



Diagnostic rapide des infections bactériennes sévères en réanimation

Sabine Pereyre

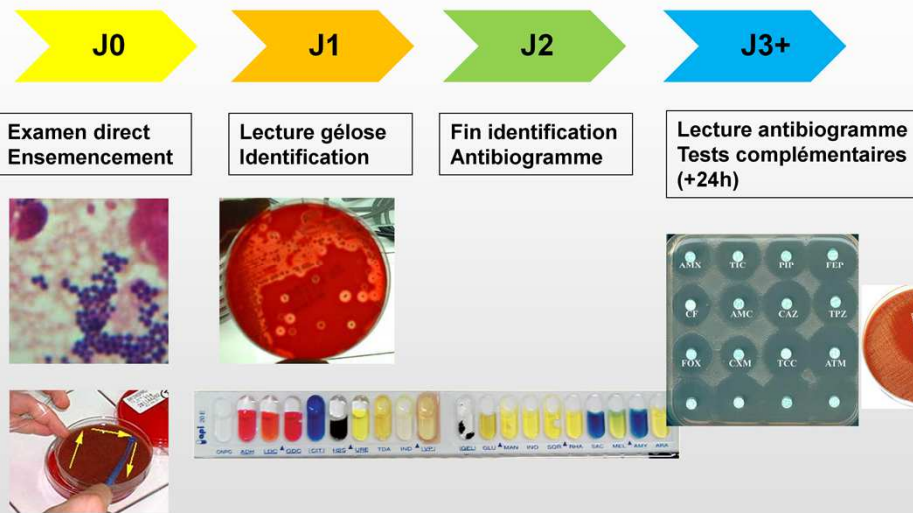
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux
Centre National de Référence des IST bactériennes
USC EA 3671, Université de Bordeaux - INRA

JARCA, 16 novembre 2018

université
de BORDEAUX



Le diagnostic bactériologique



Les progrès de l'automatisation

- Hémocultures

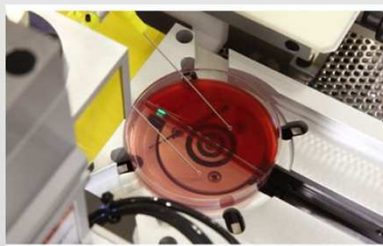
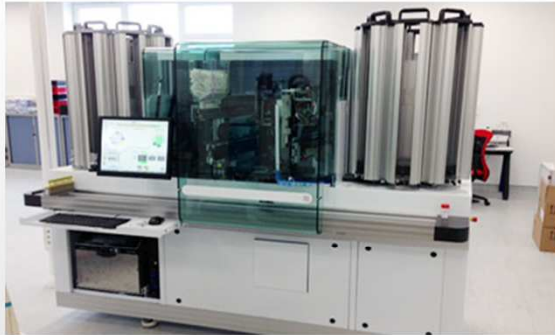


- Antibiogrammes en milieu liquide

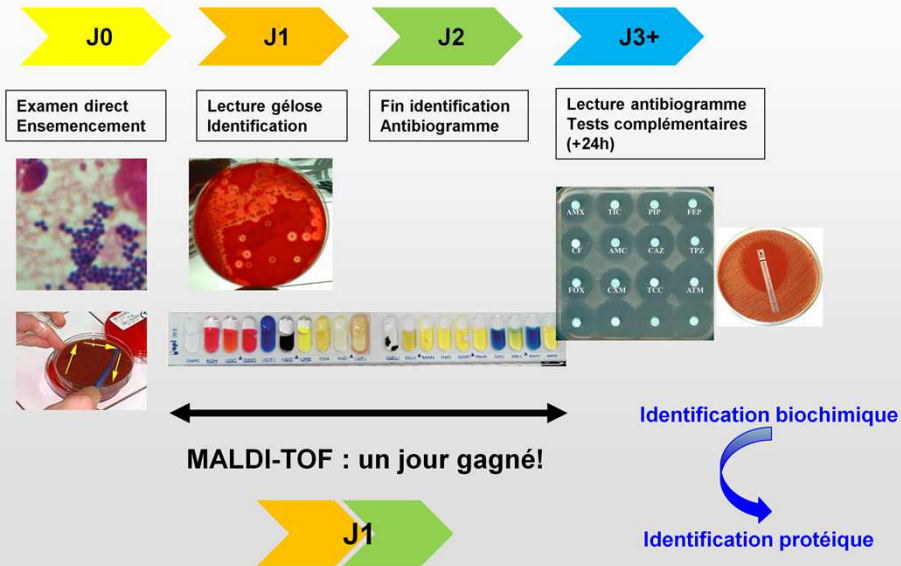


Les progrès de l'automatisation

- **Ensemenceur**

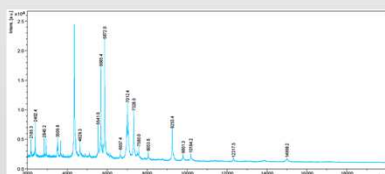
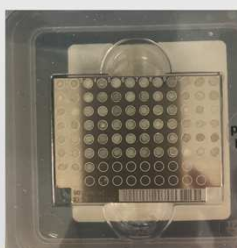
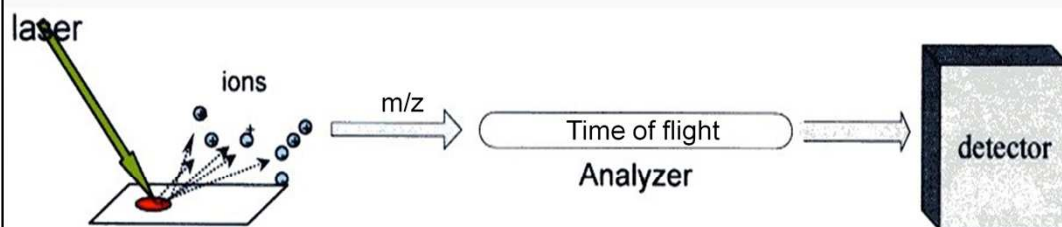


Identification par MALDI-TOF



MALDI-TOF

Matrix-Associated Laser Desorption Ionisation –Time of flight



Rank(Quality)	Matched Pattern	Score Value	NCBI Identifier
1(++)	Campylobacter coli 11167_03 NVU	2.136	195
2(++)	Campylobacter coli CCUG 11283 NVU	2.149	195
3(++)	Campylobacter coli 10090_03 NVU	1.94	195
4(-)	Campylobacter jejuni MB_5195_05 THL	1.356	192
5(-)	Campylobacter jejuni ATCC 29420 THL	1.356	192
6(-)	Campylobacter jejuni MB_7240_05 THL	1.354	192
7(-)	Arthrobacter citreus DSM 20133 T_DSM	1.313	1670
8(-)	Campylobacter lari CCUG 23947 NVU	1.256	201
9(-)	Arthrobacter sp. P1 B386 UFL	1.256	1663
10(-)	Clotrichia perfringens B 1038_NCTC 4964_BDO	1.331	1592

MALDI-TOF

- Révolution dans les laboratoires de bactériologie

- Simple
- Peu coûteux
- Identification d'espèce fiable
- Gain de temps +++
- Espèces fastidieuses ou d'identification difficile +++

- 3h après une hémoculture positive



3h

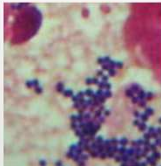


Microflex Bruker

Le diagnostic bactériologique

J0

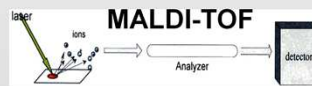
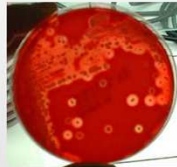
Examen direct
Ensemencement



J1

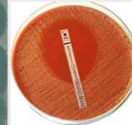
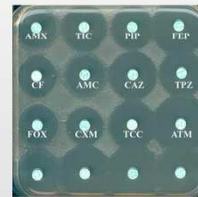
J1

Lecture gélose
Identification
Antibiogramme



J2+

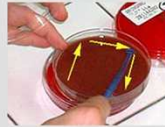
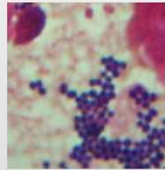
Lecture antibiogramme
Tests complémentaires
(+24h)



Diagnostic rapide en J0

J0

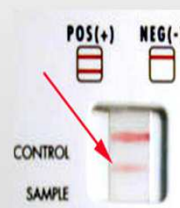
Examen direct
Ensemencement



- Techniques immunochromatographiques
- Biologie moléculaire

Techniques immunochromatographiques en J0

- **Détection d'antigènes bactériens**
 - Migration échantillon sur membrane
 - Réaction avec un anticorps spécifique > ligne colorée
- **Ex : Ag urinaires de *Legionella pneumophila* sérotype 1 ou *Streptococcus pneumoniae***



20-30 minutes!

Techniques immunochromatographiques en J0

- ***Escherichia coli* producteurs de shigatoxines (STEC)**
 - Toxines STX1, STX2



30 minutes!

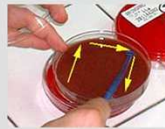
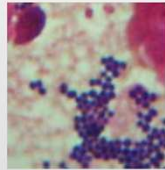
- ***Clostridium difficile***
 - Enzyme Glutamate deshydrogenase
 - Toxine A et toxine B
 - ✓ Manque de sensibilité > PCR



Diagnostic rapide en J0

J0

Examen direct
Ensemencement



➤ Techniques immunochromatographiques

➤ Biologie moléculaire

- Toxine de *C. difficile*
- BHRe
- PCR syndromiques

Biologie moléculaire : *C. difficile*

- PCR et dérivées (LAMP)
 - Détection des gènes *tcdA* et/ou *tcdB* codant les toxines A et B
 - Sensible, spécifique et assez rapide (1-2 h)
 - Coût : 20-50 €/test
 - Risque de surestimation : le gène s'exprime t-il vraiment?

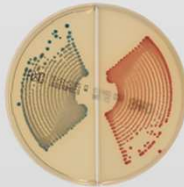


Biologie moléculaire : BHRe

- **Directement à partir d'écouvillonnages rectaux**
- **Détection:**
 - Entérobactéries porteuses de carbapénémases
✓ KPC, NDM, OXA-48
 - Entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG)



- **Rapide**
 - 1h pour extraction ADN, amplification, résultat > mesures hygiène
- **Coût +++**
 - 50 euros/test
- **Alternative en culture**
 - Milieux chromogènes, 24-48h



PCR syndromiques

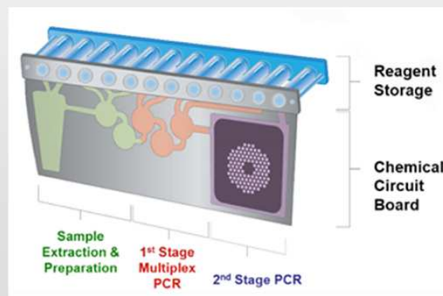
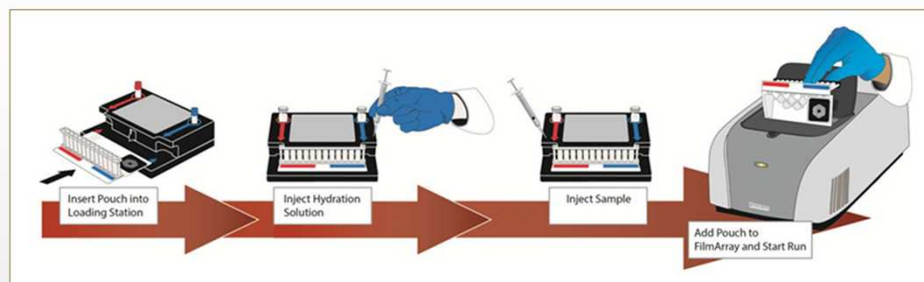
- **Détection simultanée de plusieurs cibles nucléiques**

- **Panel respiratoires**

- ✓ Virus, bactéries, 1h

Virus	Bactéries
• Adénovirus • Coronavirus HKU1 • Coronavirus NL63 • Coronavirus 229E • Coronavirus OC43 • Métapneumovirus humain • Rhinovirus humain/Entérovirus • Virus de la grippe A • Virus de la grippe A/H1 • Virus de la grippe A/H1-2009 • Virus de la grippe A/H3 • Virus de la grippe B • Virus parainfluenza 1 • Virus parainfluenza 2 • Virus parainfluenza 3 • Virus parainfluenza 4 • Virus respiratoire syncytial	• <i>Bordetella pertussis</i> • <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> • <i>Mycoplasma pneumoniae</i>

Exemple : FilmArray, bioMérieux



PCR syndromiques

• Détection simultanée de plusieurs cibles nucléiques

– Panel respiratoires

- ✓ Virus, bactéries, 1h

– Panel hémoculture positive

- ✓ Bactéries, levures, gènes de R

– Panel méningite, encéphalite

- ✓ Bactéries, virus, levure

– Et ...

- ✓ Panel infections sex
- ✓ Panel infections dige

Virus	Bactéries
Bactéries à Gram positif	Bactéries à Gram négatif
• Enterococcus • Listeria monocytogenes • Staphylococcus ➢ Staphylococcus aureus • Streptococcus ➢ Streptococcus agalactiae ➢ Streptococcus pyogenes ➢ Streptococcus pneumoniae	• Acinetobacter baumannii • Haemophilus influenzae • Neisseria meningitidis • Pseudomonas aeruginosa • Enterobacteriaceae ➢ Enterobacter cloacae complex ➢ Escherichia coli ➢ Klebsiella oxytoca ➢ Klebsiella pneumoniae ➢ Proteus ➢ Serratia marcescens
Levures	Gènes de résistance aux antibiotiques
• Candida albicans • Candida glabrata • Candida krusei • Candida parapsilosis • Candida tropicalis	• mecA - résistance à la pénicilline • vanA/B - résistance à la vancomycine • KPC - résistance aux carbapénèmes

PCR syndromiques

- **Avantages**



≈ 1-2 heures

- **Inconvénients**



BHN 1000 : 270 €

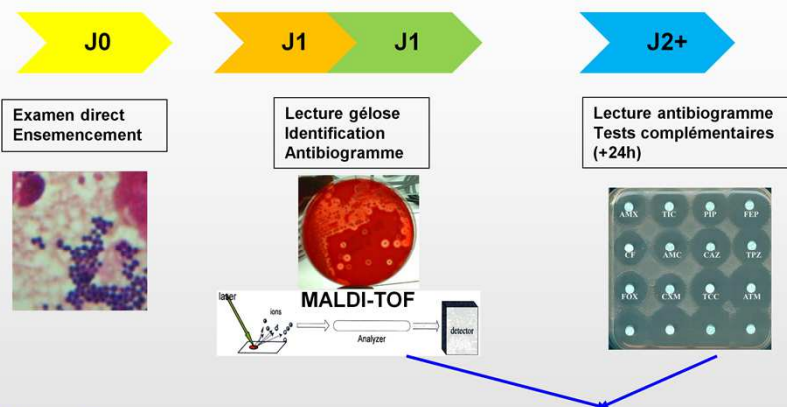
Pas d'antibiogramme

Plusieurs pathogènes

Sensibilité moindre?

Pathogènes sans intérêt
pour le cas clinique

Mécanismes de résistance à J0, J1 ou J2



Echantillons

- Culture milieux chromogènes (24-48h)
- Biologie moléculaire
 - ✓ SARM
 - ✓ Carbapénémase
 - ✓ ERG

Souches

- Immunochromatographie ou biologie moléculaire
 - ✓ SARM
 - ✓ Carbapénémase
 - ✓ ERG

Conclusion

- **Révolution de l'identification : MALDI-TOF**
 - Gain de 24h
- **Simplicité de réalisation, rapidité des nouvelles techniques**
 - Immunochromatographiques
 - Biologie moléculaire
 - Gain pour la prise en charge du patient en réanimation
- **MAIS**
 - Difficultés biologiques : interprétation des PCR syndromiques?
 - Contraintes organisationnelles ++
 - Contraintes financières +++
 - Méthodes conventionnelles restent indispensables !

