



La coproculture moléculaire: apports, limites...et futur proche?

10 mars 2023

Pr Stéphane Bonacorsi
Service de Microbiologie
CHU Robert-Debré - Paris

Conflit d'intérêt: néant

CNR associé *Escherichia coli*
Hôpital universitaire Robert-Debré



Ce que nous n'aborderons pas ici...

- Comparaison des sensibilités analytiques des tests disponibles
- La Diarrhée à *C. difficile*



Définitions des diarrhées : rappel

- Diarrhées aiguës (indication recherche de bact. pathogènes +++)
 - Selles > 2/jours ou consistance anormale
 - Jusqu'à 7 jours , max 14 jours
- Diarrhées prolongées (indication+)
 - 14 à 30 jours
- Diarrhées chroniques (indication -)
 - >30 jours



Toutes les coprocultures ne sont pas bonnes à prendre....

- Critères anamnestiques, de terrain et cliniques....vont permettre
 - de justifier le prescription
 - d'orienter les recherches
 - d'adapter la prise en charge thérapeutique
- Les critères majeurs voire indispensables
 - Anamnèse: durée des symptômes, notion de voyage, TIAC, traitement antibiotique...
 - Terrain: âge, immunodépression
 - Clinique: tolérance, aspect des selles (GS à aqueuse)



Les bactéries entéropathogènes ne se valent pas toutes!

- Notions de bénéfiques ou non individuel ou collectif
 - La mise en évidence du/des pathogènes recherchés doit apporter un bénéfice individuel ou collectif induisant une conduite spécifique adaptée à visée curative ou préventive.
 - A ce titre toutes les bactéries entéropathogènes ne sont pas à mettre dans le « même sac »



Approches moléculaires: les bénéfices...

- **Bénéfices pour le patient/collectifs**
 - Rapidité du diagnostic:
 - En théorie quelques heures voire ~1 heure pour les systèmes totalement automatisés, un atout considérable pour la mise en œuvre d'une antibiothérapie.
 - Recherche de pathogènes difficilement identifiables en méthodes conventionnelles
- **Bénéfices pour le laboratoire**
 - Limitation des cultures à réaliser, temps techniciens gagnés
 - 10% des coprocultures conventionnelles isolent un pathogène!
- **Coût pour le laboratoire : plusieurs dizaines d'euros vs qq euros/coproculture**

Approches moléculaires: les bénéfices...en vie réelle

Arch Dis Child 2022;107:601-605.

Original research

Clinical impact of a gastrointestinal PCR panel in children with infectious diarrhoea

Jeanne Truong^{1,2}, Aurélie Cointe^{3,4}, Enora Le Roux^{5,6}, Philippe Bidet^{3,4},
Morgane Michel^{6,7}, Julien Boize⁸, Patricia Mariani-Kurkdjian³, Marion Caseris¹,
Claire Amaris Hobson^{2,4}, Marie Desmarest⁸, Luigi Titomanlio^{2,8,9}, Albert Faye^{1,2,6},
Stéphane Bonacorsi^{3,4}

→172 enfants inclus au SAU: 23% de modification de PEC

- Bénéfices pour le(s) patient(s): antibiothérapie plus ciblée, diminution des investigations complémentaires, diminution des isolements
- Bénéfices pour les laboratoires: Tps tech., géloses économisés (2800/an), encombrement dans les enceintes...
- Bénéfices pour la communauté: - 300 dollars/ patients!



Approches moléculaires: les bénéfices et les écueils....

- Shigelles et *E. coli* entéroinvasifs (EIEC)
 - Diagnostic moléculaire repose sur l'amplification du gène *ipaH* spécifique du plasmide d'invasivité (pINV) des Shigelles et des EIEC non distinguables par cette approche
 - Une diarrhée à Shigelle selon les recommandations des sociétés savantes conduit:
 - systématiquement à une antibiothérapie
 - à l'éviction scolaire et au contrôle de son éradication
 - Une diarrhée à EIEC... est sans recommandation !



Approches moléculaires: les bénéfices et les écueils....

- EIEC est un *E. coli* ayant acquis le plasmide de virulence en « cours de transformation » vers un Shigelle (mutations pathoadaptatives). Selon son stade d'évolution sa virulence peut-être modeste à majeure, proche des Shigelles!
 - Exp: TIAC en Italie
- EIEC ne peut être facilement mis en évidence par culture, en l'absence de Shigelle à la culture , il est donc difficile de trancher entre EIEC ou Shigelle non détectée.
- Cette ambivalence du diagnostic laisse perplexe les cliniciens. Selon l'intensité du tableau clinique l'ATBiothérapie immédiate ou différée jusqu'à la culture sera prise

Approches moléculaires: les bénéfices et les écueils....

Epidemiol. Infect. (2014), **142**, 2559–2566. © Cambridge University Press 2014
doi:10.1017/S0950268814000181

A severe foodborne outbreak of diarrhoea linked to a canteen in Italy caused by enteroinvasive *Escherichia coli*, an uncommon agent

M. ESCHER^{1*}, G. SCAVIA¹, S. MORABITO¹, R. TOZZOLI¹, A. MAUGLIANI¹,

- → 109 pompiers infectés
- → 1/3 Hospitalisés !
- → *E. coli* O96:H9 IpaH+ dans les selles des pompiers ...et du cuisinier asymptomatique!
 - lactose +, mobilité +, LDC+ (indole-) !
 - Clone retrouvé ensuite en Espagne et en Angleterre



Approches moléculaires: les écueils...

- Salmonelles:
- A ce jour les tests moléculaires ne distinguent pas Salmonelles majeures et mineures or:
 - Les GE à Salmonelles mineures ne doivent pas être traitées, sauf terrains particuliers (nés de moins de 3 ou 6 mois, immunodéprimés, drépanocytaires...).
 - Les Salmonelles majeures doivent être traitées systématiquement, avec évictions scolaire et contrôle de l'éradication
- La très grande majorité de ces GE étant liée à des S. mineures la distinction moléculaire dispenserait d'un isolement (en développement)
- Toutefois ce progrès limiterait la surveillance épidémiologique des GE à Salmonelles mineures et la détection de clusters.



Approches moléculaires: les écueils...

- *Campylobacter* spp:
- Le traitement des GE à *Campylobacter* est recommandé dans les formes sévères raccourcissant la durée de la GE et diminuant une éventuelle transmission inter-humaine
- Les GE à *Campylobacter* se résolvent toutefois fréquemment spontanément dans la majorité des cas en qq jours souvent avant la positivité de la culture.
- Intérêt de la rapidité des tests moléculaires
- Toutes les espèces ne sont pas détectées en dehors *C. coli* et *C. jejuni*



Approches moléculaires: les écueils...

- *Yersinia enterocolitica* et *pseudotuberculosis*
- Les GE à *Yersinia* ne conduisent qu'exceptionnellement à une antibiothérapie (nouveau-né, immunodéprimés...)
- Si tous les sérotypes de *Y. pseudotuberculosis* sont pathogènes, les 6 biotypes de *Y. enterocolitica* n'ont pas la même pathogénicité:
 - Biotypes 2-5 faible, Biotype 1B élevée, Biotype 1A non pathogène (discuté).
- *Y. pseudotuberculosis* est difficilement isolable donc difficile de confirmer la PCR.
- Les biotypes de *Y. enterocolitica* ne sont pas distingués par la PCR et non distinguables en routine(>CNR)



Approches moléculaires: les écueils...

- *Escherichia coli* entérohémorragique (EHEC)... quelques définitions
- *E. coli* producteurs de Shiga-toxine Stx1 ou Stx2 (un phage tempéré) → STEC
- STEC responsable d'une GE chez l'Homme → EHEC
- Les EHEC ont souvent un îlot de pathogénicité des EPEC (dont le gène caractéristique *eae* qui code une intimine) → EHEC typique
- → Ces *E. coli* sont difficilement reconnaissables par culture conventionnelle
- → Il existe un degré de pathogénicité différents selon « l'équipement » de l'EHEC



Approches moléculaires: les écueils...

- Les EHEC... la clinique et le risque en quelques mots
- Diarrhée simple, souvent sanglante pouvant se compliquer dans 10% des cas d'un SHU : anémie/schizocytes + thrombopénie + insuffisance rénale avec 1 à 3% de mortalité
- Risque de SHU dépend :
 - Du patient: enfants de moins de 5 ans, les sujets âgés, les immunodéprimés en particulier les transplantés rénaux
 - Du type de souches: EHEC typique stx2+ >>>> EHEC atypique stx1
 - Du traitement instauré: fluoroquinolones(+++), cotrimoxazole(++), beta-lactamines (+), azithromycine (-)



Approches moléculaires: les écueils...

- Les EHEC...bénéfiques et écueils du test moléculaire
 - ✓ En cas de SHU
 - il permet d'affirmer l'étiologie d'un SHU (diag. étiologique des MAT)
 - il conduit à l'isolement de la souche (CNR) pour son typage et la recherche de cluster
 - ✓ En cas de diarrhée sanglante
 - il contre indique l'antibiothérapie (sf exception)
 - il permet d'informer le patient/famille et de surveiller l'évolution
 - Il permet la surveillance épidémiologique
- ✓ La détection de *stx* n'implique pas forcément la présence de STEC (phage libre)
- ✓ Le diagnostic est compliqué par la multiplication de sous type de *stx* (*stx2f* souvent non détecté)
- ✓ La plupart des tests commerciaux ne différencie pas *Stx1* et *Stx2* et si *eae* est disponible dans le test celui-ci est invalidé et non rendu

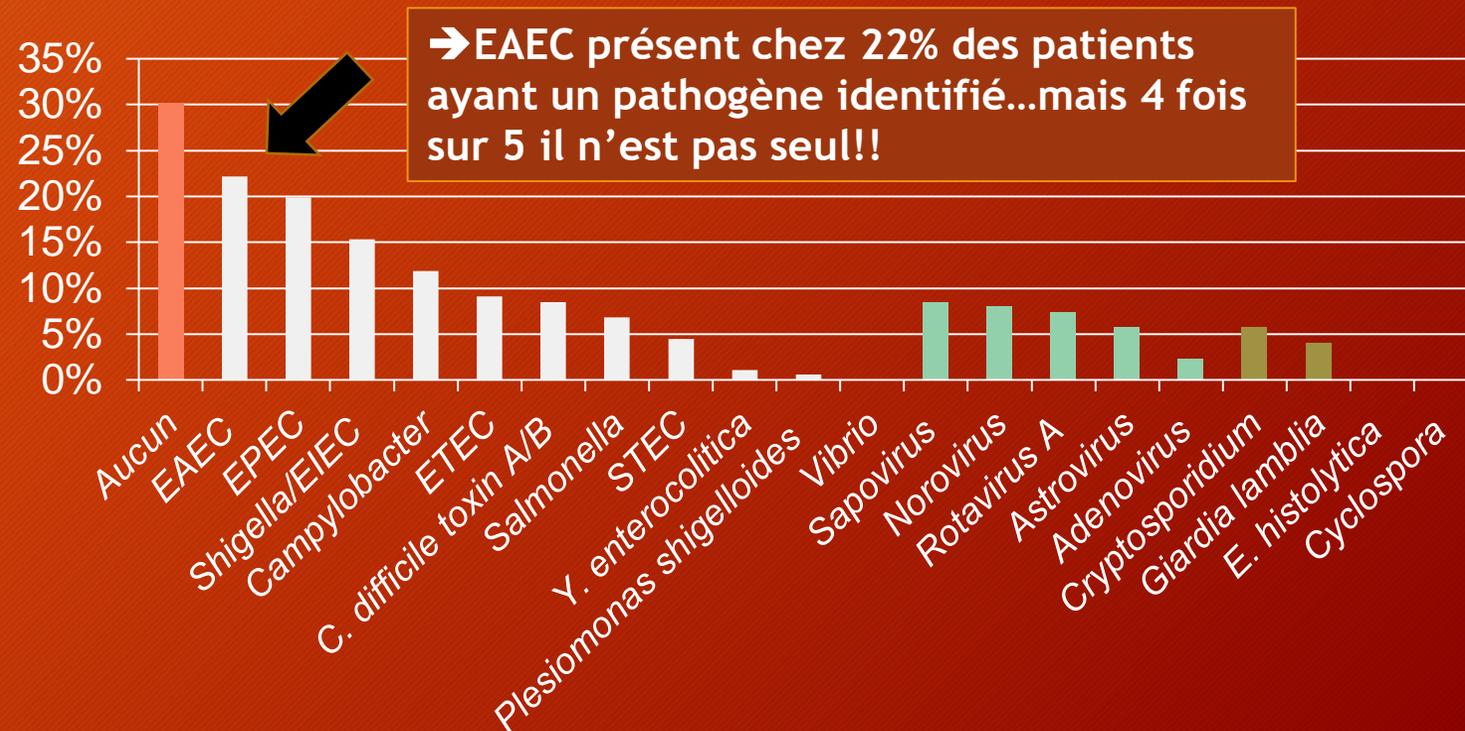
Approches moléculaires: les écueils...

- EPEC, ETEC, EAggEC... Intérêt limité en première approche
 - EPEC (*eae*): diarrhée prolongée chez certains patients, micro-épidémie en crèche. Pas de traitement classiquement
 - EAggEC: Idem
 - ETEC: contexte du voyageur, peut conduire dans les formes sévères à une antibiothérapie

Approches moléculaires: les écueils...

- EPEC, ETEC, EA_ggEC... Intérêt limité en première approche
- EPEC (*eae*): diarrhée prolongée chez certains patients, micro-épidémie en crèche. Pas de traitement classiquement
- EA_ggEC: Idem
- ETEC: contexte du voyageur, peut conduire dans les formes sévères à une antibiothérapie

176 enfants avec diarrhée au SAU de R Debré entre mai et octobre 2018



Approches moléculaires: les écueils...

- Les plus rares: Vibrio cholérique et non cholérique, Plesiomonas...
- ✓ Contexte particuliers: voyages , TIAC,...

Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le concept de la machine à café ?

- Age?

- Voyage?

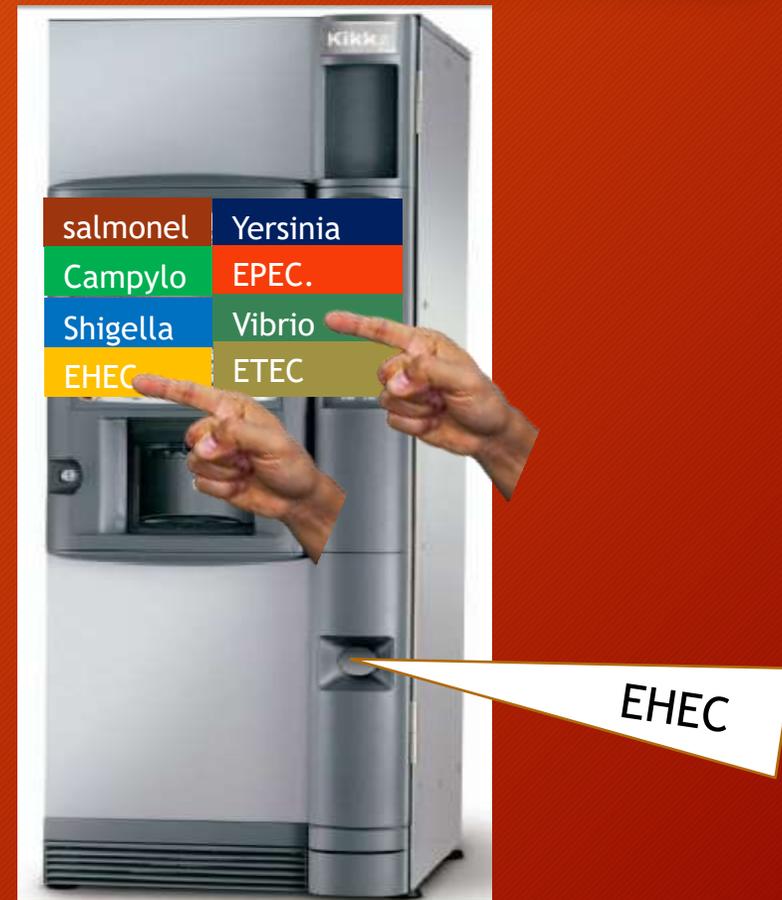
- TIAC?

- Immunodéprimé?

- Diarrhée sanglante?

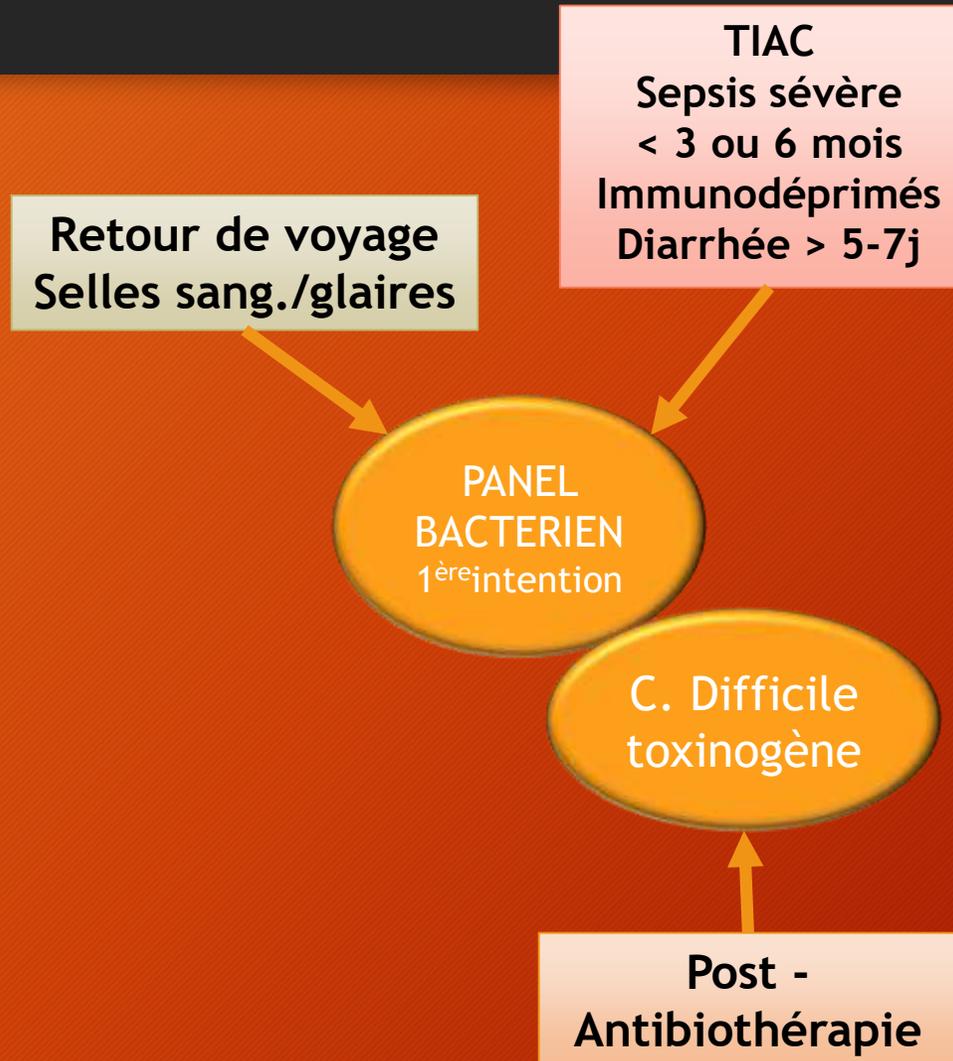
- Syndrome invasif?

- Diarrhée prolongée?



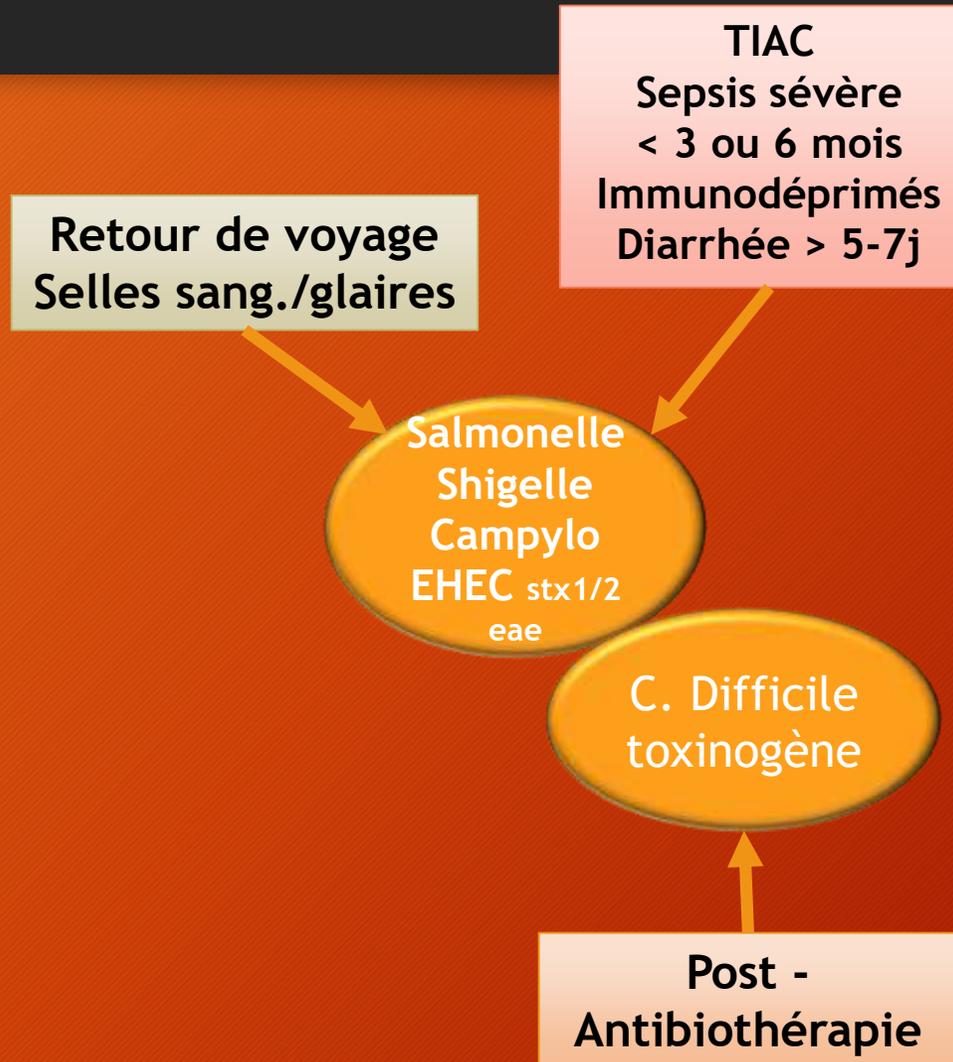
Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le compromis 1



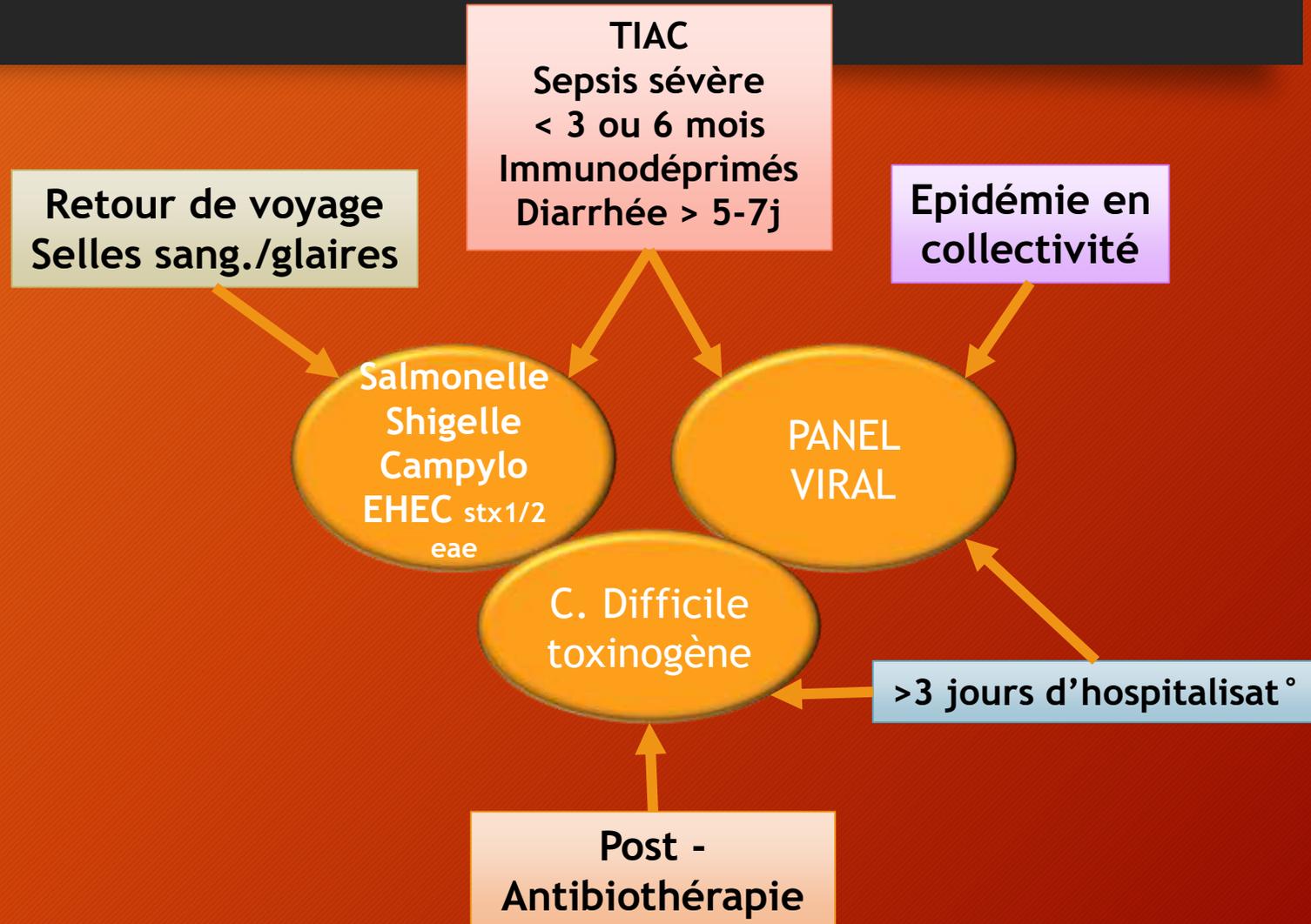
Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le compromis 1



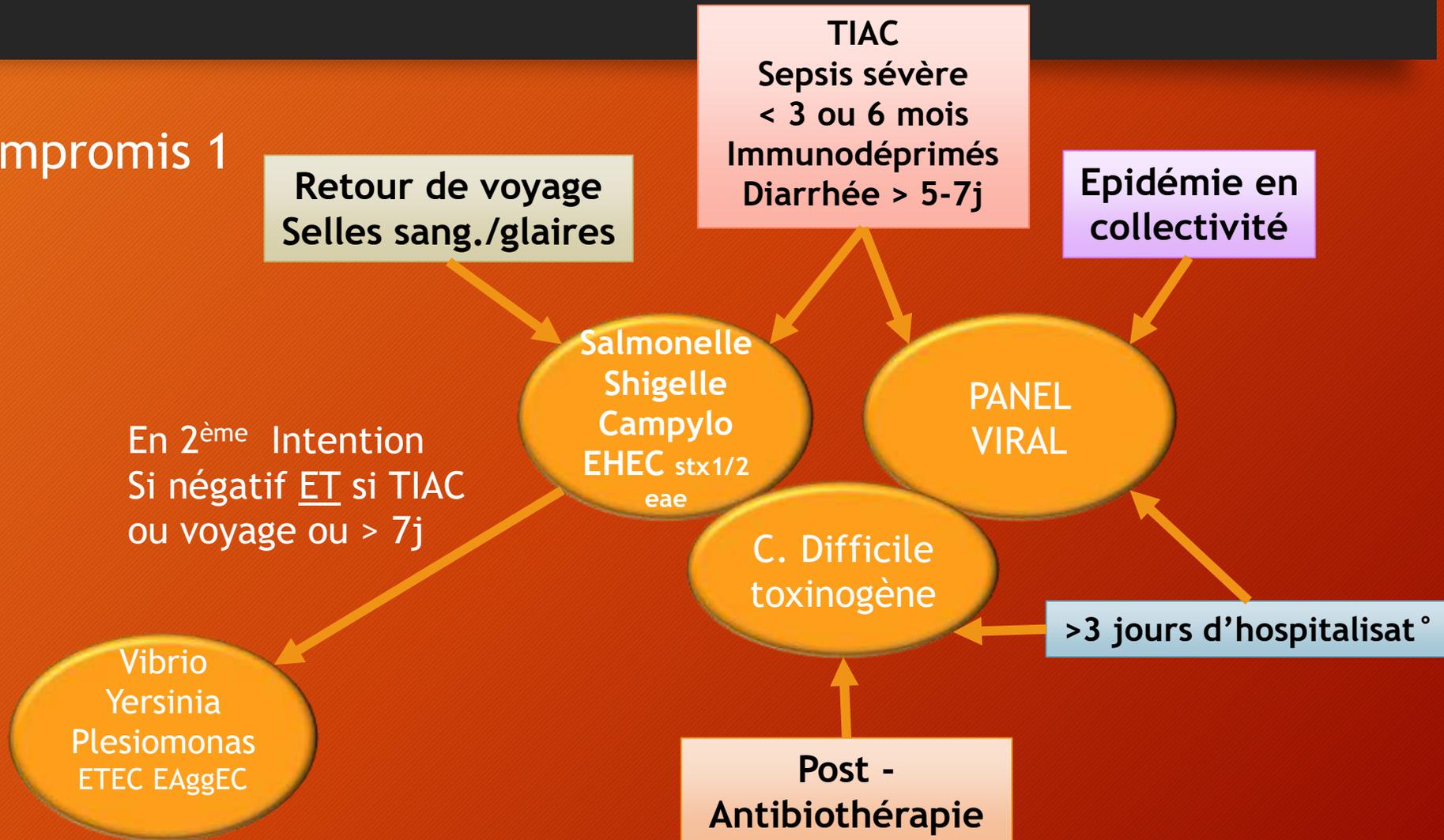
Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le compromis 1



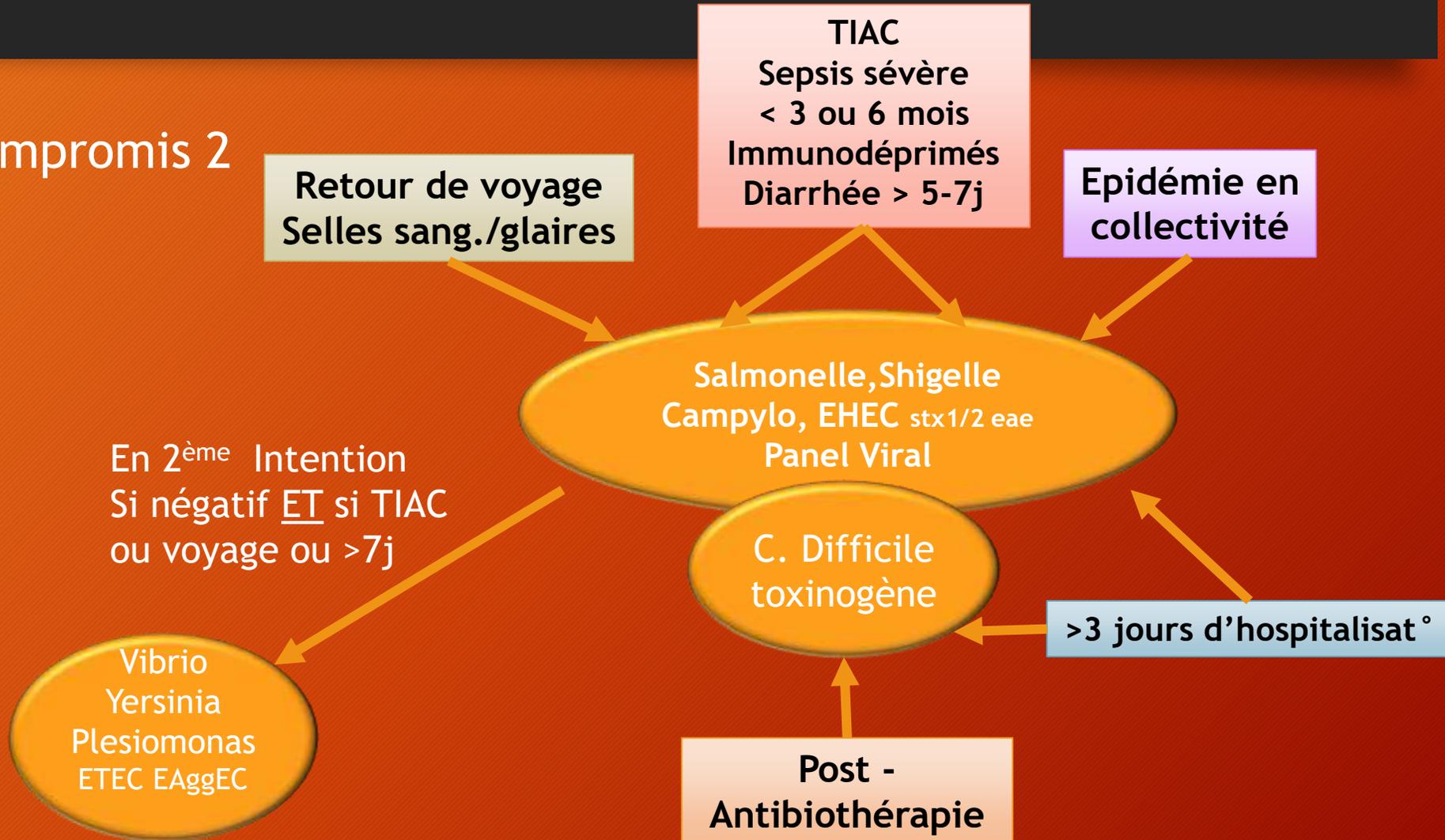
Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le compromis 1



Approches moléculaires: Quelle(s) stratégie(s)?

- Le compromis 2





Approches moléculaires: la copro n'est pas morte!

- Identification précise pour PEC adaptée: Salmonelles, Yersinia..
-
- Antibiogramme lorsque l'antibiothérapie est indiquée
- «l'œil a raison, la culture a tort» ou «la PCR a tort, le clinicien a raison»
- Investigation de cas groupés avec le typage des souches

→ Il faut garder la culture de la culture....!



MERCI