



PCR *Helicobacter pylori* sur automate BD MAX à l'aide des réactifs RIDA® GENE *Helicobacter pylori* : automatisation et performances

Lucie BENEJAT-BRUHL - Ingénieur Hospitalier
CNR des Campylobacters et Helicobacters - CHU de Bordeaux

www.cnrch.fr

PAS DE LIEN D'INTÉRÊT

Introduction

Trousse commerciale R-Biopharm : **RIDA[®]GENE Helicobacter pylori***

> PCR en temps réel

> détection de *H. pylori* et des mutations associées à la résistance aux macrolides dans les biopsies gastriques



Automate Becton Dickinson :

> couple l'extraction et la PCR en temps réel

BD MAX

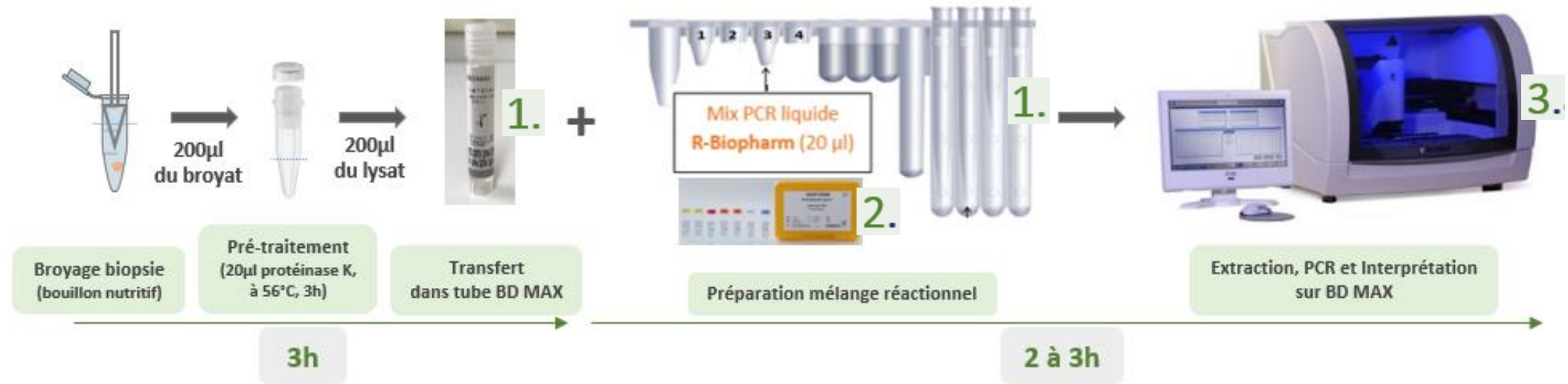


But :

- automatiser la PCR RIDA[®]GENE Helicobacter pylori sur l'automate BD MAX
- évaluer les performances

*Lucie Bénéjat *et al.*, Helicobacter. 2018

210 biopsies gastriques reçues au CNR de statut connu (référence = PCR du CNRCH*)



1. kit d'extraction BD MAX
Exk DNA-1 (BD)

2. réactifs PCR RIDA® GENE
H. pylori (R-Biopharm)

3. automate BD MAX (BD)
Capacité 24

*Lucie Bénéjat *et al.*, Helicobacter 2021

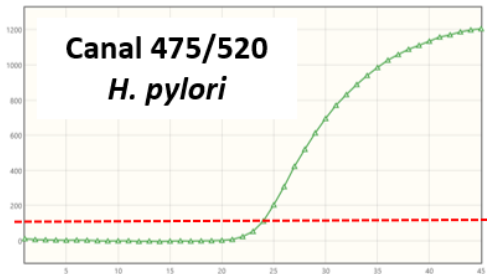
Protocole BD MAX

Optimisation des paramètres techniques sur BD MAX

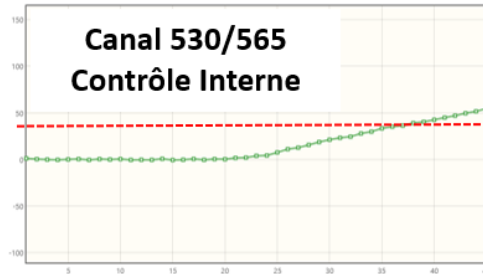
Type d'extraction	Format Master Mix		
Paramètres de canal	475/520	530/565	630/665
ExK DNA-1 (Urine) - 4-Snap	Type 3: Liquirimers and Pr		
Alias	Hpylori	CI	Clarith
Gain	60	100	90
Seuil	100	40	90
Canal d'excitation 475/520	--	3.5	0
Canal d'excitation 530/565	0	--	0
Canal d'excitation 630/665	0	0	--

Calculer Ct	Durée chauffage lyse
Température lyse	Hauteur embout éch.
Volume échantillon	Volume lavage
Volume neutralisation	Durée chauffage ADNase
Détection du niveau de liquide activée	
Résultat Ct au point d'inflexion	9
	62
	300
	--
	Activé
	1600
	500
	--

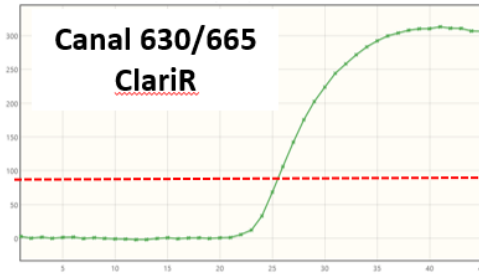
Nom de l'étape: Denaturation				Nom de l'étape: Amplif Detection			
Type de profil: Maintenir		Cycles: 1	Type de profil: 2 - Température		Cycles: 45		
Type	Durée (s)	Temp (°C)	Détecter	Type	Durée (s)	Temp (°C)	Détecter
--	60	98	Non	--	15	98	Non
				--	31.9	60	Oui



positif pour *H. pylori*



contrôle interne positif



résistant à la clarithromycine (mutations A2142G, A2143G ou A2142C)

	Hpylori				Clari R			
Hpylori - PCR	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✗	✗
CI - PCR	✓	✗	✓	✗	✓	✓	✗	✗
Results	⊕ POS	⊕ POS	⊖ NEG	⊕ UNR	⊕ POS	⊖ NEG	⊕ UNR	⊕ UNR
Hpylori - PCR	✓	✓	✓	✓	✗	✗	✗	✗
CI - PCR	✓	✓	✗	✗	✓	✓	✗	✗
Clarith - PCR	✓	✗	✓	✗	✓	✗	✓	✗
Results	⊕ POS	⊖ NEG	⊕ POS	⊖ NEG	⊕ UNR	⊖ NEG	⊕ UNR	⊕ UNR

Résultats de détection de *H. pylori* et de la résistance à la clarithromycine

Détection de *H. pylori*

PCR CNRCH	PCR BD MAX	Nb.
Négatif	Négatif	108
Négatif	Positif	2
Positif	Positif	100
Total		210

Discordances :

- sur 110 négatifs attendus
-> 2 positifs obtenus

Détermination de la résistance à la clarithromycine

PCR CNRCH	PCR BD MAX	Nb.
Sensible	Sensible	65
Résistant	Résistant	28
Sensible + Résistant	Résistant	6
Sensible + Résistant	Sensible	1
Total		100

- sur une double population 'sensible + résistant' attendue
-> seule la population sensible a été détectée

Performances

Performances de détection* (%)		
	de <i>H. pylori</i>	de la résistance à la clarithromycine
Sensibilité	100	99,0
Spécificité	98,2	100
VPN	100	99,0
VPP	98,0	100

*PCR du CNRCH comme référence

>excellentes performances

Conclusions

- L'automatisation des réactifs RIDA®GENE Helicobacter pylori est opérationnelle et facile sur le BD MAX, avec un résultat en moins de 7h.
- Les performances de cette PCR sur l'automate BD MAX sont excellentes.
- Cette adaptation présente un réel intérêt pour les microbiologistes désireux de mettre en place cette analyse dans leur laboratoire, de par l'automatisation dans un seul appareil de l'extraction d'ADN, de l'amplification PCR et de l'interprétation automatique des résultats.

Remerciements

- Correspondants du CNRCH
- R-Biopharm et BD