

---

# Techniques émergentes en microbiologie clinique: conséquences sur l'organisation des laboratoires

---

Alain Bonnin, Frédéric Dalle, Coralie L'Ollivier

- Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Dijon
- Laboratoire Interactions Muqueuses-Agents Transmissibles (LIMA – EA 562) Université de Bourgogne.

---

## Panel de techniques innovantes:

- Diagnostic moléculaire: PCR temps réel, séquençage, puces
  - Sérologie multiplexe
  - Spectrométrie de masse
-

---

# Intérêts en microbiologie médicale

- Rapides
  - Discriminantes
  - Automatisables
  - Approches multiplexes
  - Identification d'agents non cultivables
  - Profils de résistance aux anti-infectieux
-

---

## Impact

- Sur la prise en charge des patients
  - Sur l'organisation des laboratoires
-

---

## Trois évolutions structurantes:

- Caractère multiplexe
  - Automatisation
  - Diversification des méthodes analytiques
-

---

## Trois évolutions structurantes:

- Caractère multiplexe
    - ❑ Approche par syndrome
    - ❑ Rapprochement des disciplines microbiologiques
-

---

## Trois évolutions structurantes:

- Caractère multiplexe
    - ❑ Approche par syndrome
    - ❑ Rapprochement des disciplines microbiologiques
  - Automatisation
    - ❑ Mutualisation des équipements
    - ❑ Intégration technologique
-

---

## Trois évolutions structurantes:

- Caractère multiplexe
    - Approche par syndrome
    - Rapprochement des disciplines microbiologiques
  - Automatisation
    - Mutualisation des équipements
    - Intégration technique
  - Diversification des méthodes analytiques
    - Partenariat clinico-biologique renforcé
-

---

## Nécessité d'une réflexion pluridisciplinaire rapide

- Organisation des plateaux techniques de microbiologie
  - Formation des microbiologistes médicaux
  - Nouveaux métiers: ingénieurs
  - Relations entre recherche et activité de soin en microbiologie médicale
-



Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

Pole Maladies Infectieuses et Tropicales Cliniques et Biologiques

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales secteur Nord

# Conséquences sur les stratégies de prise en charge des patients et sur la structuration des plateaux techniques

Pr Philippe BROUQUI

JNI - Dijon - 13 Juin 2007



Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

# Les applications d'aujourd'hui

# PCR Universelle

- Amélioration de la performance diagnostique
  - Exemple du KIT OS
    - Objectifs avantages
      - Détection d'agents infectieux à croissance lente ou difficile (anaérobies, mycobactéries, abiotrophia..)
      - Détection des agents sous antibiotiques
      - Détection des flores complexes
    - Inconvénient
      - Pas d'antibiogramme



Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

# PCR temps réel

- Raccourcissement de la durée d'hospitalisation dans la prise en charge des méningites
  - Protocole AP-HM méningites liquide clair
    - Amoxicilline 2x6 g / J 7 Jours
      - STOP SI PCR ENTEROVIRUS +
    - 2004 DMS méningites 7.6 J
    - 2006 DMS 4.2 J

# PCR TR Sonde

- Identification des mycobactéries
  - Patient HIV , 6 CD4, fièvre, adénopathies rétropéritonéales.
    - Ponction biopsie per-coelioscopie
    - PCR TR
      - Mycobactéries
    - Sonde
      - Groupe tuberculosis
  - Prise en charge thérapeutique à 48 heures

# PCR TR Sonde

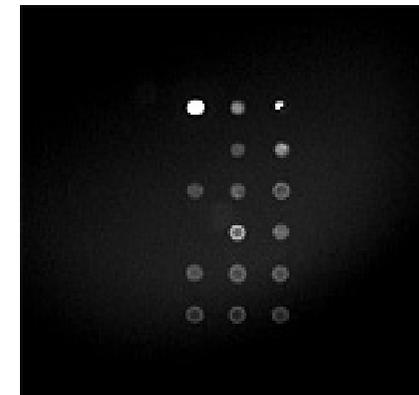
- Détection et Identification des méningocoques en 3 heures
  - application à la vaccination
    - Aide à la décision rapide
  - Pas besoin de culture du LCR
    - Modification des pratiques
    - Antibiothérapie en urgence avant la PL



Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

# Sérologie multiplexé

- Un seul test pour les pneumopathies
  - Diagnostic étiologique des pneumopathies
    - # 50% des cas
  - Mauvaise valeur prédictive de la clinique et de la biologie
    - être exhaustif
    - Un test pour Mycoplasma, Legionella, Coxiella, chlamydophila spp
- Prix d'un seul examen
- Quantité de sérum < 100µl



# Sérologie multiplexé

- Couverture vaccinale
  - Conseil au voyageur
  - Couverture vaccinale avant le départ pour la Mecque
    - 100µl de sang sérologie , hep A et B, typhoïde, diphtérie, tétanos , polio, coqueluche, rougeole, rubéole, oreillon
    - Un test , 1 heure, revaccination en conséquence





Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

# Dans un futur proche

# Susceptibilité aux anti- infectieux

**Extensively  
Drug-resistant  
Tuberculosis, Italy  
and Germany**

- PCR TR Sonde
  - Détecter, identifier et genotyper la résistance des mycobactéries +++ ( XDR Mortalité 30% RR mortalité > 15 MDR )
    - Mieux isoler ( plus vite et plus efficace)
    - Mieux choisir son traitement

# Diagnostic étiologique

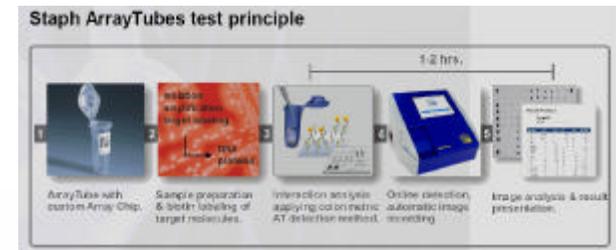
- PCR Multiplex :
  - Pneumoplex ®
  - Chlamylege ®
    - *L. pneumophila*, *L. micdadei*, *Chlamydophila pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Bordetella pertussis*



# Outils universel

- DNA Microarray

- Complément de l'ATB pour les prélèvements culture négative ( Ex Kit OS)



## List of genes detected on Staph ArrayTubes:

### S. aureus species marker :

Gene	Notes
catA	catalase
coA	coagulase
femA	Species marker

### Antibiotic resistance marker

Gene	Notes
blaZ	penicillin G resistance/beta-lactamase
mecA	Methicillin resistance
aacA-aphD	Aminoglycoside resistance
aadD	Aminoglycoside resistance
aphA3	Aminoglycoside resistance
dfrA	Trimethoprim resistance
tetM	Tetracycline resistance
tetK	Tetracycline resistance
vata, B	Streptogramin resistance
vga, vgaA, vgb	Streptogramin resistance
ermA, C	Erythromycin/clindamycin resistance

Gene	Notes
msrA	Erythromycin resistance
linA	Clindamycin resistance
far1	Fusidic acid resistance
sat	Streptothricin resistance
vanA, B, Z	Vancomycin, teicoplanin resistance
norA	Membrane associated protein

### Antiseptic resistance marker

Gene	Notes
mupR	Mupirocin resistance
qacA	Efflux mediated antiseptic resistance

### Toxicity marker

Gene	Notes
etA, B	Exfoliate
lukS,F, F-PV, S-PV	Panton valentine leukocidine
entA,B,C,Q,K	Enterotoxin
tst-1	Toxic shock syndrome

# Étude des flores complexe

- **Pyrosequencage 454**
  - Possibilité d'identifier des agents infectieux nouveau dans les flores complexes (selles , expectoration...)
    - Difficulté d'interprétation ++
  - Possibilité de détecté les polymorphismes et application a l' épidémiologie moléculaire





Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

# Les modification des plateaux techniques

- Restructuration et rassemblement
  - Disparition de la paillasse traditionnelle, performance technique autre métier.
  - Objectifs : meilleur rendement
  - Moyens : réunir les plateaux techniques, réseaux...
- Les POC
  - Objectifs : rendre un diagnostic rapide au lit du patient
  - Moyens
    - « Doctor » test (streptotest)
    - Sérologie multiplexe
    - PCR de poche



# Modification des comportements

- **Diagnostic nosologique ++**
  - Test exhaustif par cadre nosologique
  - Homogénéisation et reproductibilité
  - En concordance avec la prise en charge thérapeutique
  - Ne laissant rien au hasard
  - Adapté pour toute les pratiques
- **Il nous restera quand même à examiner les malades !!!!!!!**



Assistance Publique  
Hôpitaux de Marseille

**Merci pour votre attention**