



La Société de Pathologie
Infectieuse de Langue Française



La Société Tunisienne
de Pathologie Infectieuse



Apport de la PCR multiplex dans l'identification des principaux agents responsables des diarrhées infectieuses

Boutheina Ben Della, Amina Ghaddab, Rahma Trad, Sameh Belgacem, Amel Nabli, Fethia Skhiri,
Samira Miled, Maha Mastouri
Laboratoire de Microbiologie à l'hôpital Fattouma Bourguiba de
Monastir

présenté par :

Boutheina Ben Della

Résidente en 4^{ème} année Microbiologie



Introduction



- L'infection gastro-intestinale est l'une des principales causes de morbi-mortalité à travers le monde, notamment chez l'immunodéprimé et les enfants.
- La 3^{ème} cause de mortalité chez les enfants de moins de cinq ans dans le monde (*OMS 2024).
- Causes: une variété de pathogènes **bactériens, viraux** et **parasitaires**.
- Transmission: mauvaises conditions d'hygiène et la consommation d'aliments ou d'eau contaminés.
- L'objectif de cette étude était de déterminer par PCR multiplex les agents infectieux responsables des infections gastro-intestinales ainsi que leurs profils cliniques.

Matériels et méthodes



Étude prospective (01 Février 2023 au 30 Mai 2023) au laboratoire de Microbiologie à l'hôpital Fattouma Bourguiba à Monastir



Méthodes conventionnelles:



Biologie moléculaire:

examen microbiologique des selles

- Examen macroscopique
- Examen microscopique: Gram
- Coproculture standard

Échantillons de selles
suspicion d'infection
gastro-intestinale

PCR multiplexe en temps réel

1) Extraction de l'ADN:

Kit Qiamp DNA stool (QIAGEN®)

2) Amplification de l'ADN :

Kit de diagnostic **GastroFinder 2SMART®**

examen parasitologique des selles

- État frais
- Méthode de concentration: Ritchie
modifiée

Recueil des données cliniques des patients
(fiche de renseignement)

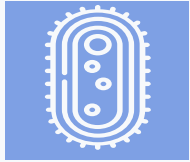
Matériels et méthodes



PCR multiplexe en temps réel

Kit de diagnostic **GastroFinder 2SMART®** (Détection de **18 agents pathogènes**)

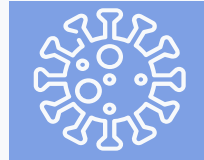
09



Bactéries

- *Campylobacter spp.*
- *Salmonelles spp.*
- *Yersinia enterocolitica*
- Toxine A de *Clostridium difficile*
- Toxine B de *Clostridium difficile*
- *E. coli* producteur de shigatoxines (STEC)
- *E. coli* entéropathogène (EPEC)
- *E. coli* entérotoxinogène (ETEC)
- *Shigella/ E. coli* entéroinvasive (EIEC)

05



Virus

- *Rotavirus (A)*
- *Norovirus (GI/GII/GIV)*
- *Adénovirus (40/41)*
- *Astrovirus*
- *Sapovirus (GI/GII/GIV/GV)*

04



Parasites

- *Entamoeba histolytica*
- *Giardia lamblia*
- *Cryptosporidium spp.*
- *Dientamoeba fragilis*

Matériels et méthodes

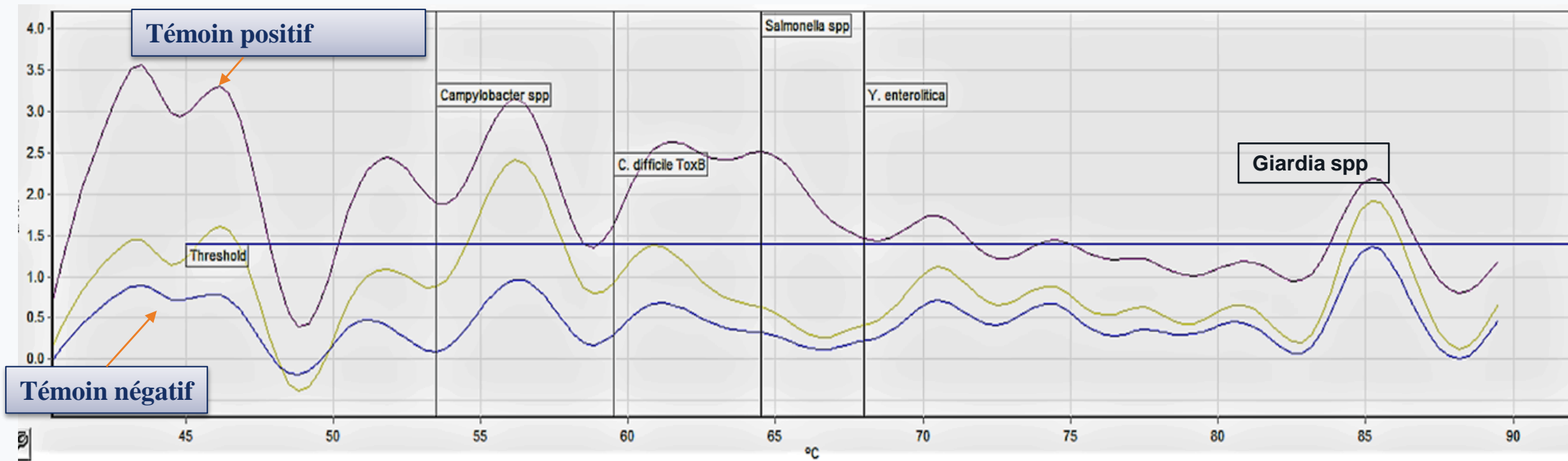


PCR multiplexe en temps réel

3) Interprétation des courbes de fusion:

Une courbe de fusion va s'établir à la suite de l'analyse des signaux de fluorescence libérée au cours de la PCR.

Chaque cible détectée présente une température de fusion (T_f) caractéristique.



Résultats

Population	31 patients
Age	médiane 38 ans [2 ans -> 70 ans]
Sexe	41,9% ♂ , 58,1% ♀ sexe ratio(H/F)=0,72

Caractéristiques cliniques des patients

Fivre+ VMS+ DI
abdominales

25,80%

Fièvre

29%

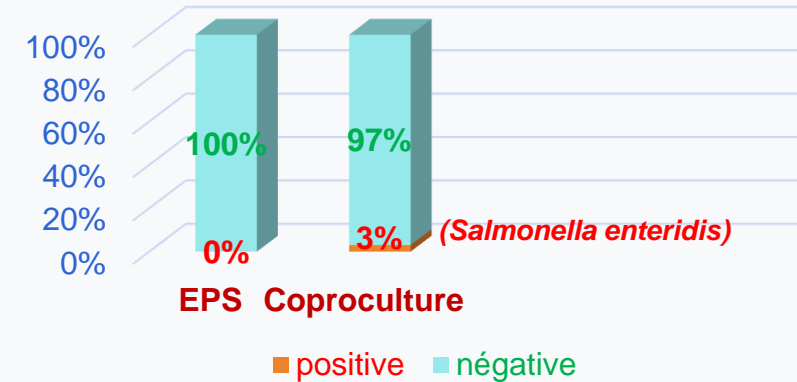
Vomissements

54,80%

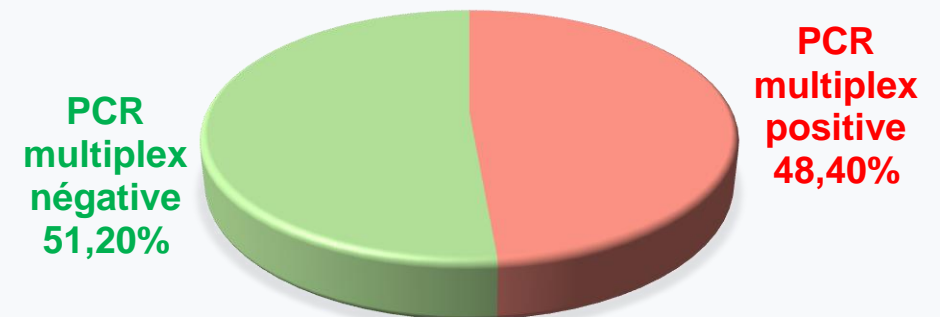
douleurs abdominales

100%

Résultat des techniques conventionnelles



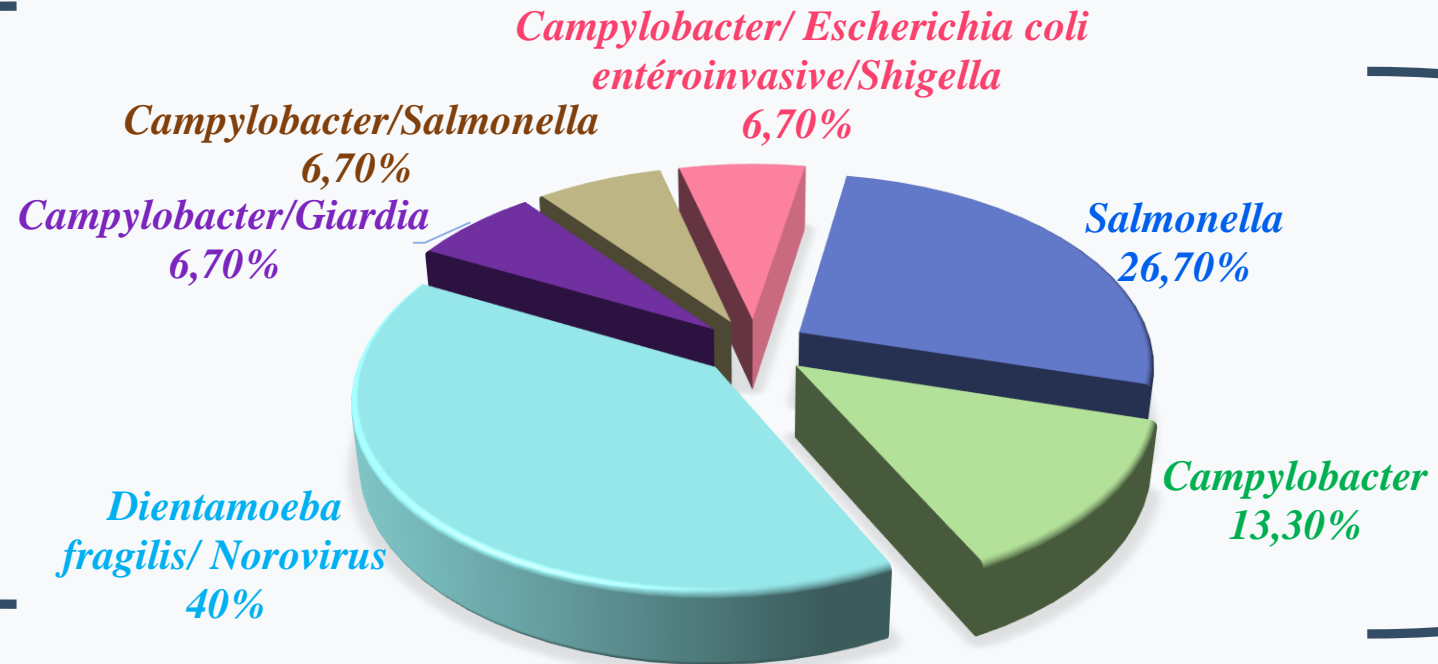
Résultat de la PCR multiplex



Résultats



**Infections
polymicrobiennes
60%**



**Infections
monomicrobiennes
40%**

**Les agents pathogènes détectés par PCR multiplex au cours des
diarrhées infectieuses**



Discussion



- Le taux de positivité des méthodes conventionnels était faible (**3%**) ce qui est concordant à une étude faite par Rintala et al. qui montrait un taux de positivité de **6%** [1]. Un taux plus élevé (**27,7%**) était constaté dans une étude espagnole faite par Martín et al. [2].
- Selon notre étude, la PCR multiplex était positive dans **48,4%** des cas. Des taux similaires (**52,4%** et **66,2%**) étaient rapportés respectivement dans l'étude de Chung et al. et Martin et al. [2,3]
- Les principaux agents pathogènes détectés par la PCR multiplex étaient *Salmonella*, *Campylobacter* et *Norovirus* (en association avec *Dientamoeba fragilis*). Dans plusieurs études, *Salmonella*, *Campylobacter* et *Norovirus* étaient les agents pathogènes les plus constatés à des taux élevés [1,2,3]. Néanmoins l'association *Norovirus/Dientamoeba fragilis* n'était pas rapportée dans la littérature.

[1] Rintala A, Munukka E, Weintraub A, Ullberg M, Eerola E. Evaluation of a multiplex real-time PCR kit Amplidiag® Bacterial GE in the detection of bacterial pathogens from stool samples. J Microbiol Methods. 2016;128:61-5

[2] Martín A, Pérez-Ayala A, Chaves F, Lora D, Orellana MÁ. Evaluation of the multiplex PCR Allplex-GI assay in the detection of bacterial pathogens in diarrheic stool samples. J Microbiol Methods. 2018;144:33-6

[3] Chung N, Wang S-M, Shen C-F, Kuo F-C, Ho T-S, Hsiung CA, et al. Clinical and epidemiological characteristics in hospitalized young children with acute gastroenteritis in southern Taiwan: According to major pathogens. J Microbiol Immunol Infect. 2017;50(6):915-22

Conclusion



- Les étiologies des infections gastro-intestinales recouvraient des pathogènes d'une grande diversité.
- Ils peuvent être d'origines **virales**, **bactériennes** (ou toxines de bactéries), ou **parasitaires**.
- La **biologie moléculaire** contribue à la détection **rapide** et **précise** de ces agents par rapport aux méthodes conventionnelles permettant une prise en charge optimale des patients.
- Ces méthodes moléculaires confèrent en général une très **bonne sensibilité** et **spécificité**.



Merci

