

# Diagnostic d'une infection Toujours plus vite ?

Dr Anthony MICHAUD, Bactériologie CHU de Poitiers.

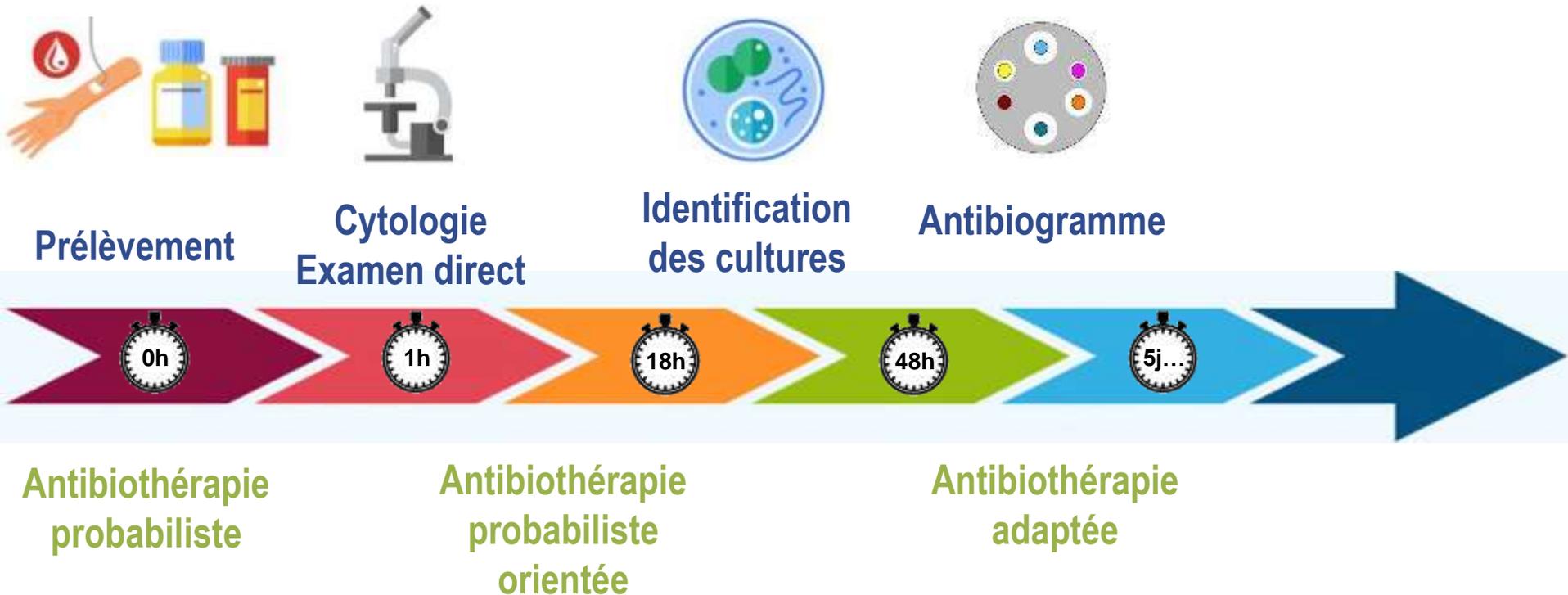
## Déclaration de liens d'intérêt avec les industries de santé en rapport avec le thème de la présentation (loi du 04/03/2002) :

**Intervenant :** Anthony MICHAUD

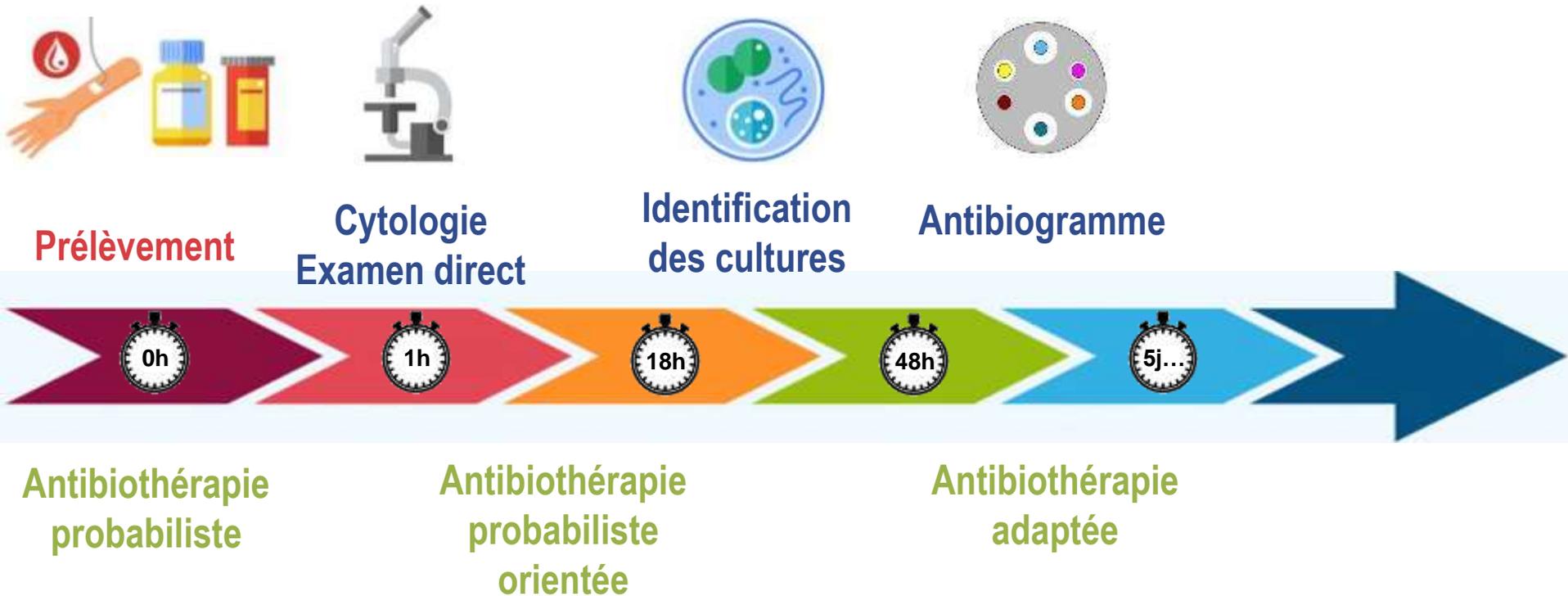
**Titre :** Diagnostic d'une infection. Toujours plus vite ?

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

# Diagnostic microbiologique



# Toujours plus vite

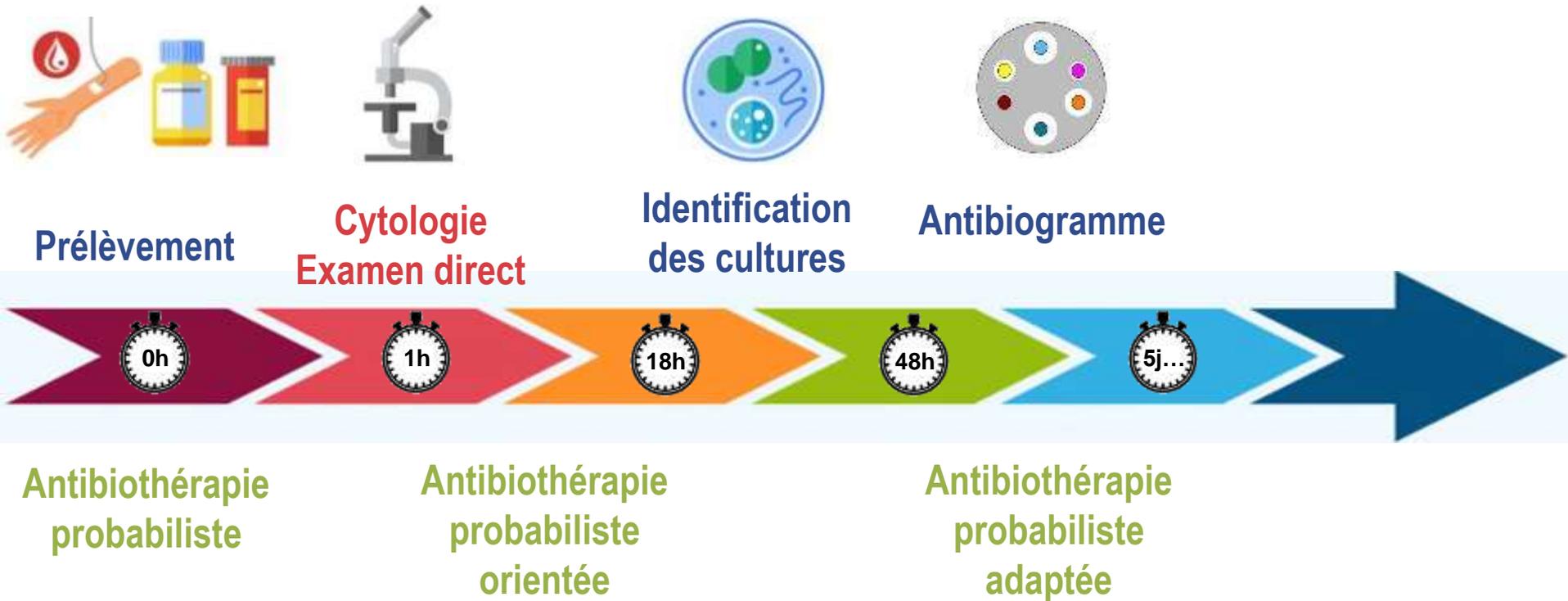


# Toujours plus vite : prélèvement

- **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



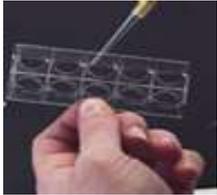
# Toujours plus vite : cytologie / examen direct / mise en culture

- **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

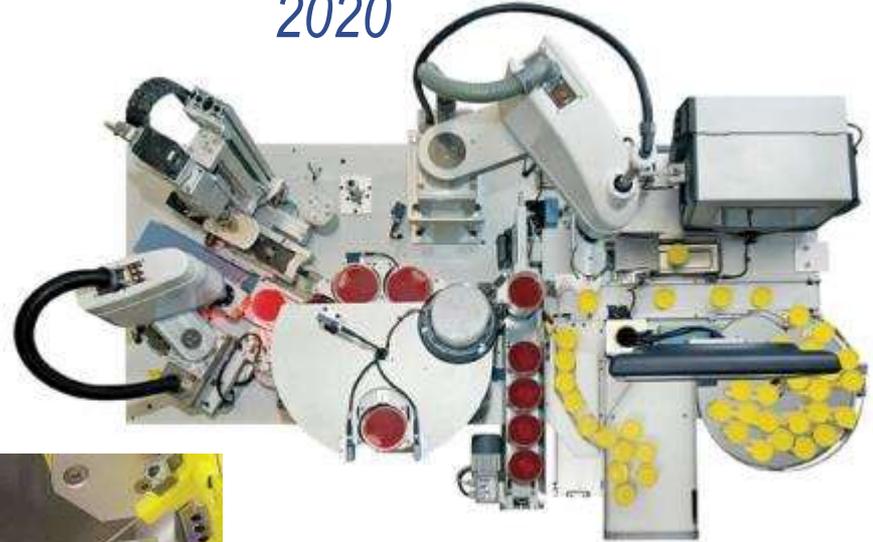
- Automatisation de la mise en culture:

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:**

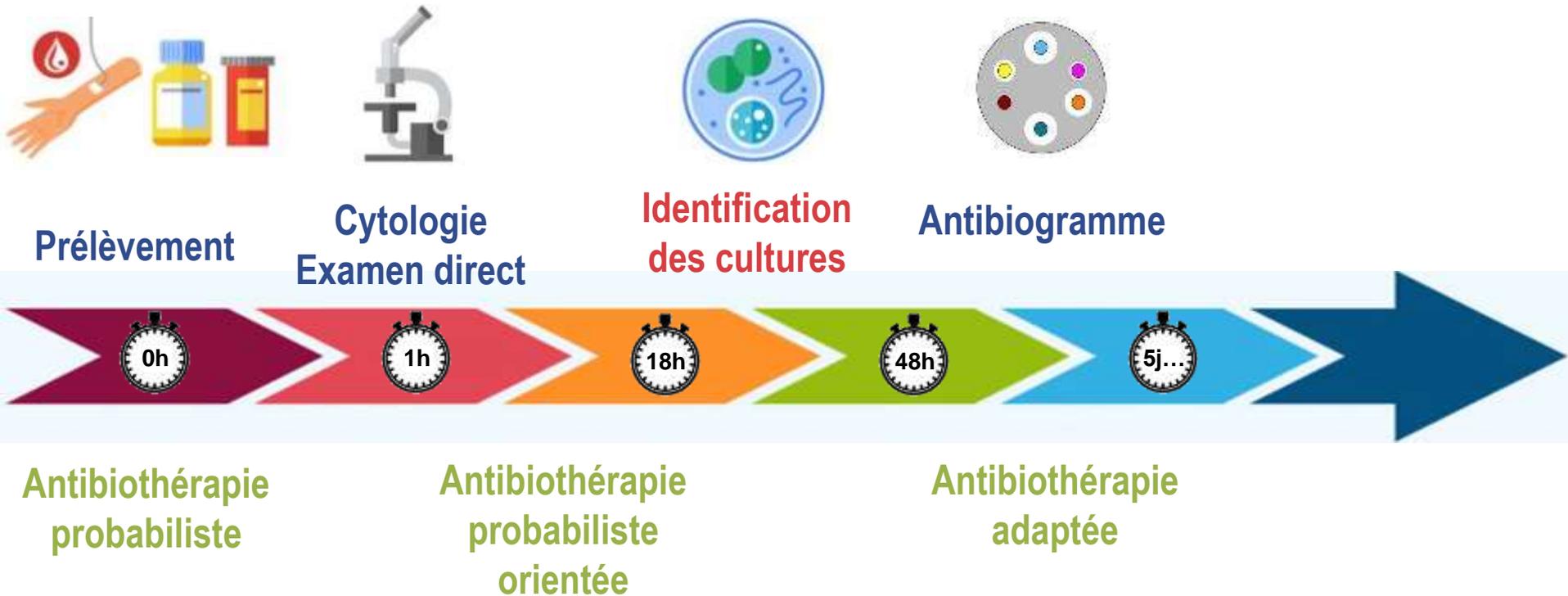
2000



2020



# Toujours plus vite



# Toujours plus vite : identification des cultures

- Quelle bactérie sur cette gélose ?



2000



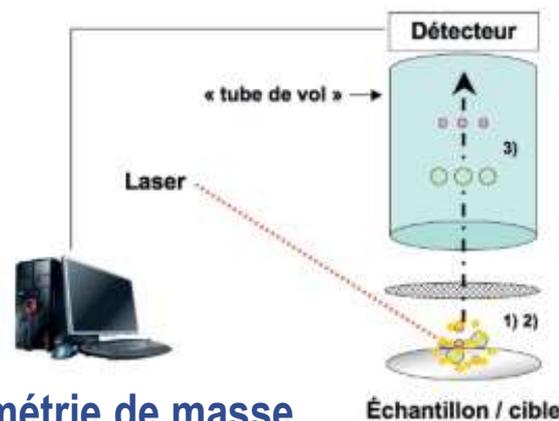
2020



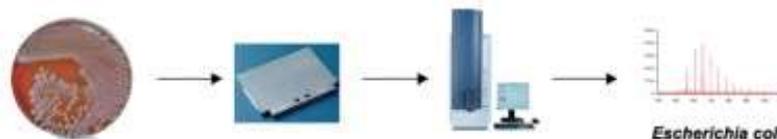
*Proteus mirabilis*

*Escherichia coli*

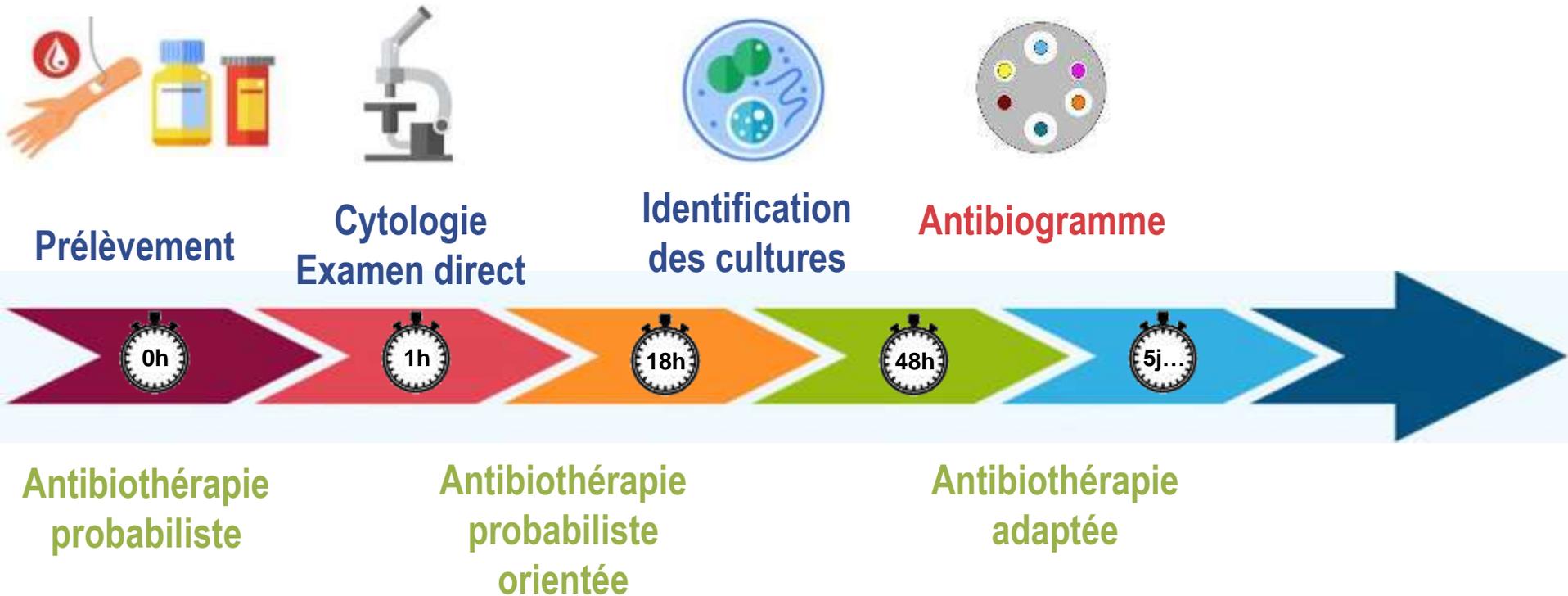
Test enzymatique



Spectrométrie de masse



# 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

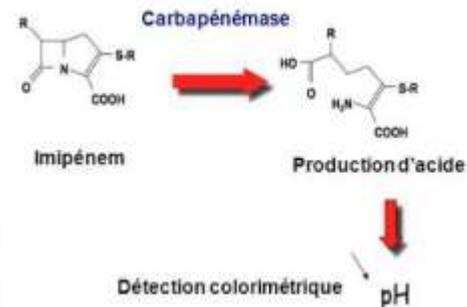
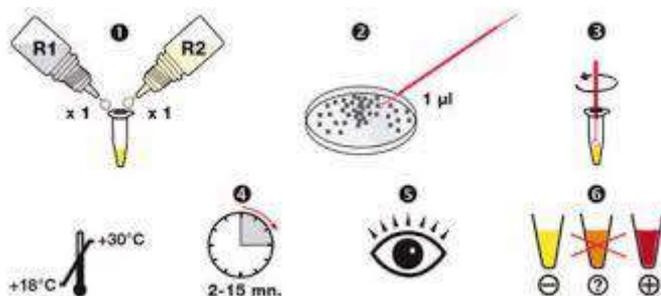


# Toujours plus vite : antibiogramme

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

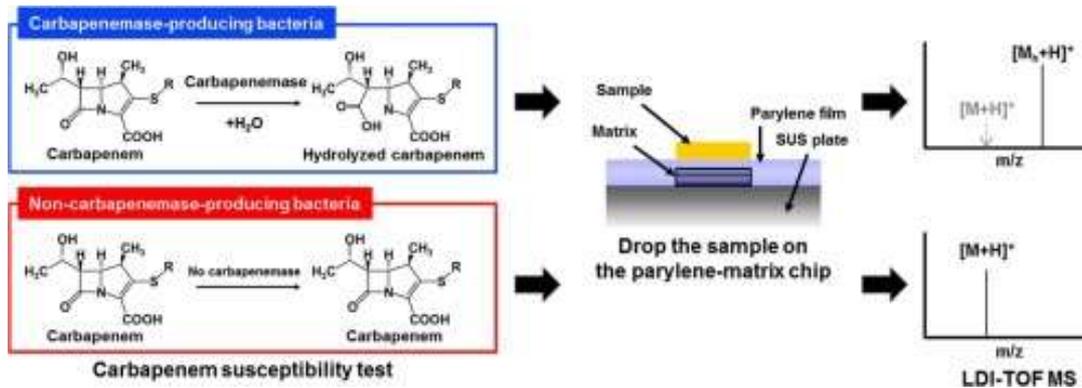
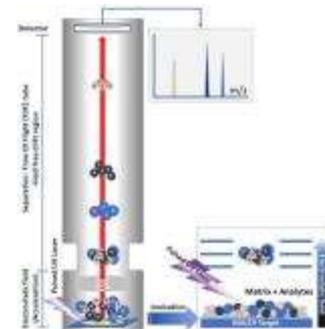


- Chromogénique

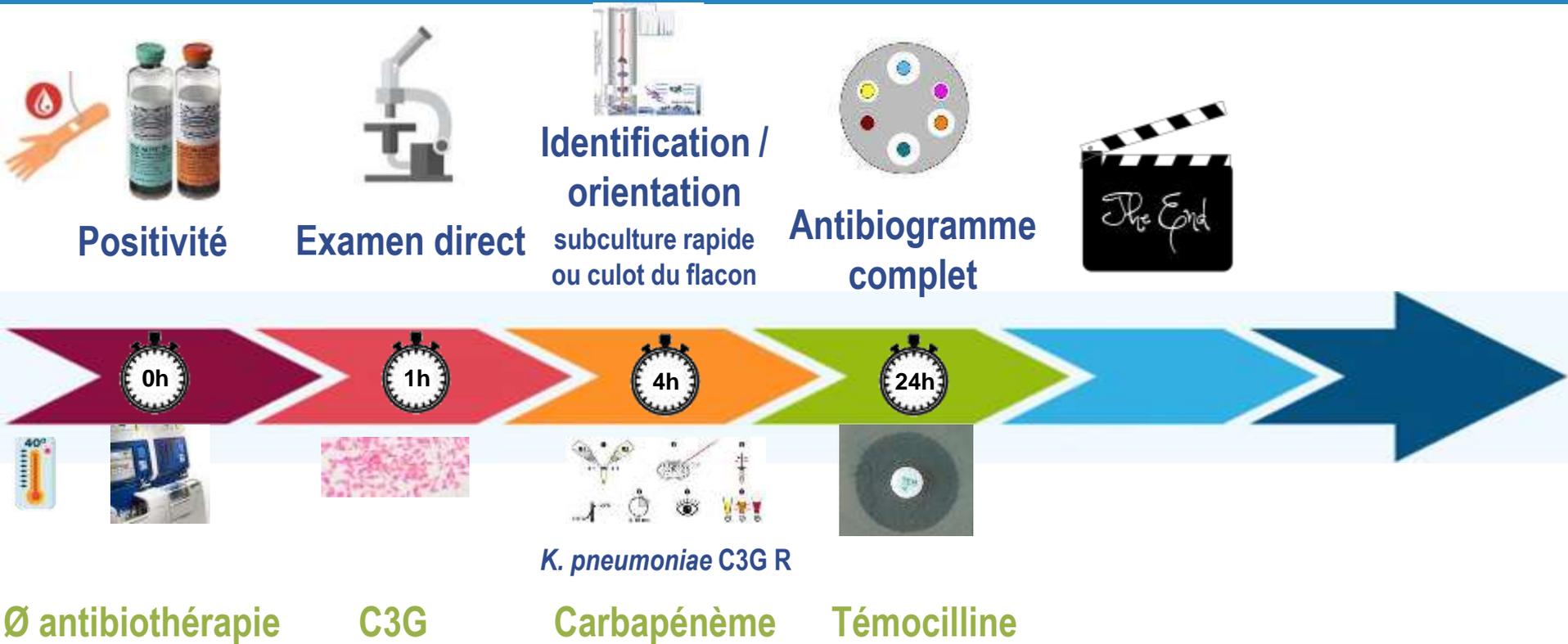


# Toujours plus vite : antibiogramme

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



# Exemple de l'hémoculture

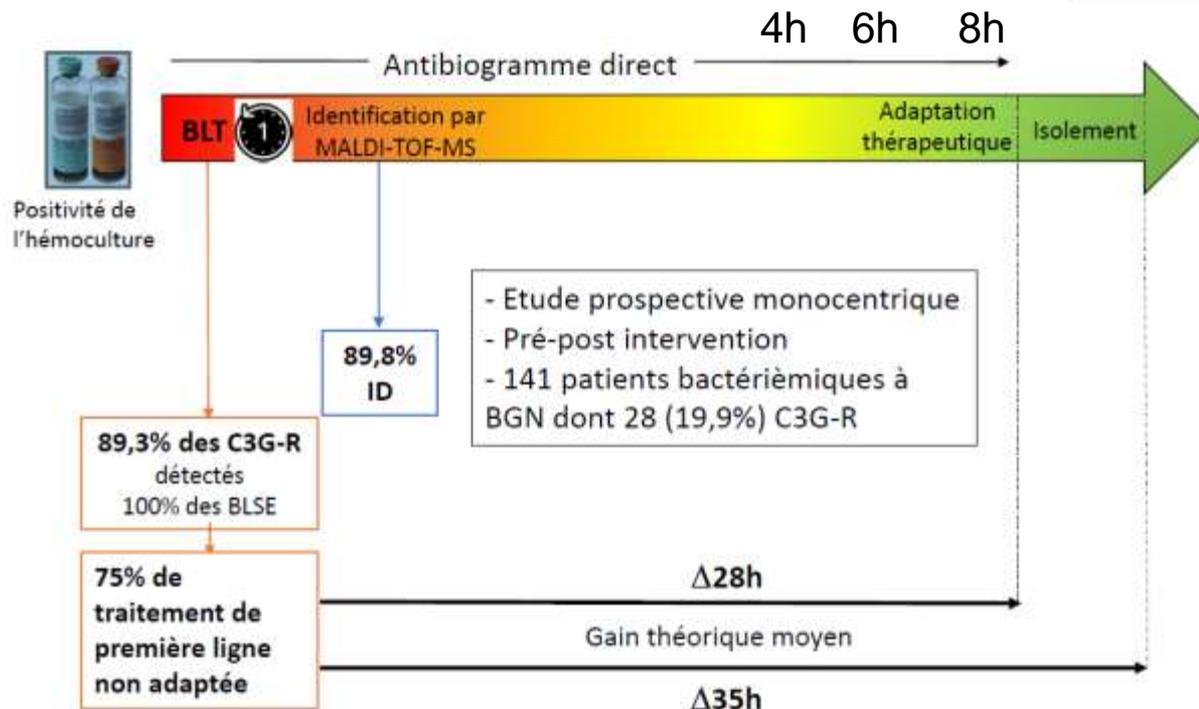


# Exemple de l'hémoculture

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

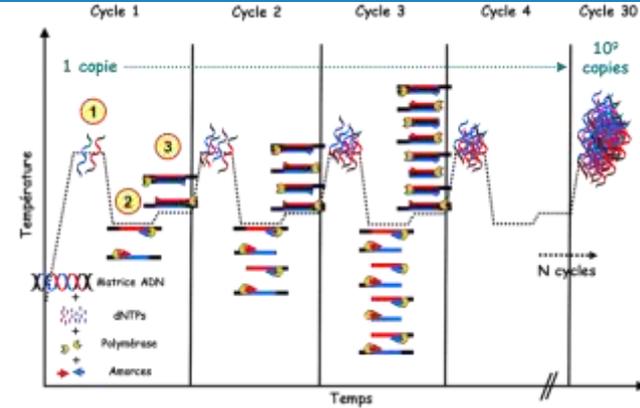
**Clinical impact of rapid bacterial identification by MALDI-TOF MS combined with the bêta-LACTA™ test on early antibiotic adaptation by an antimicrobial stewardship team in bloodstream infections.**

Mizrabi A<sup>1</sup>, Amzaleq J<sup>1</sup>, Couziou C<sup>2</sup>, Péan De Pontilly G<sup>1</sup>, Plimis B<sup>2</sup>, Le Monnier A<sup>1</sup>.



# « 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

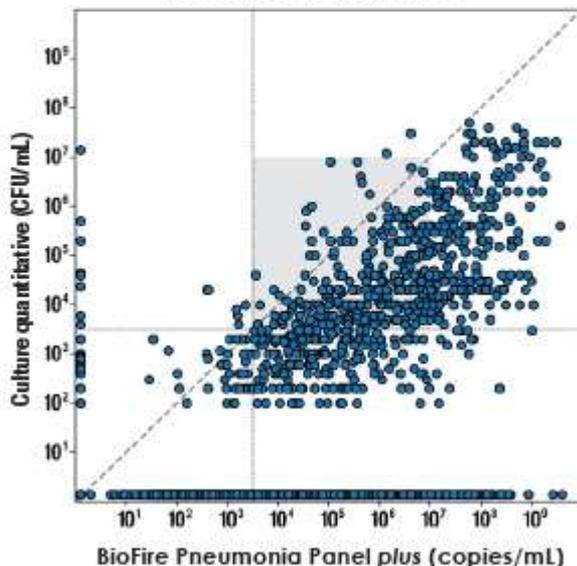
- **1 seule PCR pour virus, champignons et bactéries**  
(les plus pathogènes de l'organe concerné)
- **Facilité de prescription**
- **Tous les résultats en 1 temps (en 1-2h)**
  
- **Coût élevé**

# 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

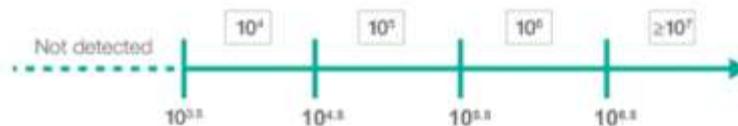
### BLSE CTX-M



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

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

# 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 ?...**

