

## Du Bon Usage de la Biologie Moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses à hémocultures négatives

Anne TRISTAN  
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Cardiologique,  
Lyon, France  
10/06/ 2004

## Du Bon Usage de la Biologie Moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses à hémocultures négatives

### EI à hémocultures négatives Quelle définition pour 10-15% des cas ?

- ↗ EI à hémocultures négativées par les antibiotiques
- ↗ EI à hémocultures souvent négatives
  - germes exigeants et/ou déficients
- ↗ EI à hémocultures toujours négatives
  - bactéries intracellulaires
- ↗ EI sans diagnostic étiologique

### EI négativée par les antibiotiques

- ↗ Homme 80 ans
- ↗ 07 / 99 : EI aortique, hémoc négatives, prise préalable d'ATB, ATBthérapie amoxicilline + genta
- ↗ 08 / 99 : Remplacement valvulaire aortique
- ↗ Cocci à l'histopathologie dans les végétations

PCR 16S : *Streptococcus bovis* (100% identité)  
EI à *S. bovis*



### EI à hémocultures souvent négatives

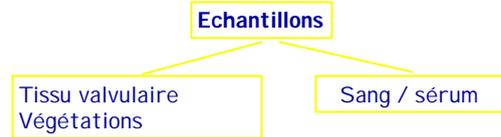
- ↗ Homme, 45 ans, agriculteur, pas de souffle connu
- ↗ 08/99 AEG, fièvre traitée par cyclines, macrolides
- ↗ 23/10/99 : EI aortique, hémocultures positives à petit BGN ne cultivant pas
  - RVA le 25/10 : végétations, abcès de l'anneau
  - PCR 16S ⇒ 98% *Capnocytophaga canimorsus*

### EI à hémocultures toujours négatives

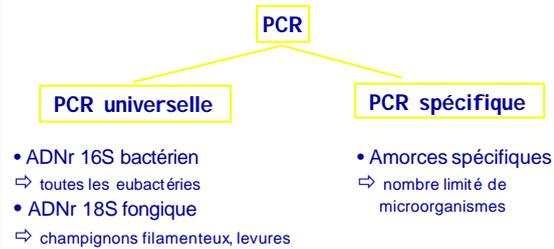
- ↗ Homme 73 ans
- ↗ 04 / 99 : EI mitro-aortique + 1 hémoc à *Pseudomonas aeruginosa*
- ↗ 05 / 99 : double remplacement valvulaire
  - Pas de germe à l'histopathologie
  - PCR : *Bartonella henselae* (100% identité)  
EI à *B. henselae* confirmée par la sérologie avec bactériémie intercurrente à *P. aeruginosa*

Du Bon Usage de la **Biologie Moléculaire** dans le diagnostic des endocardites infectieuses à hémocultures négatives

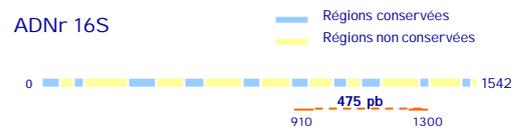
**Biologie moléculaire : quelles définitions pour quelles méthodes ? (1)**



**Biologie moléculaire : quelles définitions pour quelles méthodes ? (2)**



**Principe de la PCR universelle 16s**



Séquençage du produit de PCR  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast/>  
<http://pbil.univ-lyon1.fr/bibi/> (Bio Informatic Bacterial Identification)  
 Présomption d'identification de genre, d'espèce

**... Biologie Moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses....**

**Que dit la littérature ?**

**"Molecular diagnosis of Bacterial endocarditis by broad-range PCR amplification and direct sequencing"**

1ère évaluation PCR 16S pour le diagnostic de l'EI  
 18 valves de patients présentant une EI  
 Principaux résultats

- Concordance avec la culture de la valve: 2 patients
- Concordance avec hémoculture(s) antérieure(s) : 9 patients
- Microorganisme identifié (*Streptococcus* sp. et *Tropheryma whippelii*) avec culture de valve et hémocultures négatives : 2 patients
- Culture de valve et PCR négatives mais hémocultures positives : 2 patients
- PCR positive mais séquençage impossible : 1 patient
- Présence d'inhibiteurs : 2 patients

### "Molecular diagnosis of IE by PCR amplification and direct sequencing of DNA from valve tissue"

Résultats de la culture et de la PCR	Nombre de cas		Contrôles (n=14)	
	Suspicion EI EI certaine	(n=38) EI exclue	EI certaine	EI exclue
Hémoc positive et diagnostic identique/PCR	21 <sup>b</sup>			
Hémoc positive et diagnostic différent/PCR	3 <sup>c</sup>			
Hémoc négative et diagnostic/PCR	2 <sup>d</sup>		1 <sup>e</sup>	
Hémoc négative et PCR négative	1	10		13
Hémoc positive et PCR négative	1			
Total	28	10	1	13

b: concordance exacte

c: PCR  
B. hemolysae  
S. mutans  
S. bovis

Hémoculture  
1 hémoculture à P. aeruginosa  
2 hémocultures à E. coli  
3 hémocultures à S. mutans

d/e: S. bovis, S. cohnii, C. burnetii

Gauduchon J Clin Microbiol 2003

### "Etiologic diagnosis of IE by broad-range PCR: a 3-year experience"

- 49 patients avec une pathologie valvulaire cardiaque :
  - 22 EI certaines, 13 EI possibles, 14 EI exclues
  - 18 patients valves prothétiques
- 63 spécimens
  - 52 valves : 38 aortiques, 14 mitrales
  - 11 autres échantillons (végétations, tissu aortique,..)

Bosshard, CID 2003

### Comparaison PCR et hémocultures (n=49)

Hémocultures	Total PCR	universelle 16S	
		pos	neg
<b>Positives</b>	<b>22</b>	<b>19</b>	<b>3</b>
Duke major criteria	18	17	1
Duke minor criteria	4	2	2
<b>Négatives</b>	<b>17</b>	<b>3</b>	<b>14</b>
<b>Non faites</b>	<b>10</b>	<b>1</b>	<b>9</b>

\*3 "faux-négatifs" PCR  
 • 7/7 hémocultures + S. aureus Duke : EI certaine  
 • 3/10 hémocultures + SCN, Duke : EI certaine  
 • 7/21 hémocultures + P. acnes, Duke : EI certaine

\*3 "vrais-positifs" PCR  
 • 10/10 hémocultures -, H. aphrophilus Duke : EI possible (EI certaine)  
 • 3/3 hémocultures -, S. bovis, Duke : EI possible (EI certaine)  
 • 2/2 hémocultures -, T. whipplei Duke : pas EI (EI certaine)

Bosshard, CID 2003

### Performances de la PCR

	Sensibilité	Spécificité	PPV	NPV
Toutes EI	83%	100%	100%	77%
EI valve native	94%	100%	100%	90%
EI prothèse	50%	100%	100%	43%

Bosshard, CID 2003

### "Molecular Diagnosis of IE - A New Duke's Criterion"

- Etude sur 77 patients
- Résultats similaires
- Proposition
  - Inclure la PCR comme critère majeur aux critères de Duke

Millar, Scan J Infect Dis 2001

**Du Bon Usage** de la Biologie Moléculaire dans le diagnostic des endocardites infectieuses à hémocultures négatives

## Quand utiliser la PCR pour le diagnostic de l'EI ? Propositions de recommandations

- ↳ PCR universelle bactérienne 16S sur les tissus valvulaires
  - EI à hémocultures négatives
  - EI possibles
  - EI à hémoculture positive mais critère de Duke mineur
- ↳ PCR universelle fongique 18S sur les tissus valvulaires
  - EI à hémocultures et PCR 16S négatives sur valve native
  - EI sur valve prothétique à hémocultures négatives
- ↳ PCR spécifique
  - Sur tissus valvulaires : *Bartonella*, *C. burnetii*, *T. whipplei* = 2ème intention, plus sensible, en fonction du contexte bioclinique
  - Sur sérum ou sang : mêmes étiologies, intérêt si pas d'intervention

