

PCR directe sur prélèvement : apport au diagnostic de nocardiose



C. Fillit, A. Becker, C. Dupieux, C. Roure-Sobas, H. Salord, S. Tigaud, F. Laurent
Laboratoire de bactériologie des Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

La nocardiose est une maladie rare mais associée à une mortalité importante, touchant notamment l'immunodéprimé. Le diagnostic microbiologique de référence, qui repose sur l'examen direct et la culture, s'avère difficile, du fait d'une culture lente de la bactérie et d'une fréquente antibiothérapie préalable, les symptômes de cette maladie étant peu spécifiques et le diagnostic clinique souvent évoqué tardivement.

Des données rétrospectives ont montré les bonnes sensibilité (Se) et spécificité (Sp) d'une technique de biologie moléculaire par PCR, pour le diagnostic rapide de *Nocardia*, directement à partir du prélèvement (1). L'objectif de notre étude était d'évaluer de façon prospective les valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) de cette PCR pour en définir l'intérêt par rapport aux approches par culture.



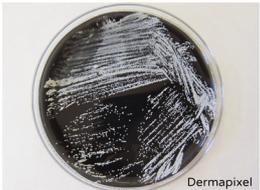
**Demande de recherche de
Nocardia sur prélèvements
entre 09/2009 et 01/2015**

1264 prélèvements

Culture + PCR

Méthode culture

Culture sur milieu spécifique BCYE + Gélose au sang
Incubation à 30°C pendant 10 jours
Lecture quotidienne des boîtes à partir de J3



Identification du genre par MALDI-TOF
Identification de l'espèce par séquençage du gène *hsp65*

Résultats

	PCR+	PCR-	Total
Culture +	6 (0,47%)	6 (0,47%)	12
Culture -	17* (1,34%)	1235 (97,70%)	1252
Total	23 (1,82%)	1241 (98,18%)	1264

*confirmé par séquençage

3% seulement des prélèvements ont conduit à un diagnostic de *Nocardia*

17 diagnostics posés uniquement grâce à la PCR (17/29 = 58,6%)

Sensibilité : 79%
Spécificité : 100%
Valeur prédictive négative : 99.5%
Valeur prédictive positive : 100%

Conclusion

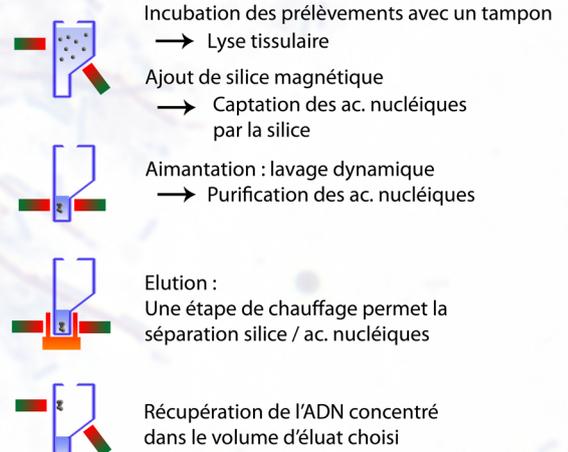
La PCR sur prélèvement apparaît indispensable au diagnostic de nocardiose, tant par sa rapidité que par sa spécificité. Néanmoins elle doit rester associée à une culture (6/29 PCR - / Culture +).

Compte tenu de la prévalence de la maladie rapportée au nombre de prélèvements reçus, une réévaluation des critères de prescription semble nécessaire.

Méthode PCR

Le diagnostic moléculaire était basé sur une PCR "maison" en temps réel utilisant des amorces spécifiques ciblant l'ADNr16S de *Nocardia*, couplée à une sonde spécifique fluorescente pour la révélation des produits d'amplification.

EXTRACTION de l'ADN : EasyMag (Biomérieux)



AMPLIFICATION / DETECTION : Automate M2000r Abott

