



PLACE DU LABORATOIRE DE MICROBIOLOGIE DANS LE DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE ET LA SURVEILLANCE ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES DIARRHÉES AIGÜES

CHU HASSAN II FES : G. YAHYAOUÏ; M. MAHMOUD

CHU MOHAMED VI MARRAKECH : N. SORAA

CHU IBN ROCHD CASABLANCA : K. ZEROUALI

Introduction

- La diarrhée aiguë chez l'enfant : émission de selles liquides fréquentes ≥ 3 selles / j associée à du sang ou de la glaire
- Problème de santé publique dans les pays en développement
- Morbidité majeure et première cause de mortalité avant l'âge de 5 ans dans les PEVD
- *Mort de 1.9 millions d'enfants < 5 ans de diarrhée = >5000 enfants /J.*

Introduction

- Ces diarrhées liées à des gastroentérites infectieuses dus aux
 - Virus (Rotavirus, adenovirus...)
 - Bactéries (*Salmonella* – *Shigella* -*Campylobacter*, *Clostridium difficile*, *E.coli* (5 pathovars))
 - Parasites
- Les rotavirus : cause la plus commune de diarrhée infantile sévère dans le monde

Introduction

- La recherche étiologique doit être une priorité.
- Les examens microbiologiques gardent une place importante dans le diagnostic étiologique des diarrhées ainsi que la surveillance épidémiologique.

Contexte national

- Prévalence élevée des diarrhées aiguës ↔ la demande des examens microbiologiques se fait très rarement.
- **Au Maroc**
 - La prévalence élevée chez l'enfant < 5 ans
 - 6 à 23 mois : 20,9%
 - < 6 mois : 18%
 - Milieu rural > milieu urbain



Objectifs

- Déterminer la place du laboratoire dans le diagnostic étiologique des diarrhées aiguës
- Présenter un état des lieux des étiologies des diarrhées aiguës chez l'enfant au niveau de 3 CHU, CHU Hassan II, CHU Ibn Rochd de Casablanca et CHU de Marrakech
- Mesurer la prévalence des germes pathogènes spécifiques (Bactériens, viraux) chez l'enfant
- Evaluer la proportion des bactéries résistantes aux antibiotiques de première ligne au niveau des trois CHU marocains

Techniques utilisées

- Techniques conventionnelles de bactériologie
(Coproculture standard)
- Tests rapides pour recherche de Rotavirus / Clostridium difficile
- Techniques de biologie moléculaire (PCR)

Techniques utilisées: Coproculture standard

1. Prélèvement:

- Respecter des modalités de prélèvement et de transport adéquates
- Le prélèvement acheminé au laboratoire sans délai
- **Renseignements clinico-épidémiologiques+++.**
- Les échantillons doivent être recueillis dans un pot propre
- Lesensemencements devraient être effectués dans les 2 heures sinon conservation à + 4 °C au maximum durant 12 heures

Techniques utilisées: Coproculture standard

2. Examen direct (Etat frais / Coloration)

- Absence ou présence de leucocytes
- Présence d'une flore déséquilibrée
- Présence d'hématies dans les selles évocatrice d'atteinte colique ou iléale
- Mise en évidence éventuelle de certains germes ayant une mobilité ou une morphologie évocatrice

Techniques utilisées: Coproculture standard

3. Culture

- Enrichissement sur milieu sélénite
- Mise en culture sur milieux sélectifs pour rechercher *Salmonella sp.*, *Shigella sp.*, *ECEP.*; *Campylobacter sp.* et *Yersinia sp*
- Etude de la sensibilité aux antibiotiques.
- La recherche de *Campylobacter sp.* et *Yersinia sp.* est de moins en moins systématique en fonction des renseignements cliniques

Techniques utilisées: recherche virologique

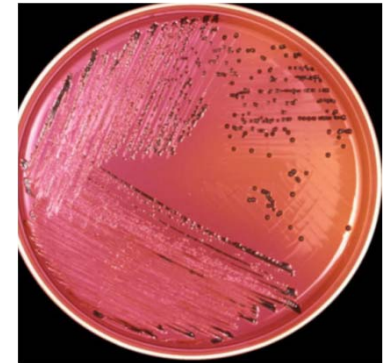
- Différentes techniques commercialisées
- Test d'agglutination à l'aide de particules de latex sensibilisées pour les rotavirus et les adénovirus
- Test d'immunochromatographie pour les rotavirus et les adénovirus
- Réactions immunoenzymatiques (Elisa) ou techniques d'immunofluorescence pour les rotavirus, adénovirus, astrovirus et calicivirus: pas de pratique

Etiologie des diarrhées aiguës chez l'enfant: état des lieux

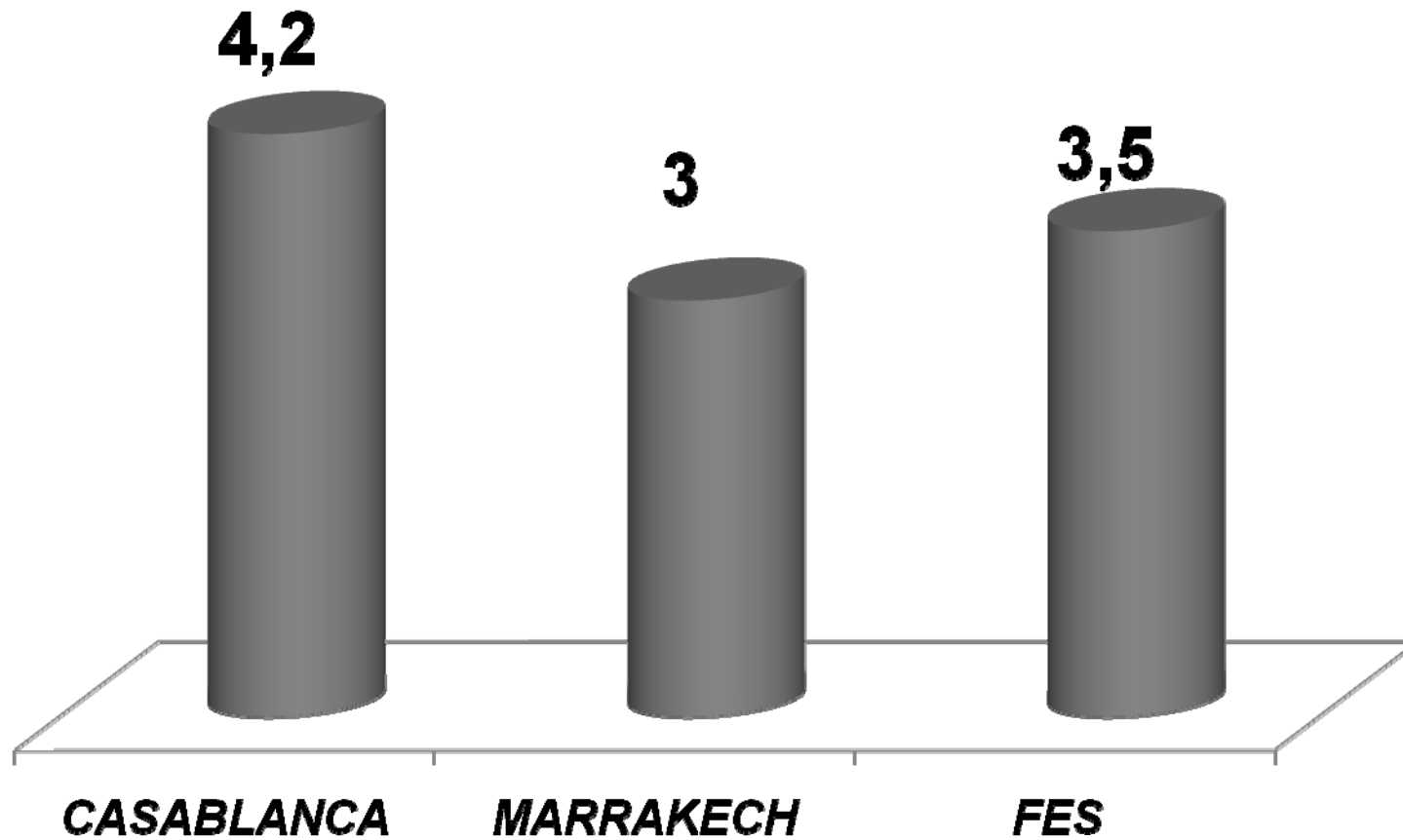
- Etude rétrospective au niveau des laboratoires de Microbiologie
 - CHU Hassan II de FES : 10 ans (2006 à 2015)
 - CHU Ibn Rochd de Casablanca : 10 ans (2006 à 2015)
 - CHU Mohammed VI de Marrakech : 5 ans (2011 à 2015)
- Prélèvements de selles reçus pour examen microbiologique

Méthodologie

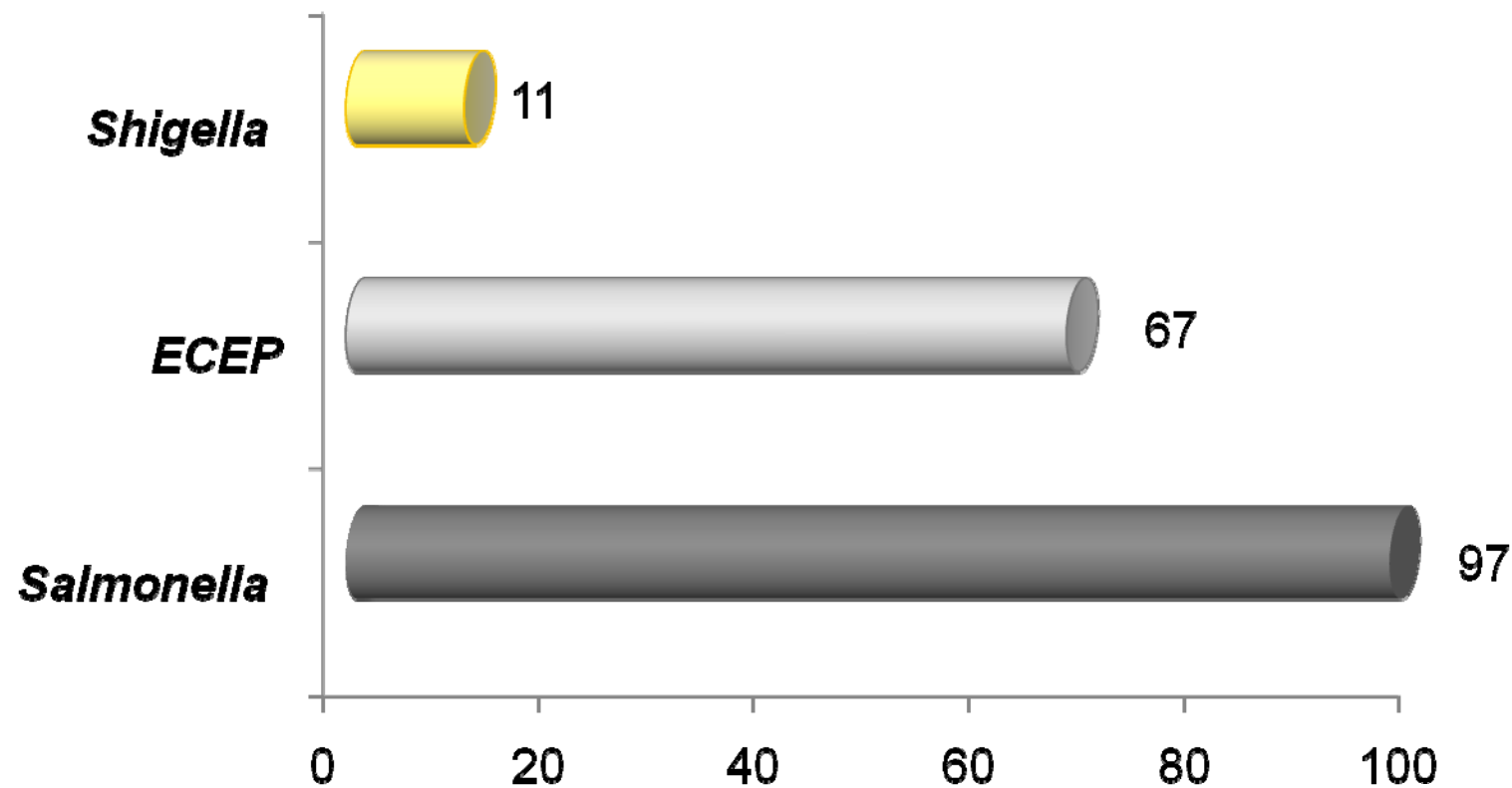
- Coproculture standard (Culture sur milieu SS)
- Enrichissement sur sélénite
- Identification : Galeries API 20E (Biomérieux)
- Antibiogramme par diffusion sur milieu gélosé selon les recommandations du CASFM / CLSI
- Séro-typage par technique d'agglutination
- Recherche de Rotavirus et adénovirus par test rapide



Prévalence des germes entéro-pathogènes spécifiques



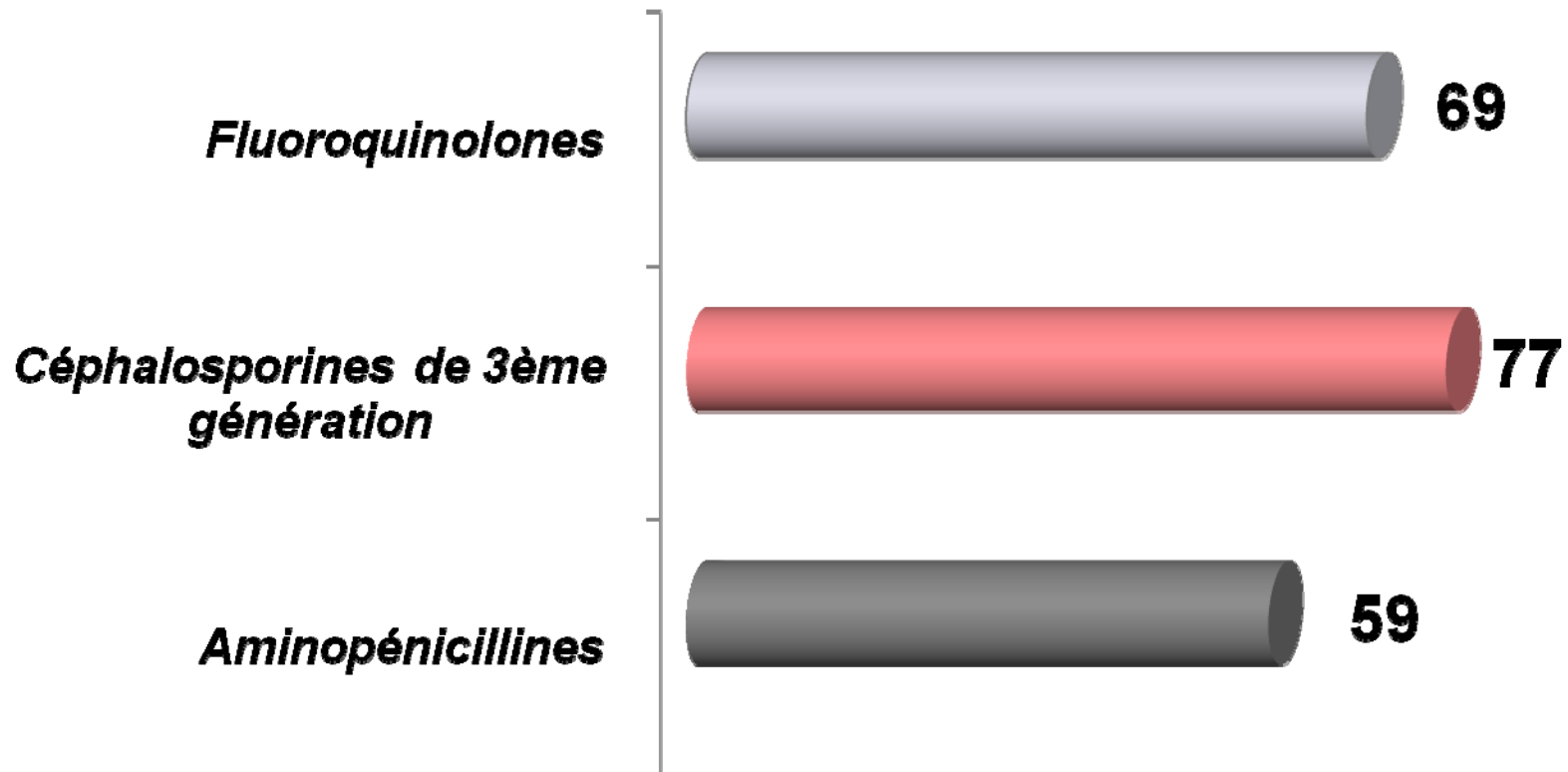
Répartition des espèces bactériennes isolées des coprocultures au niveau des 3 CHU marocains



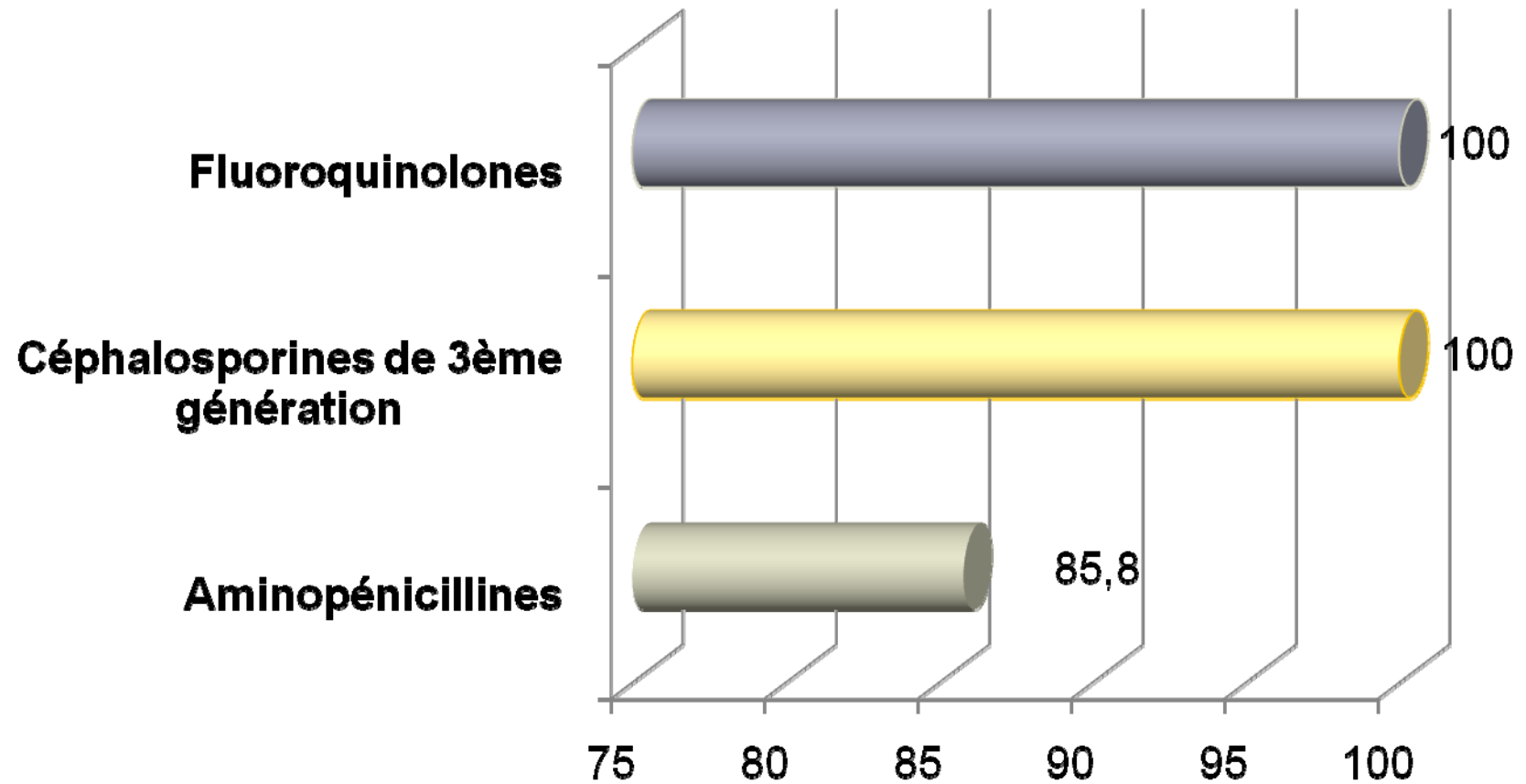
Sérotypage des souches de *Salmonella*

- *Salmonella thyphimurium*: 61%
- *Salmonella enteritidis*: 12,7%
- *Salmonella kentucky*: 12,7%
- *Salmonella sp*: 13,6%

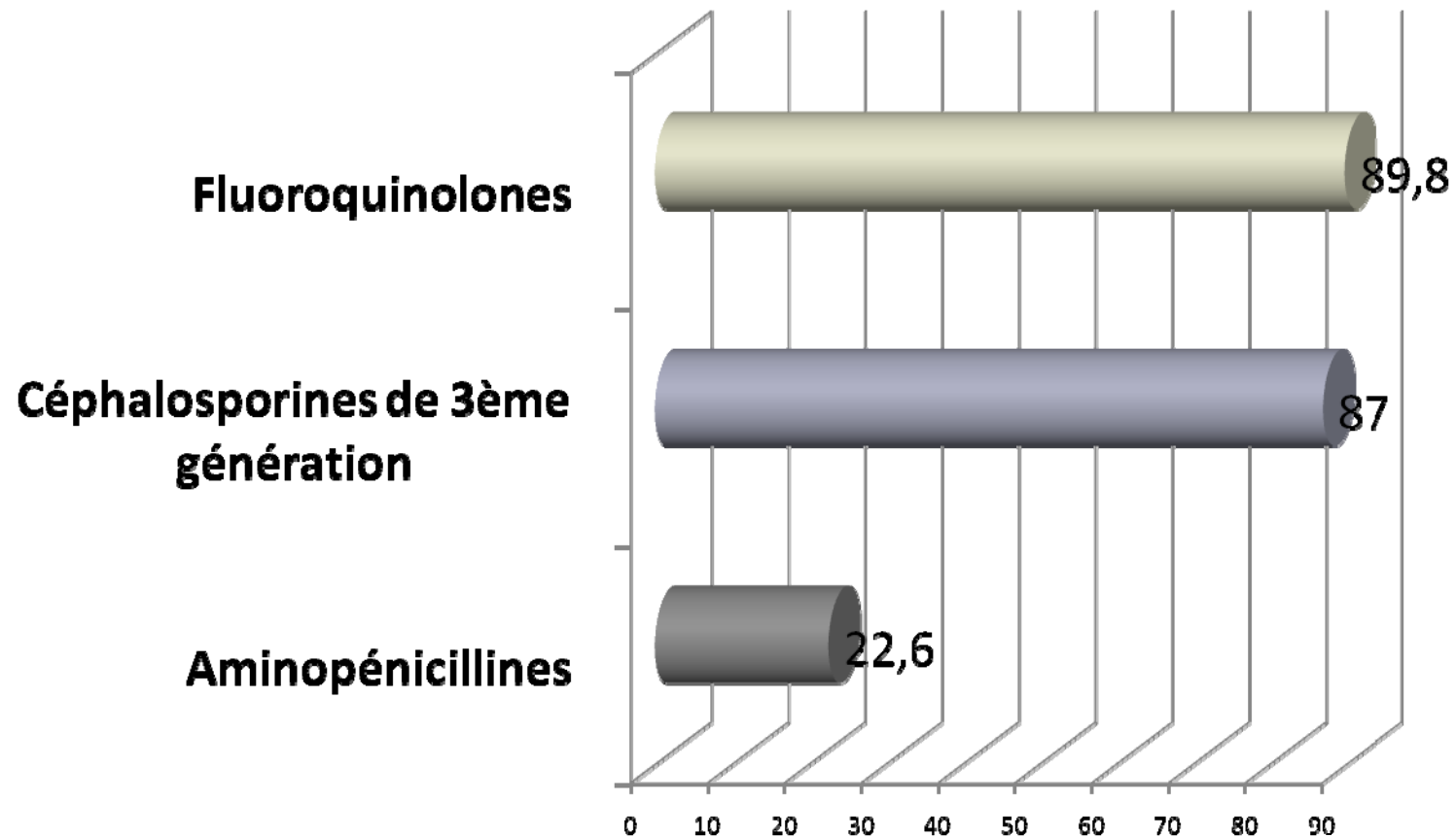
Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques des isolats de Salmonella (n =97)



Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques des isolats de Shigella (n = 11)



Pourcentage de sensibilité aux antibiotiques des isolats de ECEP (n = 67)



Recherche de Rotavirus et Adenovirus dans les selles par test rapide

- Taux de positivité de 10 %
- 3 cas de co-infections rotavirus et adenovirus
- Co-infection rotavirus et autre agent bactérien

Discussion

- Dans notre contexte : *Salmonella* : Premier agent isolé
 - 23 % de résistance aux C3G et 31 % de résistance aux fluoroquinolones
- ECEP: 13% de résistance aux C3G et 10,2% de résistance aux fluoroquinolones
- Diagnostic : Coproculture standard
- La recherche du *Campylobacter* et de *Yersinia* : non systématique, milieux de culture spécifiques
- **Prévalence sous estimée +++**

Discussion

- Malgré la prévalence élevée de la diarrhée aiguë, la demande des examens microbiologiques se fait hélas très rarement.
- Cette faible demande d'examens microbiologique est aussi constaté dans les pays développés

Discussion

- Pourquoi ce faible recours au laboratoire ?
- Bénignité habituelle des épisodes diarrhéiques
- Faible rendement des examens de laboratoire effectués en routine, 60 % au moins des examens de selles aboutissant à une réponse négative.

Discussion

Quels sont les causes possibles de ces faibles performances?

- Prélèvements trop tardifs
- Prise préalable de médicaments anti-infectieux
- Délais trop longs entre l'émission des selles et leur analyse
- Absence d'orientation clinique ou épidémiologique
- Insuffisance des procédures mis en œuvre, bien souvent limitées aux examens coprologiques conventionnels.

Conclusion

- La fréquence des germes entéropathogènes reste certainement sous estimé
 - coproculture n'est pas réalisée systématiquement devant tout syndrome dysentérique,
 - les techniques utilisées dans l'isolement de ce germe entéropathogène peuvent faire défaut
- Le recours aux techniques de biologie moléculaire apporte un rendement non négligeable

Conclusion

- Les diarrhées aiguës constituent une urgence
- Une collaboration étroite entre les cliniciens, les biologistes, les techniciens d'hygiène et les épidémiologistes.