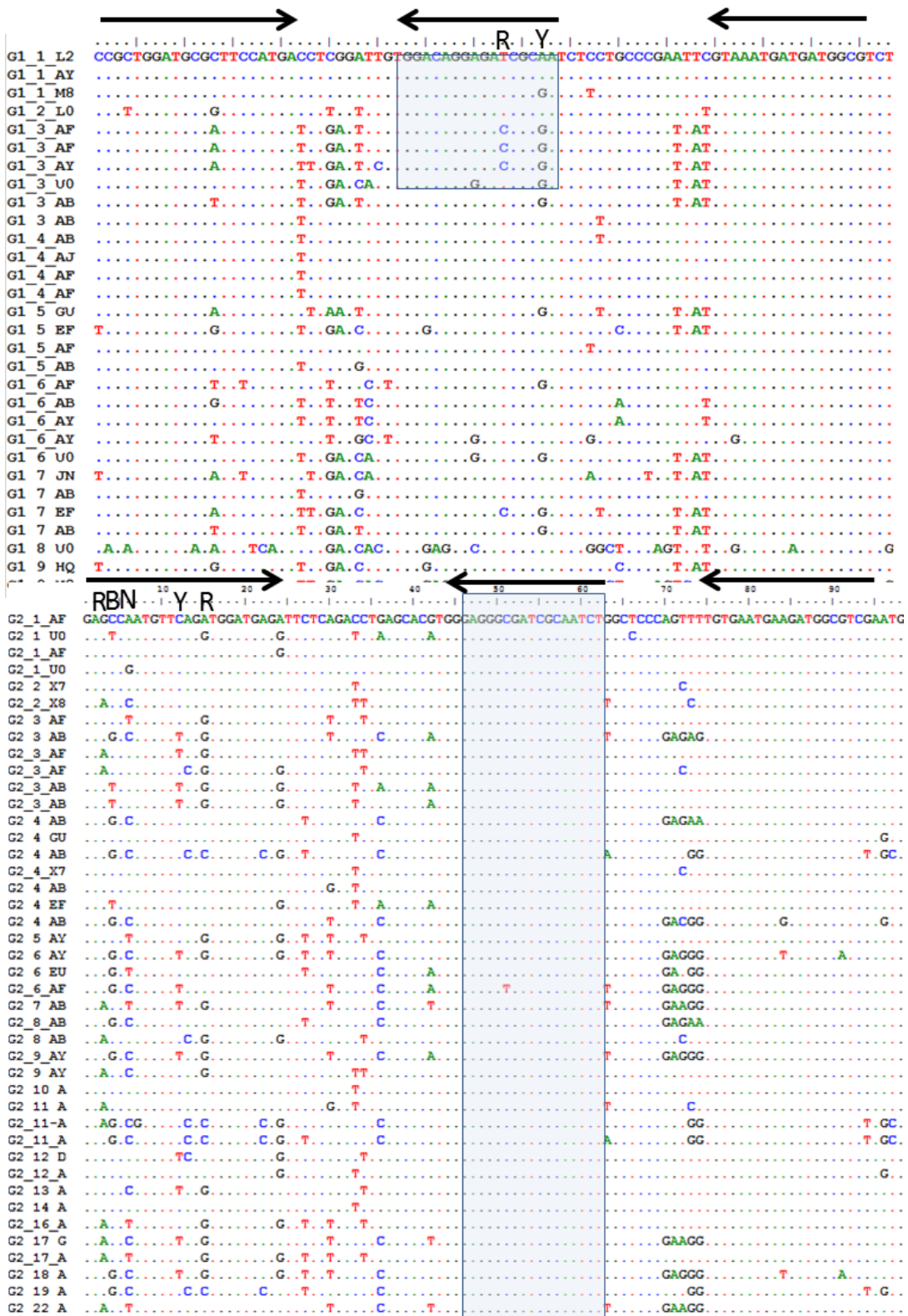


Figure 5 : Séquences des amorces et sondes pour amplifier les norovirus GI

### **Agencement des réactions PCR et RT-PCR en multiplexe :**

Les réactions ont été combinées afin de détecter plus d'un type de virus tout en limitant les pertes de sensibilité. Les fluorophores ont été choisis en fonction de leur compatibilité avec les systèmes ABI7500 du CHU SJ et de manière à être inclus aux calendriers de calibrations semi-annuelles. De même, les longueurs d'onde devaient être assez éloignées afin d'éviter le chevauchement à la détection pour des échantillons positifs montrant des charges virales importantes.

Puisque des algorithmes informatiques sont utilisés au CHU SJ, il était nécessaire d'inclure du ROX en référence passive. Les résultats de fluorescence sont analysés à l'aide d'un algorithme qui détermine la positivité par rapport aux résultats des échantillons contrôles (bruit de fond, amplitude du signal etc.). Finalement, plusieurs sondes portent des groupements *minor groove binding* (MGB) pour augmenter leur température d'appariement.

L'épreuve développée contient trois mélanges réactionnels multiplex : un premier pour la détection des norovirus GI, G2 et les astrovirus entériques. Les deux sondes MGB pour les deux génogroupes de norovirus utilisent le même fluorophore (FAM).

Pour un test diagnostique, il n'est pas nécessaire de faire la différence entre les deux génogroupes. Il n'a pas été possible d'inclure la détection des astrovirus neurotropes à ce mélange réactionnel sans compromettre la sensibilité envers les autres virus. Ainsi, et puisqu'aucun contrôle positif n'est disponible pour ces virus, les épreuves développées ici demeureront à titre d'activités de recherche.

Le deuxième multiplex combine les réactions pour la détection des rotavirus et les sapovirus. Le troisième recherche tous les adénovirus et différencie les entériques des autres sérotypes. Dans cette dernière réaction est incluse la recherche du calibrateur CSG4 ajouté à l'étape de l'extraction des acides nucléiques afin de détecter les inhibiteurs de la PCR. Ce contrôle interne est un plasmide recombinant portant le gène de chlorophylle synthase G4 d'*Arabidopsis thaliana*. Plusieurs centaines de copies sont ajoutées à l'échantillon immédiatement avant l'ajout de la solution de lyse à l'étape d'extraction des acides nucléiques.

## Validation

Il n'existe pas d'épreuve référence, ou étalon or (*gold standard*) pour la détection des virus entériques.

L'approche d'une évaluation comparative a donc été retenue. Un panel de 50 échantillons a été obtenu du Centre hospitalier universitaire Dr-Georges-L.-Dumont du Nouveau-Brunswick (CHUDGLD). Pour les besoins, le panel devait contenir des échantillons positifs pour chacun des virus et inclure des échantillons négatifs. Le laboratoire du CHUDGLD utilise des TAAN commerciaux de la compagnie Fast-Track Diagnostics pour la détection, par trois réactions multiplex, de tous les virus entériques. La trousse consiste en des mélanges d'amorces et de sondes (dont les séquences ne sont pas divulguées) pour des épreuves de type TaqMan<sup>MC</sup>. Les épreuves différencient les norovirus des génogroupes GI et GII, et la sonde pour adénovirus détecte tous les sérotypes, et non spécifiquement les groupes entériques (gAD : F40 et F41). Au CHUDGLD, les analyses sont effectuées sur une plateforme d'amplification et de détection 480 et avec des réactifs RT-PCR de la compagnie Roche. La valeur seuil utilisée est une Ct de 35.

Le panel a été analysé par trois épreuves :

- Au CHU SJ en utilisant l'appareillage du laboratoire pour les extractions d'acides nucléiques (plateforme Maxwell<sup>®</sup> de la compagnie Promega<sup>®</sup>) et des appareils RT-PCR avec détection en temps réel ABI 7500, selon le protocole établi au stade de développement;
- Au LSPQ, grâce à la trousse FilmArray<sup>®</sup> Gastrointestinal (GI) Panel de la compagnie bioMérieux;
- Au CHUDGLD utilisant les mélanges commerciaux Fast Track<sup>®</sup> Diagnostics (résultats obtenus en routine).

La trousse FilmArray<sup>®</sup> GI de bioMérieux est du type « *point of care* » et est homologuée pour le diagnostic par Santé Canada. Il s'agit d'une épreuve strictement qualitative utilisée au LSPQ pour obtenir des résultats rapidement (environ une heure par échantillon) pour des contextes d'éclosions particuliers. En plus de pouvoir détecter les virus entériques, elle recherche d'autres agents étiologiques pouvant causer des gastroentérites tels des bactéries et des parasites (22 cibles). La technologie sous-jacente est complètement différente de celle des RT-PCR maison. L'analyse des résultats et la production de rapports se fait automatiquement.

Les résultats obtenus par les trois méthodes sont présentés au tableau 2. Tous les contrôles internes d'extraction et d'amplification pour les trois types d'épreuves se sont avérés dans les valeurs attendues. En jaune sont indiqués les résultats discordants lorsque les valeurs de Ct sont supérieures à 30, donc près de la limite de détection; en rouge les résultats qui n'apparaissent que par une seule épreuve, mais avec des Ct  $\leq$  30; les cases sont vides pour les résultats négatifs (Ct < 37 au CHU SJ, Ct < 35 au CHUDGLD). De façon générale, on observe une bonne concordance entre les trois épreuves (42/50, ou 84 %). En considérant les

résultats différents mais près des limites de détection (échantillons GV-04, GV-08 et GV-29), ce pourcentage atteint 90 %.

Les différences majeures concernent les échantillons GV-13, GV-15 et GV-32. Le premier concerne un résultat positif pour les rotavirus obtenu uniquement au CHUDGLD, le deuxième a été trouvé positif pour les adénovirus non entériques à CHU SJ mais négatif au CHUDGLD et au LSPQ, le troisième positif pour les adénovirus au CHUDGLD mais négatif au CHU SJ. Il existe plus d'une cinquantaine de sérotypes d'adénovirus et une multitude de sérotypes de rotavirus. Les protocoles utilisés pour la recherche d'adénovirus et de rotavirus au CHU SJ sont publiés pour leur utilisation en monoplex. Il est donc possible qu'il y ait des interactions avec les amorces et sondes ajoutées dans les contextes de multiplex. Ou bien, ces sérotypes en particulier sont reconnus de façon différentielle par les deux méthodes.

La méthode du CHUDGLD a trouvé l'échantillon GV-27 positif pour trois virus (norovirus, rotavirus et sapovirus), celle du CHU SJ pour deux (norovirus et rotavirus), tandis que le FilmArray® n'a détecté que le rotavirus. Avec des Ct > 30, il est probable que le FilmArray® n'ait pas détecté les norovirus puisque présents en très faible quantité. Cette méthode n'est pas connue pour être particulièrement sensible. En outre, détecter un troisième virus dans un échantillon, et en faible quantité (Ct = 30), ne changerait en rien le suivi médical.

Finalement, cinq adénovirus ont été détectés par les trois épreuves, mais un seul s'est avéré du groupe F40/41 (GV-33), recherché spécifiquement par le mix 3 au CHU SJ et le FilmArray® GI.

**Tableau 2 : Résultats des analyses (valeur de Ct) obtenus au CHUSJ, au CHUDGLD et au LSPQ pour les 50 échantillons**

LABORATOIRES	CHU SJ (MAISON)						CHUDGLD (FTD)						LSPQ (FilmArray® GI)	
	Mix A		Mix B		Mix C		MMX1		MMX2		MMX3		Résultat (s) positif (s)	
CIBLE No ID	Noro	Astro	Sapo	Rota	gAd	Ad	Noro GI	Noro GII	Astro	Rota	Ad	Sapo	Virus détectés	Autres cibles
GV-01	21							20					Noro	
GV-02	19						20						Noro	
GV-03	31							27					Noro	
GV-04		33,5		22,5						21,5			Rota	
GV-05	19,5							22					Noro	
GV-06	18						20						Noro	
GV-07	22							21					Noro	
GV-08	33													
GV-09				25,5						23			Rota	
GV-10				20						19			Rota	
GV-11	32							32						
GV-12		16							13				Astro	
GV-13										24,5				<i>C.difficile</i> toxine
GV-14										16,5			Rota	EPEC
GV-15		14				26			14				Astro	
GV-16			20,5									31	Sapo	
GV-17				33						27			Rota	
GV-18			22	19						19		27,5	Rota Sapo	<i>C.difficile</i> toxine
GV-19				15						13			Rota	
GV-20						20,5					23			
GV-21		18,5							17			33,5	Astro	
GV-22						27					29			
GV-23														
GV-24			21									24	Sapo	
GV-25		29,5							28				Astro	
GV-26														

GV-27		34		24				31	18		30	Rota		
GV-28						20,5				20				
GV-29			37			23,5				25,5				<i>Cryptosporidium</i>
GV-30														
GV-31														
GV-32											30			
GV-33					12,5	14,5				16		gAd		
GV-34			13								26	Sapo		
GV-35		16,5						18				Astro		
GV-36								29,5						EPEC
GV-37														
GV-38				22						19,5				
GV-39	17	32						27	25			Noro		
GV-40			19								19,5	Sapo		
GV-41														
GV-42			14								22	Sapo		
GV-43			21								23,5	Sapo		
GV-44	15						17,5					Noro		
GV-45	18,5							18				Noro		
GV-46	18,5						22					Noro		
GV-47														
GV-48	19						19,5	19,5				Noro		
GV-49														
GV-50														

Abréviations : Ad : Adénovirus; Astro : Astrovirus; EPEC : E. coli entéropathogène; Noro. : Norovirus; Rota. : Rotavirus; Sapo. : Sapovirus; MMX : masternix (mélange ou mix de départ)

## **Conclusions**

Selon le laboratoire demandeur, les épreuves RT-PCR multiplex développées au CHU SJ en 2018 ont montré une bonne sensibilité et spécificité lorsque comparées à deux autres méthodes utilisant les TAAN pour la détection de virus entériques. Elles sont optimisées pour les plateaux technologiques en usage dans ce laboratoire et utilisent le même type de réactifs. Elles s'intègrent donc harmonieusement aux autres épreuves PCR de détections virales. La préparation de mélanges réactionnels est simplifiée pour éviter les erreurs de pipetage et standardiser les essais. Une seule préparation d'acides nucléiques est utilisée comme contrôle positif pour les trois réactions et tous les virus recherchés. Il demeure tout de même à élaborer un algorithme informatique pour déterminer la positivité à partir des valeurs de fluorescence brutes produites par les programmes de traitement des données de la plateforme ABI 7500.

En outre, la certification ISO15189 requiert de participer à des contrôles de la compétence, soit par des échanges échantillons entre laboratoires, ou par l'achat de spécimens à des organismes qui produisent des panels de contrôle de la qualité à l'exemple du « College of American Pathologists » (CAP). Les trois laboratoires (LSPQ, CHUDGLD et CHUSJ) qui ont partagé des échantillons et des résultats pour ce développement et cette validation pourraient dès lors implanter un programme de contrôle de la qualité et s'établir des banques de spécimens connus positifs et négatifs nécessaires aux futurs développements réalisés en commun.

## 6. RÉSUMÉ DE LA DÉLIBÉRATION

Les membres du comité soulignent que les cibles sont pertinentes et ont été bien choisies. L'accès à cette analyse doit être cliniquement bien encadré et, par exemple, ne devrait pas être offert dans un contexte communautaire.

Le nombre d'échantillons validés de chaque cible est jugé insuffisant. Toutefois, les experts du comité sont conscients qu'il est difficile de générer des échantillons synthétiques et de faire plus d'échantillons patients car l'analyse n'est pas disponible à large échelle au Québec. Le comité recommande toutefois de produire un tableau récapitulatif avec les sensibilité et spécificité par souche avec intervalle de confiance. Le risque a été jugé faible étant donné que le laboratoire possède beaucoup d'expérience et qu'aucun des virus sur le panel n'est une MADO.

## 7. RECOMMANDATION DE L'INESSS

### DÉTECTION MOLÉCULAIRE DES ENTÉROPATHOGÈNES VIRAUX PAR PCR MULTIPLEXE

#### **La recommandation de l'INESSS**

Considérant que l'utilité de l'analyse a déjà été reconnue et qu'il s'agit d'une évaluation en phase II, les données de validation analytique ont été jugées :

- Complètes
- Incomplètes

#### **Précisions accompagnant la recommandation**

- Bien qu'il est recommandé de produire un tableau résumé des sensibilité et spécificité avec un intervalle de confiance par cible, l'INESSS ne demandera pas à revoir ce dossier.

## RÉFÉRENCES

- Bosch A, Pinto RM, Guix S. Human astroviruses. *Clin Microbiol Rev* 2014;27(4):1048-74.
- Brown JR, Morfopoulou S, Hubb J, Emmett WA, Ip W, Shah D, et al. Astrovirus VA1/HMO-C: An increasingly recognized neurotropic pathogen in immunocompromised patients. *Clin Infect Dis* 2015;60(6):881-8.
- Heim A, Ebnet C, Harste G, Pring-Akerblom P. Rapid and quantitative detection of human adenovirus DNA by real-time PCR. *J Med Virol* 2003;70(2):228-39.
- Kageyama T, Kojima S, Shinohara M, Uchida K, Fukushi S, Hoshino FB, et al. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR. *J Clin Microbiol* 2003;41(4):1548-57.
- Oka T, Katayama K, Hansman GS, Kageyama T, Ogawa S, Wu FT, et al. Detection of human sapovirus by real-time reverse transcription-polymerase chain reaction. *J Med Virol* 2006;78(10):1347-53.
- Pang X, Cao M, Zhang M, Lee B. Increased sensitivity for various rotavirus genotypes in stool specimens by amending three mismatched nucleotides in the forward primer of a real-time RT-PCR assay. *J Virol Methods* 2011;172(1-2):85-7.
- Pang XL, Lee B, Boroumand N, Leblanc B, Preiksaitis JK, Yu Ip CC. Increased detection of rotavirus using a real time reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) assay in stool specimens from children with diarrhea. *J Med Virol* 2004;72(3):496-501.
- Van Maarseveen NM, Wessels E, de Brouwer CS, Vossen AC, Claas EC. Diagnosis of viral gastroenteritis by simultaneous detection of Adenovirus group F, Astrovirus, Rotavirus group A, Norovirus genogroups I and II, and Sapovirus in two internally controlled multiplex real-time PCR assays. *J Clin Virol* 2010;49(3):205-10.
- Vinje J. Advances in laboratory methods for detection and typing of norovirus. *J Clin Microbiol* 2015;53(2):373-81.

*Institut national  
d'excellence en santé  
et en services sociaux*

**Québec** 

### Siège social

2535, boulevard Laurier, 5<sup>e</sup> étage  
Québec (Québec) G1V 4M3  
418 643-1339

### Bureau de Montréal

2021, avenue Union, 12<sup>e</sup> étage, bureau 1200  
Montréal (Québec) H3A 2S9  
514 873-2563

[inesss.qc.ca](http://inesss.qc.ca)

