

Diagnostic d'une infection Toujours plus vite ?

Dr Anthony MICHAUD, Bactériologie CHU de Poitiers.

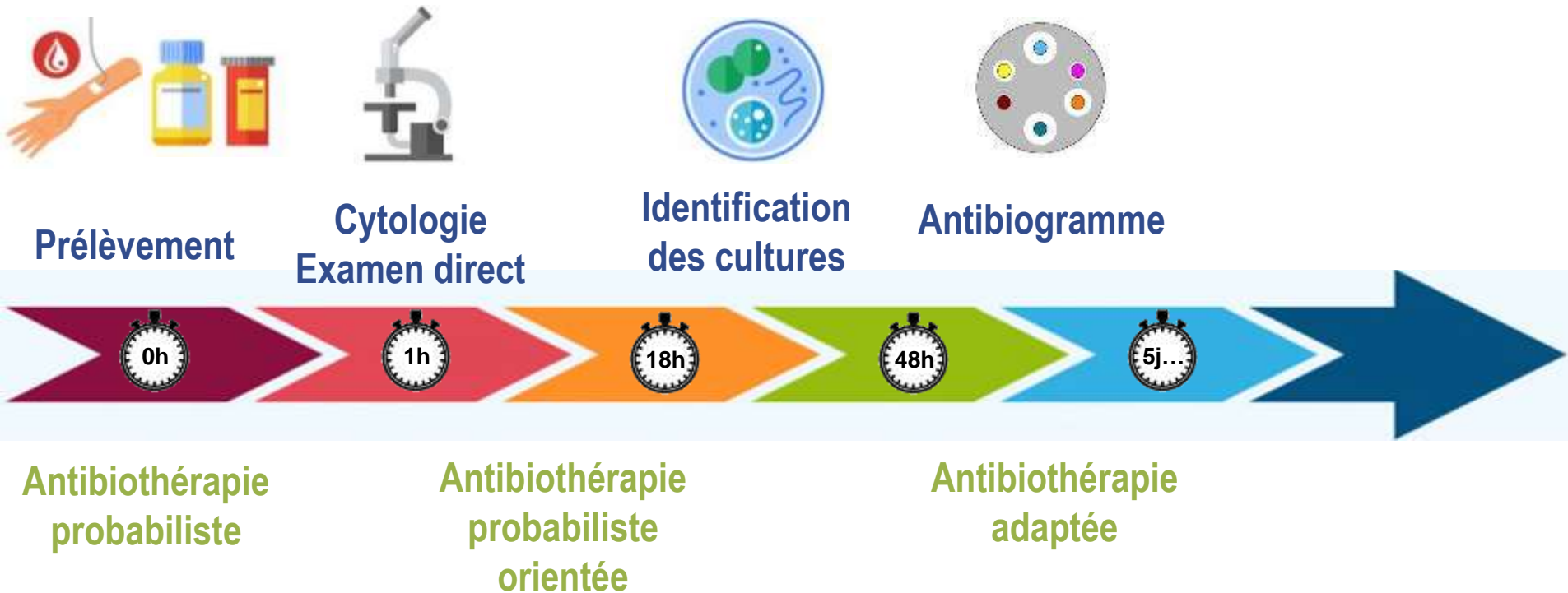
Déclaration de liens d'intérêt avec les industries de santé en rapport avec le thème de la présentation (loi du 04/03/2002) :

Intervenant : Anthony MICHAUD

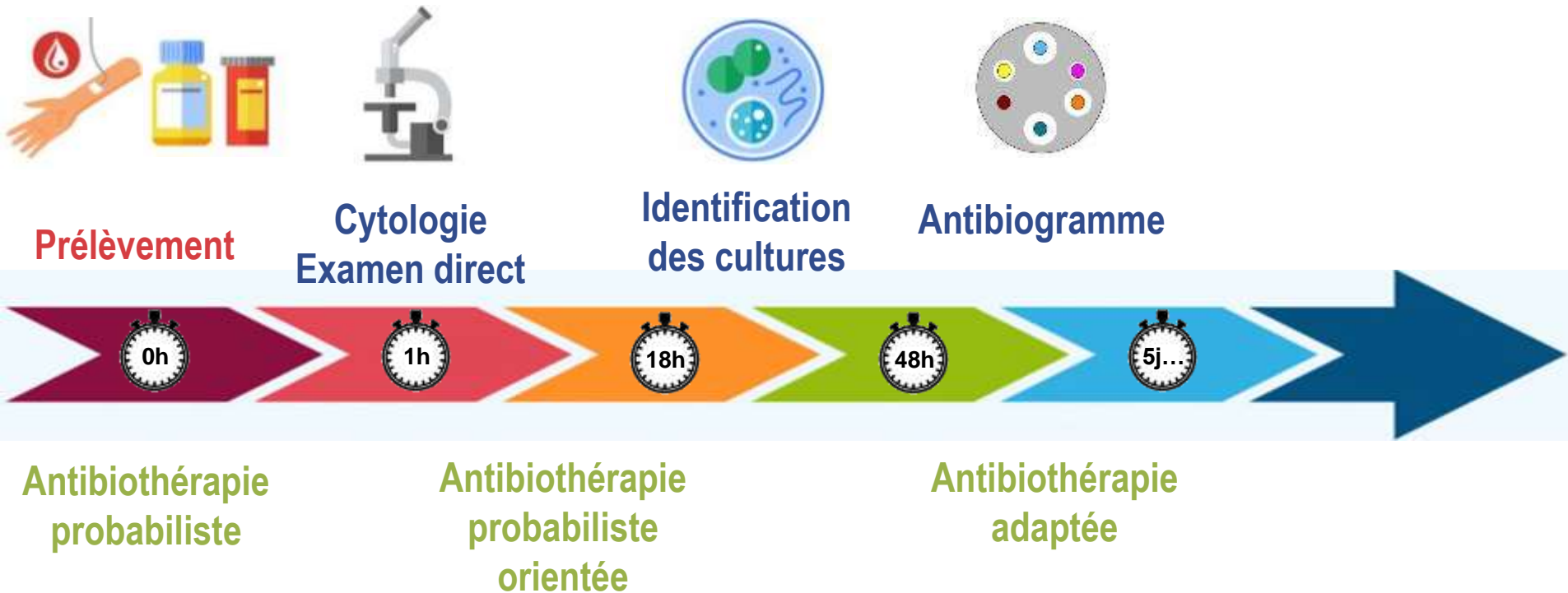
Titre : Diagnostic d'une infection. Toujours plus vite ?

- OUI NON
- OUI NON
- OUI NON
- OUI NON

Diagnostic microbiologique



Toujours plus vite

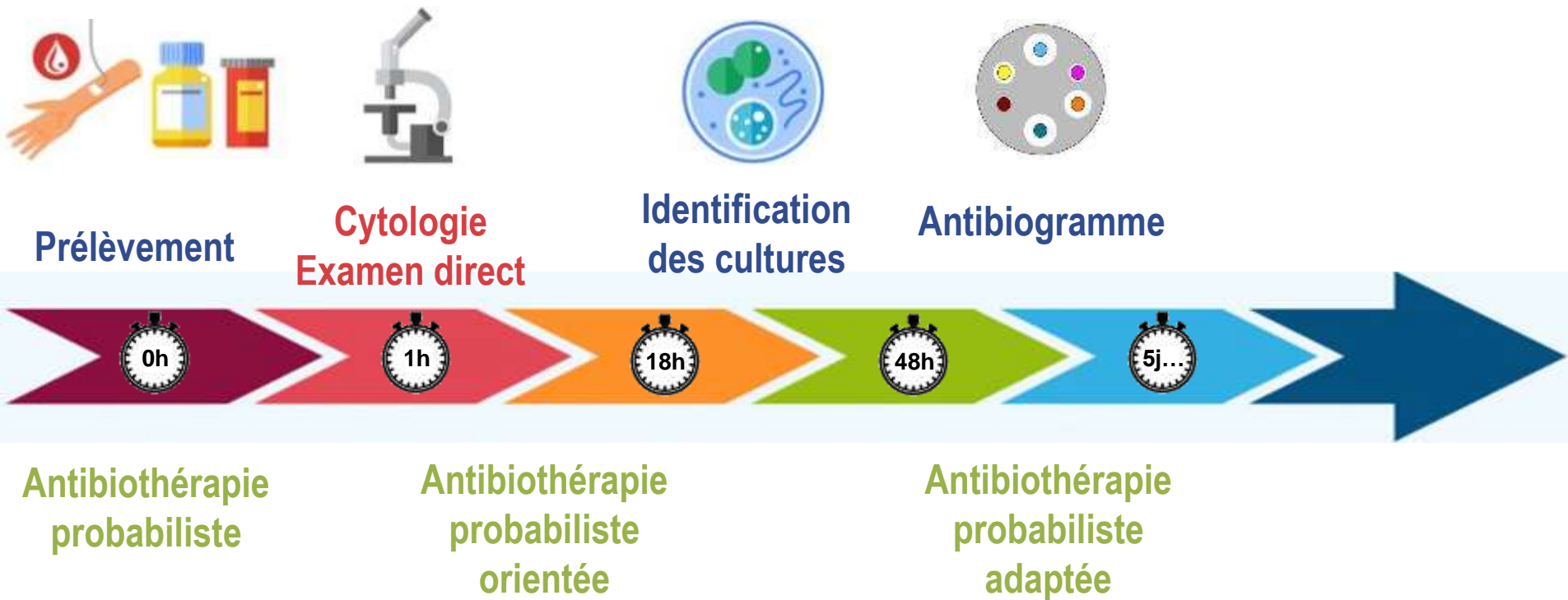


Toujours plus vite : prélèvement

- **Standardisation des techniques de prélèvements = protocoles**
- **Définition précise des besoins du labo = « guide des analyses biologiques »**
± prescription connectée avec libellés sur étiquettes
- **Acheminement maîtrisé jusqu'au labo (pneumatique, navettes dédiées...)**



Toujours plus vite



Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

- **Urgence vitale : déjà optimisée**
 - **Flux « habituel » : automatisation du laboratoire +++**
 - Automate de cytologie (ECBU)
 - Automate d'ensemencement des prélèvements
 - Automate d'incubation des cultures
- techniciens de labo dédiés aux tâches complexes d'expertise et communication plus rapide des résultats

Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

- **Automatisation de la cytologie (ECBU) :**

2000



1 urine = quelques minutes

2020



xx urines = quelques minutes

Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

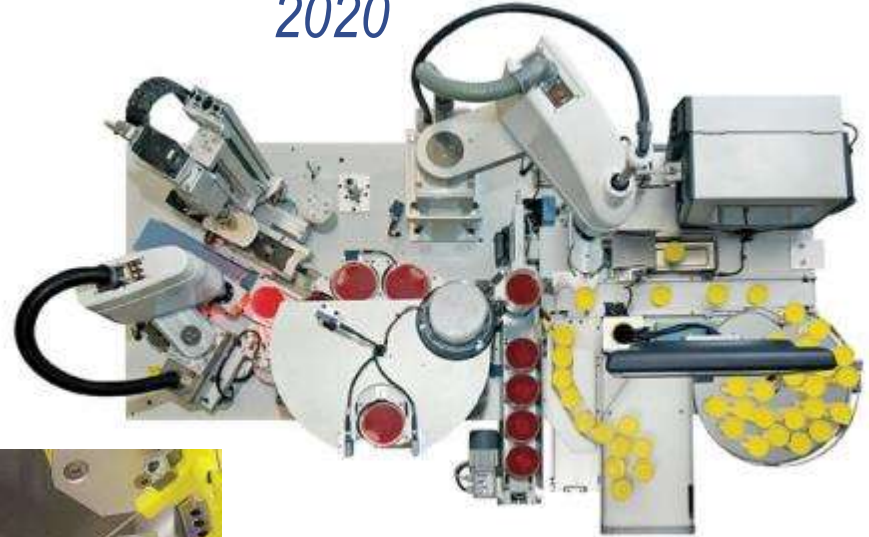
- Automatisation de la mise en culture:

2000



Chaque prélèvement déposé
manuellement sur géloses

2020



xx prélèvements déposés
automatiquement sur géloses

Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

- **Automatisation de l'incubation des cultures:**

2000



**Chaque gélose est manipulée
chaque jour**

2020



Moindre manipulation des géloses

Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

- **Automatisation des cultures:**

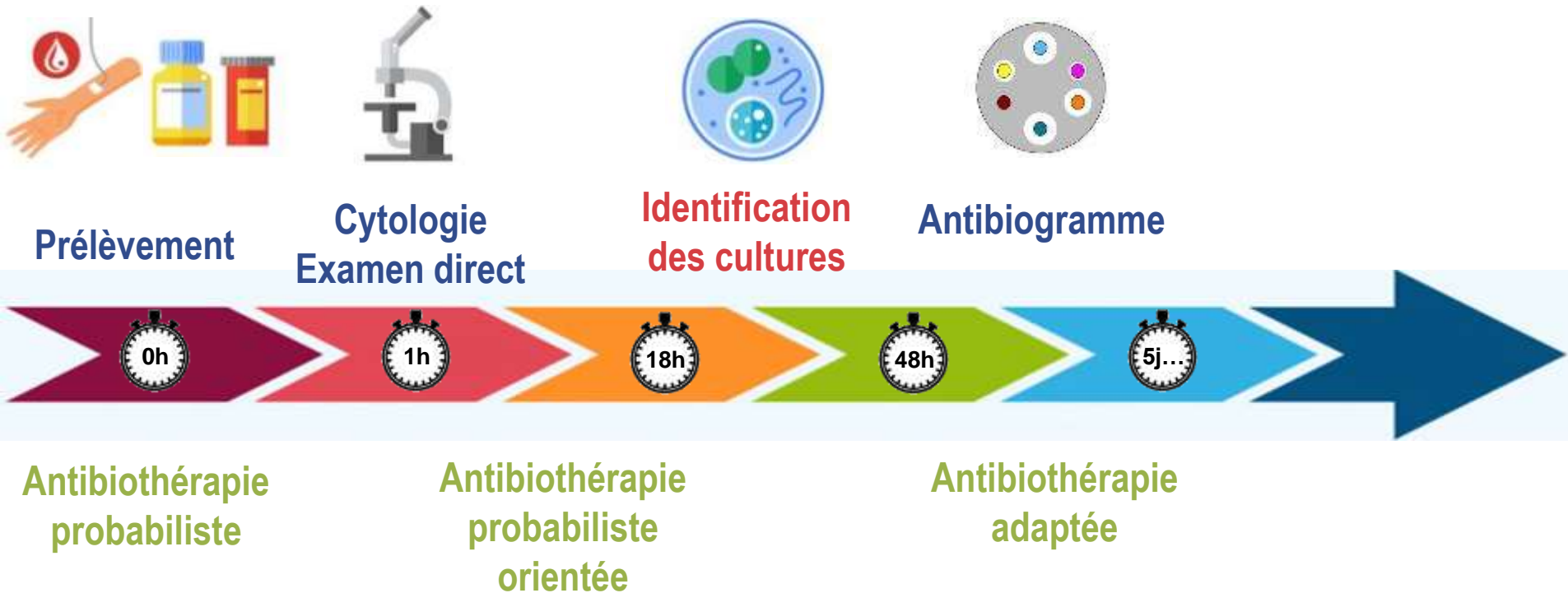
2000



2020



Toujours plus vite



Toujours plus vite : identification des cultures

- Quelle bactérie sur cette gélose ?



2000



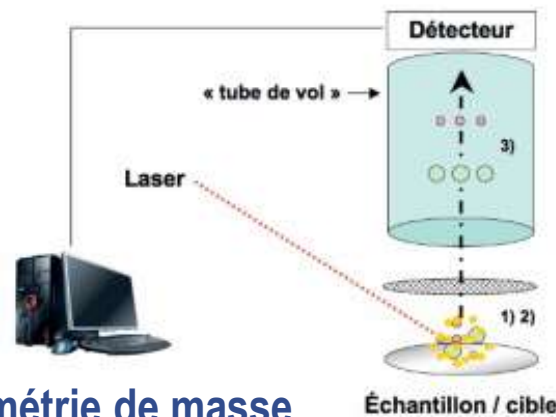
2020



Proteus mirabilis

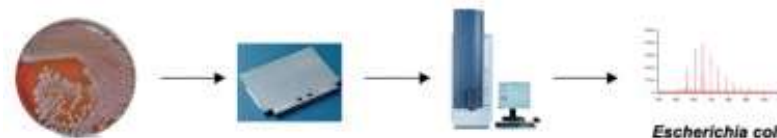
Escherichia coli

Test enzymatique



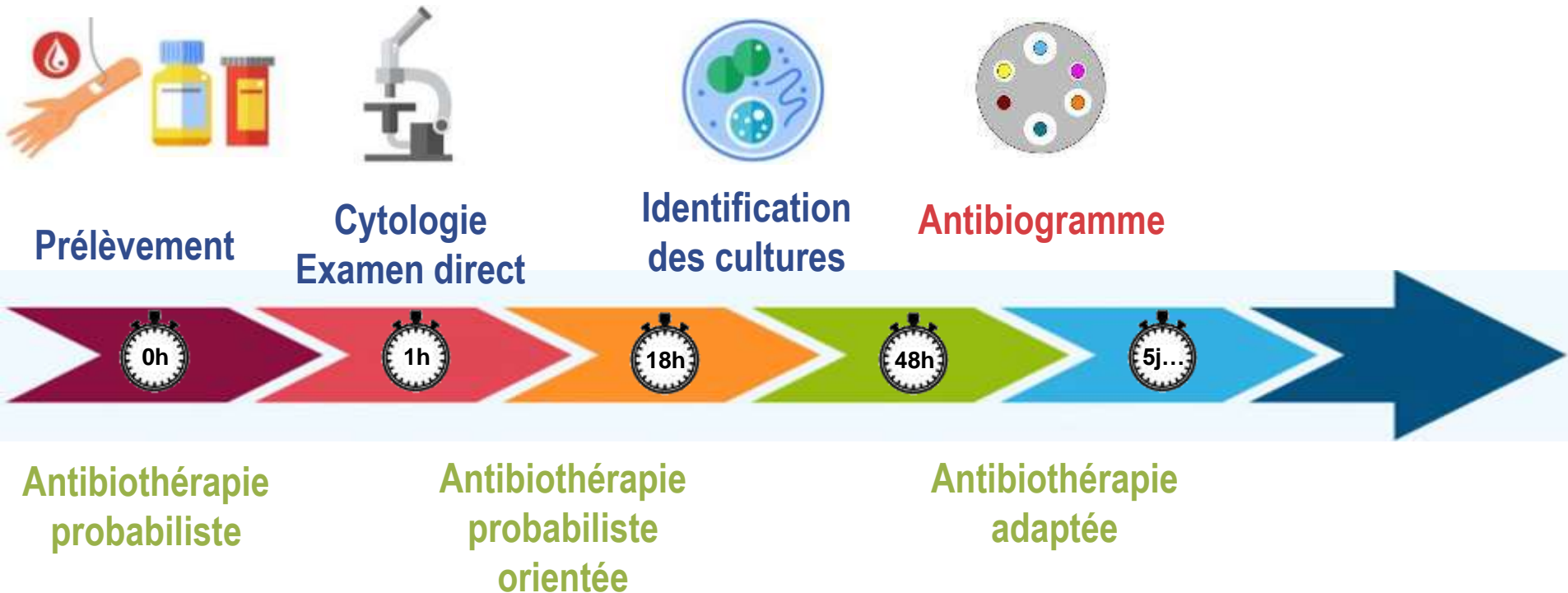
● ● : protéines
○ : matrice

- 1) Désorption
- 2) Ionisation
- 3) Séparation



Escherichia coli

Toujours plus vite



Toujours plus vite : antibiogramme

- Quelle molécule va être active ?



2000



2020



Disques imprégnés / Liquide automatisé

Disques imprégnés / Liquide automatisé

Toujours plus vite : antibiogramme

- **Tests rapides d'orientation :**
 - *S. aureus* Méti S / Méti R :
 - Immunochromatographie
 - 5 minutes

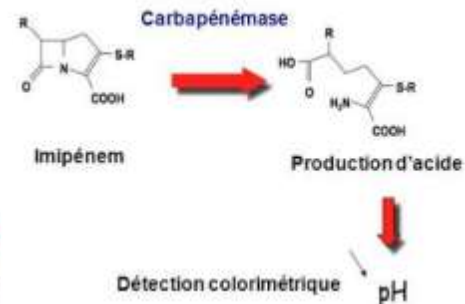
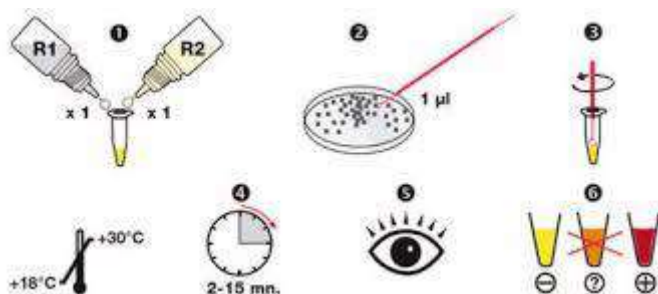


Toujours plus vite : antibiogramme

- Tests rapides d'orientation :
 - Entérobactéries BLSE / Carbapénémase
 - Immunochromatographie

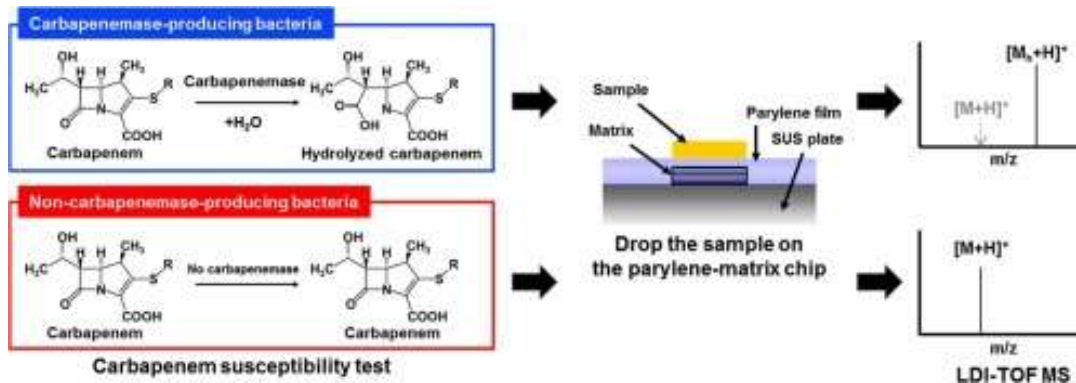
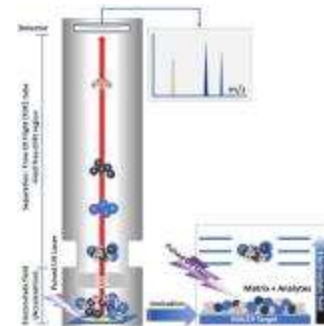


- Chromogénique

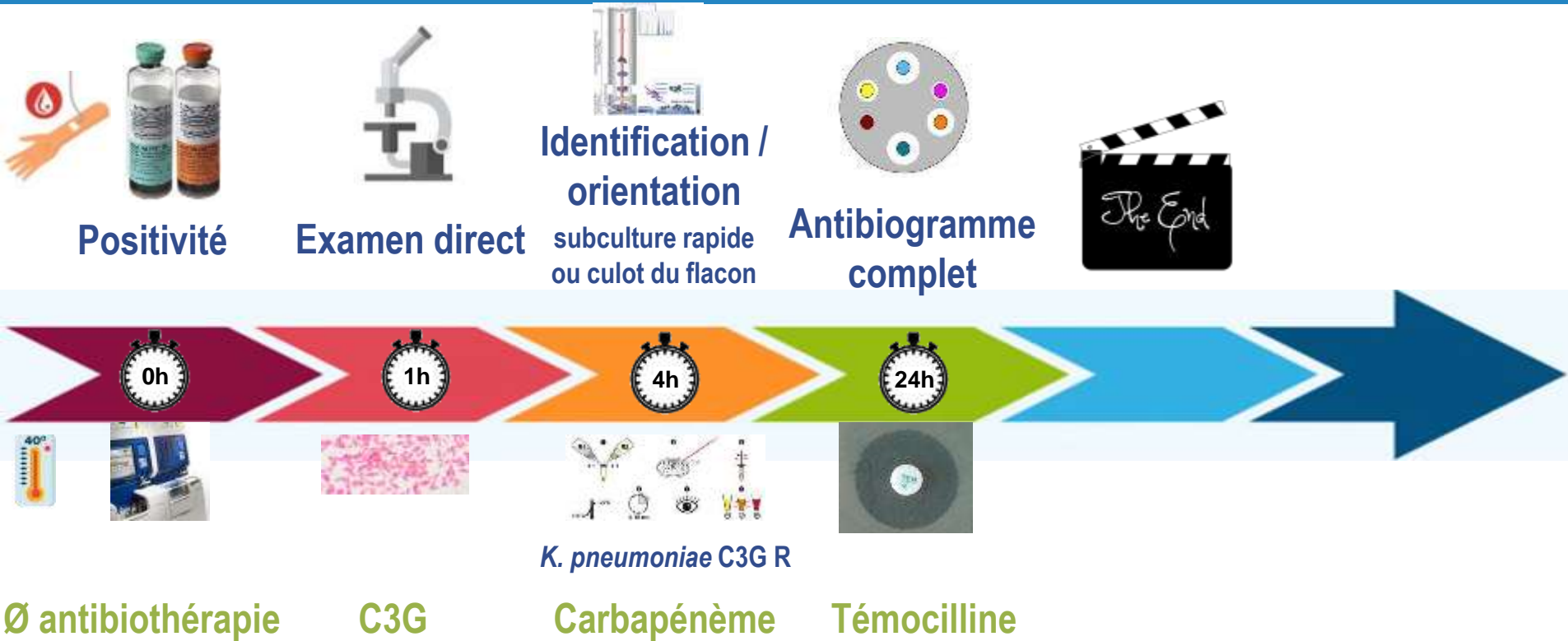


Toujours plus vite : antibiogramme

- Tests rapides d'orientation :
 - Entérobactéries BLSE / Carbapénémase
 - Spectrométrie de masse (<1h)



Exemple de l'hémoculture

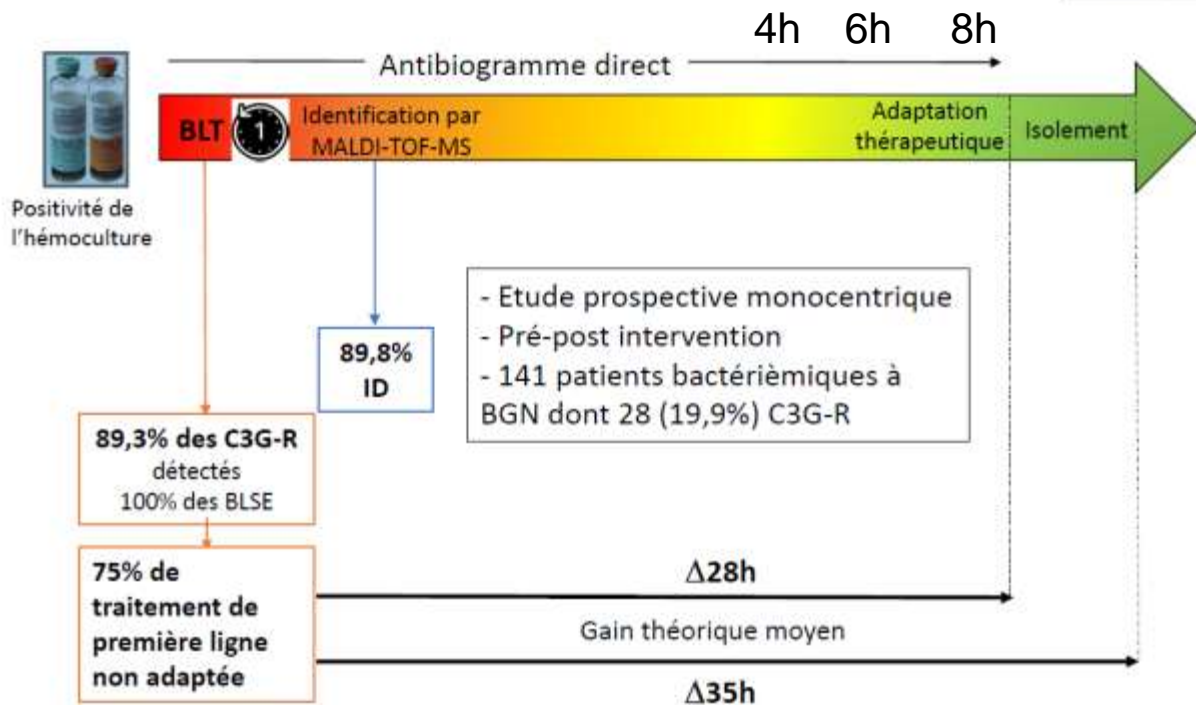


Exemple de l'hémoculture

Infect Dis (Londr), 2018 Sep 50(9): 666-677. doi: 10.1093/idd/23744235 2018.1458147. Epub 2018 Apr 2.

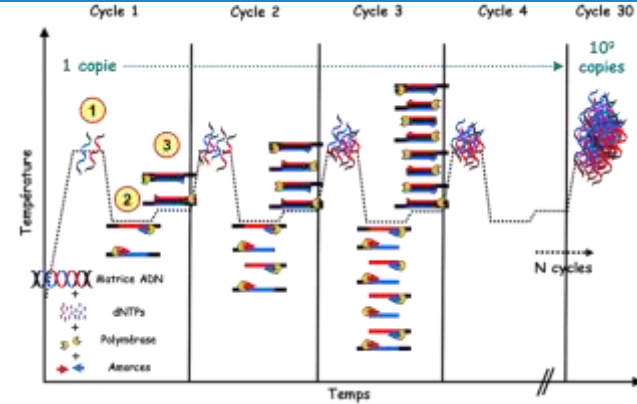
Clinical impact of rapid bacterial identification by MALDI-TOF MS combined with the bêta-LACTA™ test on early antibiotic adaptation by an antimicrobial stewardship team in bloodstream infections.

Mizrabi A¹, Amzaleq J¹, Couziou C², Péan De Pontilly G¹, Pillis B², Le Monnier A¹.



« Tout cela est inutile » : il y a la PCR ?!?

- Directement sur le prélèvement (H0)
- Rapide (30 min-2h)
- Spécificité
- Automates 24h/24
- Gènes de résistances



« Tout cela est inutile » : il y a la PCR ?!?

- **Attention à la sensibilité : dépend du kit, qualité du prélèvement... la culture fait souvent mieux!**
- **PCR rapide (PCR spécifique) = on ne trouve que ce que l'on cherche**
- **Pas de germe isolé = pas d'antibiogramme !**
- **Coût variable**

PCR « hors-sujet »

- **PCR « universelle » 16S:**
 - Sensibilité médiocre, impossible si flore associée
 - Etape de séquençage nécessaire (>24h)
 - Intérêt = site normalement stérile prélevé sous ATB (culture décapitée)
- **Séquençage haut débit NGS:**
 - Pas adapté au diagnostic unitaire d'urgence
 - Coût

PCR multiplexe et approche syndromique

- **1 seule PCR pour virus, champignons et bactéries**
(les plus pathogènes de l'organe concerné)
- **Facilité de prescription**
- **Tous les résultats en 1 temps (en 1-2h)**

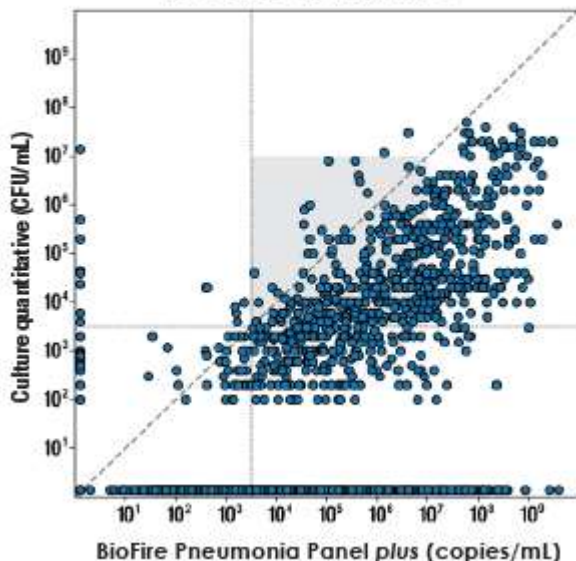
- **Coût élevé**

PCR multiplexe et approche syndromique



BioFire® FilmArray® Pneumonia Panel plus

BioFire Pneumonia Panel plus comparé à la culture quantitative



BACTÉRIES

(Résultats semi-quantitatifs)
Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complexe
Enterobacter cloacae complexe
Escherichia coli
Haemophilus influenzae
Klebsiella aerogenes
Klebsiella oxytoca
 Groupe *Klebsiella pneumoniae*
Moraxella catarrhalis
Proteus spp.
Pseudomonas aeruginosa
Serratia marcescens
Staphylococcus aureus
Streptococcus agalactiae
Streptococcus pneumoniae
Streptococcus pyogenes

BACTÉRIES ATYPIQUES

(Résultats qualitatifs)
Chlamydia pneumoniae
Legionella pneumophila
Mycoplasma pneumoniae

VIRUS

Adénovirus
 Coronavirus
 Métapneumovirus humain
 Entérovirus/rhinovirus humains
 Virus de la grippe A
 Virus de la grippe B
 Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS CoV)
 Virus parainfluenza
 Virus respiratoire syncytial

GÈNES DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Résistance à la mécilline
mecA/C et *MREJ*

Carbapénémases

IMP
 KPC
 NDM
 OXA-48-like
 VIM

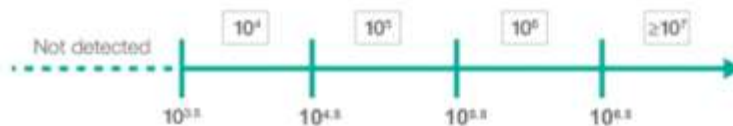
BLSE CTX-M



Résultats semi-quantitatifs pour 15 bactéries commensales

Les résultats semi-quantitatifs fournissent des renseignements sur l'abondance relative de 15 bactéries pouvant être des agents pathogènes ou faisant partie d'une flore normale. Résultats sont exprimés en bins, représentant le log le plus proche en copies de génome/mL.

Résultats en bins :



PCR multiplexe et approche syndromique



FilmArray® ME Panel (Méningite/Encéphalite)



Bacteria	Viruses
<ul style="list-style-type: none">▶ <i>Escherichia coli</i> K1▶ <i>Haemophilus influenzae</i>▶ <i>Listeria monocytogenes</i>▶ <i>Neisseria meningitidis</i>▶ <i>Streptococcus agalactiae</i>▶ <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none">▶ Cytomegalovirus (CMV)▶ Enterovirus▶ Herpes simplex virus 1 (HSV-1)▶ Herpes simplex virus 2 (HSV-2)▶ Human herpes virus 6 (HHV-6)▶ Human parechovirus▶ Varicella zoster virus (VZV)
Yeast	
<ul style="list-style-type: none">▶ <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

PCR multiplexe et approche syndromique



BIOFIRE[®] FILMARRAY[®]
GI Panel

**1h vs coproculture
en 5 à 7 jours...**



Bacteria	Diarrheagenic <i>E. coli</i> /Shigella
<ul style="list-style-type: none">▶ <i>Campylobacter</i> (<i>jejuni</i>, <i>coli</i> & <i>upsaliensis</i>)▶ <i>Clostridium difficile</i> (Toxin A/B)▶ <i>Plesiomonas shigelloides</i>▶ <i>Salmonella</i>▶ <i>Yersinia enterocolitica</i>▶ <i>Vibrio</i> (<i>parahaemolyticus</i>, <i>vulnificus</i>, & <i>cholerae</i>)▶ <i>Vibrio cholerae</i>	<ul style="list-style-type: none">▶ <i>E. coli</i> O157▶ Enteroaggregative <i>E. coli</i> (EAEC)▶ Enteropathogenic <i>E. coli</i> (EPEC)▶ Enterotoxigenic <i>E. coli</i> (ETEC) <i>lt/st</i>▶ Shiga-like toxin-producing <i>E. coli</i> (STEC) <i>stx1/stx2</i> <i>E. coli</i> O157▶ Shigella/Enteroinvasive <i>E. coli</i> (EIEC)
Viruses	Parasites
<ul style="list-style-type: none">▶ Adenovirus F 40/41▶ Astrovirus▶ Norovirus GI/GII▶ Rotavirus A▶ Sapovirus (I,II, IV, and V)	<ul style="list-style-type: none">▶ <i>Cryptosporidium</i>▶ <i>Cyclospora cayetanensis</i>▶ <i>Entamoeba histolytica</i>▶ <i>Giardia lamblia</i>

Conclusion

- **Dès le prélèvement, chaque étape compte!**
- **Passe par l'automatisation du labo de microbiologie**
- **Connaitre les capacités et les limites de son labo**
dialogue clinico-biologique indispensable
- **Place prépondérante des PCR syndromiques**

- **Toujours plus vite pour adapter la thérapeutique ?...**