

Anne-Gaëlle Ranc¹, Céline Dupieux-Chabert¹, Yvonne Benito¹, Frédéric Laurent¹, Tiphaine Roussel-Gaillard¹

¹ Bactériologie, Institut des Agents Infectieux (IAI), Hospices Civils de Lyon, Lyon, France.

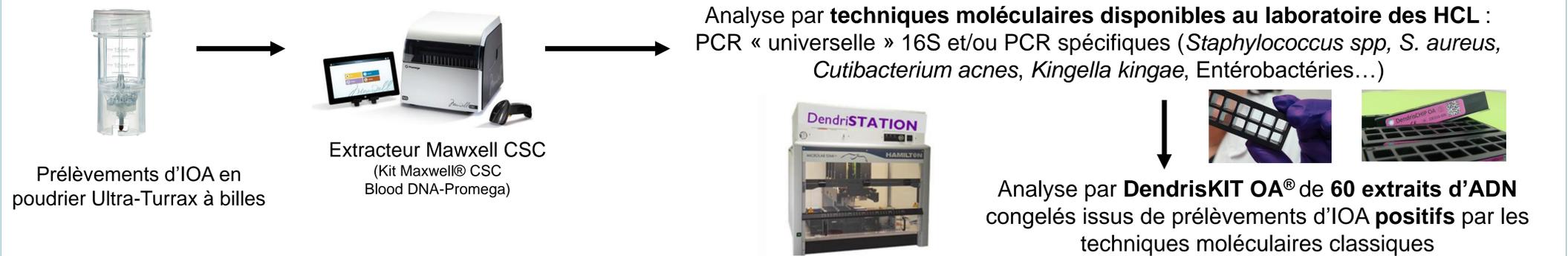
Contact : celine.dupieux-chabert@chu-lyon.fr



Introduction - Objectifs

Le diagnostic microbiologique des infections ostéoarticulaires (IOA) est crucial pour permettre une prise en charge adaptée et précoce des patients ; il repose sur la culture de prélèvements ostéoarticulaires pendant 14 jours, avec donc des résultats parfois tardifs. La société Dendris (Labège, France) a développé la solution DendrisKIT OA® pour un diagnostic syndromique des IOA en 5h post-extraction d'ADN. L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances de ce test moléculaire sur des prélèvements ciblés de patients atteints d'IOA en comparaison aux techniques de biologie moléculaire déjà utilisées au laboratoire.

Matériel et Méthodes



L'analyse par DendrisKIT OA® a consisté en une étape d'amplification sur CFX96 (BioRad) avant une étape d'hybridation automatisée sur biopuce Dendris. Les profils d'hybridation étaient ensuite analysés grâce à la base de données Dendris bénéficiant de machine learning et d'IA.

En cas de discordance PCR classiques / DendrisKIT OA®, les extraits d'ADN ont été réanalysés par les techniques disponibles aux HCL (nouvelles PCR spécifiques et/ou PCR universelle avec séquençage par métagénomique ciblée 16S).

Résultats

L'évaluation retrouvait un taux de concordance avant analyse des discordants de **68,3%** (41 prélèvements/60). Ces prélèvements retrouvaient les germes identifiés dans le **Tableau 1**. Les prélèvements positifs avec une bactérie hors panel DendrisKIT OA® ont été considérés comme conformes si rendus « non détecté » par DendrisKIT OA®.

Microorganismes retrouvés dans les prélèvements concordants avec les deux techniques	Nombre de prélèvements
<i>Cutibacterium acnes</i>	16
<i>Staphylococcus non aureus</i> dont <i>S. epidermidis</i>	10 7
Enterobacteriaceae	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	1
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	1
Bactéries hors panel ^a	5
Total	41

Tableau 1 : Nombre de prélèvements pour lesquels l'identification bactérienne par la technique de routine HCL et DendrisKIT OA® était concordante. ^a Bactéries hors panel : *Fusobacterium nucleatum*, *Bacteroides fragilis*, *Pseudomonas luteola*, *Haemophilus influenzae*, *Morganella morganii*.

Parmi les 19 prélèvements discordants entre les deux techniques :

- 14 prélèvements étaient négatifs par DendrisKIT OA® pour une cible positive par technique HCL (**Tableau 2**). Les résultats HCL ont été confirmés par une technique complémentaire sur le même extrait d'ADN. Parmi ces faux-négatifs DendrisKIT OA®, l'analyse des profils d'hybridation a permis d'observer une hybridation à faible niveau, non prise en compte par le logiciel d'IA (signal inférieur à la limite de détection ou contrôles internes non conformes) pour 7 échantillons : *Kingella kingae* (n=2), *S. epidermidis* (n=4) et *Corynebacterium striatum* (n=1). Pour 3 de ces 14 prélèvements, un résultat faux-positif pour *C. acnes* était en plus observé.

Résultat DendrisKIT OA®	Résultat HCL	Nombre de prélèvements
ND	<i>Mycoplasma hominis</i>	1
ND ^b	<i>Corynebacterium striatum</i>	1
ND ^b	<i>Kingella kingae</i>	1
<i>C. acnes</i> + <i>Streptococcus</i> spp ^{b, c}	<i>Kingella kingae</i>	1
ND	<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	1
ND	<i>Enterococcus faecalis</i>	1
ND ^b	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	6
<i>C. acnes</i> ^c	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2

Tableau 2 : Prélèvements pour lesquels le résultat après technique de routine HCL était positif et celui après DendrisKIT OA négatif. ND : non détecté. ^b Présence d'un profil d'hybridation compatible mais inférieur à la limite de détection. ^c Prélèvement en cours d'investigation.

- 2 prélèvements étaient positifs pour *Streptococcus pneumoniae* par DendrisKIT OA® alors que la technique HCL identifiait d'autres streptocoques (*Streptococcus oralis/sanguinis* et *Streptococcus infantarius*). Ces discordances peuvent s'expliquer par une proximité génétique de ces espèces.
- pour 3 prélèvements, la technique complémentaire a permis de confirmer les résultats DendrisKIT OA®, 2 corynébactéries supplémentaires détectées par DendrisKIT et 1 *Staphylococcus epidermidis* faux-positif par technique HCL (**Tableau 3**).

Résultat DendrisKIT OA®	Résultat HCL	Vérification autre technique HCL
<i>Corynebacterium</i> spp + <i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	PCR 16S + séquençage : présence de <i>S. aureus</i> et <i>Corynebacterium</i> spp
ND	<i>S. epidermidis</i>	PCR spécifique <i>Staphylococcus</i> négative
<i>Corynebacterium</i> spp + <i>Staphylococcus</i> spp	<i>S. epidermidis</i>	PCR 16S + séquençage : présence de <i>Staphylococcus</i> spp et <i>Corynebacterium</i> spp

Tableau 3 : Prélèvements pour lesquels les résultats étaient initialement discordants entre la technique de routine HCL versus DendrisKIT OA®, reclassés comme des vrais positifs de DendrisKIT OA®. ND : non détecté.

Après analyse des discordants, la technique DendrisKIT OA® a finalement montré des **résultats concordants** avec les techniques moléculaires classiques dans **44/60 cas (73,3%)** pour les microorganismes compris dans son panel, avec en plus **7 faux-négatifs** liés à une **hybridation faible** non rendue par le logiciel.

Conclusion

La technologie Dendris est une technologie innovante avec une plateforme facile d'utilisation, et des résultats en 5h post-extraction.

Le kit DendrisKIT OA® a montré des performances intéressantes pour les espèces sélectionnées impliquées dans les IOA, notamment *Cutibacterium acnes* et *Staphylococcus epidermidis*. Un renforcement de la base de données (en cours) devrait permettre d'améliorer les performances analytiques en réduisant le nombre de faux-négatifs pour certains pathogènes comme *Kingella kingae*. Des études prospectives en vie réelle méritent d'être conduites pour déterminer définitivement les performances de ce test et son positionnement.