

BIO MED 2024

LES JOURNÉES POUR L'AVENIR DE LA BIOLOGIE MÉDICALE

JEUDI 23 &
VENDREDI 24
MAI 2024

Evaluation des performances du test syndromique DendrisKIT OA® sur une sélection de prélèvements ostéoarticulaires

Anne-Gaëlle RANC, Céline DUPIEUX-CHABERT, Yvonne BENITO,
Frédéric LAURENT, Tiphaine ROUSSEL-GAILLARD

HCL
HOSPICES CIVILS
DE LYON

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

Conflits d'intérêt

- Automate et réactifs DendritKIT OA[®] fournis par Dendris aux HCL

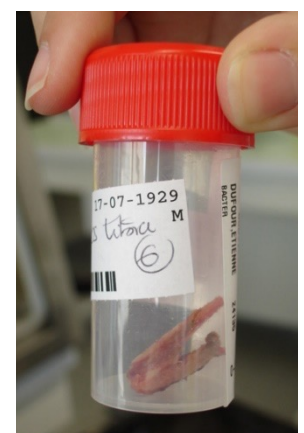
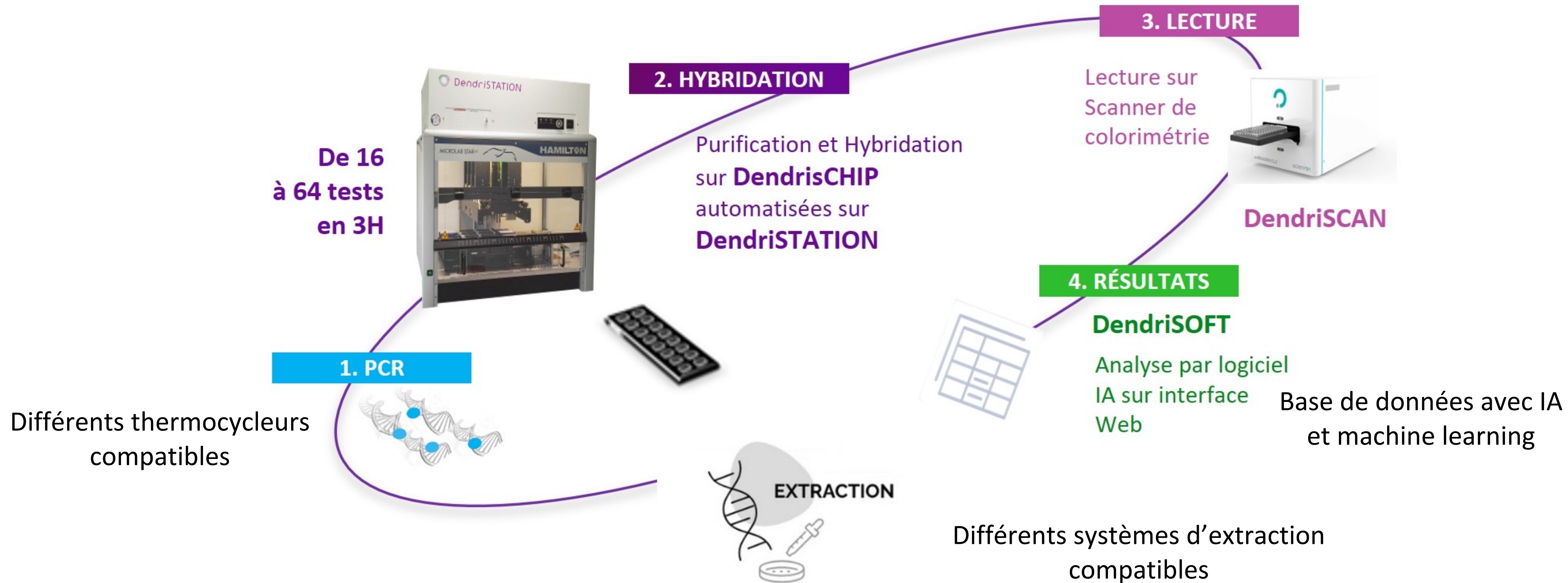
- **Infections ostéoarticulaires (IOA)** : grande diversité d'étiologies, principalement bactériennes

- **Diagnostic microbiologique** des IOA crucial pour une prise en charge optimale

- Gold-standard : **culture** de prélèvements ostéoarticulaires pendant **14 jours**
 - Résultats échelonnés et parfois tardifs
 - 7-15 % d'IOA sur prothèse avec cultures négatives
 - Place de la **biologie moléculaire** ?
 - ✓ Indications : antibiothérapie préalable, microorganismes non ou difficilement cultivables, conditions préanalytiques non optimales, +/- meilleure sensibilité ?
 - ✓ Choix des techniques : PCR ADNr 16S vs PCR spécifiques

Kit syndromique DendrisKIT OA®

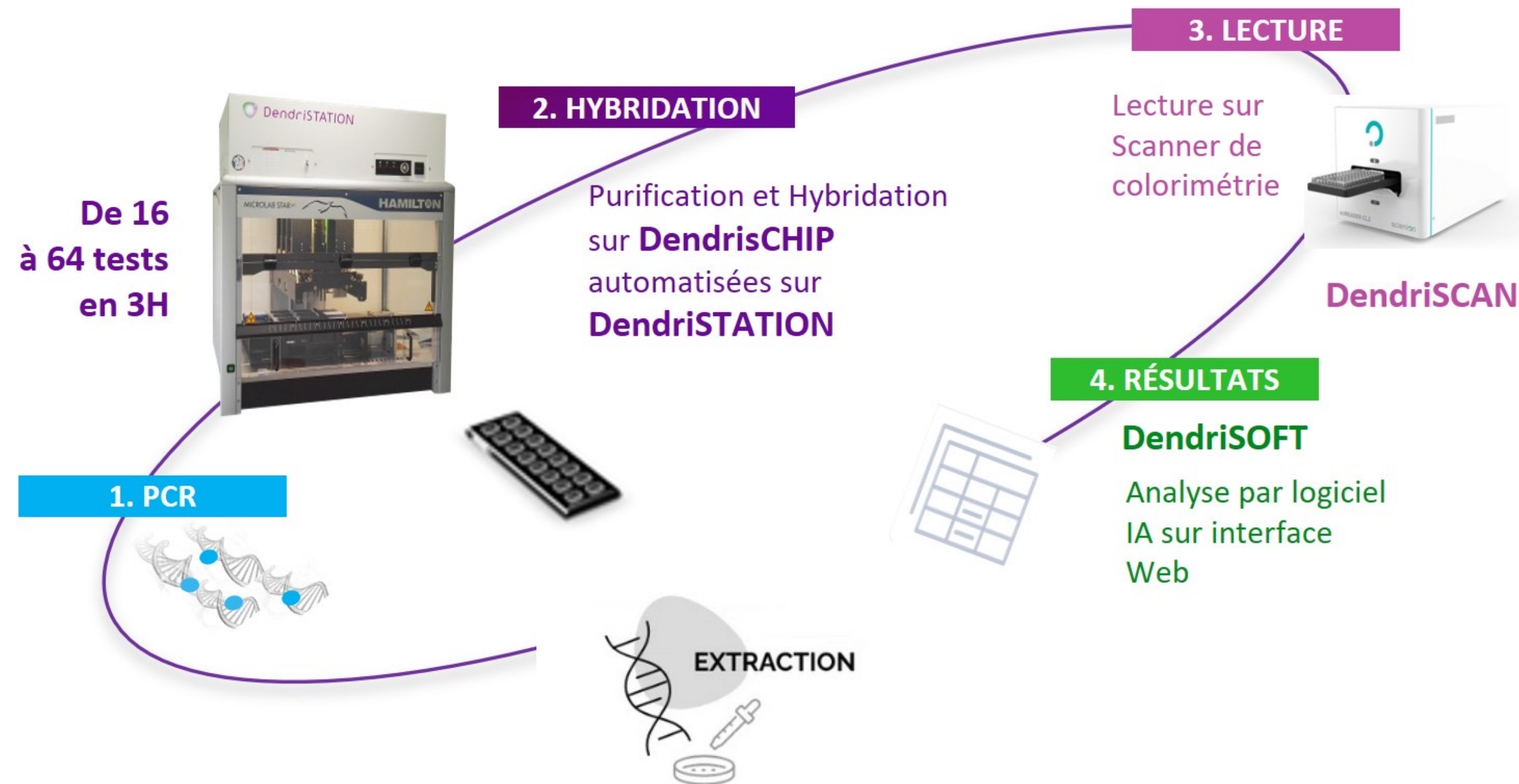
- Kit de réactifs pour la réalisation de **PCR** et de **biopuces ADN**



PRELEVEMENTS : liquides articulaires, broyats de tissus ou d'os +/- écouvillons

Kit syndromique DendrisKIT OA®

- Kit de réactifs pour la réalisation de PCR et de biopuces ADN



- Diagnostic syndromique des IOA en 5h post-extraction d'ADN
 - 22 bactéries (genres ou espèces)
 - Gène de résistance *mecA*

DendrisKIT OA

Infections Ostéo-articulaires

- Corynebacterium* spp.
- Cutibacterium acnes*
- Enterobacteriaceae
 - Escherichia coli*
 - Klebsiella pneumoniae*
 - Proteus mirabilis*
- Enterococcus faecalis*
- Kingella kingae*
- Mycobacterium tuberculosis*
- Mycoplasma* spp.
 - Mycoplasma genitalium*
 - Mycoplasma pneumoniae*
- Neisseria* spp.
 - Neisseria gonorrhoeae*
- Pseudomonas aeruginosa*
- Serratia marcescens*
- Staphylococcus* spp.
 - Staphylococcus aureus*
 - Staphylococcus epidermidis*
- Streptococcus* spp.
 - Streptococcus agalactiae*
 - Streptococcus pneumoniae*
- Gène de résistance *mecA*



Objectifs de l'étude

- Evaluer les **performances du kit syndromique DendrisKIT OA[®]** sur une sélection de prélèvements de patients atteints d'**IOA** en comparaison aux techniques de **biologie moléculaire** déjà utilisées au laboratoire des HCL :
 - PCR universelle ADNr 16S +/- séquençage
 - PCR spécifiques des genres *Staphylococcus*, *Streptococcus* (+ séquençage)
 - PCR spécifiques *S. aureus*, *Kingella kingae*, *Cutibacterium acnes*

Matériel et méthodes

- **Echantillons (n=60) :**
 - prélèvements ostéoarticulaires + en PCR 16S et/ou PCR spécifiques
 - extraits d'ADN (Maxwell[®] CSC Blood DNA-Promega) congelés < 3 mois
- **PCR** sur CFX96 (BioRad) avant hybridation sur biopuce Dendris
- Profils d'**hybridation** analysés grâce à la base de données Dendris
- Si **discordance** PCR classiques / DendrisKIT OA[®] : réanalyse des extraits d'ADN
 - nouvelles PCR spécifiques
 - et/ou PCR universelle avec séquençage par métagénomique ciblée 16S



Résultats

- Taux de concordance = **68%** (41 prélèvements/60)



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

Bactéries hors panel :
Fusobacterium nucleatum
Bacteroides fragilis
Pseudomonas luteola
Haemophilus influenzae
Morganella morganii

Résultats considérés concordants si rendus « non détecté » pour chaque espèce du panel

- Analyse des discordants (n=19) :
 - 14 négatifs par DendrisKIT OA[®] pour une cible positive par technique HCL
 - ✓ résultats HCL confirmés par une technique complémentaire → **Faux-négatifs**

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

ND : non détecté

^a Présence d'un profil d'hybridation compatible avec le résultat HCL mais signal inférieur à la limite de détection dans 7 cas :

K. kingae (n=2), *S. epidermidis* (n=4) et *Corynebacterium striatum* (n=1)

^b Faux-positifs à *C. acnes* (n=3)

- Analyse des discordants (n=19) :
 - 2 positifs pour *Streptococcus pneumoniae* par DendrisKIT OA[®] vs autres streptocoques identifiés par technique HCL (*S. oralis/sanguinis* et *S. infantarius*)
 - **Faux-positifs** par proximité génétique
 - 3 prélèvements avec confirmation des résultats DendrisKIT OA[®] par la technique complémentaire

Résultat DendrisKIT OA [®]	Résultat HCL	Vérification autre technique HCL	
<i>Corynebacterium spp</i> + <i>S. aureus</i>	<i>S. aureus</i>	PCR 16S + séquençage : présence de <i>S. aureus</i> et <i>Corynebacterium spp</i>	→ 2 vrais-positifs
<i>Corynebacterium spp</i> + <i>Staphylococcus spp</i>	<i>S. epidermidis</i>	PCR 16S + séquençage : présence de <i>Staphylococcus spp</i> et <i>Corynebacterium spp</i>	
ND	<i>S. epidermidis</i>	PCR spécifique <i>Staphylococcus</i> négative	→ vrai-négatif

- Taux de concordance initiale = **68%** (41 prélèvements/60)
- Après analyse des discordants :
 - résultats concordants de la technique DendrisKIT OA[®] avec les techniques moléculaires classiques dans **44/60 cas (73%)** pour les microorganismes compris dans son panel
 - + **7 faux-négatifs** liés à une hybridation faible non rendue par le logiciel

- DendrisKIT OA[®] : technologie innovante ; plateforme facile d'utilisation
résultats en 5h post-extraction
- Performances intéressantes pour les espèces sélectionnées impliquées dans les IOA, notamment *C. acnes* et *S. epidermidis*
- Nécessité
 - d'un renforcement de la base de données pour réduire le nombre de faux-négatifs pour certains pathogènes
 - d'études prospectives de grande ampleur