

Diagnostic rapide : pour quelles pathologies ?

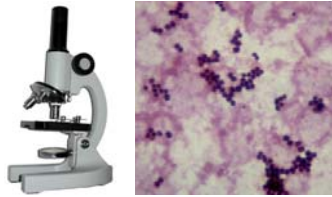
XVIIème Journée Régionale de Pathologie Infectieuse
12 octobre 2010

Dr. Caroline Loïez

Les bases du diagnostic bactériologique

Diagnostic « classique »

Examen microscopique
avec **Gram**

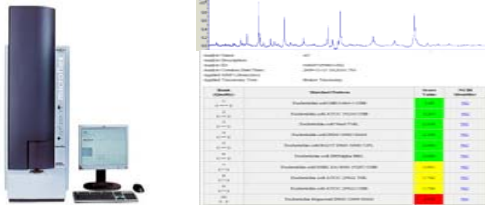


**Orientation diagnostique
rapide**

Culture



Incubation à 37°C 24h



**Identification en
24 h (MALDI-TOF)
Antibiogramme en 48 h**

Diagnostic moléculaire

Extraction de l'ADN

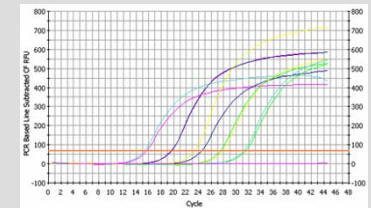
PCR classique

PCR en temps réel

Détection du produit amplifié



**Électrophorèse
24 – 48 h
Pas d'antibiogramme**



**Résultat en
3 – 4 h
Pas d'antibiogramme**

Techniques classiques parfois trop longues

Pourquoi être plus rapide ?

Adapter le plus rapidement possible le traitement antibiotique au micro-organisme en cause pour permettre :

- ❑ Diminution de la **mortalité**
- ❑ Prévention de l'émergence de **résistance aux ATB**
- ❑ Diminution de la **durée d'hospitalisation**

Inappropriate Initial Antimicrobial Therapy and Its Effect on Survival in a Clinical Trial of Immunomodulating Therapy for Severe Sepsis

Stephan Harbarth, MD, MS, Jorge Garbino, MD, Jérôme Pugin, MD, Jacques A. Romand, MD, Daniel Lew, MD, Didier Pittet, MD, MS

Am J Med. 2003 Nov;115(7):529-35.

Ère de la Biologie Moléculaire

□ Place croissante dans le marché du diagnostic *in vitro*

En microbiologie, multiplication des innovations au cours des dernières années grâce au développement des biotechnologies

□ Principe du diagnostic moléculaire :

Détection d'ADN bactérien directement dans le prélèvement

En général, **recherche des gènes des ribosomes** (car présents dans l'ensemble du monde bactérien)

ARNr16S : gène de la fraction 16S des ribosomes = outil moléculaire universel pour l'identification des bactéries

Autres cibles possibles en fonction du genre bactérien : ***rpoB***, ***sodA***...

Gènes alternatifs utilisés pour identification

Gène	Espèce
<i>rpoB</i>	Entérobactéries, <i>Mycobacterium</i> spp., <i>Bartonella</i> spp., <i>Rickettsia</i> spp.
<i>sodA</i>	<i>Streptococcus</i> spp., Staphylocoques à coagulase négative, <i>Enterococcus</i> spp.
<i>gltA</i>	<i>Rickettsia</i> spp., <i>Bartonella</i> spp.
<i>rompA</i>	<i>Rickettsia</i> spp. (gpe boutonneux)
<i>omp2</i>	<i>Chlamydia</i> spp.
<i>hsp</i>	<i>Staphylococcus</i> spp., <i>Mycobacterium</i> spp.
<i>gyrB</i>	<i>Acinetobacter</i> spp. <i>Pseudomonas</i> spp.
<i>groEL</i>	<i>Borrelia</i> spp.

Domaines d'applications

A VISÉE DIAGNOSTIQUE

Obtenir dans un délai bref un **diagnostic de quasi-certitude** ou **d'exclusion** d'une infection, dans une situation clinique particulière (ex : fièvre, syndrome méningé, pneumopathie, diarrhée...)

Diagnostic d'Urgence

❑ Contexte clinique d'urgence

Sepsis
Infections neuroméningées
Infections pulmonaires

❑ Prélèvement réalisé sous antibiotiques

Diagnostic plus rapide (par rapport aux techniques traditionnelles)

❑ Détection de bactéries difficilement ou non cultivables (intra-cellulaires)

Bartonella

Legionella spp.

Tropheryma whippelii

Borrelia

Coxiella

Chlamydia (gold standard)

Mycoplasma

Kingella kingae

Bordetella (gold standard)

Mycobactéries...

❑ Infection non documentée (ex : endocardite à HC négative)

A VISÉE DE DÉPISTAGE

❑ Contexte de dépistage BMR (ex : SARM, ERG)

A VISÉE THERAPEUTIQUE

❑ Adaptation de l'antibiothérapie probabiliste en fonction de la présence ou non d'un gène de résistance

Diagnostic : Infections respiratoires

Bactéries cibles

- ❑ *Chlamydomphila pneumoniae* / *Mycoplasma pneumoniae*
- ❑ *Legionella pneumophila*
- ❑ *Bordetella pertussis*
- ❑ *Mycobacterium tuberculosis*
- ❑ Autres : *S. aureus*, *S. pneumoniae*


❑ Biologie moléculaire = « gold standard » pour *Bordetella*

❑ Limites

- ❑ Techniques rapides mais souvent échantillons travaillés par série par souci de rentabilité
- ❑ Rarement dans le cadre de l'urgence
- ❑ Nécessité de connaître ce que l'on recherche
- ❑ Distinguer la colonisation du tractus respiratoire par *S. pneumoniae* ou *S.aureus* d'une vraie infection

Indications ciblées permettant un diagnostic « rapide »
mais pas en urgence



Disponible en ligne sur
 ScienceDirect
www.sciencedirect.com

Elsevier Masson France
 EM|consulte
www.em-consulte.com



Rapid molecular genetic assay for direct identification of *Bordetella* from patients specimens

Test moléculaire rapide de diagnostic de la coqueluche directement à partir des prélèvements

S. Cohen-Bacrie^{a,b}, F. Bertin^a, A.-S. Gassiot^b, M.-F. Prère^{a,b,*}

^a Unité de bactériologie pédiatrique, IFB, CHU de Toulouse, France

^b LMGM, IBCG, CNRS, université Paul-Sabatier, 118, route de Narbonne, 31062 Toulouse cedex 9, France

GenoQuick® Bordetella

Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials



Research

Open Access

Verification of the **ProPneumo-1** assay for the simultaneous detection of *Mycoplasma pneumoniae* and *Chlamydomphila pneumoniae* in clinical respiratory specimens

Rachel R Higgins¹, Ernesto Lombos¹, Patrick Tang¹, Karl Rohoman¹, Anne Maki¹, Shirley Brown¹, Frances Jamieson^{1,2} and Steven J Drews^{*1,2,3}

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, July 2005, p. 3247–3254
0095-1137/05/\$08.00+0 doi:10.1128/JCM.43.7.3247-3254.2005
Copyright © 2005, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 43, No. 7

Development and Evaluation of **Chlamylege** a New Commercial Test Allowing Simultaneous Detection and Identification of *Legionella*, *Chlamydomphila pneumoniae*, and *Mycoplasma pneumoniae* in Clinical Respiratory Specimens by Multiplex PCR

C. Ginevra,^{1,2} C. Barranger,² A. Ros,¹ O. Mory,³ J.-L. Stephan,³ F. Freymuth,⁴ M. Joannès,² B. Pozzetto,¹ and F. Grattard^{1*}

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

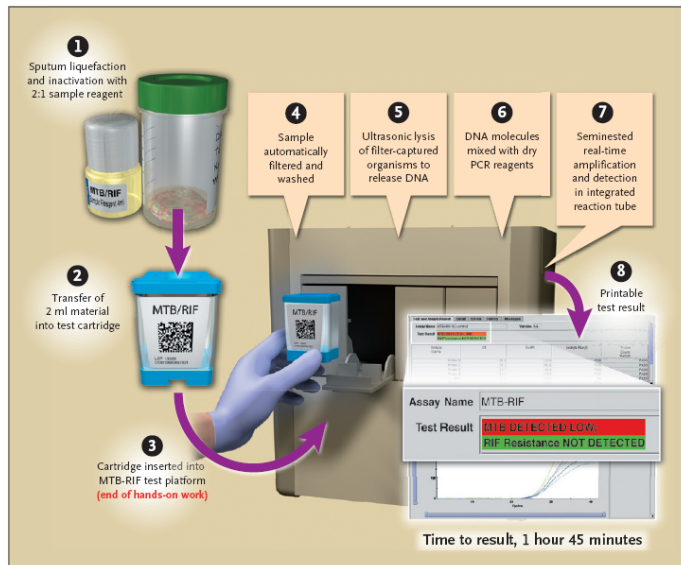
ESTABLISHED IN 1812

SEPTEMBER 9, 2010

VOL. 363 NO. 11

Rapid Molecular Detection of Tuberculosis and Rifampin Resistance

Catharina C. Boehme, M.D., Pamela Nabeta, M.D., Doris Hillemann, Ph.D., Mark P. Nicol, Ph.D., Shubhada Shenai, Ph.D., Fiorella Krapp, M.D., Jenny Allen, B.Tech., Rasim Tahirli, M.D., Robert Blakemore, B.S., Roxana Rustomjee, M.D., Ph.D., Ana Milovic, M.S., Martin Jones, Ph.D., Sean M. O'Brien, Ph.D., David H. Persing, M.D., Ph.D., Sabine Ruesch-Gerdes, M.D., Eduardo Gotuzzo, M.D., Camilla Rodrigues, M.D., David Alland, M.D., and Mark D. Perkins, M.D.



1730 patients présentant une suspicion de tuberculose pulmonaire

Se = 98.2% sur M+

Se = 72% sur M-

(85% sur crachat J2 et 90% sur crachat J3)

Résultat en moins de 2 heures

Diagnostic : Infections neuro-méningées

Bactéries cibles

- ❑ *N. meningitidis*
- ❑ *S. pneumoniae*
- ❑ *H. influenzae*
- ❑ *S. agalactiae*
- ❑ *L. monocytogenes*

Types de prélèvements

- ❑ LCR
- ❑ Hémoculture
- ❑ Sérum
- ❑ Biopsie cutanée

- ❑ Intérêt = diagnostic d'urgence
 - ❑ détection de la bactérie en cause
 - ❑ adaptation rapide du traitement antibiotique
 - ❑ prévention chez les sujets contact
 - ❑ possibilité de coupler le recherche de bactéries et de virus neurotropes

Vrai indication pour l'utilisation de la biologie moléculaire en Urgence

Rapid detection of eight causative pathogens for the diagnosis of bacterial meningitis by real-time PCR.

Chiba N, Murayama SY, Morozumi M, Nakayama E, Okada T, Iwata S, Sunakawa K, Ubukata K.

J Infect Chemother. 2009 Apr;15(2):92-8

We aimed to detect causative pathogens in cerebrospinal fluid (CSF) collected from patients diagnosed with bacterial meningitis by real-time polymerase chain reaction (PCR). In addition to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Mycoplasma pneumoniae* described previously, five other pathogens, *Neisseria meningitidis*, *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*, and *Listeria monocytogenes*, were targeted, based on a large-scale surveillance in Japan. Results in CSF from neonates and children ($n = 150$), and from adults ($n = 18$) analyzed by real-time PCR with molecular beacon probes were compared with those of conventional culturing. The total time from DNA extraction from CSF to PCR analysis was 1.5 h. The limit of detection for these pathogens ranged from 5 copies to 28 copies per tube. Nonspecific positive reactions were not recognized for 37 microorganisms in clinical isolates as a negative control. The pathogens were detected in 72.0% of the samples by real-time PCR, but in only 48.2% by culture, although the microorganisms were completely concordant. With the real-time PCR, the detection rate of *H. influenzae* from CSF was high, at 45.2%, followed by *S. pneumoniae* (21.4%), *S. agalactiae* (2.4%), *E. coli* (1.8%), *L. monocytogenes* (0.6%), and *M. pneumoniae* (0.6%). The detection rate with PCR was significantly better than that with cultures in patients with antibiotic administration ($\chi^2 = 18.3182$; $P = 0.0000$). In conclusion, detection with real-time PCR is useful for rapidly identifying the causative pathogens of meningitis and for examining the clinical course of chemotherapy

Diagnostic : Sepsis

International Journal of Antimicrobial Agents 34S (2009) S13–S15



ELSEVIER

Contents lists available at ScienceDirect

International Journal of Antimicrobial Agents

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/ijantimicag>



Blood culture systems: rapid detection – how and why?

Paolo Gaibani, Giada Rossini, Simone Ambretti, Francesco Gelsomino, Anna Maria Pierro, Stefania Varani, Michela Paolucci, Maria Paola Landini, Vittorio Sambri*

Unit of Microbiology, Department of Hematology and Oncology "L. e A. Seragnoli", University of Bologna, St Orsola Hospital, 9 via G. Massarenti, 40138 Bologna, Italy

ARTICLE INFO

Keywords:

Blood stream infection

Blood culture

Sepsis

Multiplex polymerase chain reaction

Bacteria detection

ABSTRACT

Bloodstream infections are associated with high morbidity and mortality. Blood culture is considered to be the most important tool in their diagnosis. In this study we compared standard blood culture with two different molecular techniques (Prove-it™ Sepsis and LightCycler® SeptiFast M^{GRADE}) to detect bacterial species and fungi in the blood of septic patients. Both methods showed significant agreement with the results obtained by blood culture. The results of these studies suggest that both the LightCycler SeptiFast and Prove-it Sepsis tests can be used for the rapid and specific diagnosis of bacteraemia and bloodstream infections. It is important, however, to emphasize that molecular methods cannot replace blood cultures, as the latter allow the evaluation of the antimicrobial susceptibility of isolated microbes.

© 2009 Elsevier B.V. and the International Society of Chemotherapy. All rights reserved.

Light Cycler SeptiFast® (ROCHE DIAGNOSTICS)



- Seule technique commercialisée de PCR en temps réel marquée CE-IVD
- Test développé directement sur le sang (sans passer par une étape de pré-culture)

Gram (-)	Gram (+)	Fungi
<ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> • <i>Klebsiella (pneumoniae / oxytoca)</i> • <i>Serratia marcescens</i> • <i>Enterobacter (cloacae / aerogenes)</i> • <i>Proteus mirabilis</i> • <i>Pseudomonas aeruginosa</i> • <i>Acinetobacter baumannii</i> • <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Staphylococcus aureus</i> • CoNS (Coagulase negative <i>Staphylococci</i>)* • <i>Streptococcus pneumoniae</i> • <i>Streptococcus spp.**</i> • <i>Enterococcus faecium</i> • <i>Enterococcus faecalis</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • <i>Candida albicans</i> • <i>Candida tropicalis</i> • <i>Candida parapsilosis</i> • <i>Candida krusei</i> • <i>Candida glabrata</i> • <i>Aspergillus fumigatus</i>

△ Table 1

S. epidermidis*, *S. haemolyticus* *S. pyogenes*, *S. agalactiae*, *S. mitis*

Sepsis en Réanimation

ORIGINAL ARTICLE

Clin Microbiol Infect. 2010 Jun;16(6):774-9. Epub 2009 Aug 18.

Preliminary clinical study using a multiplex real-time PCR test for the detection of bacterial and fungal DNA directly in blood

F. Wallet¹, S. Nseir², L. Baumann¹, S. Herwegh¹, B. Sendid¹, M. Boulo², M. Roussel-Delvallez¹, A. V. Durocher² and R. J. Courcol¹

1) Pôle de Microbiologie and 2) Service des Urgences Réanimation Respiratoire Médicale, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Lille, Faculté de Médecine de Lille, Lille, France

Abstract

Early diagnosis of sepsis, rapid identification of the causative pathogen(s) and prompt initiation of appropriate antibiotic treatment have a combined impact on mortality due to sepsis. In this observational study, a new DNA-based system (LightCycler SeptiFast (LC-SF) test; Roche Diagnostics) allowing detection of 16 pathogens at the species level and four groups of pathogens at the genus level has been evaluated and compared with conventional blood cultures (BCs). One hundred BC and LC-SF results were obtained for 72 patients admitted to the intensive-care unit over a 6-month period for suspected sepsis. Microbiological data were compared with other biological parameters and with clinical data. The positivity rate of BCs for bacteraemia/fungaemia was 10%, whereas the LC-SF test allowed detection of DNA in 15% of cases. The LC-SF performance, based on its clinical relevance, was as follows: sensitivity, 78%; specificity, 99%; positive predictive value, 93%; and negative predictive value, 95%. Management was changed for four of eight (50%) of the patients because organisms were detected by the LC-SF test but not by BC. LC-SF results were obtained in 7–15 h, in contrast to the 24–72 h required for BC. According to the LC-SF results, initial therapy was inadequate in eight patients, and antibiotic treatment was changed. Our results suggest that the LC-SF test may be a valuable complementary tool in the management of patients with clinically suspected sepsis.

Intérêt majeur

Test réalisé directement sur le sang
sans attendre une pré-culture en flacon d'hémoculture

72 patients inclus
100 échantillons
Taux de HC + = 10%
Taux de SF + = 15%

Sepsis chez le neutropénique

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Oct. 2010, p. 3510–3516
0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.00147-10
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 10

Multiplex Blood PCR in Combination with Blood Cultures for Improvement of Microbiological Documentation of Infection in Febrile Neutropenia[▽]

F. Lamoth,¹ K. Jaton,² G. Prod'hom,² L. Senn,¹ J. Bille,² T. Calandra,¹ and O. Marchetti^{1*}

Infectious Diseases Service, Department of Medicine,¹ and Institute of Microbiology,² Centre Hospitalier Universitaire Vaudois and University of Lausanne, Lausanne, Switzerland

Received 22 January 2010/Returned for modification 15 March 2010/Accepted 10 August 2010

The frequent lack of microbiological documentation of infection by blood cultures (BC) has a major impact on clinical management of febrile neutropenic patients, especially in cases of unexplained persistent fever. We assessed the diagnostic utility of the LightCycler SeptiFast test (SF), a multiplex blood PCR, in febrile neutropenia. Blood for BC and SF was drawn at the onset of fever and every 3 days of persistent fever. SF results were compared with those of BC, clinical documentation of infection, and standard clinical, radiological, and microbiological criteria for invasive fungal infections (IFI). A total of 141 febrile neutropenic episodes in 86 hematological patients were studied: 44 (31%) microbiologically and 49 (35%) clinically documented infections and 48 (34%) unexplained fevers. At the onset of fever, BC detected 44 microorganisms in 35/141 (25%) episodes. Together, BC and SF identified 78 microorganisms in 61/141 (43%) episodes ($P = 0.002$ versus BC or SF alone): 12 were detected by BC and SF, 32 by BC only, and 34 by SF only. In 19/52 (37%) episodes of persistent fever, SF detected 28 new microorganisms (7 Gram-positive bacterial species, 15 Gram-negative bacterial species, and 6 fungal species [89% with a clinically documented site of infection]) whereas BC detected only 4 pathogens (8%) ($P = 0.001$). While BC did not detect fungi, SF identified 5 *Candida* spp. and 1 *Aspergillus* sp. in 5/7 probable or possible cases of IFI. Using SeptiFast PCR combined with blood cultures improves microbiological documentation in febrile neutropenia, especially when fever persists and invasive fungal infection is suspected. Technical adjustments may enhance the efficiency of this new molecular tool in this specific setting.

Intérêt majeur
pour la détection de levures

Sepsis en Gynécologie

Use of the LightCycler SeptiFast Test for Rapid Etiologic Diagnosis of Nosocomial Infection in Gynecological Sepsis.

Reyna Figueroa J, Ortiz J, Morales I.

Gynecol Obstet Invest. 2010 Jul 17;70(3):215-216.

Abstract

A new molecular biology technique was used in 2 subjects with systemic inflammatory response syndrome and negative blood cultures, in which broad-spectrum antibiotics were administered, without a visible improvement. Case 1: A 33-year-old female patient with a diagnosis of septic shock originating in the abdomen was admitted in a bad general state, presenting with systemic inflammatory response. The patient's general condition did not improve. As an alternative, we used molecular biology. *Candida krusei* was reported and the patient responded well to the treatment. Case 2: A woman in the 36th week of pregnancy, with diabetes mellitus and secondary renal insufficiency, presented with fever and hematological alterations. The patient's progress was slow and accompanied by persistent fever, bacteremia and leukopenia, as well as signs of multiple organ dysfunction. The SeptiFast test identified *Enterobacter cloacae/aerogenes* as the cause of the disorder. However, the patient died 24 h after the antibiotics were changed.

Intérêt

en cas d'antibiothérapie préalable

Light Cycler SeptiFast[®] (ROCHE DIAGNOSTICS)

□ Avantages

- Intérêt majeur dans les services à fort taux d'HC positive :
résultat en 6 -8 h versus 18-20h pour HC
- Taux de SF + 1 à 2 fois plus élevé que taux d'HC + dans les services de réanimation

□ Inconvénients

- **Coût** important
- **Temps** technique non négligeable
- **Panel « restreint »** de pathogènes : 20^{aine} pathogènes (impliqués dans 90% des bactériémies en réanimation)
- **Pb d'interprétation** si Leucocytes > 30000/mm³ (compétition ADN bactérien / ADN génome humain)
- **Pas d'ATBgramme** sauf méticilline (test supplémentaire si *S. aureus* : + 5h)

Nécessité de cibler les services à risque

Autres indications du diagnostic moléculaire

« rapide »

- ❑ Contexte digestif
 - ❑ *C. difficile* (contexte d'épidémie)
 - ❑ *E. coli* entérohémorragique
- ❑ Contexte gynécologique
 - ❑ *C. trachomatis* BM = gold standard (Se BM 100% > Se Culture)
 - ❑ Portage de *S. agalactiae* B (nombreux kits commercialisés)
- ❑ Autres
 - ❑ *K. kingae* lors d'arthrite de l'enfant
- ❑ Recherche de tout type de micro-organismes
à partir de sites normalement stériles
ex : Valves cardiaques dans un contexte d'endocardite à HC négative

Notion de rapidité toute relative

Biologie moléculaire toujours plus rapide que la culture

Domaines d'applications

A VISÉE DIAGNOSTIQUE

Obtenir dans un délai bref un **diagnostic de quasi-certitude** ou **d'exclusion** d'une infection, dans une situation clinique particulière (ex : fièvre, syndrome méningé, pneumopathie, diarrhée...)

Diagnostic d'Urgence

❑ Contexte clinique d'urgence

Sepsis
Infections neuroméningées
Infections pulmonaires

❑ Prélèvement réalisé sous antibiotiques

Diagnostic plus rapide (par rapport aux techniques traditionnelles)

❑ Détection de bactéries difficilement ou non cultivables (intra-cellulaires)

Bartonella

Legionella spp.

Tropheryma whippelli

Borrelia

Coxiella

Chlamydia (gold standard)

Mycoplasma

Kingella kingae

Bordetella (gold standard)

Mycobactéries...

❑ Infection non documentée (ex : endocardite à HC négative)

A VISÉE DE DÉPISTAGE

❑ Contexte de dépistage BMR (ex : SARM, ERG)

A VISÉE THERAPEUTIQUE

❑ Adaptation de l'antibiothérapie probabiliste en fonction de la présence ou non d'un gène de résistance

Détection de portage de BMR

- ❑ Nombreux kits commerciaux proposés
- ❑ Détection de gènes de résistance aux antibiotiques chez des bactéries définies : bactéries cibles
 - ❑ ERV (*vanA*, *vanB*...)
 - ❑ SARM (*mecA*)
- ❑ Avantages : Rapidité +++ permettant un isolement précoce du patient
- ❑ Limites :
 - ❑ Nécessité d'une culture pour l'épidémiologie (souches)
 - ❑ Coût important (à corrélérer au gain dans le service clinique !)

Intérêt de la mise en place de la recherche des gènes *vanA* et *vanB* par technique PCR en système clos (Xpert *vanA/vanB* Cepheid®) dans un laboratoire de microbiologie dans le cadre de la gestion d'une épidémie à *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (EfrG)

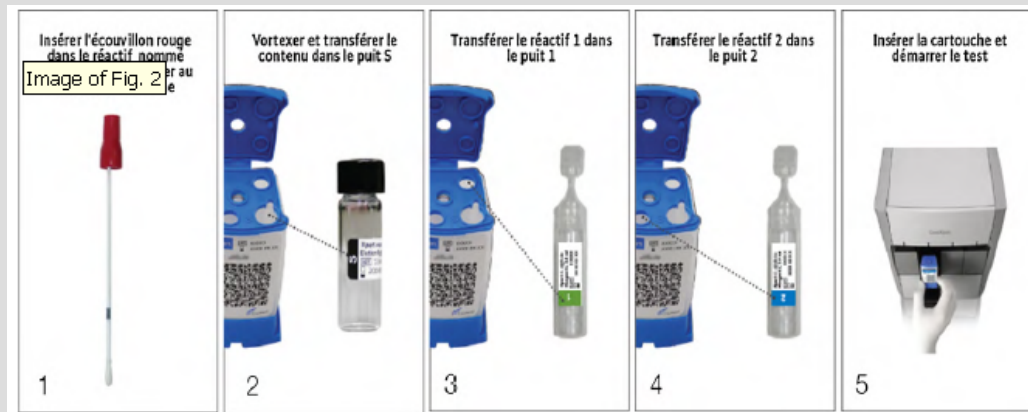
Implementation of vanA and vanB genes by PCR technique research interest in system (Xpert vanA/vanB Cepheid®) closed in a laboratory of microbiology in managing an outbreak to Enterococcus faecium resistant glycopeptide (EfrG)

S. Dekeyser^{a,*}, E. Beclin^b, D. Descamps^c

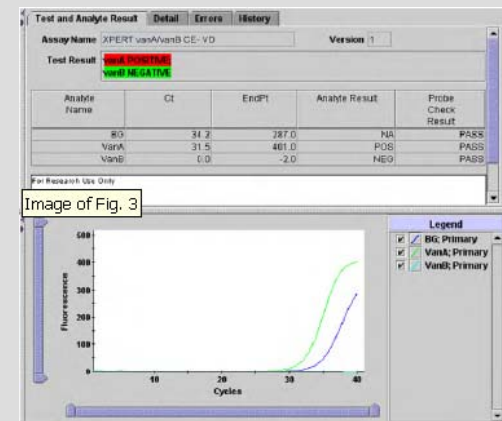
^aLaboratoire, centre hospitalier Germon-et-Gauthier-de-Béthune, rue Delbecque, 62408 Béthune, France

^bUnité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, centre hospitalier Germon-et-Gauthier-de-Béthune, rue Delbecque, 62408 Béthune, France

^cComité de lutte contre les infections nosocomiales, centre hospitalier Germon-et-Gauthier-de-Béthune, rue Delbecque, 62408 Béthune, France



2 min de préparation



Résultat en moins de 50 min

Intérêt : VPN 100%

Rapid Detection of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Diverse Clinical Specimens by the BD GeneOhm MRSA Assay and Comparison with Culture[▽]

Katja Lucke,* Michael Hombach, Melanie Hug, and Gaby E. Pfyffer

Department of Medical Microbiology, Center for Laboratory Medicine, Luzerner Kantonsspital Luzern, 6000 Lucerne 16, Switzerland

Received 8 October 2009/Returned for modification 22 November 2009/Accepted 6 January 2010

The efficacy of the BD GeneOhm methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) assay was assessed by analyzing nasal swabs and swabs from other body sites for the presence of MRSA in a low-prevalence area. From 681 patients with a high risk for MRSA carriage, 1,601 specimens were collected and transported in Amies agar. After discordant analysis, the sensitivity, specificity, positive predictive value, and negative predictive value of the BD GeneOhm MRSA assay were 84.3%, 99.2%, 88.4%, and 98.9%, respectively, compared to culture.

	BDGO
Se	84.3%
Spe	99.2%
VPP	88.4%
VPN	98.9%

JCM Accepts, published online ahead of print on 22 September 2010
J. Clin. Microbiol. doi:10.1128/JCM.00670-10
Copyright © 2010, American Society for Microbiology and/or the Listed Authors/Institutions. All Rights Reserved.

- 1 Detection of MRSA in Specimens from Various Body Sites: Performance Characteristics
- 2 of the BD GeneOhm™ MRSA Assay, the Xpert™ MRSA Assay and Broth-Enriched
- 3 Culture in a Low-Prevalence Area

4
5 Michael Hombach^{1,3}, Gaby E. Pfyffer¹, Malgorzata Roos² and Katja Lucke¹

6
7 ¹Department of Medical Microbiology, Center for Laboratory Medicine, Luzerner
8 Kantonsspital Luzern, 6000 Luzern 16, Switzerland

9 ²Biostatistics Unit, Institute for Social and Preventive Medicine, University of Zurich, 8001

10 Zurich, Switzerland

	BDGO	Xpert
Se	100%	100%
Spe	98.5%	98.2%
VPP	93.8%	91.7%
VPN	100%	100%

Domaines d'applications

A VISÉE DIAGNOSTIQUE

Obtenir dans un délai bref un **diagnostic de quasi-certitude** ou **d'exclusion** d'une infection, dans une situation clinique particulière (ex : fièvre, syndrome méningé, pneumopathie, diarrhée...)

Diagnostic d'Urgence

❑ Contexte clinique d'urgence

Sepsis
Infections neuroméningées
Infections pulmonaires

❑ Prélèvement réalisé sous antibiotiques

Diagnostic plus rapide (par rapport aux techniques traditionnelles)

❑ Détection de bactéries difficilement ou non cultivables (intra-cellulaires)

Bartonella

Legionella spp.

Tropheryma whipplei

Borrelia

Coxiella

Chlamydia (gold standard)

Mycoplasma

Kingella kingae

Bordetella (gold standard)

Mycobactéries...

❑ Infection non documentée (ex : endocardite à HC négative)

A VISÉE DE DÉPISTAGE

❑ Contexte de dépistage BMR (ex : SARM, ERG)

A VISÉE THERAPEUTIQUE

❑ Adaptation de l'antibiothérapie probabiliste en fonction de la présence ou non d'un gène de résistance

Limites des techniques moléculaires

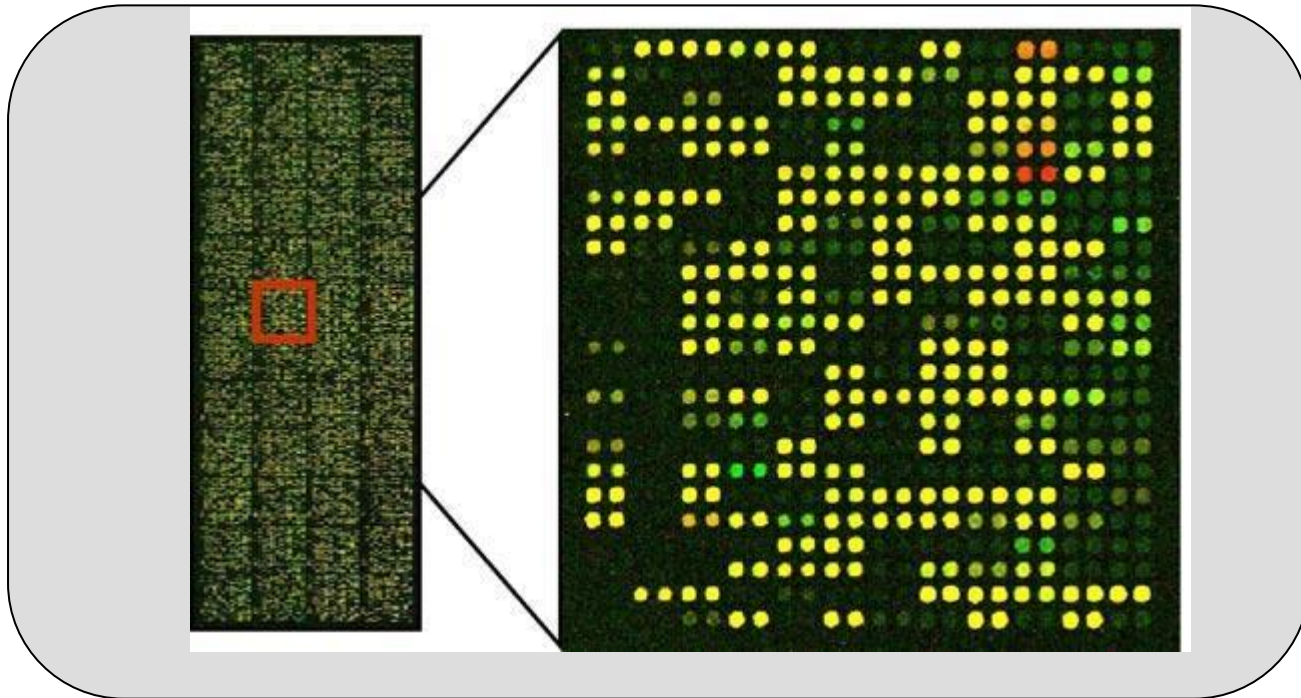
- ❑ Culture = **technique de référence** pour la plupart des bactéries
 - accès aux souches
 - ❑ sensibilité aux antibiotiques
 - ❑ données épidémiologiques
 - ❑ mise en évidence de nouveaux mécanismes de résistance

- ❑ Problème de **validation technique**
 - ❑ absence de standardisation des protocoles « maison »
 - ❑ peu de kits commerciaux marqués CE-IVD
 - ❑ nécessité d'un personnel dédié et qualifié

- ❑ Problème de **validation clinique** = interprétation
 - ❑ la présence d'ADN n'est pas synonyme de présence de bactéries vivantes
 - ❑ la présence du gène ne signifie pas que ce gène s'exprime
 - importance de la relation bio-clinique

- ❑ Coût +++ ↔ **Indications limitées**
 - ❑ Sepsis
 - ❑ Méningites
 - ❑ Dépistage BMR ...

Avenir : puces à ADN



- ❑ Recherche de plusieurs pathogènes sur un même prélèvement
- ❑ Détection des principaux gènes de résistance pour une bactérie donnée (→ antibiogramme par déduction)
- ❑ Technologie accessible au lit du malade...

