



## Détection de *Neisseria gonorrhoeae* par culture



# GUIDE DE PRATIQUE POUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS

## DÉTECTION DE *NEISSERIA GONORRHOEAE* PAR CULTURE

Institut national de santé publique du Québec  
Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec

Juillet 2016

## **AUTEURS**

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI

## **AVEC LA COLLABORATION DU GROUPE DE TRAVAIL « GUIDES DE L'AMMIQ » DU COMITÉ SUR LES ANALYSES DE LABORATOIRE EN LIEN AVEC LES ITSS (CALI) :**

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue et président du groupe de travail

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI

François Coutlée, médecin microbiologiste-infectiologue

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue

Julie Bestman-Smith, médecin microbiologiste-infectiologue

Marie Gourdeau, médecin microbiologiste-infectiologue

Avec la collaboration de Madame **Brigitte Lefebvre**, microbiologiste Ph.D., dans la révision de ce guide de pratique.

## **Et avec la collaboration des autres membres du Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les infections transmissibles sexuellement et par le sang (CALI)**

Le Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) est un comité permanent d'experts formé avec l'accord du ministère de la Santé et des Services sociaux (MSSS) et de l'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ). Il relève de l'unité sur les ITSS de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail de l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ). Il est rattaché au directeur du Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) pour les aspects de laboratoire ainsi qu'au directeur de la Direction des risques biologiques et de la santé au travail (DRBST) pour les aspects de santé publique. Le CALI a le mandat de fournir une expertise scientifique et de formuler des recommandations et avis visant les activités de laboratoire à des fins de dépistage, de diagnostic, de suivi et de contrôle des ITSS. La liste des membres pour 2016 est présentée à la page suivante.

## **MISE EN PAGE**

Virginie Boué, Direction des risques biologiques et de la santé au travail

Institut national de santé publique du Québec

*Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document.*

*Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.*

## Liste des membres du CALI (en ordre alphabétique de nom de famille)

Louise Charest, médecin clinicienne, clinique médicale l'Actuel

Marc Dionne (membre d'office), directeur scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Patrick Dolcé, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital régional de Rimouski

Claude Fortin, médecin microbiologiste-infectiologue, CHUM Hôpital Notre-Dame

Éric Frost, microbiologiste, Université de Sherbrooke

Lise Guérard (membre d'office), chef de service, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Annie-Claude Labbé, médecin microbiologiste-infectiologue et présidente du CALI, CIUSSS de l'Est-de-l'Île-de-Montréal

Diane Lambert, médecin-conseil, Direction de santé publique des Laurentides

Gilles Lambert, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Pierre Lebel, médecin microbiologiste-infectiologue, Hôpital général de Montréal

Brigitte Lefebvre, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Jean Longtin, médecin-chef, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

France Morin, médecin clinicienne, CLSC la Pommeraie

Donald Murphy, microbiologiste, Laboratoire de santé publique du Québec, Institut national de santé publique du Québec

Raymond Parent (membre d'office), chef d'unité scientifique, Institut national de santé publique du Québec

Marc Steben, médecin-conseil, Institut national de santé publique du Québec

Isabelle Tétrault, médecin microbiologiste-infectiologue, CHA Hôpital Enfant-Jésus

Annick Trudelle, conseillère scientifique et coordonnatrice du CALI, Institut national de santé publique du Québec

Sylvie Venne, médecin-conseil, Service de lutte contre les ITSS, ministère de la Santé et des Services sociaux

Karl Weiss (membre d'office), médecin microbiologiste-infectiologue, président de l'AMMIQ



## HISTORIQUE DU DOCUMENT

Version N°1 – 25 septembre 2013

Version N°2 – 7 novembre 2014

Version N°3 – Juillet 2016

Description des modifications (si applicable)	Réviseurs	Date (AAAA-MM-JJ)
Mise à jour épidémiologique (section 4.1 et section 5.2.2) Précisions pour l'antibiogramme d'azithromycine (section 10.2.4) Modification concernant l'envoi des souches au LSPQ (section 10.2.5). Ajout au sujet de la déclaration MADDO (section 13)	Claude Fortin Annie-Claude Labbé Brigitte Lefebvre	2014-11-07
Mise à jour section 1 Mise à jour épidémiologique de la section 4 Retrait de la section 5.2.2 Mise à jour des sections 10.2.3 (MALDI-TOF), 10.2.4 (généralités, dilution en agar/diffusion en disque, diffusion sur gradient <i>E-test</i> ) et 10.2.5. Précision concernant la déclaration MADDO dans la section 13. Mise à jour des références	Claude Fortin Annick Trudelle Annie-Claude Labbé Brigitte Lefebvre Karine Blouin	07-2016





## Table des matières

<b>Liste des abréviations .....</b>	<b>VII</b>
<b>1 Contexte.....</b>	<b>1</b>
<b>2 But.....</b>	<b>1</b>
<b>3 Objectifs.....</b>	<b>1</b>
<b>4 Utilisations .....</b>	<b>1</b>
4.1 Incidence.....	1
4.2 Résistance de <i>N. gonorrhoeae</i> aux antibiotiques .....	1
<b>5 Principes .....</b>	<b>3</b>
5.1 Microscopie directe.....	3
5.2 Culture.....	3
<b>6 Échantillon(s).....</b>	<b>4</b>
6.1 Prélèvement.....	4
6.2 Transport.....	5
6.3 Critères de rejet .....	7
<b>7 Sécurité .....</b>	<b>7</b>
<b>8 Équipement et matériel .....</b>	<b>7</b>
8.1 Équipement.....	7
8.2 Matériel .....	7
<b>9 Contrôle de qualité.....</b>	<b>8</b>
<b>10 Procédure .....</b>	<b>9</b>
10.1 Microscopie directe (échantillon urétral chez l'homme symptomatique).....	9
10.2 Culture.....	10
<b>11 Interférences.....</b>	<b>15</b>
<b>12 Rapport .....</b>	<b>15</b>
<b>13 MADO : Déclaration par le laboratoire.....</b>	<b>16</b>
<b>Références .....</b>	<b>17</b>



## Liste des abréviations

AMMIQ	Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec
$\beta$ -gal	$\beta$ -galactosidase
CALI	Comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
GGT	$\gamma$ -glutamyl aminopeptidase
INSPQ	Institut national de santé publique du Québec
ITSS	Infections transmissibles sexuellement et par le sang
LSPQ	Laboratoire de santé publique du Québec
MADO	Maladie à déclaration obligatoire
OMS	Organisation mondiale de la santé
PiP	Proline iminopeptidase
TAAN	Technique d'amplification des acides nucléiques
TMM	Thayer-Martin modifié



## 1 Contexte

---

Ce document est une mise à jour de la version de novembre 2014 du document « Détection de *Neisseria gonorrhoeae* par culture ».

Ce document pourra servir de guide pour aider à la rédaction et à la révision de la procédure opérationnelle normalisée par les responsables du laboratoire. Nous espérons aussi que certaines informations qui y sont présentées pourront être utiles aux cliniciens et professionnels de santé publique qui le consulteront.

## 2 But

---

Décrire les méthodes de détection de *N. gonorrhoeae* par culture à partir d'échantillons anaux, génitaux, pharyngés et oculaires(1).

## 3 Objectifs

---

Être en mesure de réaliser adéquatement la recherche de *N. gonorrhoeae* par culture, compte tenu de l'importance diagnostique et thérapeutique que cela implique, mais aussi pour des considérations de santé publique (traitement des partenaires, surveillance de la résistance et des échecs aux traitements) et, parfois, pour des implications médico-légales.

## 4 Utilisations

---

### 4.1 Incidence<sup>A</sup>

*N. gonorrhoeae* est la cause d'une des infections transmissibles sexuellement les plus importantes en termes d'incidence et de conséquences, surtout pour les femmes (infections pelviennes, facteur de risque pour grossesses ectopiques, douleurs chroniques et infertilité tubaire). Au Québec, l'incidence des cas déclarés d'infection gonococcique augmente depuis la fin des années 1990. Au cours des dix dernières années (de 2004 à 2014), le taux d'incidence a presque quadruplé, passant de 11,0 à 40,0 / 100 000 personnes-année(2). Entre 2003 et 2008, l'augmentation était particulièrement accélérée chez les femmes, avec une augmentation de 178 % comparativement à 51 % chez les hommes(2). Toutefois, entre 2010 et 2014, l'augmentation chez les hommes (66,3 %) a été nettement plus importante que chez les femmes (26,9 %)(2). En 2014, 3 292 cas d'infection gonococcique ont été déclarés au Québec, avec un taux d'incidence de cas déclarés de 21,8 / 100 000 personnes-année chez les femmes et de 58,1 / 100 000 personnes-année chez les hommes(2). Chez les hommes, les taux les plus élevés se trouvent chez les jeunes âgés de 20 à 29 ans(2). Chez les femmes, ce sont les 19 à 24 ans qui sont les plus touchés(2).

### 4.2 Résistance de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques

Le programme québécois de surveillance des souches de *N. gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques n'avait trouvé que quelques souches résistantes aux traitements actuellement recommandés jusqu'à 2004. À partir de ce moment, une hausse importante de la proportion de souches résistantes à la ciprofloxacine a été observée, de telle sorte que la ciprofloxacine a été retirée en 2007 des traitements empiriques recommandés pour la gonorrhée. Les taux de résistance

---

A L'incidence à laquelle on fait référence ici est l'incidence de cas déclarés.

pour les souches isolées acheminées au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) (années 2010-2014) figurent au tableau 1(3-7).

La surveillance provinciale de la résistance de *N. gonorrhoeae* a démontré qu'entre 1,0 et 1,7 % des souches testées se sont avérées résistantes à l'azithromycine pour les années 2010 à 2013(3-6) (voir tableau 1). En 2014, une importante augmentation de souches résistantes à l'azithromycine a été observée (6,7 %)(7).

Bien que la littérature rapporte la présence de souches non sensibles à la ceftriaxone (concentration minimale inhibitrice (CMI)  $\geq 0,5$  mg/L) ou à la céfixime (CMI  $\geq 0,5$  mg/L)(8), de telles souches n'avaient jamais été identifiées au LSPQ depuis le début de la surveillance, jusqu'à tout récemment : en 2015, 2 souches ont été trouvées non sensibles à la céfixime (CMI 0,5 mg/L). Des souches avec sensibilité réduite à la céfixime ont été observées au cours des dernières années (tableau 1). La définition de sensibilité réduite varie dans la littérature : certaines sources utilisent un seuil à 0,12 mg/L(9), alors que l'Organisation mondiale de la santé (OMS) établit ce seuil à 0,25 mg/L pour la céfixime et à 0,12 mg/L pour la ceftriaxone(10). En 2014, 6,5 % des souches avaient des CMI à la céfixime variant de 0,12 à 0,25 mg/L, valeurs se rapprochant du critère seuil de non-sensibilité ( $\geq 0,5$  mg/L)(7).

**Tableau 1 Taux de résistance (ou de sensibilité réduite) des souches de *N. gonorrhoeae* isolées dans les laboratoires du Québec et reçues au LSPQ dans le cadre du programme québécois de surveillance des souches de *N. gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques(3-7).**

Antibiotique	2010 (n = 920)	2011 (n = 797)	2012 (n = 772)	2013 (n = 714)	2014 (n = 906)
Ciprofloxacine	32,2 %	35,3 %	47,5 %	38,6 %	36,7 %
Azithromycine	1,2 %	1,0 %	1,7 %	1,7 %	6,7 %
Céfixime					
0,25 mg/L	0,2 %	0,8 %	0,5 %	0,4 %	0,2 %
0,12 – 0,25 mg/L	6,8 %	9,8 %	3,9 %	4,5 %	6,5 %
Ceftriaxone <sup>B</sup>					
0,12 mg/L	0,1 %	0,1 %	0,4 %	0,4 %	3,9 %

B Aucune souche n'a démontré une CMI  $\geq 0,25$  mg/L de 2010 à 2014.

## 5 Principes

---

La détection de *N. gonorrhoeae* peut se faire par microscopie directe (Gram), par culture ou par technique d'amplification des acides nucléiques (TAAN).

### 5.1 Microscopie directe

Cette méthode est fiable uniquement pour l'identification présomptive de *N. gonorrhoeae* à partir d'un échantillon urétral provenant d'un homme symptomatique (sensibilité allant jusqu'à 89 - 95 % et spécificité de plus de 90 %)(11-13). La performance (sensibilité et spécificité) de la coloration de Gram sur les autres spécimens tels les sécrétions endocervicales chez la femme ou encore les échantillons rectaux ou pharyngés est insuffisante pour recommander cette technique de routine sur les spécimens autres que l'échantillon urétral provenant d'un homme symptomatique(12).

### 5.2 Culture

#### 5.2.1 AVANTAGES ET DÉSAVANTAGES PAR RAPPORT AUX TAAN

- Peu coûteuse et hautement spécifique.
- Moins sensible que les TAAN pour la détection, particulièrement dans un contexte de dépistage (patient asymptomatique).
- Méthode dont le rendement est plus facilement affecté que celui des TAAN par divers facteurs pré-analytiques tels les conditions de transport et d'entreposage.
- Un antibiogramme peut être effectué :
  - puisque l'antibiogramme facilite la prise en charge clinique des patients;
    - la culture est indiquée pour tous les patients présentant un syndrome clinique;
    - la culture devrait toujours être réalisée pour le dépistage des contacts de personne infectée par *N. gonorrhoeae*(14);
    - il est souhaitable qu'un prélèvement pour culture soit réalisé en présence d'un résultat positif par TAAN, s'il est possible de l'obtenir sans retarder le traitement antibiotique.
  - permet de surveiller l'évolution de la résistance aux antibiotiques.
- Il s'agit de la méthode de choix dans les cas où l'on souhaite vérifier l'efficacité du traitement (test de contrôle), car elle permet de réaliser un antibiogramme sur une souche responsable d'un échec de traitement potentiel(15). Dans ce contexte, le prélèvement pour culture devrait être fait le plus tôt possible à partir de trois jours et jusqu'à deux semaines après la fin du traitement(15-17).
- Certaines trousse commerciales permettant l'amplification des acides nucléiques ont une spécificité sous-optimale pour les prélèvements pharyngés (dans lesquels on peut retrouver d'autres espèces du genre *Neisseria* spp.)(18,19). Ainsi, dépendamment de la trousse utilisée au laboratoire, la culture pourrait être la méthode privilégiée pour la recherche de *N. gonorrhoeae*, même dans les populations où le guide québécois de dépistage des infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS) recommande un TAAN pour le dépistage (homme ayant des relations sexuelles avec des hommes (HARSAH) et travailleuses du sexe)(14,20).
- Il s'agit de la méthode privilégiée dans des contextes médicolégaux(16).

## 6 Échantillon(s)

---

### 6.1 Prélèvement

#### 6.1.1 MICROSCOPIE DIRECTE

Prélever l'écoulement urétral à l'aide d'un écouvillon qui pourra servir à l'étalement sur lame au chevet ou être acheminé au laboratoire dans un milieu de transport ne contenant pas de charbon.

#### 6.1.2 CULTURE

Le rendement optimal de la culture pour le diagnostic ou le dépistage de la gonorrhée est tributaire d'une série de facteurs(12) :

- Le nombre de sites prélevés;
- La technique de prélèvement et le type d'écouvillon utilisé;
- Les conditions de transport et la durée entre le prélèvement et l'ensemencement;
- La composition et la qualité des milieux de culture utilisés;
- Les conditions d'ensemencement et d'incubation;
- Les réactifs et techniques utilisés pour la confirmation de l'identification de *N. gonorrhoeae*.

##### 6.1.2.1. Généralités sur le prélèvement

- La recherche de *N. gonorrhoeae* par culture se fait (outre les liquides biologiques normalement stériles) sur des spécimens prélevés à partir de muqueuses.
- L'écouvillon peut être fait de rayonne ou de dacron avec un manche en plastique ou en aluminium; les milieux de transport choisis doivent être fournis avec des écouvillons faits de l'un de ces matériaux.
- Certains lots d'alginate de calcium peuvent être toxiques pour *N. gonorrhoeae* et les écouvillons de coton ne sont pas recommandés à cause des acides gras qui peuvent être inhibiteurs pour *N. gonorrhoeae*.
- L'utilisation d'antiseptique ou d'analgésique avant ou lors du prélèvement peut inhiber la croissance de *N. gonorrhoeae*.
- Les prélèvements pour culture réalisés moins de 48 heures après l'exposition peuvent donner un résultat faussement négatif(16).
- Lorsque plusieurs prélèvements sont indiqués au même moment (culture, TAAN et cytologie), l'ordre des prélèvements n'influence pas le rendement de la culture pour *N. gonorrhoeae*(21).

##### 6.1.2.2. Échantillon endocervical

- Ne pas utiliser de lubrifiant durant l'examen pelvien.
- Nettoyer le col utérin des sécrétions vaginales et du mucus.
- Insérer l'écouvillon de 2 à 3 cm dans le canal endocervical et effectuer une rotation une fois à l'intérieur pendant 5 secondes en le retirant.



- En présence d'exsudat purulent au niveau endocervical, le recueil de celui-ci peut être suffisant.

#### 6.1.2.3. Échantillon urétral

- Idéalement, prélever l'échantillon au moins une heure après que le patient ait uriné.
- Insérer un écouvillon mince (type urétral) de 2 à 3 cm dans l'urètre et effectuer une rotation une fois à l'intérieur pendant 5 secondes en le retirant.
- En présence d'écoulement urétral purulent, le recueil de celui-ci peut être suffisant.

#### 6.1.2.4. Échantillon vaginal

- Chez les filles prépubères, l'épithélium vaginal peut être infecté par *N. gonorrhoeae* et les échantillons de sécrétions vaginales sont acceptables.
- Les sécrétions vaginales ne sont pas considérées comme un spécimen optimal pour le diagnostic de la gonorrhée chez la femme en utilisant la culture, exception faite de la patiente qui n'a plus de col (hystérectomisée).
- Insérer l'écouvillon dans le vagin et prélever l'exsudat ou les sécrétions vaginales le plus haut possible dans le canal vaginal en effectuant une rotation contre la paroi vaginale pendant 5 secondes.

#### 6.1.2.5. Échantillon pharyngé

- Utiliser un abaisse-langue pour bien dégager la langue.
- Écouvillonner les amygdales et le pharynx postérieur entre les piliers amygdaliens en évitant de toucher les autres parties de la muqueuse oro-pharyngée ou la langue avec l'écouvillon(22).

#### 6.1.2.6. Échantillon ano-rectal

- Insérer l'écouvillon approximativement 2 à 3 cm au-delà du sphincter anal et effectuer une rotation à l'intérieur pendant 10 secondes ou plus et le retirer tout en poursuivant la rotation.
- Si l'écouvillon est souillé de selles, idéalement il faut le jeter et recommencer.
- Chez des patients symptomatiques, l'obtention d'un échantillon sous visualisation directe par anoscopie est idéale.

#### 6.1.2.7. Échantillon oculaire

- Le prélèvement de sécrétions oculaires n'est indiqué qu'en présence de signes ou symptômes.
- Après avoir rétracté la paupière inférieure, recueillir l'exsudat purulent conjonctival ou écouvillonner la conjonctive enflammée de la périphérie vers le coin médian de l'œil.
- Utiliser un écouvillon par conjonctive si les deux yeux sont atteints.

## 6.2 Transport

### 6.2.1 MICROSCOPIE DIRECTE

Si l'étalement sur lame est fait au chevet, les lames séchées à l'air doivent être identifiées et transportées dans un porte-lame.

## 6.2.2 CULTURE

Inoculation directe au chevet sur milieu de transport nutritif :

- Lorsqu'un transport prolongé (plus de 48 heures) est anticipé, idéalement, un milieu de transport nutritif est ensemencé au chevet et est transporté dans une atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>(12).
- Les milieux peuvent être la gélose sélective et nutritive utilisée dans le laboratoire pour l'incubation ou encore les milieux fournis dans divers systèmes commerciaux disponibles (ex. : *JEMBEC*, *Transgrow*, *InTray™ GC* et *Gono-Pak*).
- L'atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub> 3-5 % peut être obtenue avec l'aide d'une jarre avec une chandelle ou avec des systèmes commerciaux tels que *Oxoid CO<sub>2</sub> Gen™* ou *BBL GasPak™*.
- L'écouvillon doit être roulé sur la surface de la gélose selon l'une des deux façons suivantes :
  - étendre le spécimen sur un quadrant puis procéder par épuisement sur les autres quadrants;
  - effectuer un « Z » ou un « N » avec l'écouvillon. Une fois reçu au laboratoire, le spécimen sera étendu par épuisement.
- Quoi qu'il en soit, cette méthode est de nos jours rarement utilisée, principalement pour des raisons pratiques.

Milieux de transport non nutritifs commerciaux pour écouvillons :

- La majorité des milieux de transports commerciaux sont des milieux semi-solides gélifiés non nutritifs destinés essentiellement à prévenir la dessiccation du spécimen.
- Une des variables importantes est le délai de transport. Il doit être le plus court possible. La performance des différents milieux de transport commerciaux est comparable lorsque le délai de transport est de moins de 6 heures(23-25). Cependant, le milieu de transport semi-solide gélifié commercial *Copan M40* permet un délai pouvant aller jusqu'à 24 heures, tout en conservant un excellent rendement (96 %)(23,26). Un délai de transport se situant entre 24 et 48 heures, entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire, peut compromettre la viabilité de *N. gonorrhoeae*. Lorsque le délai entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire est de 24 à 48 heures, en présence de culture négative, il est suggéré d'inscrire un commentaire sur le rapport, par exemple : « Un délai excessif entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire peut compromettre la viabilité de *N. gonorrhoeae*. Il est recommandé d'acheminer l'échantillon dans un délai de moins de 24 heures ». Lorsque le délai est de plus de 48 heures, on peut soit rejeter la demande d'analyse ou la mettre en culture en s'assurant d'inclure, en présence de culture négative, un commentaire tel que noté ci-haut. Des études datant de plusieurs années ont suggéré que la présence de charbon dans le milieu de transport était nécessaire pour assurer la viabilité de *N. gonorrhoeae*. La plupart des milieux de transport semi-solides gélifiés d'Amies de dernière génération actuellement disponibles sur le marché, notamment le milieu de la compagnie *Copan (Copan M40 Transystem gel)*, ne nécessitent pas d'addition de charbon pour un meilleur rendement(25,26).
- Il existe une controverse sur la température requise pendant le transport. Un message est véhiculé indiquant que la réfrigération des spécimens réduit la probabilité de retrouver *N. gonorrhoeae* en culture. Cependant, des données montrent que l'entreposage des spécimens à 4°C ne réduit certainement pas le rendement des cultures par rapport à un entreposage à la température de la pièce(23,27). Un entreposage à 4°C ou à la température de la pièce est donc adéquat; les échantillons réfrigérés ne doivent pas être rejetés.
- Des milieux de transport liquides d'Amies modifiés combinés à un nouveau type d'écouvillon, l'écouvillon velouteux, ont été mis sur le marché durant les dernières années (*Copan, Medical*

*Wire*). Le bout de ces écouvillons est recouvert de courtes fibres en nylon qui sont orientées de façon perpendiculaire à la surface de celui-ci. Cette technologie permet une action capillaire plus forte et entraîne une rétention plus importante de spécimen à la surface de l'écouvillon; un plus grand inoculum bactérien est donc retenu lors du prélèvement. Ce système permet aussi une relâche plus efficace du spécimen dans le milieu de transport liquide. Ces écouvillons ont été associés à un meilleur rendement pour la conservation de *N. gonorrhoeae* comparativement à des milieux semi-solides gélifiés d'*Amies* lorsque réfrigérés(28).

### 6.3 Critères de rejet

- Identification absente et/ou discordance avec les informations contenues sur la requête;
- Délai de transport au-delà des limites acceptables établies par le laboratoire;
- Dessiccation évidente à l'œil nu du milieu de transport;
- Spécimen inadéquat tel qu'établi par le laboratoire.

## 7 Sécurité

---

- Les spécimens génitaux doivent être manipulés avec des gants et avec soin;
- Les consignes de biosécurité de niveau 2 doivent être respectées;
- Minimiser les aérosols;
- Éliminer les déchets biologiques selon les consignes et protocoles en vigueur dans votre institution.

## 8 Équipement et matériel

---

### 8.1 Équipement

- Incubateur CO<sub>2</sub>.

### 8.2 Matériel

- Lames et colorants pour la coloration de Gram.
- Géloses chocolat (non sélectives) :
  - puisque certaines souches peuvent être sensibles à la vancomycine contenue dans les géloses sélectives (dans certaines régions du globe, jusqu'à 5 % des souches peuvent être inhibées en présence de 3 à 4 mg/L de vancomycine), il est généralement recommandé d'ensemencer une gélose chocolat en plus de la gélose sélective ou utiliser 2 mg/L de vancomycine(12).
  - puisqu'il est difficile d'isoler une espèce fastidieuse de la flore normale d'une muqueuse, peu importe le spécimen, certains laboratoires ont abandonné cette pratique. Il est d'ailleurs toujours recommandé de ne pas ensemencer une gélose non sélective pour les spécimens ano-rectaux.
- Géloses sélectives : 5 types de géloses sélectives et nutritives pour optimiser la recherche de *N. gonorrhoeae* peuvent être utilisées. Ces géloses contiennent des antimicrobiens destinés à

inhiber la croissance de la flore normale des muqueuses desquelles on prélève les échantillons pour la recherche de *N. gonorrhoeae*.

- Gélouses sélectives : la composition exacte en concentration de chacun des antibiotiques contenus dans les gélouses peut parfois légèrement varier selon la référence consultée. À titre indicatif, les concentrations d'antibiotiques mentionnées dans le *Koneman's Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology* sont mentionnées ici(29).
  - *Thayer-Martin modifié (TMM)*: contient vancomycine (3,0 mg/L), colistin (7,5 mg/L), triméthoprim (5,0 mg/L) et nystatin (12,5 mg/L).
  - *Martin-Lewis* : contient vancomycine (4,0 mg/L), colistin (7,5 mg/L), triméthoprim (5,0 mg/L), et anisomycine (20,0 mg/L), qui est plus stable que nystatin, ce qui éloigne la date de péremption de la gélose.
  - *Thayer-Martin amélioré* : TMM avec anisomycine au lieu de nystatin.
  - *New-York city* : contient une base agar supplémentée en protéose-peptone avec vancomycine (2,0 mg/L), colistin (5,5 mg/L), amphotéricine B (1,2 mg/L) et triméthoprim (3,0 mg/L).
  - *GC-Lect* : contient lincomycine (1,0 mg/L), vancomycine (2,0 mg/L), colistin (7,5 mg/L), amphotéricine B (1,5 mg/L) et triméthoprim (5,0 mg/L).
- Pour l'identification : oxydase, catalase (superoxoI-30 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), trousse commerciale d'identification (par exemple : utilisation des carbohydrates, utilisation d'enzymes préformées, détection immunologique et hybridation d'acides nucléiques - voir section 10.2.2).

## 9 Contrôle de qualité

- Vérifier la date d'expiration des colorants, milieux et réactifs/trousse d'identification utilisés.
- Tester la performance de chaque nouveau lot de réactifs/trousse d'identification. Les trousse d'identification commerciale comprennent généralement leur propre procédure de contrôle de la qualité incluse dans la monographie de la trousse. Généralement, les souches contrôles suivantes sont utilisées pour tester la performance des réactifs d'identification préparés maison ou des trousse commerciale :
  - *N. gonorrhoeae* ATCC 43069 ou ATCC 43070
  - *N. meningitidis* ATCC 13077
  - *N. lactamica* ATCC 23970
  - *M. catarrhalis* ATCC 25240
- Milieux non sélectifs lorsque préparés au laboratoire ou achetés si le fournisseur ne procède pas au contrôle requis :
  - à partir d'une émulsion au standard McFarland 0,5, incubé en CO<sub>2</sub> 5 à 7 % à 35°C pendant 24 heures.

Souche	Inoculum standard	Résultat attendu
<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	1 : 10	Croissance
<i>H. influenzae</i> ATCC 10211	1 : 10	Croissance

- Milieux sélectifs achetés ou préparés au laboratoire : pour chaque lot, vérifier les propriétés sélectives et nutritives du milieu :
  - à partir d'une émulsion au standard McFarland 0.5, incuber en CO<sub>2</sub> 5 à 7 % à 35°C pendant 24 heures.

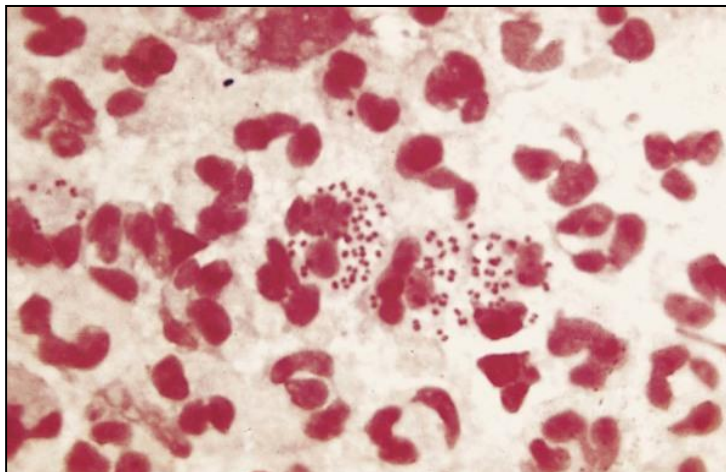
Souche	Inoculum standard	Résultat attendu
<i>N. gonorrhoeae</i> ATCC 43069	1 : 10	Croissance
<i>P. mirabilis</i> ATCC 43071 Tester seulement si triméthoprim dans la gélose sélective	1 : 100	Inhibition
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	1 : 100	Inhibition

- Vérifier la calibration, la température et la concentration de CO<sub>2</sub> de l'incubateur.

## 10 Procédure

### 10.1 Microscopie directe (échantillon urétral chez l'homme symptomatique)

- Étaler le spécimen sur une lame après que les milieux de culture ont été ensemencés et fixer le frottis. Si l'étalement sur la lame a été fait au chevet, passer directement à la fixation du frottis. Si un milieu de transport liquide avec écouvillon velouteux est utilisé, déposer 100 µL de milieu de transport sur une lame pour effectuer la coloration de Gram.
- Procéder à la coloration de Gram.
- Lire au microscope à 100X : rechercher la présence de polymorphonucléaires et de cocci Gram négatif intracellulaires. Les cocci Gram négatifs sont typiquement arrangés en paires avec leurs faces concaves l'une en face de l'autre; on dit qu'ils ont une forme de haricot ou de grain de café (voir figure 2).



**Figure 1 Diagnostic présomptif de la gonorrhée par l'examen microscopique d'une coloration de Gram**  
(avec autorisation de l'éditeur(30))

## 10.2 Culture

### 10.2.1 ENSEMENCEMENT ET INCUBATION

- Ensemencer une gélose sélective avec ou sans gélose non sélective :
  - étendre le spécimen sur un quadrant puis procéder par épuisement sur les autres quadrants.
  - si un milieu de transport liquide avec écouvillon velouteux est utilisé, déposer 100 µL de milieu de transport dans le premier quadrant puis étendre par épuisement sur les autres quadrants.
- Incuber à 35-37°C dans une atmosphère humide (70–80 % d'humidité) avec 5 % de CO<sub>2</sub>.
- Lire les géloses quotidiennement jusqu'à 72 heures.

### 10.2.2 IDENTIFICATION PRÉSOMPTIVE

- Après 48 heures d'incubation, les colonies typiques de *N. gonorrhoeae* varient en diamètre de 0,5 à 1,0 mm et ont une teinte gris-blanc. Elles sont transparentes à opaques et sont planes à convexes. Après 48 à 72 heures d'incubation, elles peuvent atteindre jusqu'à 3 mm et peuvent exhiber un pléomorphisme.
- Lorsque des colonies suspectes sont observées, effectuer une coloration de Gram, une catalase et une oxydase. Les résultats préliminaires attendus pour une souche de *N. gonorrhoeae* sont :
  - coloration de Gram : diplocoques Gram négatif.
  - oxydase : positive.
  - catalase : positive. La catalase de *N. gonorrhoeae* est généralement explosive. Le test de superoxol peut aider à identifier de façon présomptive *N. gonorrhoeae*. Une colonie de *N. gonorrhoeae*, sur laquelle une goutte de peroxyde d'hydrogène 30 % est déposée, produira immédiatement des bulles de façon exagérée en comparaison aux autres bactéries dont la réaction est positive pour la catalase.

### 10.2.3 ANALYSES DE CONFIRMATION

- Une fois que les tests préliminaires réalisés sont compatibles avec *N. gonorrhoeae*, sous-cultiver la souche sur une gélose chocolat pour prouver la viabilité. À ce stade, la souche peut également être sous-cultivée sur un milieu nutritif de base (telles une gélose nutritive, une gélose *Trypticase soy agar* (TSA) ou une gélose Mueller-Hinton); l'absence de croissance sur milieu nutritif de base et la croissance sur gélose chocolat renforcent l'identification présomptive de *N. gonorrhoeae*. La sous-culture incubée pour la nuit à 35-37°C avec 5 % CO<sub>2</sub> servira à la réalisation des tests de confirmation de l'identification.
- Utilisation des carbohydrates (détection de la production d'acide) :
  - il est possible de réaliser l'identification par méthode dépendante de la croissance de la souche sur des tubes d'agar contenant 1 % de chacun des sucres, mais cette méthode, qui nécessite au moins 24 heures d'incubation pour être interprétable, a été abandonnée pour une microméthode qui nécessite au plus 4 heures d'incubation, donc plus rapide.
  - un inoculum dense (McFarland 5) de la souche à tester et des souches contrôles appropriées dans du tampon phosphate est inoculé dans quatre petites quantités d'eau peptonée contenant respectivement du glucose, du maltose, du sucrose et du lactose en concentration



de 10-20 %. Typiquement, une plaque à 96 puits standard est utilisée. Ce test dépend de l'activité d'enzymes préformées et n'est donc pas dépendant de la croissance bactérienne.

- une souche de *N. gonorrhoeae* produira une réaction d'acidité seulement dans le glucose. Les réactions seront donc : glucose+/maltose-/sucrose-/lactose-.
- la réaction avec le lactose peut être remplacée par un test avec un disque d'o-nitrophényl-β-D-galactopyranoside (ONPG) pour lequel *N. gonorrhoeae* donne une réaction négative.
- certains problèmes peuvent survenir :
  - la réaction d'acidité peut être difficile à interpréter.
  - certaines souches de *N. gonorrhoeae* ont une utilisation lente du glucose et peuvent donner des résultats faussement négatifs.
  - certains *Neisseria* spp. non-*gonorrhoeae* peuvent produire de l'acide avec le glucose et ne pas en produire avec les autres sucres. Classiquement, *N. cinerea* peut donner une réaction positive faible avec le glucose. *Kingella denitrificans* peut aussi donner le même profil que *N. gonorrhoeae*. Il faut donc s'assurer que les tests de confirmation sont faits uniquement sur les souches qui poussent sur milieu sélectif et qui répondent aux critères cités en 10.2.2.
- Détection d'enzymes préformées (β-galactosidase [β-gal], γ-glutamyl aminopeptidase [GGT], proline iminopeptidase [PiP]) :
  - la présence différentielle de ces enzymes est le principe utilisé pour l'identification de souches de diplocoques Gram négatifs, oxydase et catalase positives qui croissent sur gélose sélective dans plusieurs trousse commerciales (Ex : *BactiCard Neisseria* consiste en un carton avec 4 cercles imprégnés de substrat chromogénique alors que *GonoChek II* se présente par un tube avec 3 substrats chromogéniques). Ces trousse vont donc différencier les souches de *N. gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *N. lactamica* et *M. catarrhalis*.
  - le profil d'une souche de *N. gonorrhoeae* pour ces réactions est : β-gal négative, GGT négative et PiP positive.
  - des réactions faussement négatives pour l'enzyme PiP ont été décrites dans plusieurs pays durant les années 2000 (Danemark, Australie, Royaume-Uni et Suède)(31-35). Ce phénomène pourrait amener un risque de résultats faussement négatifs de culture pour recherche de *N. gonorrhoeae* si un laboratoire utilise une méthode d'identification basée sur la présence différentielle d'enzymes préformées comme celles mentionnées ci-haut. Une étude de prévalence réalisée par le LSPQ sur des souches isolées entre 2007 et 2010 indique que durant cette période, 4,1 % des souches sont négatives pour l'activité de l'enzyme PiP et que la proportion de souches a augmenté entre 2007 et 2010(36-38). Il est important d'aiguiser la vigilance des microbiologistes quant à l'existence de ce phénomène et il semble préférable d'effectuer des tests complémentaires sur toute souche de cocci Gram négatif oxydase et catalase positives dont l'activité de l'enzyme PiP est négative si la méthode d'identification est basée sur la présence de cette enzyme.
- Confirmation avec des trousse multitest :
  - certaines trousse commerciales (telles que *RapID™ NH*, *API NH* et *BBL™ Crystal™ Neisseria/haemophilus ID*) combinent l'utilisation de plusieurs carbohydrates et la détection de plusieurs enzymes préformées pour obtenir une identification(39). La carte d'identification de l'automate *VITEK® II*, la carte *VITEK® II NH*, est aussi utilisée pour la confirmation de souches présomptives(40-42).

- Confirmation immunologique :
  - ces trousse commerciales utilisent des anticorps monoclonaux dirigés vers la protéine MOMP (*major outer membrane protein*) et fonctionnent soit par co-agglutination, colorimétrie ou fluorescence (ex. : *BBL GonoGen*, *Phadebact® Monoclonal GC test*, *GonoGen™ II* et *MicroTrak N. gonorrhoeae culture confirmation test*)(39).
  - certaines de ces trousse pour la confirmation par méthode immunologique ont montré des problèmes de spécificité. Il est donc suggéré d'utiliser une méthode supplémentaire lorsque la méthode est positive, surtout lorsque l'échantillon provient d'un site où *N. meningitidis* peut être retrouvé(11).
- Sondes moléculaires :
  - le système *AccuProbe* fonctionne par chimiluminescence et utilise une sonde d'acide désoxyribonucléique (ADN) simple-brin complémentaire à l'acide ribonucléique ribosomique (ARNr) de *N. gonorrhoeae* avec une excellente sensibilité et spécificité(43).
- MALDI-TOF :
  - il y a de plus en plus de littérature publiée sur la performance de la technologie *MALDI-TOF* (spectrométrie de masse) pour l'identification de *N. gonorrhoeae* et de la capacité de cette technologie à différencier *N. gonorrhoeae* de *N. meningitidis* et des espèces commensales de *Neisseria* spp.. Les données issues de publications récentes sont prometteuses, particulièrement lorsque les bases de données utilisées par les logiciels des appareils sont optimisées(44-46). Il est donc probable que cette technologie soit utilisée dans les années à venir pour la confirmation de l'identification de *N. gonorrhoeae*(44-46). Une étude pilote réalisée au LSPQ a montré que les deux appareils de MALDI-TOF actuellement sur le marché, le *MALDI Biotyper* (compagnie *Brucker*) et le *VITEK MS®* (compagnie *Biomérieux Clinical Diagnostics*), ont identifié correctement vingt-deux souches distinctes de *N. gonorrhoeae* dont dix étaient déficientes pour l'activité de l'enzyme *PiP*(47).

Note : la performance de chacune des méthodes de confirmation de l'identification de *N. gonorrhoeae* discutées ci-dessus varie considérablement dans la littérature. Compte tenu de cette variation et de la possibilité que certaines souches puissent subir des variations phénotypiques, il pourrait être préférable de tester, par une méthode alternative à la méthode de routine, toute souche de diplocoque Gram négatif oxydase et catalase positives qui ne pousse pas sur gélose nutritive, dont une première méthode de confirmation répétée ne permet pas l'identification. De telles souches devraient aussi être acheminées au LSPQ.

## 10.2.4 Antibiogramme

### 10.2.4.1 Généralités

Note : l'information de la présente section est grandement tirée de la 26<sup>e</sup> édition du *Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) M100S*(48). Il est possible qu'une réédition future de ce document de référence rende cette section désuète, le lecteur est invité à vérifier si une version à jour du CLSI n'a pas été publiée depuis la publication de la 26<sup>e</sup> édition du document.

- Un antibiogramme devrait être réalisé sur toutes les souches de *N. gonorrhoeae* isolées au laboratoire. L'antibiogramme devrait être réalisé à partir d'une souche pure obtenue d'une sous-culture sur gélose chocolat incubée à 35-37°C dans une atmosphère humide (70 – 80 % d'humidité) avec 5 % de CO<sub>2</sub> de 20 à 24 heures. La 26<sup>e</sup> édition du CLSI M100S recommande de tester de routine (Groupe A) la sensibilité envers la tétracycline, la céfixime, la ceftriaxone et la



ciprofloxacine. Les souches sensibles à la tétracycline sont considérées sensibles à la doxycycline(48).

- L'émergence de souches de *N. gonorrhoeae* de sensibilité réduite aux céphalosporines de troisième génération au Québec a amené le comité sur les analyses de laboratoire en lien avec les ITSS (CALI) à se pencher sur le diagnostic de laboratoire de la gonorrhée. Les membres du CALI sont, à l'instar du CLSI, d'avis **qu'il est indiqué de tester de routine la sensibilité à la céfixime et à la ceftriaxone sur toutes les souches isolées dans les laboratoires de première ligne**, puisque les guides de traitement produits par l'Institut national d'excellence en santé et en services sociaux (INESSS) pour les cliniciens québécois recommandent ces antibiotiques en première ligne pour le traitement de l'infection gonococcique non compliquée(15).
- L'émergence d'un taux anormalement élevé de résistance à l'azithromycine des souches de *N. gonorrhoeae* isolées au Québec ayant récemment été observée (61 (6,7 %) des 906 souches testées(7)), **l'Institut national de santé publique du Québec (INSPQ) recommande fortement d'effectuer l'analyse de la sensibilité à l'azithromycine, en plus des antibiotiques recommandés par le CLSI, sur toutes les souches isolées dans les laboratoires de première ligne** puisque cet antibiotique est actuellement le traitement alternatif empirique de choix chez les patients pour qui les céphalosporines sont contre-indiquées.
- Il est recommandé de tester chacun des antibiotiques recommandés avec une des techniques décrites ci-après.
- Depuis 2016, le CLSI ne recommande plus de tester la spectinomycine (Groupe O), un antibiotique qui n'est de toute façon pas distribué au Canada(48).
- Le milieu recommandé pour effectuer l'épreuve de sensibilité est le milieu base GC supplémenté à 1 % : 1,1 g L-cystéine, 0,03 g guanine HCl, 3 mg thiamine HCl, 13 mg d'acide para-aminobenzoïque (PABA), 0,01 g B12, 0,1 g cocarboxylase, 0,25 g NAD, 1 g adénine, 10 g L-glutamine, 100 g glucose, 0,02 g nitrate ferrique et 25.9 g de L-cystéine HLC (dans 1 L d'eau)(48).  
Il est à noter que les concentrations mentionnées ici haut sont celles retrouvées dans la 26<sup>e</sup> édition du CLSI M100S(48), mais la composition exacte en concentration de chacune des composantes du supplément peut parfois varier selon la référence consultée et selon les fournisseurs.
- La souche contrôle recommandée pour le contrôle de la qualité de routine par le CLSI est la souche *N. gonorrhoeae* ATCC 49226. Les CMI attendues pour chacun des antibiotiques testés se retrouvent également dans le document du CLSI(48). La CMI de cette souche attendue pour l'azithromycine est 0,25 – 1 µg/mL(49).

#### 10.2.4.2. Détection de β-lactamase

- Depuis 2013, le CLSI ne recommande plus d'effectuer de routine le test de détection de la β-lactamase probablement parce que toutes les thérapies actuellement recommandées sont efficaces contre des souches productrices de β-lactamase(48).

#### 10.2.4.3. Dilution en agar

- La technique de dilution en agar est la méthode de référence pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques de souches de *N. gonorrhoeae*. La technique et les critères d'interprétation sont décrits en détail dans la 26<sup>e</sup> édition du CLSI M100S(48).

- Il n'existe toutefois pas de critères d'interprétation consensuels pour la sensibilité à l'azithromycine dans la littérature. Le CLSI ne propose pas de critères pour l'azithromycine pour la dilution en agar. L'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) suggère qu'une CMI  $\leq 0.25$  mg/L indique qu'une souche de *N. gonorrhoeae* est sensible à l'azithromycine et qu'une CMI  $\geq 1$  mg/L indique qu'une souche est résistante(12,50). D'autres auteurs suggèrent qu'une CMI  $\leq 1$  mg/L indique qu'une souche est sensible alors qu'une CMI  $\geq 2$  mg/L indique qu'une souche est résistante; ces critères sont ceux utilisés par le Laboratoire national de microbiologie à Winnipeg et le LSPQ qui font l'antibiogramme par dilution en agar(51).

#### 10.2.4.4. Diffusion en disque

- La technique de réalisation d'un antibiogramme par diffusion en disque ainsi que les critères d'interprétation sont décrits en détail dans la 26<sup>e</sup> édition du CLSI M100S(48).
- Une autre méthode que celle décrite dans le document du CLSI existe pour la réalisation d'un antibiogramme par diffusion en disque. Dans le présent document, nous référons à la méthode du CLSI mais une méthode alternative, la méthode CDS (*Calibrated Dichotomous Sensitivity*) existe(12).

#### 10.2.4.5. Diffusion sur gradient (E-test)

- Puisqu'il n'y a pas de critères d'interprétation recommandés par le CLSI pour l'azithromycine par la technique de diffusion en disque, la seule façon pratique de réaliser un antibiogramme dans les laboratoires de première ligne est la diffusion sur gradient.
- La technique de diffusion sur gradient est une technique alternative à la dilution en agar pour déterminer la CMI de souches de *N. gonorrhoeae*. Lorsque la technique est réalisée avec un contrôle de la qualité approprié, les CMI obtenues corréleront bien avec celles obtenues par la dilution en agar. L'utilisation de la diffusion sur gradient est entérinée par l'OMS(12).
- Toujours s'assurer d'utiliser des bandelettes sèches (sans humidité visible) et laisser les bandelettes à la température de la pièce pour au moins 30 minutes avant utilisation.
- Utiliser un inoculum direct McFarland 0.5 dans 1 mL de solution saline ou PBS. Utiliser la suspension à l'intérieur de 15 minutes.
- Ensemencer une gélose base GC supplémentée à l'aide d'un écouvillon stérile afin d'obtenir un tapis confluent et laisser sécher 10 minutes après avoir remis le couvercle.
- Déposer la bandelette E-test sur la gélose et s'assurer que la totalité de la bandelette est en contact avec l'agar en enlevant les bulles d'air en appuyant une boucle de la plus faible concentration vers la plus forte concentration. Une fois que la bandelette est en contact avec l'agar elle ne doit pas être bougée.
- N'utiliser qu'une bandelette E-test sur une gélose 90 mm et un maximum de quatre bandelettes sur une gélose de 150 mm.
- Incuber les géloses 20 à 24 heures à 35-37°C dans une atmosphère humide (70-80 % d'humidité) avec 5 % de CO<sub>2</sub>.
- Lire la CMI à l'intersection de l'ellipse de croissance avec l'échelle de la bandelette; la CMI rapportée doit être celle qui se retrouve au-dessus de l'intersection. Lire la CMI à inhibition complète en incluant les halos de croissance, les microcolonies et les macrocolonies isolées dans la pousse.

- Utiliser les critères d'interprétation du CLSI pour l'interprétation si cette technique est utilisée pour les antibiotiques autres que l'azithromycine.
- Pour l'azithromycine, afin d'être en phase avec les laboratoires de références national et provincial, le CALI recommande aux laboratoires de première ligne d'utiliser les critères utilisés par ces derniers; une CMI  $\leq 1$  mg/L indique qu'une souche est sensible alors qu'une CMI  $\geq 2$  mg/L indique qu'une souche est résistante(49,51-54). Une étude préliminaire de corrélation entre les CMI obtenues par E-test et celles obtenues par dilution en agar réalisée au LSPQ a montré une excellente corrélation<sup>C</sup>.

### 10.2.5 Envoi au LSPQ

Toutes les souches isolées doivent être acheminées au LSPQ dans le cadre du programme provincial de surveillance de la résistance de *N. gonorrhoeae* aux antibiotiques. Afin d'éviter les doublons dans les données du programme de surveillance :

- Une souche par patient par 14 jours devrait être envoyée au LSPQ;
- Dans le cas où un laboratoire de biologie médicale envoie ses souches à un laboratoire serveur pour réalisation de l'antibiogramme, seul le laboratoire où la souche a été isolée initialement devrait acheminer la souche au LSPQ.

### 10.2.6 Conservation des souches

Toutes les souches devraient idéalement être conservées soit par congélation dans du glycérol à -20-25°C jusqu'à trois mois ou par congélation dans du glycérol à -70°C ou par lyophilisation pour une conservation à long terme.

## 11 Interférences

---

L'utilisation d'antiseptiques, d'analgésiques topiques et de lubrifiant au moment du prélèvement de l'échantillon devrait être évitée, car ceux-ci peuvent inhiber la croissance de *N. gonorrhoeae*.

## 12 Rapport

---

- Rapporter le résultat de la coloration de Gram sur un spécimen de sécrétions urétrales.
- Rapporter l'absence de croissance de *N. gonorrhoeae* ou la croissance avec l'antibiogramme. En présence d'une culture positive, un rapport préliminaire devrait être produit en attendant le résultat de l'antibiogramme.
- Si le délai de transport n'a pas été respecté, il peut être utile de rapporter un commentaire approprié (ex.: « Un délai excessif entre le prélèvement et l'arrivée au laboratoire peut compromettre la viabilité de *N. gonorrhoeae*. Il est recommandé d'acheminer l'échantillon dans un délai de moins de 24 heures »).
- Il faut souligner, sur le rapport, qu'il s'agit d'une maladie à déclaration obligatoire (MADO).

Le rapport est envoyé au médecin ou à l'infirmière ayant demandé l'analyse.

---

C Communication personnelle, Brigitte Lefebvre, 2014.

## 13 MADO : Déclaration par le laboratoire

---

- Le dirigeant d'un laboratoire ou d'un département de biologie médicale doit déclarer tout résultat positif pour *N. gonorrhoeae* conformément au règlement ministériel d'application de la Loi sur la santé publique<sup>D</sup>.
- En vertu de l'article 7 alinéa 2 du Règlement ministériel d'application sur la santé publique, le dirigeant d'un laboratoire ou d'un laboratoire de biologie médicale qui fait une déclaration doit fournir les renseignements sur le type et le site de prélèvement, la date de prélèvement, les analyses effectuées et les résultats obtenus. Les analyses de sensibilité effectuées et leurs résultats font partie des renseignements qui doivent être fournis au directeur de santé publique dans le cadre de la déclaration obligatoire.

---

D [http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=3&file=/S\\_2\\_2/S2\\_2R2.HTM](http://www2.publicationsduquebec.gouv.qc.ca/dynamicSearch/telecharge.php?type=3&file=/S_2_2/S2_2R2.HTM)  
mis à jour en date du 1e octobre 2014. Consultation le 14 octobre 2014.

## RÉFÉRENCES

- (1) Dunne W. *Neisseria gonorrhoeae* Cultures. In: Garcis L, editor. Clinical Microbiology Procedures Handbook. 3rd ed. Washington, DC: ASM Press; 2010. p. 3.9.3.1-3.9.3.14.
- (2) Sylvie Venne, Gilles Lambert, Karine Blouin. Portrait des infections transmissibles sexuellement et par le sang (ITSS) au Québec - Année 2014 (et projections 2015). Institut national de santé publique du Québec ed. 2015.
- (3) Lefebvre B. Surveillance des souches de *Neisseria gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques dans la province de Québec: rapport 2010. 2011.
- (4) Lefebvre B. Surveillance des souches de *Neisseria gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques dans la province de Québec: rapport 2011. 2012.
- (5) Lefebvre B. Surveillance des souches de *Neisseria gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques dans la province de Québec: rapport 2012. 2013.
- (6) Lefebvre B. Surveillance des souches de *Neisseria gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques dans la province de Québec: rapport 2013. 2014.
- (7) Lefebvre B. Surveillance des souches de *Neisseria gonorrhoeae* résistantes aux antibiotiques dans la province de Québec: rapport 2014. 2016.
- (8) Ohnishi M, Golparian D, Shimuta K, Saika T, Hoshina S, Iwasaku K, et al. Is *Neisseria gonorrhoeae* initiating a future era of untreatable gonorrhea?: detailed characterization of the first strain with high-level resistance to ceftriaxone. Antimicrob Agents Chemother 2011 Jul;55(7):3538-45.
- (9) Allen VG, Mitterni L, Seah C, Rebbapragada A, Martin IE, Lee C, et al. *Neisseria gonorrhoeae* treatment failure and susceptibility to cefixime in Toronto, Canada. JAMA 2013 Jan 9;309(2):163-70.
- (10) WHO. Global action plan to control the spread and impact of antimicrobial resistance in *Neisseria gonorrhoeae* 2012. 2012.
- (11) Elias J, Frosh M. *Neisseria*. In: Versalovic J, editor. Manual of Clinical Microbiology. Washington, DC: ASM Press; 2011. p. 559-73.
- (12) WHO. Laboratory diagnosis of sexually transmitted infections, including human immunodeficiency virus. 2013.
- (13) Orellana MA, Gomez-Lus ML, Lora D. Sensitivity of Gram stain in the diagnosis of urethritis in men. Sex Transm Infect 2012 Jun;88(4):284-7.
- (14) MSSS. Prélèvements et analyses recommandés en fonction de l'infection recherchée chez les personnes asymptomatiques (dépistage\*). GQDITSS 2014.
- (15) INESSS. Guide de traitement pharmacologique ITSS - Infection à *Chlamydia trachomatis* et infection à *Neisseria gonorrhoeae*. Mise à jour 2015. 2015.

- (16) Agence de santé publique du Canada. Lignes directrices canadiennes sur les infections transmissibles sexuellement. Ottawa: Agence de santé publique du Canada; 2008.
- (17) Trudelle A, Labbé AC, Venne S. Tests de contrôle à la suite de la détection d'une infection à *C. trachomatis* ou d'une infection à *N. gonorrhoeae* : indications et analyses recommandées. Institut national de santé publique du Québec; 2015.
- (18) Bachmann LH, Johnson RE, Cheng H, Markowitz LE, Papp JR, Hook EW, III. Nucleic acid amplification tests for diagnosis of *Neisseria gonorrhoeae* oropharyngeal infections. J Clin Microbiol 2009 Apr;47(4):902-7.
- (19) Pope CF, Hay P, Alexander S, Capaldi K, Dave J, Sadiq ST, et al. Positive predictive value of the Becton Dickinson VIPER system and the ProbeTec GC Q x assay, in extracted mode, for detection of *Neisseria gonorrhoeae*. Sex Transm Infect 2010 Nov;86(6):465-9.
- (20) Tétrault I, Trudelle A, Labbé A, Charest L. Analyses de laboratoire recommandées lors du dépistage des infections à *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* (octobre 2013). 2015.
- (21) Ghanem KG, Koumans EH, Johnson RE, Sawyer MK, Papp JR, Unger ER, et al. Effect of specimen order on *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* test performance and adequacy of Papanicolaou smear. J Pediatr Adolesc Gynecol 2006 Feb;19(1):23-30.
- (22) Mitchell M, Rane V, Fairley CK, Whiley DM, Bradshaw CS, Bissessor M, et al. Sampling technique is important for optimal isolation of pharyngeal gonorrhoea. Sex Transm Infect 2013 Nov;89(7):557-60.
- (23) Arbique JC, Forward KR, LeBlanc J. Evaluation of four commercial transport media for the survival of *Neisseria gonorrhoeae*. Diagn Microbiol Infect Dis 2000 Mar;36(3):163-8.
- (24) Farhat SE, Thibault M, Devlin R. Efficacy of a swab transport system in maintaining viability of *Neisseria gonorrhoeae* and *Streptococcus pneumoniae*. J Clin Microbiol 2001 Aug;39(8):2958-60.
- (25) Olsen CC, Schwebke JR, Benjamin WH, Jr., Beverly A, Waites KB. Comparison of direct inoculation and Copan transport systems for isolation of *Neisseria gonorrhoeae* from endocervical specimens. J Clin Microbiol 1999 Nov;37(11):3583-5.
- (26) Thompson DS, French SA. Comparison of commercial Amies transport systems with in-house Amies medium for recovery of *Neisseria gonorrhoeae*. J Clin Microbiol 1999 Sep;37(9):3020-1.
- (27) Sng EH, Rajan VS, Yeo KL, Goh AJ. The recovery of *Neisseria gonorrhoeae* from clinical specimens: effects of different temperatures, transport times, and media. Sex Transm Dis 1982 Apr;9(2):74-8.
- (28) Van Horn KG, Audette CD, Sebeck D, Tucker KA. Comparison of the Copan ESwab system with two Amies agar swab transport systems for maintenance of microorganism viability. J Clin Microbiol 2008 May;46(5):1655-8.
- (29) C Winn W. Koneman's Color Atlas and textbook of Diagnostic Microbiology. Sixth ed. 2005.
- (30) Morse S, Ballard R, Holmes K, Moreland A. Atlas of Sexually Transmitted Diseases and AIDS. 4e Édition ed. 2010.

- (31) Alexander S, Martin IM, Fenton K, Ison CA. The prevalence of proline iminopeptidase negative *Neisseria gonorrhoeae* throughout England and Wales. *Sex Transm Infect* 2006 Aug;82(4):280-2.
- (32) Fjeldsoe-Nielsen H, Unemo M, Fredlund H, Hjorth SV, Berthelsen LM, Palmer HM, et al. Phenotypic and genotypic characterization of prolyliminopeptidase-negative *Neisseria gonorrhoeae* isolates in Denmark. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005 Apr;24(4):280-3.
- (33) Golparian D, Johansson E, Unemo M. Clinical *Neisseria gonorrhoeae* isolate with a *N. meningitidis* porA gene and no prolyliminopeptidase activity, Sweden, 2011: danger of false-negative genetic and culture diagnostic results. *Euro Surveill* 2012;17(9).
- (34) Limnios EA, Nguyen NL, Ray S, McIver CJ, Tapsall JW. Dynamics of appearance and expansion of a prolyliminopeptidase- negative subtype among *Neisseria gonorrhoeae* isolates collected in Sydney, Australia, from 2002 to 2005. *J Clin Microbiol* 2006 Apr;44(4):1400-4.
- (35) Unemo M, Palmer HM, Blackmore T, Herrera G, Fredlund H, Limnios A, et al. Global transmission of prolyliminopeptidase-negative *Neisseria gonorrhoeae* strains: implications for changes in diagnostic strategies. *Sex Transm Infect* 2007 Feb;83(1):47-51.
- (36) Lefebvre B, Lamothe F, Miller M FC, Martin I, Lai King N, Bourgault AM. Detection of prolyliminopeptidase-negative *N. gonorrhoeae* strains in Quebec. 2011; 2011.
- (37) Martin IE, Lefebvre B, Sawatzky P, Hoang L, Van CP, Horsman G, et al. Identification of prolyliminopeptidase-negative *Neisseria gonorrhoeae* strains in Canada. *Sex Transm Dis* 2011 Jan;38(1):40-2.
- (38) Bourgault A-M. Rapport d'activités 2010-2011 du Laboratoire de santé publique du Québec. 2011 Sep.
- (39) Alexander S, Ison C. Evaluation of commercial kits for the identification of *Neisseria gonorrhoeae*. *J Med Microbiol* 2005 Sep;54(Pt 9):827-31.
- (40) Chainé G, Fortin C. Évaluation de la carte VITEK 2 *Neisseria-Haemophilus* pour l'identification rapide et automatisée de *N. gonorrhoeae*. 2009.
- (41) Rennie RP, Brosnikoff C, Shokoples S, Reller LB, Mirrett S, Janda W, et al. Multicenter evaluation of the new Vitek 2 *Neisseria-Haemophilus* identification card. *J Clin Microbiol* 2008 Aug;46(8):2681-5.
- (42) Valenza G, Ruoff C, Vogel U, Frosch M, Abele-Horn M. Microbiological evaluation of the new VITEK 2 *Neisseria-Haemophilus* identification card. *J Clin Microbiol* 2007 Nov;45(11):3493-7.
- (43) Young H, Moyes A. Comparative evaluation of AccuProbe culture identification test for *Neisseria gonorrhoeae* and other rapid methods. *J Clin Microbiol* 1993 Aug;31(8):1996-9.
- (44) Ilina E, Govorun VM. Direct bacterial Profiling by Matrix-Assisted Laser Desorption-Ionization Time-of-Flight mass spectrometry for identification of pathogenic *Neisseria*. *Journal of Molecular Diagnostics* 2009;11(2):75-86.

- (45) Schweitzer VA, van Dam AP, Hananta IP, Schuurman R, Kusters JG, Rentenaar RJ. Bruker matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry identification of *Neisseria gonorrhoeae* is improved by a database extension. *J Clin Microbiol* 2016 Jan 13.
- (46) Carannante A, De CE, Vacca P, Vella A, Vocale C, De Francesco MA, et al. Evaluation of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS) for identification and clustering of *Neisseria gonorrhoeae*. *BMC Microbiol* 2015;15:142.
- (47) Levesque S, Dufresne PJ, Soualhine H, Domingo MC, Bekal S, Lefebvre B, et al. A Side by Side Comparison of Bruker Biotyper and VITEK MS: Utility of MALDI-TOF MS Technology for Microorganism Identification in a Public Health Reference Laboratory. *PLoS One* 2015;10(12):e0144878.
- (48) Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; 26th ed. CLSI supplement M100S. M100-S26 ed. 2016.
- (49) CDC - *Neisseria* reference laboratory. *Neisseria gonorrhoeae* reference strains for antimicrobial susceptibility testing. Centers for disease control 2005 Available from: URL: [www.cdc.gov/std/Gonorrhea/arg/B88-Feb-2005.pdf](http://www.cdc.gov/std/Gonorrhea/arg/B88-Feb-2005.pdf)
- (50) The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0. <http://www.eucast.org>. 2014.
- (51) Tapsall JW, Shultz TR, Limnios EA, Donovan B, Lum G, Mulhall BP. Failure of azithromycin therapy in gonorrhoea and dis correlation with laboratory test parameters. *Sex Transm Dis* 1998 Nov;25(10):505-8.
- (52) Khaki P, Bhalla P, Sharma A, Kumar V. Correlation between In vitro susceptibility and treatment outcome with azithromycin in gonorrhoea: a prospective study. *Indian J Med Microbiol* 2007 Oct;25(4):354-7.
- (53) Mehaffey PC, Putnam SD, Barrett MS, Jones RN. Evaluation of in vitro spectra of activity of azithromycin, clarithromycin, and erythromycin tested against strains of *Neisseria gonorrhoeae* by reference agar dilution, disk diffusion, and Etest methods. *J Clin Microbiol* 1996 Feb;34(2):479-81.
- (54) Yasin RM, Suan KA, Meng CY. Comparison of E-test with agar dilution methods in testing susceptibility of *N. gonorrhoeae* to azithromycin. *Sex Transm Dis* 1997 May;24(5):257-60.