

# La biologie moléculaire en orthopédie–traumatologie : où en sommes-nous ?

# Indications possibles

- **Guider le traitement probabiliste post-opératoire**
- **Identifier des microorganismes fragiles ou de culture difficile/longue/impossible**
- **Documenter une infection à culture négative**
- **Documenter une infection décapitée par un antibiotique**

# Techniques de Biologie moléculaire

- PCR universelle 16S (Panbactérien)
  - Avantage : approche globale
  - Problèmes : manque de sensibilité (< à la culture), extraction/inhibiteurs, pb pour les infections plurimicrobiennes, délais et coûts, expertise, technique « maison », séquençage
- PCR ciblées : + sensibles que PCR 16S, + rapides
  - *Kingella*
  - *Gonocoque*
  - *Mycobacterium tuberculosis*
  - SA/SARM
- PCR multiplex/syndromiques : panels IOA FilmArray, Unyvero, Dendris
  - Pb de coûts, équipement spécifique nécessaire, panels limités
- Métagénomique : séquençage de tout ADN libre circulant (délais et coût élevé, risque d'amplification de contaminants, expertise bio-informatique, interprétation ?) Disqver Noscendo

# En pratique

- **Guider le traitement probabiliste post-opératoire :**

Diagnostic en  $\approx$  1h des IOA à SASM et SARM par le test GeneXpert

MRSA (détection *S. aureus* et gène *mec*), extrapolation aux SRM

- sensibilité et spécificité excellentes  $\rightarrow$  adaptation précoce du

traitement probabiliste (stop daptomycine, switch cefotaxime vers cefotaxime)

- pb coût : 3 prélèvements à traiter par patient



Dr Patoz, microbiologiste CH Tourcoing

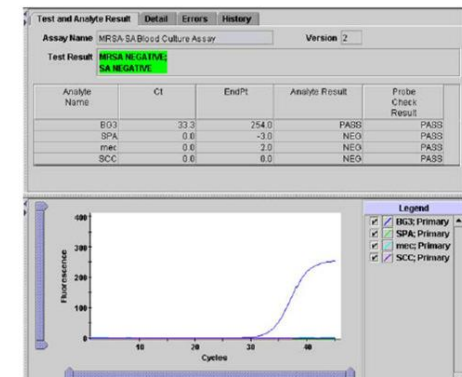


Figure 3. Exemple de résultat négatif

# En pratique

- **Guider le traitement probabiliste post-opératoire :**

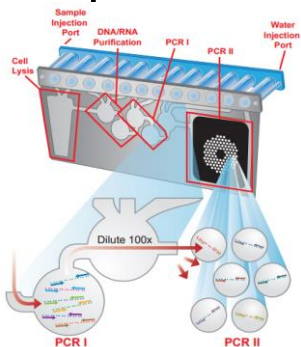
PCR syndromiques : 1h à 5h selon les techniques

Choix de technique à faire (et investissement sur équipement dédié)

Bonne connaissance du panel :

- ses gains : pathogènes non couverts (candida, enteroque)
- ses « trous » : variable selon les kits

Peu de gènes de résistance, pas d'antibiogramme, manque de sensibilité, plus adaptée aux infections aiguës



Dr Patoz, microbiologiste CH Tourcoing

# Biofire JI Biomerieux

## BioFire Joint Infection (JI) Panel

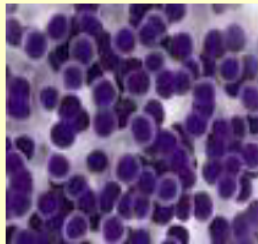
US-FDA cleared, CE-IVDR

### Gram Negative Bacteria (14 including 1 anaerobe)



- *Escherichia coli*
- *Proteus* spp.
- *Citrobacter* spp.
- *Enterobacter cloacae* complex
- *Enterobacter aerogenes*
- *Klebsiella pneumoniae* group
- *Morganella morganii*
- *Serratia marcescens*
- *Salmonella* spp.
- *Kingella kingae*
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Haemophilus influenzae*
- *Neisseria gonorrhoeae*
- *Bacteroides fragilis*

### Gram Positive Bacteria (15 including 7 anaerobes)



- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus lugdunensis*
- ~~*S. non aureus*,  
*Corynebacterium*,  
*Cutibacterium*,~~
- *Streptococcus* spp.
- *Streptococcus pyogenes*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Enterococcus faecalis*
- *Enterococcus faecium*
- *Anaerococcus* spp.
- *Peptoniphilus* spp.
- *Clostridium perfringens*
- *Finegoldia magna*
- *Parvimonas micra*
- *Peptostreptococcus anaerobius*
- *Propionibacterium granulosum/avidum*

### Yeast (2)



- *Candida* spp.
- *Candida albicans*



### Antimicrobial resistance genes

- *mecA/C* + *MREJ*
- *vanA/B*
- *CTX-M*, *KPC*, *NDM*, *OXA-48*, *VIM*, *IMP*



# Unyvero ITI Curetis


























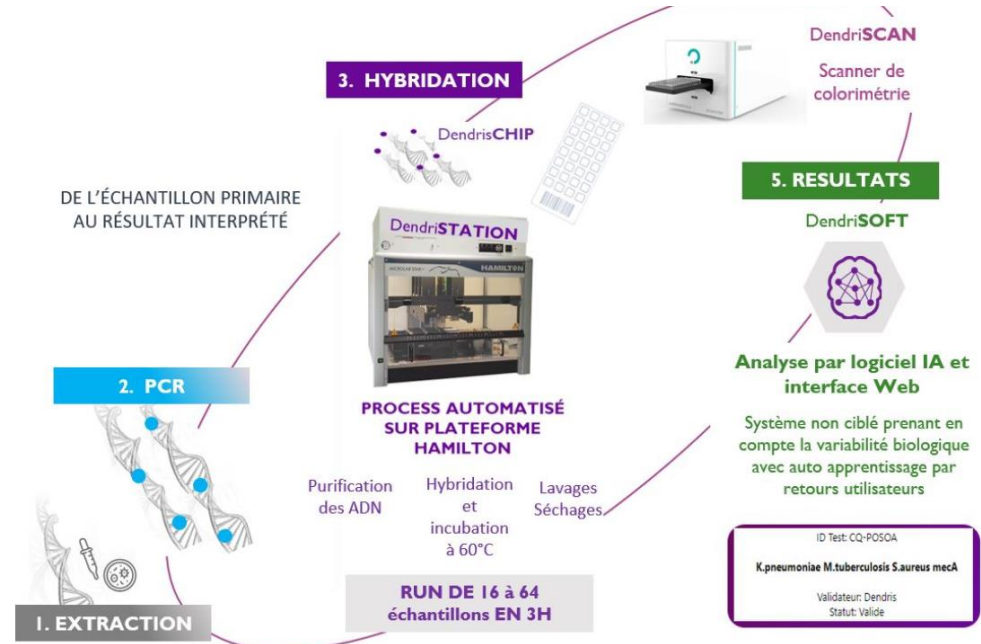
Bactéries Gram-positif	<i>Enterobacteriaceae</i>	Non-fermenting Bacteria	<i>Corynebacteriaceae</i>	Résistance	Gène
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Citrobacter freundii / koseri</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i> complex	<i>Corynebacterium spp.</i>	Macrolides/ lincosamides	ermA ermC
Staphylocoques à coagulase négative (CoNS)	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		Aminosides	aac(6'')/aph(2'') aacA4
<i>Streptococcus spp.</i>	<i>Enterobacter cloacae</i> complex			Oxacilline	mecA mecC
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>			Vancomycine	vanA vanB
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<b>Bactéries anaérobies</b>	<b>Micro-organismes fongiques</b>	Céphalosporines de 3e génération	ctx-M
<i>Streptococcus pyogenes/ dysgalactiae</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Candida spp.</i>		kpc imp ndm
<i>Granulicatella adiacens</i>	<i>Klebsiella varicola</i>	<i>Fingoldia magna</i>	<i>Candida albicans</i>		oxa-23 oxa-24/40 oxa-48 oxa-58 vim
<i>Abiotrophia defectiva</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Bacteroides fragilis</i> group	<i>Candida glabrata</i>	Carbapénème	
<i>Enterococcus spp.</i>	<b>Universal Bacteria</b>		<i>I.orientalis (C.krusei)</i>		
<i>Enterococcus faecalis</i>	Détection d'une séquence génétique procaryote		<i>Candida tropicalis</i>		

# DendrisKIT OA

**DendrisKIT OA**  
Infections Ostéoarticulaires

CE

-  *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*



**Matériel nécessaire : extracteur/amplificateur  
+ Matériel spécifique (hybridation/criblage)**

**Sensibilité (seuil à 10.3)**

**1 plaque pour 14 tests. Pas de tests unitaire !!**

**Etude CNR Lyon en cours (F. Laurent)**



# En pratique

- **Documenter une infection à culture négative (Plan B)**

Choix de(s) technique(s) en fonction du contexte :

- PCR 16S (décevante) ou PCR syndromique ou Métagénomique (NGS)

Dialogue clinico-biologique +++, RCP

Conservation au moins pendant 3 mois des prélèvements (congélateur) pour analyses supplémentaires

# DISQVER Noscendo

DISQVER® de l'échantillon au résultat



1



**PRÉLÈVEMENT**  
SANG TOTAL  
LIQUIDE SYNOVIAL  
LBA

**SERVICE  
CLINIQUE**

2



**SÉQUENÇAGE**  
de l'ADN libre circulant  
par next-generation sequencing  
(NGS) et  
téléchargement des  
séquences sur la  
plateforme sécurisée  
DISQVER

**LABO-  
RATOIRE**

3



**FILTRAGE** et  
exclusion  
des séquences  
génomiques  
d'origine humaine  
par l'utilisation  
d'algorithmes



**COMPARAISON** des  
séquences d'ADN  
microbien  
à la base de données  
DISQVER  
(16,000 microbes,  
dont >1,500  
pathogènes décrits)...



**...DETERMINE**  
la quantité  
et pertinence de  
l'ADN microbien  
précédemment  
identifié (Virus à  
ADN, bactéries,  
champignons,,  
parasites)



**...CRÉATION**  
d'un rapport de  
résultats digital

**PLATEFORME DISQVER®**

Max. 24 h  
à partir de la  
réception de  
l'échantillon par le  
laboratoire

4



**ACCÈDE AU  
RAPPORT  
DIGITAL**  
aide à la décision  
clinique et  
adaptation du  
traitement

**CLINICIEN**

# Conclusion

- **Techniques d'avenir (depuis 20 ans...)**
- **Avènement des PCR syndromiques**
- **Indications ciblées, palliatives**
- **Séquençage « se démocratise »**
- **Métagénomique ?**

**BESOIN D'ETUDES CLINIQUES et MEDICO-ECONOMIQUES**