

41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



SFC

Les boulettes confinées de l'année

Erreurs diagnostiques en microbiologie

guillaume.desoubeaux@univ-tours.fr

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Liens d'intérêt

- **Gilead** invitation à des congrès + conférences
- **Pfizer** invitation à des congrès
- **MSD** invitation à des congrès

Homme d'origine africaine qui vit en France depuis 15 ans dans un pavillon avec jardin, et possède un chat domestique. Pas d'activité professionnelle déclarée.

Revenu, il y a une semaine, d'un séjour d'un mois au Cameroun, à Douala et en zones rurales.

Signes cliniques

- **nausées et vomissements**
- **asthénie**
- **fièvre à 40°C**
- **pas de raideur méningée ni éruption cutanée**

Toute fièvre au retour d'un voyage en zones intertropicales est un paludisme jusqu'à preuve du contraire.



[6 jours - 2 mois]

Diagnostic de paludisme



Prise en charge et prévention du paludisme d'importation

Mise à jour 2017 des RPC 2007

Organisation : Groupe de recommandations de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF)

Avec la participation :

- Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales (CMIT)
- Société Française de Parasitologie (SFP)
- Société de Médecine des Voyages (SMV)
- Société de Pathologie Exotique (SPE)
- Société Française de Pédiatrie (SFP) (Groupe de Pédiatrie Tropicale)
- Société de Réanimation de Langue Française (SRLF)

Diagnostic de paludisme

En urgence (≤ 4 heures)



Objectifs de la recherche

- dépister les parasites
- identifier le(s) stade(s) et l' (les) espèce(s) parasite(s)
- quantifier les parasites

Diagnostic de paludisme

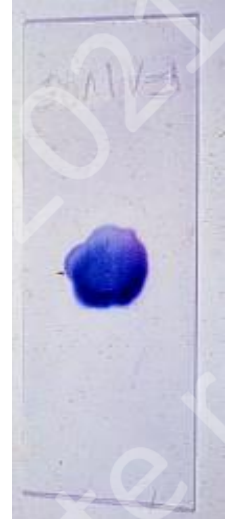
En urgence (≤ 4 heures)



sensible



Test de détection rapide d'antigènes (10/ μ L)



Goutte épaisse (10/ μ L)

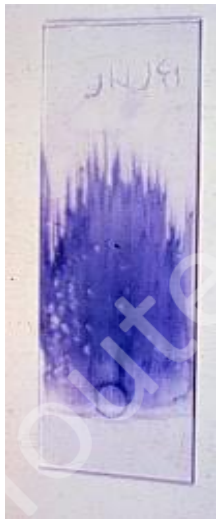
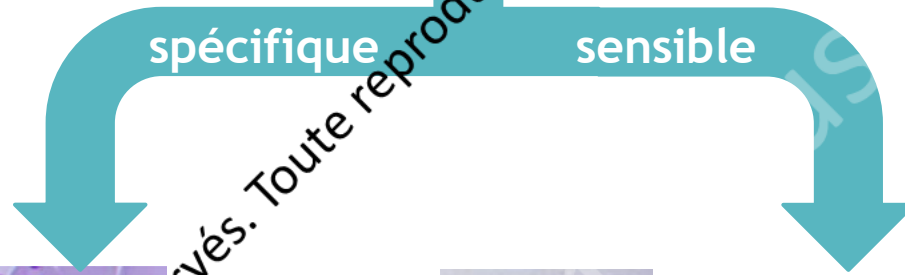


PCR rapide LAMP (0,01-0,1/ μ L)

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Diagnostic de paludisme

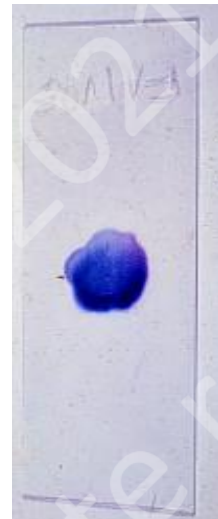
En urgence (≤ 4 heures)



Frottis sanguin (100/ μ L)



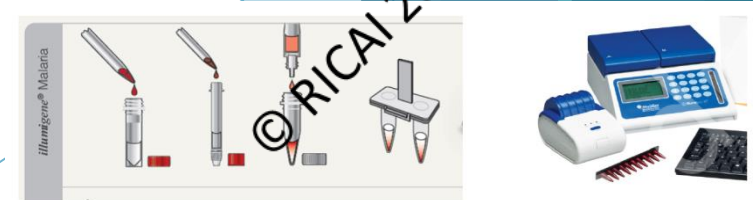
MGG x 1000



Goutte épaisse (10/ μ L)



Test de détection rapide d'antigènes (10/ μ L)



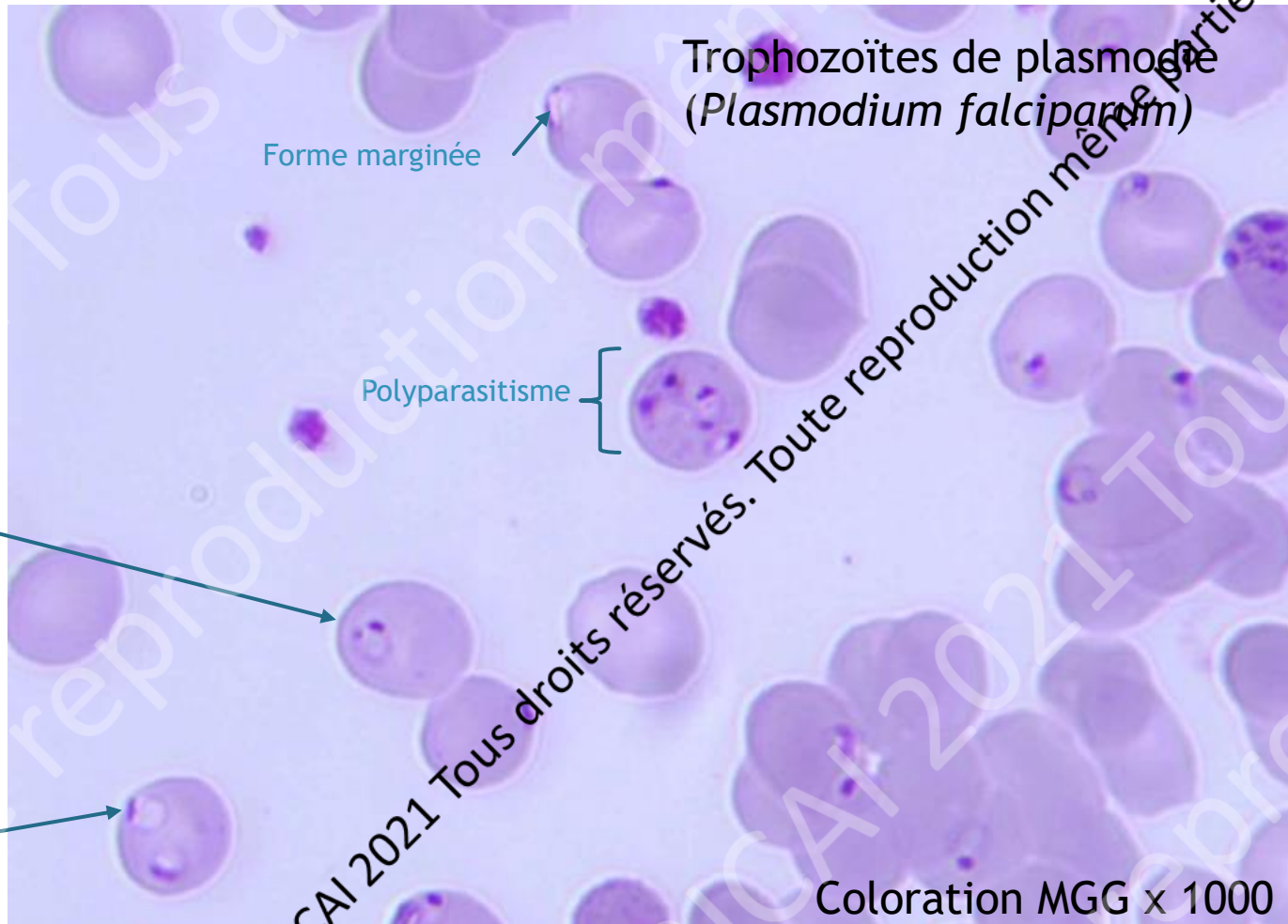
PCR rapide LAMP (0,01-0,1/ μ L)

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Lecture du frottis sanguin



Évaluation de la charge parasitaire sanguine (ou parasitémie) :

- 1) Estimation du nombre total d'hématies / champ microscopique
- 2) Appréciation du nombre d'hématies parasitées / champ microscopique
- 3) Calcul du ratio en pourcentage

$$\% = \frac{\text{nb total de parasites observés}}{\text{nb de champs lus} \times \text{nb GR moyen par champ}} \times 100$$

Diagnostic retenu = paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum* (5,2 %)



Le paludisme grave constitue une urgence médicale. Après un rapide bilan clinique et la confirmation du diagnostic, il faut administrer sans délai un traitement antipalustre par voie parentérale en utilisant le premier antipaludéen efficace que l'on a sous la main.

On administrera de l'artésunate en intraveineuse de préférence à la quinine pour le traitement du paludisme grave à *P. falciparum* chez l'adulte.

Recommandation forte, éléments d'appréciation de grande qualité.

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

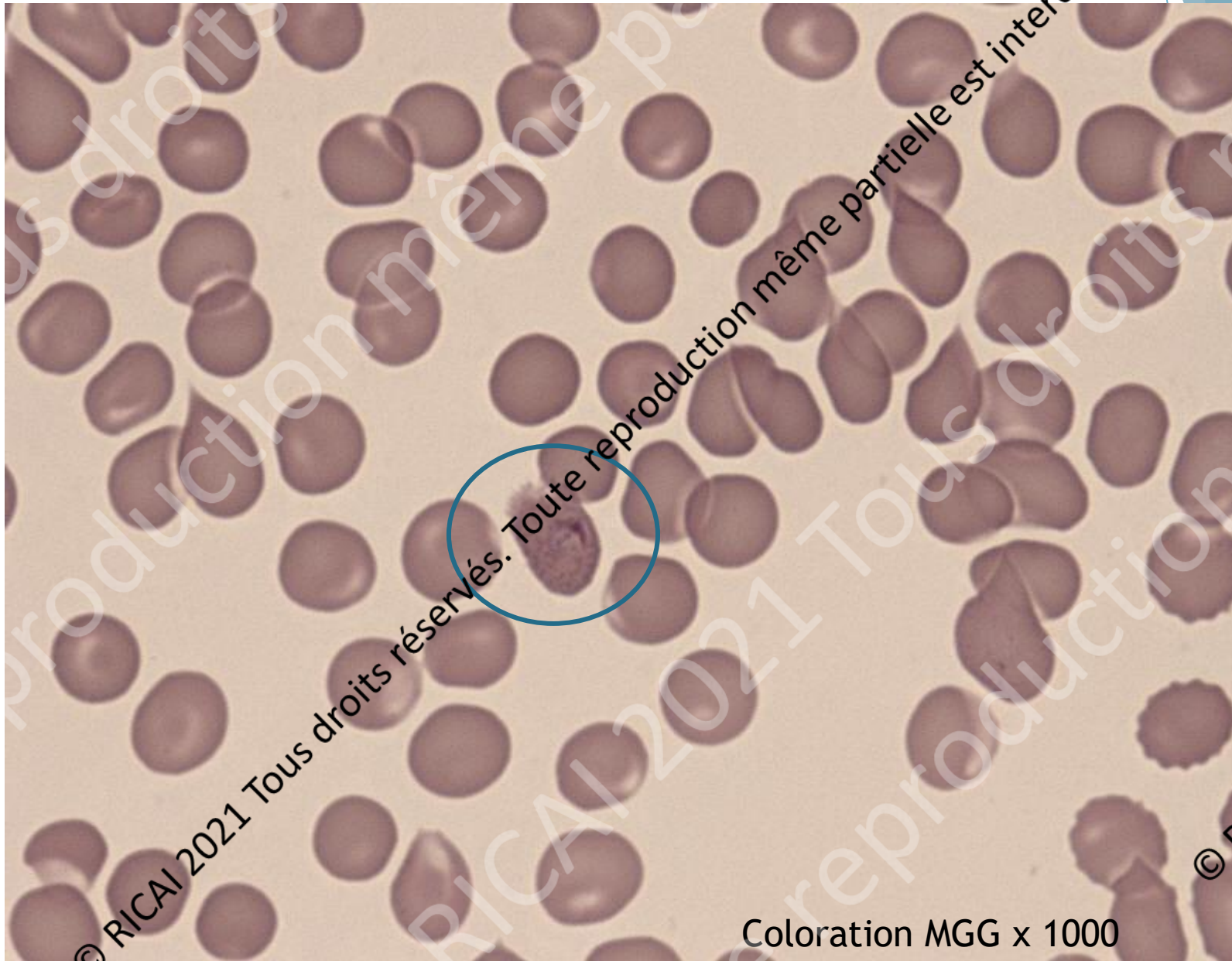
© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Evolution initialement favorable, mais revient deux mois plus tard avec de la fièvre un jour sur deux, des céphalées et des troubles digestifs. Il est hypertendu.

Investigations biologiques

- **hémoglobine = 125 g/L**
- **plaquettes = 92 Giga/L**
- **protéine C-réactive (CRP) = 86 mg/L**
- **nouvelle recherche de paludisme dans le sang**

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

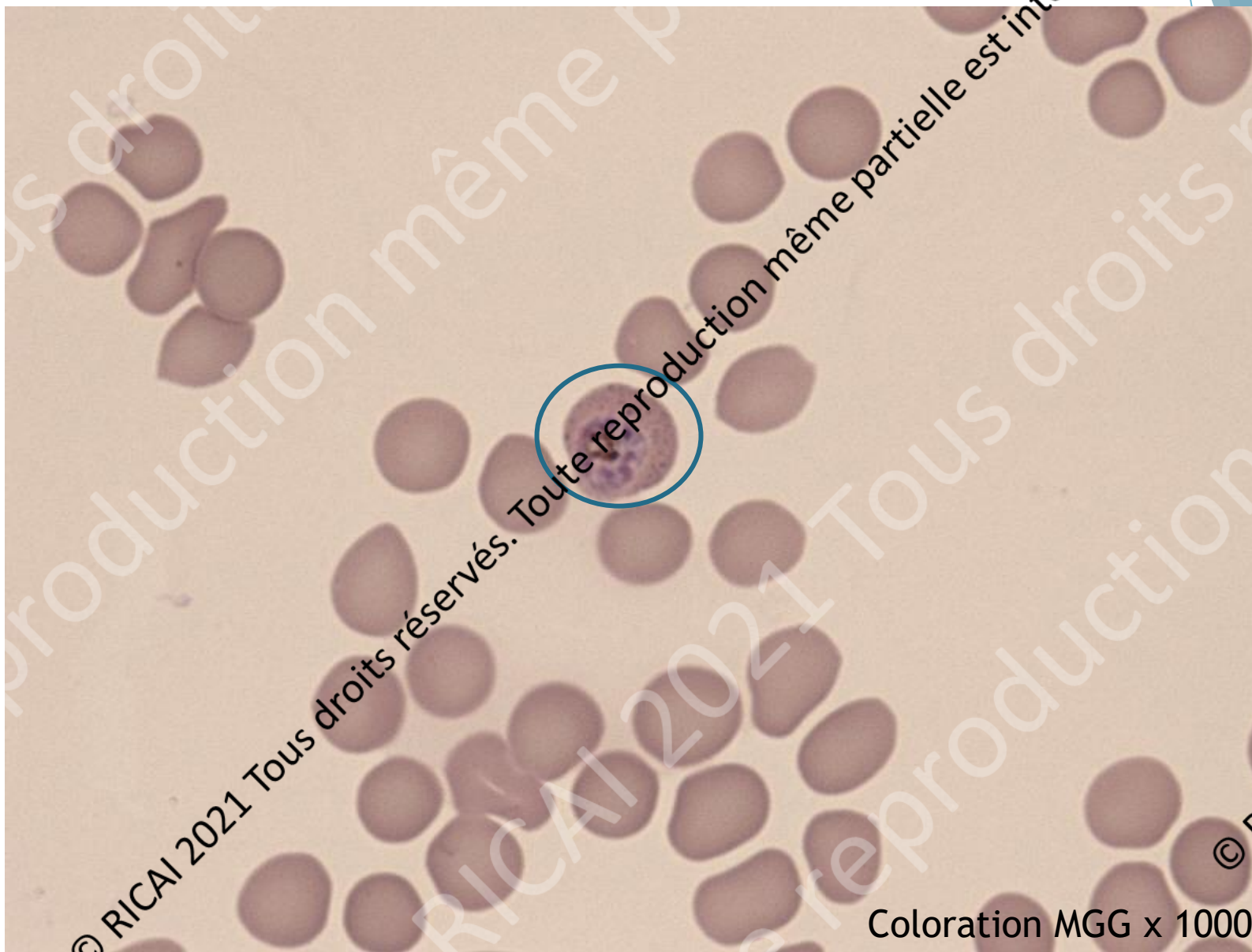


© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Coloration MGG x 1000

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

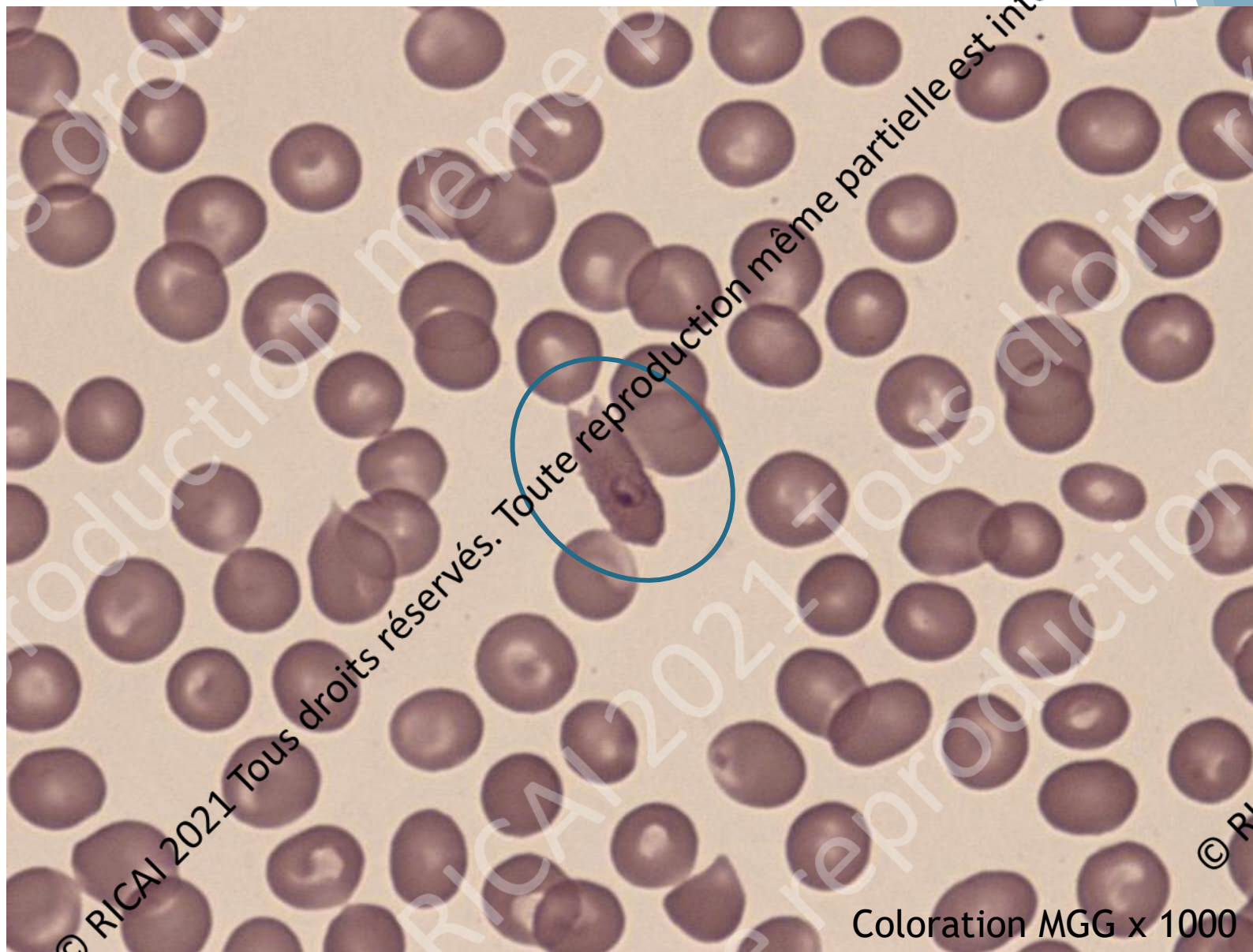


© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Coloration MGG x 1000

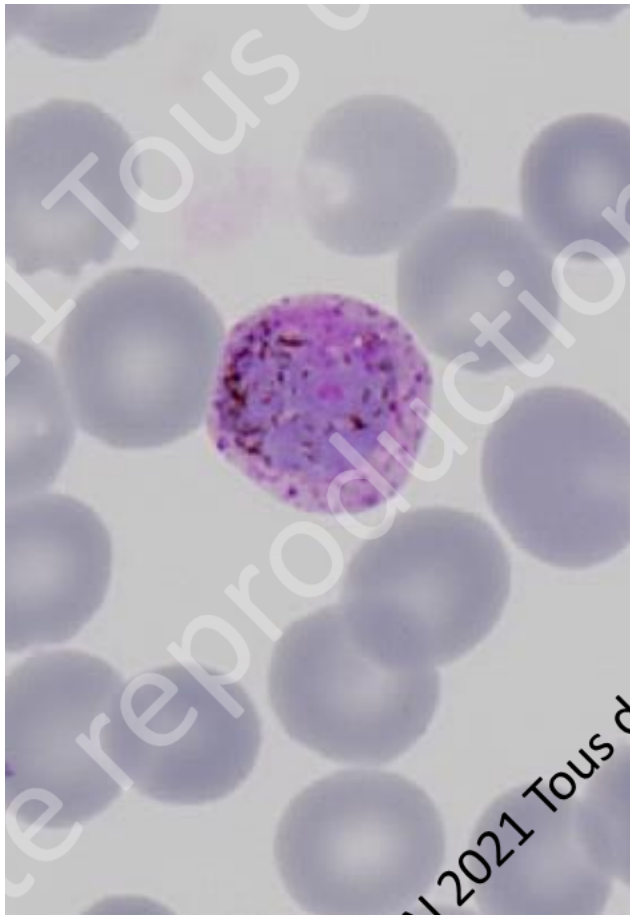
Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Coloration MGG x 1000

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.



Coloration MGG x 1000

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

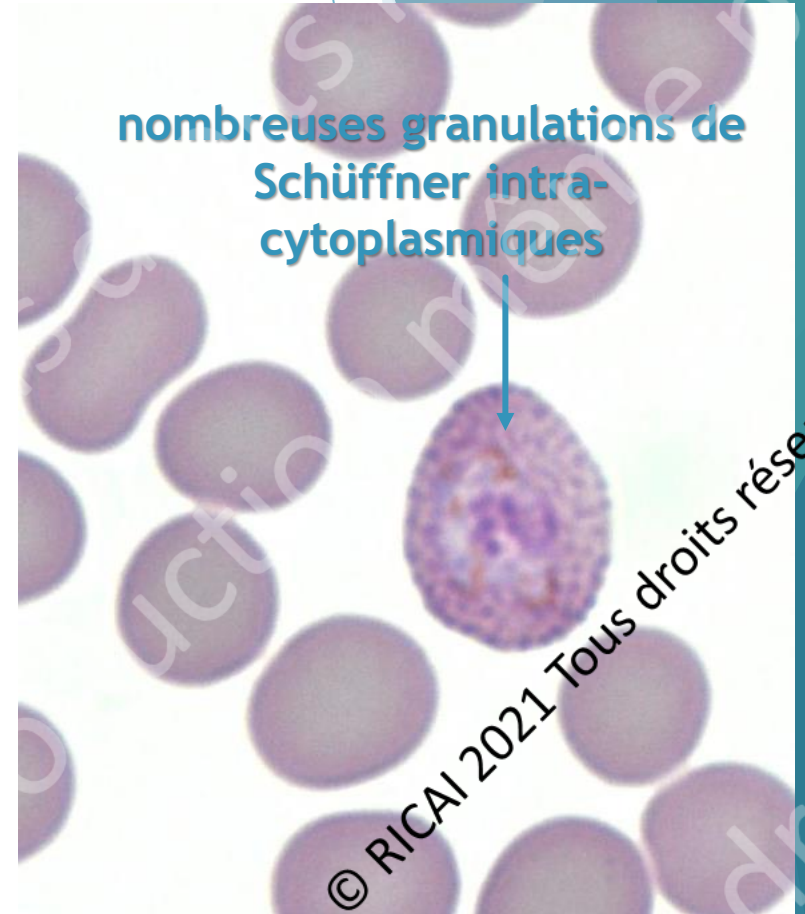
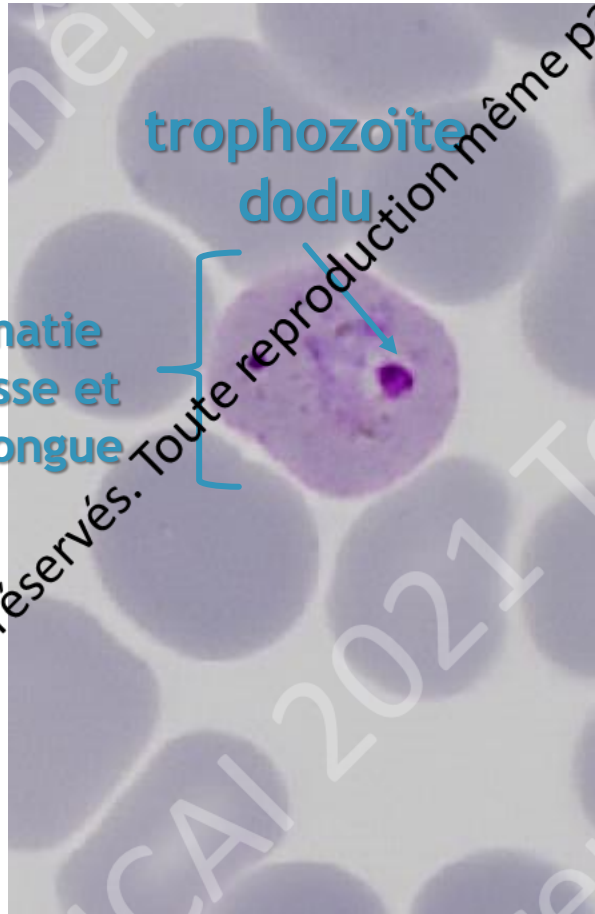
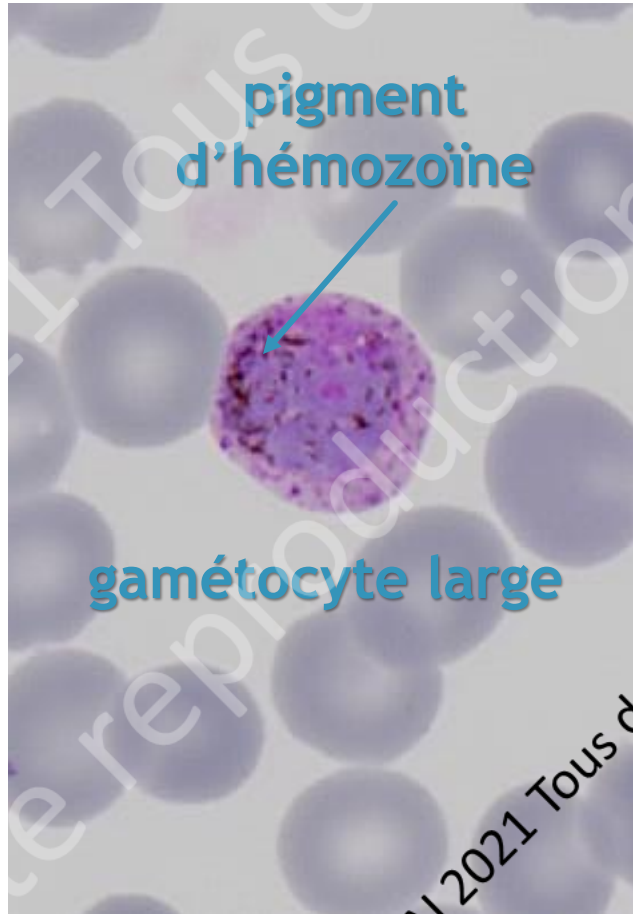
© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

A vous de participer ...

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Diagnostic retenu = paludisme de reviviscence à *Plasmodium ovale* (0,1 %)



Coloration MGG x 1000

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Diagnostic retenu = paludisme de reviviscence à *Plasmodium ovale* (0,1 %)



Distribution de *Plasmodium falciparum*



Distribution de *Plasmodium ovale* complexe

Superposition de la répartition géographique

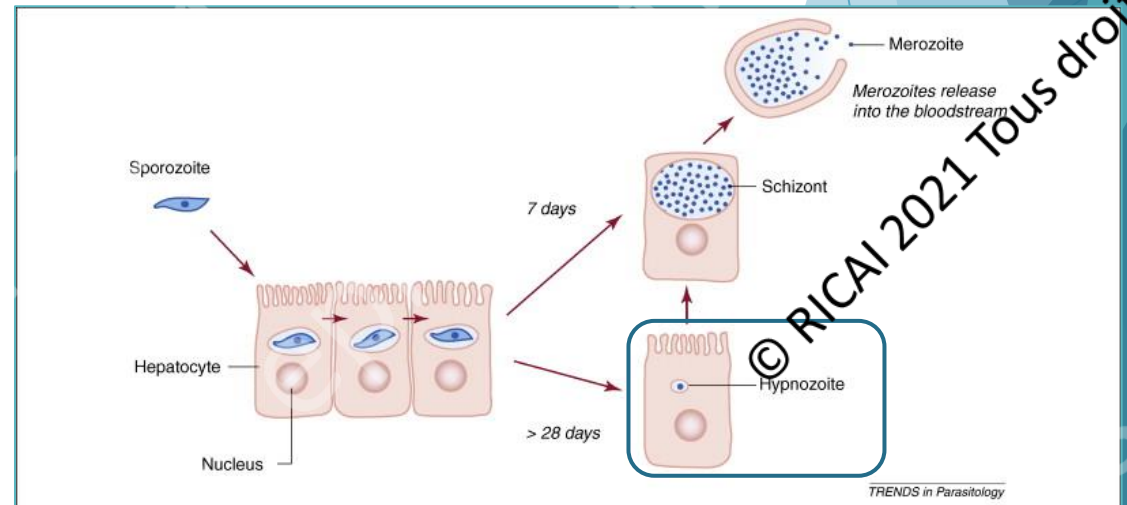


Distribution de *Plasmodium falciparum*



Distribution de *Plasmodium ovale* complexe

Accès de reviviscence ≤ 5 ans post-primoinfection



Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Traitement des formes plasmodiales hépatiques

TRAITEMENT DU PALUDISME SIMPLE À *P. VIVAX*

- ⊙ La chloroquine associée à la primaquine constitue le traitement de choix des infestations à vivax chloroquino-sensibles.

RECOMMANDATION: *administration de primaquine pour le traitement radical du paludisme à vivax*

- ▶ **Le traitement radical du paludisme à vivax nécessite l'administration de primaquine pendant 14 jours au minimum**

Recommandation forte, éléments d'appréciation de très faible qualité

- ⊙ En cas de carence en G6PD légère à modérée, primaquine à raison de 0,75 mg de base par kg de poids corporel une fois par semaine pendant 8 semaines. En cas de grave carence en G6PD, la primaquine est contre-indiquée et doit être évitée.

Conclusion

- **se rappeler qu'un paludisme peut en cacher un autre**
- **penser aux accès de reviviscence**
- **faire confiance aux yeux du microscopiste**

Homme 58 ans Libanais

Antécédents de cirrhose sévère

Bilan pré-transplantation en Iran et Inde

Hospitalisation en France le 19/07

- **précautions complémentaires contact (PCC) – marche en avant**
- **dépistage du portage**



Bilan pré-transplantation (cartographie J15)

- ***Escherichia coli* avec carbapénémase**
- ***Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (vanA)**
- ***Escherichia coli* avec β -lactamase à spectre étendu (BLSE)**
- ***Candida glabrata* et *Geotrichum fragrans* avec CMI élevées**

Cultures mycologiques :

Milieu ChromID CAN2 / Biomérieux

Candida glabrata

Antifongigramme

Méthode Etest sur milieu gélosé RPMI (Biomérieux)

Voriconazole :	8,000 $\mu\text{g/ml}$	Résistant
Fluconazole :	>256 $\mu\text{g/ml}$	Résistant
Caspofungine :	0,190 $\mu\text{g/ml}$	
Micafungine :	0,016 $\mu\text{g/ml}$	
5-Flucytosine :	0,008 $\mu\text{g/ml}$	Sensible

Identification protéomique par spectrométrie de masse (MALDI-TOF).

Envoyé pour identification

Geotrichum fragrans

Antifongigramme

Méthode Etest sur milieu gélosé RPMI (Biomérieux)

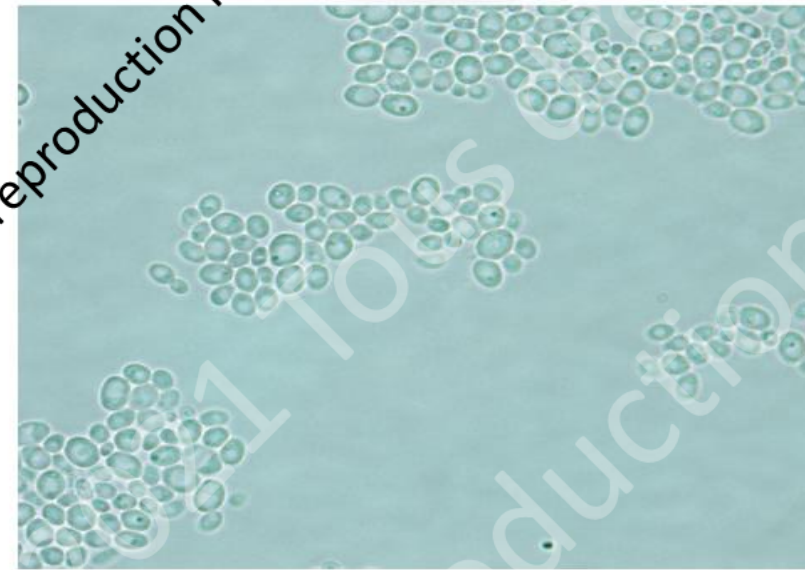
Voriconazole :	0,125 $\mu\text{g/ml}$	Sensible
Fluconazole :	48,000 $\mu\text{g/ml}$	Résistant
Caspofungine :	6,000 $\mu\text{g/ml}$	
Micafungine :	2,000 $\mu\text{g/ml}$	
5-Flucytosine :	0,016 $\mu\text{g/ml}$	Sensible

Bilan post-transplantation (cartographie J1)

- ***Candida glabrata* avec CMI élevées et *C. tropicalis***

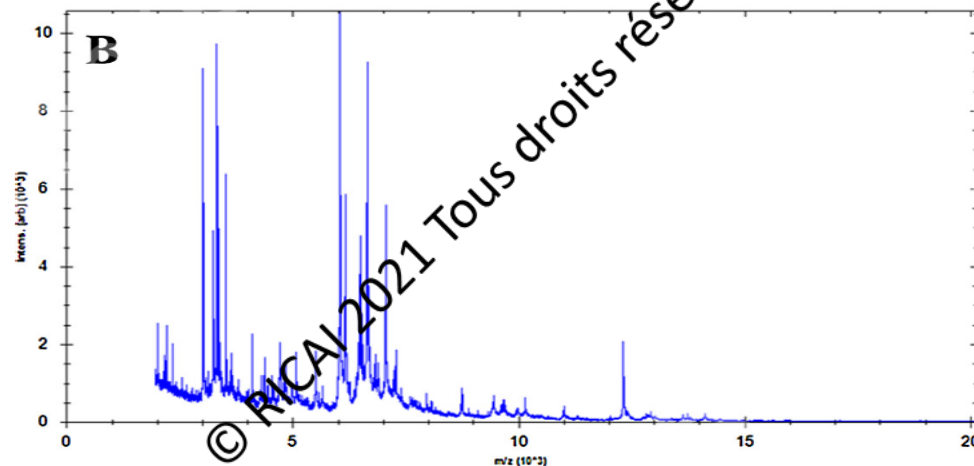


Macroscopie de la culture d'écouvillon de gorge (CAN2® (bioMérieux) 48-72 heures) :
Petites colonies rosâtres

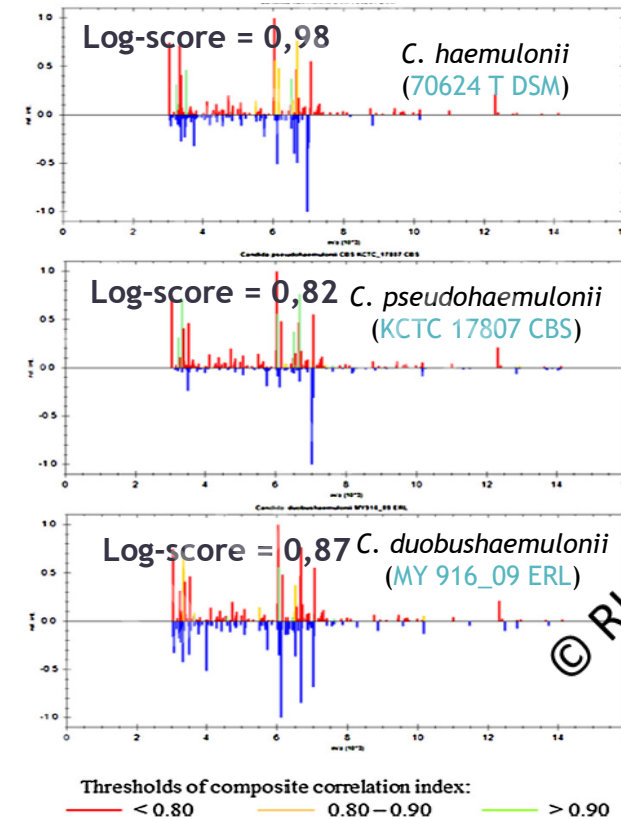


Microscopie de la culture d'écouvillon de gorge
(CAN2® (bioMérieux) 48-72 heures x 1000)
Pas de forme (pseudo-)filamenteuse

Spectrométrie de masse MALDI-TOF



Diagnostic retenu = portage digestif
d'une levure proche de l'espèce
Candida haemulonii



Séquençage ADN

[Candida] auris isolate 17110744 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: MG736297.1

[FASTA](#) [Graphics](#)Go to:

LOCUS MG736297 326 bp DNA linear PLN 03-JAN-2018

DEFINITION [Candida] auris isolate 17110744 large subunit ribosomal RNA gene, partial sequence.

ACCESSION MG736297

VERSION MG736297.1

KEYWORDS .

SOURCE [Candida] auris

ORGANISM [Candida] auris
Eukaryota; Fungi; Dikarya; Ascomycota; Saccharomycotina; Saccharomycetes; Saccharomycetales; Metschnikowiaceae; Clavispora; Clavispora/Candida clade.

REFERENCE 1 (bases 1 to 326)
AUTHORS Desoubeaux,G., Bailly,E. and De Kyvon,M.-A.
TITLE Candida auris in mycology labs, a few practical tricks to identify it reliably according to a French experience...
JOURNAL Unpublished

REFERENCE 2 (bases 1 to 326)
AUTHORS Desoubeaux,G., Bailly,E. and De Kyvon,M.-A.
TITLE Direct Submission
JOURNAL Submitted (28-DEC-2017) Parasitologie Mycologie Medecine tropicale, CHU de Tours, boulevard Tonnelles, TOURS 37044, France

COMMENT ##Assembly-Data-START##
Sequencing Technology :: Sanger dideoxy sequencing
##Assembly-Data-END##

FEATURES
Location/Qualifiers
source 1..326
/organism="[Candida] auris"
/mol_type="genomic DNA"
/isolate="17110744"
/isolation_source="throat"
/host="Homo sapiens"
/db_xref="taxon:498019"
/country="France: Tours"
/collection_date="25-Aug-2017"
/collected_by="Guillaume DESOUBEAUX"
/note="PCR_primers=fwd_name: NL4, rev_name: NL1"
rRNA
<1..>326
/product="large subunit ribosomal RNA"

ORIGIN
1 cagtaacggc gagtgaagcg gaagacgcca actttggaat cgctccggca gttgtagtct
61 ggaggtggcc accacgaggt gttcaacag caggcaagtc ctttggaaaca aggcgccagc
121 gagggtgaca gccccgtaac tggcttggct agtgcttccot gtggccaccg acgagtgogag
181 ttgtttggga atgcagctct gttgggtgg taaattccat ctaaggctaa atattggcga
241 gagaccgata gcgaacaagt acagtgatgg aaagatgaaa agcactttga aaagagatgg
301 aaacagtagc tgaattgct gaaaagg

//

Diagnostic retenu = portage digestif
d'une levure proche de l'espèce
Candida auris



Région D1-D2

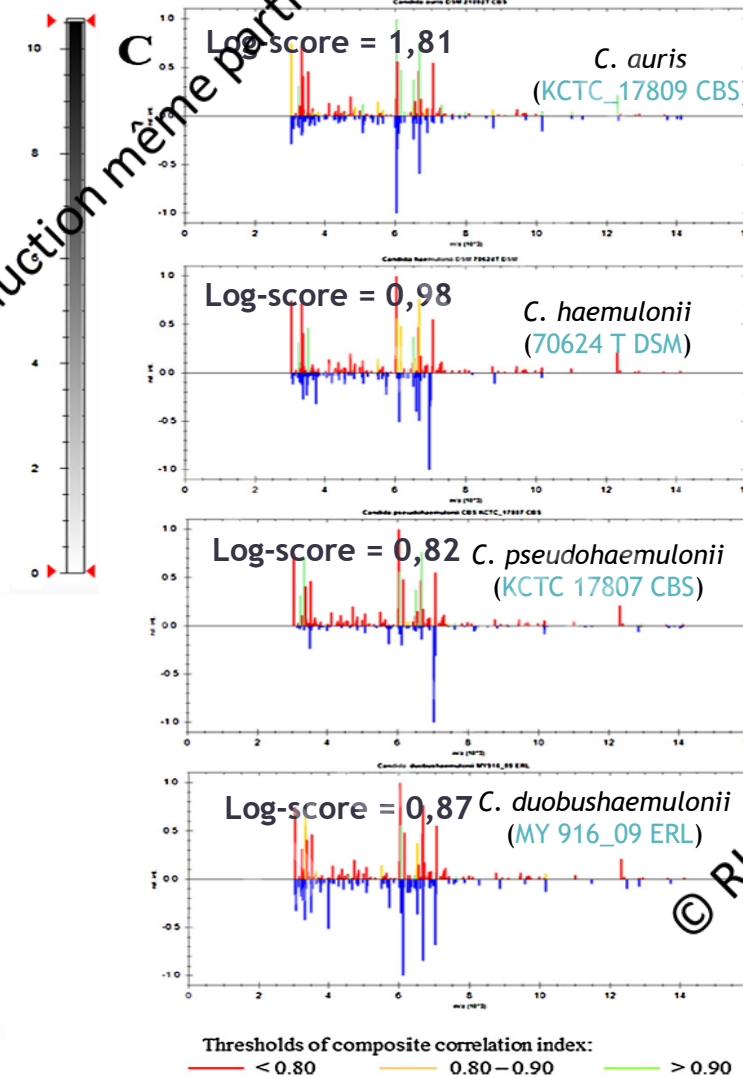
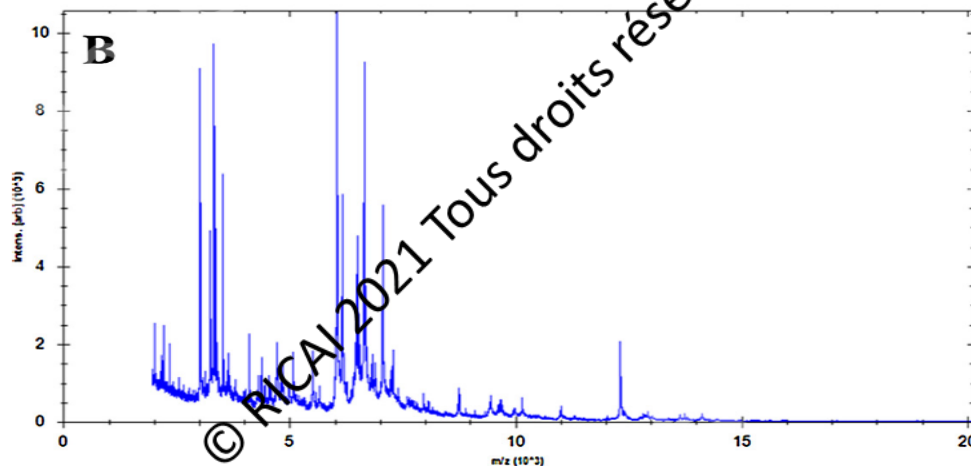
- recouvrement = 100 %
- similitudes = 99 % avec souche UZ1447_15 (326 pb)

Région ITS

- recouvrement = 100 %
- similitudes = 99 % avec souche CBS 10913 (400 pb)

© RICAI 2021 Tous droits réservés

Spectrométrie de masse MALDI-TOF



Spectrométrie de masse MALDI-TOF : rapide et fiable avec les bases de données contenant des bons spectres de références

- MALDI Bruker® version 3.1 (Bruker Daltonics, Brême, Allemagne)
- base MSI-2 (Pitié-Salpêtrière)
- Vitek MS® MALDI extended database RUO (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)

Imbert S, *et al.* Med Mycol 2019
Desoubeaux G, *et al.* J Mycol Med. 2018

Exemple dans la base de données MALDI Biotyper Compass IVD® database v4.2.50

- Souche japonaise (DSM 21092T CBS)
 - Souche coréenne (KCTC_17809 CBS)
 - Souche coréenne (KCTC_17810 CBS)
- 64,7 % isolats correctement identifiés par MALDI-TOF
Log-score moyen = $1,59 \pm 0,18 / 3$
- 81,8 % en 1^{ère} proposition d'identification
 - 72,2 % avec ≥ 2 propositions d'identification

⇒ autres propositions : Actinomycetales, Lactobacillales, Burkholderiales, Pseudomonales

Isolement dans cartographies fongiques itératives

- **Gorge** ($n = 8$)
- **Liquide anse intestinale** ($n = 1$)
- **Rectum** ($n = 1$)
- **Urines** ($n = 1$)

Détermination des concentrations minimales inhibitrices microméthode en milieu liquide (EUCAST)

Amphotéricine B	0,5 mg/L
5 fluorocytosine	≥64 mg/L
Fluconazole	64 mg/L
Itraconazole	– mg/L
Voriconazole	0,5 mg/L
Posaconazole	≤0.016 mg/L
Isavuconazole	0,015 mg/L
Caspofungine	0,03 mg/L
Mizafungine	0,06 mg/L

Evolution clinique

- **Traitement antifongique**
 - micafungine (presque) en continu
- **Choc septique post-opératoire sur péritonite**
 - *Klebsiella pneumoniae* New Delhi
 - *Proteus mirabilis*
 - *Escherichia coli* BLSE
- **Décès à J52**
- **Pas de cas secondaires**



HAUT CONSEIL DE LA SANTE PUBLIQUE

AVIS

relatif aux mesures de prise en charge de patient infecté ou colonisé par Candida auris et au rapport bénéfice-risque d'une prescription d'antifongiques en prophylaxie.

14 juin 2019



Protecting and improving the nation's health

Guidance for the laboratory investigation, management and infection prevention and control for cases of Candida auris

August 2017 v2.0

Established in 1871

Swiss Medical Weekly

Formerly: Schweizerische Medizinische Wochenschrift. An open access, online journal • www.smw.ch

Review article: Medical guidelines | Published 21 September 2020 | doi:10.4414/SMW.2020.20297

Candida auris – recommendations on infection prevention and control measures in Switzerland

Vulchard-Gysin Danielle*, Sommerstein Rami*, Martischang Romain*, Harbarth Stephan*, Kuster Stefan P.†, Senn Laurence*, Widmer Andreas†, on behalf of Swissasoso

* Department of Internal Medicine, Division of Infectious Diseases, Thurgau Hospital Group, Switzerland
† Division of Infectious Diseases and Hospital Epidemiology, University Hospital Zurich, Switzerland

Infection prevention and control of Candida auris

Guideline, Version 3.1 - January 2019



Candida auris: Learn how you can stop it from spreading.

This drug-resistant fungus causes serious infections and spreads in healthcare facilities.

www.cdc.gov/fungal



© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Conclusion

- **s'enquérir du parcours médical des patients et de leurs éventuels séjours à l'étranger**
- **maintenir ses bases de données à jour**
- **faire preuve de (un peu de) patience pour le processus d'identification...**

Homme 63 ans marié avec sept enfants. Jardinier retraité et originaire du Sud de la RP Chine, mais arrivé en France un an auparavant la présente consultation. Pas d'animaux de compagnie et sans antécédents médico-chirurgicaux.

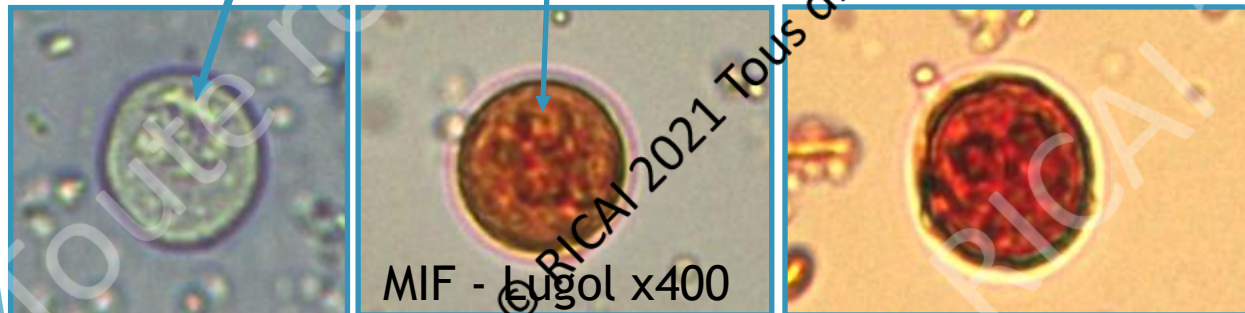
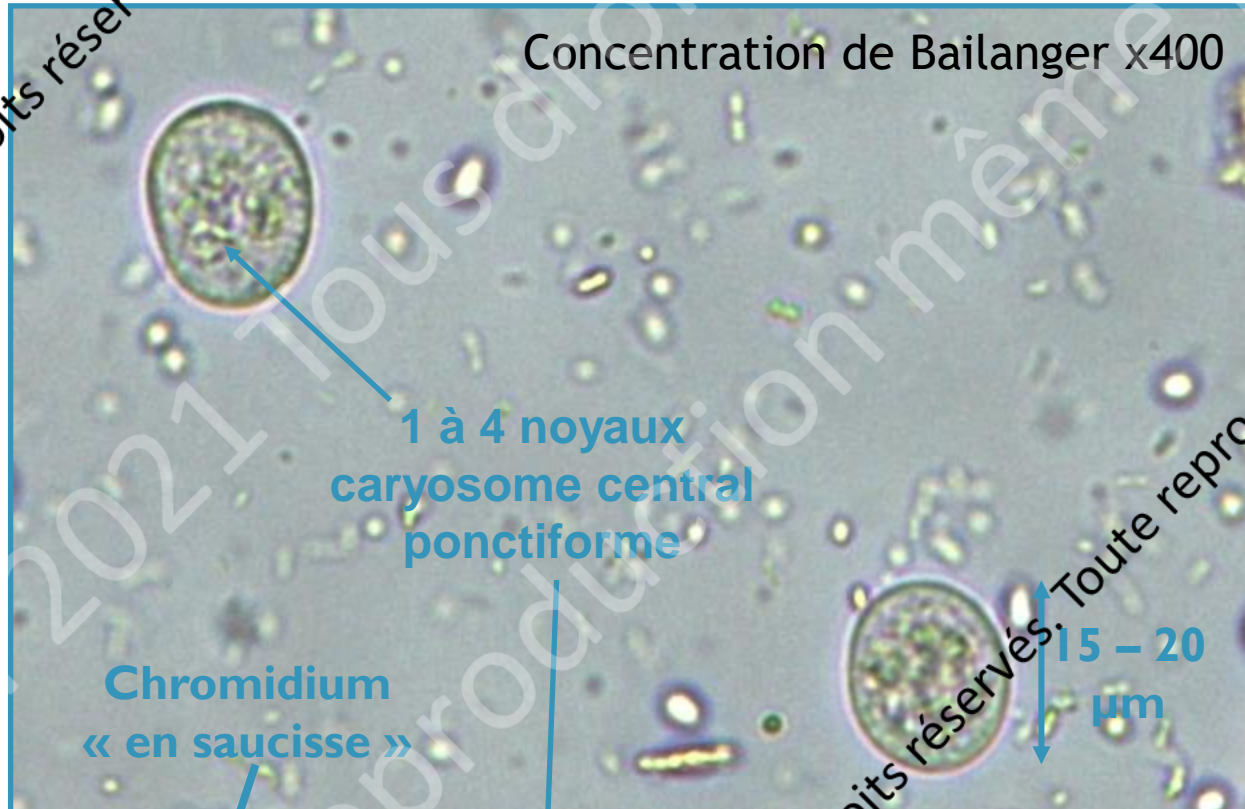
Signes cliniques

- **altération de l'état général**
- **douleurs à l'hypocondre droit**
- **diarrhées glaireuses > une semaine**

Explorations biologiques

- **protéine C-réactive (CRP) = 183 mg/L**
- **polynucléaires neutrophiles (PNN) = 13,36 Giga/L**
- **recherche bactériologique non contributive**
- **examen parasitologique des selles (EPS) = 1 seul positif / 3**

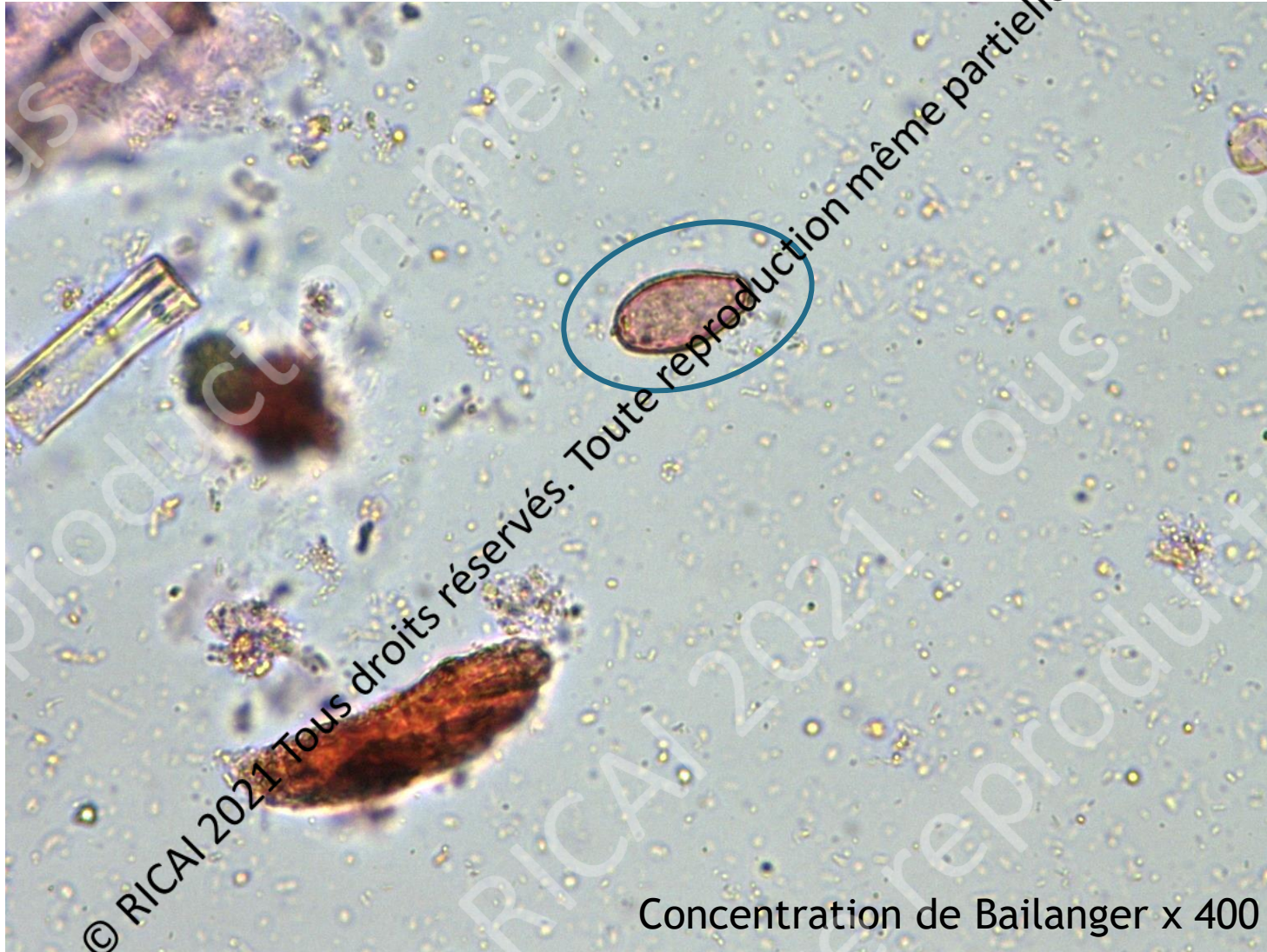
Diagnostic retenu = amébose intestinale à *Entamoeba histolytica* (confirmé par PCR)



Traitement anti-amibien

- tinidazole 2 g en cure minute
- contrôle parasitologique à distance

Examen parasitologique des selles de contrôle à un mois

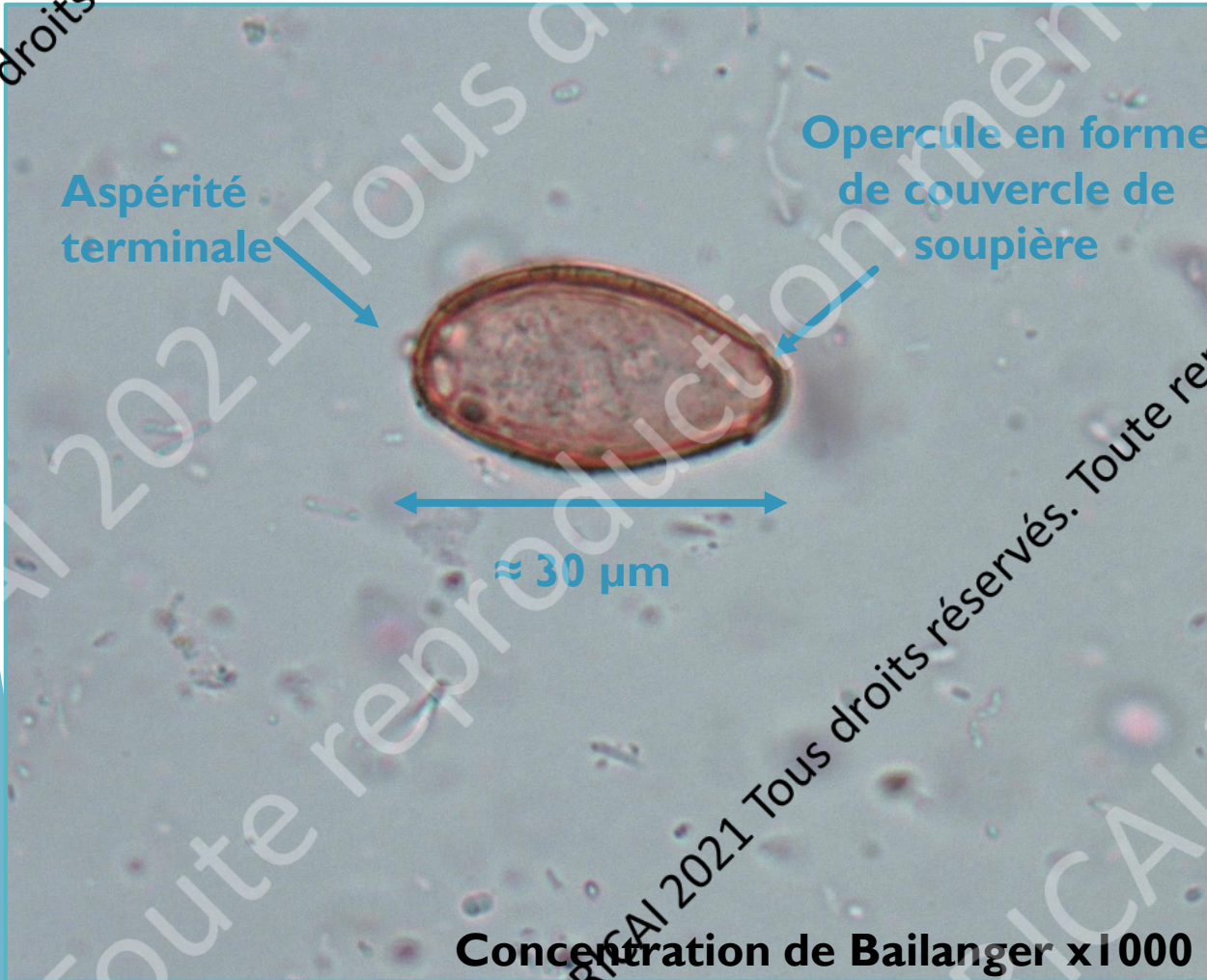


Concentration de Baillenger x 400

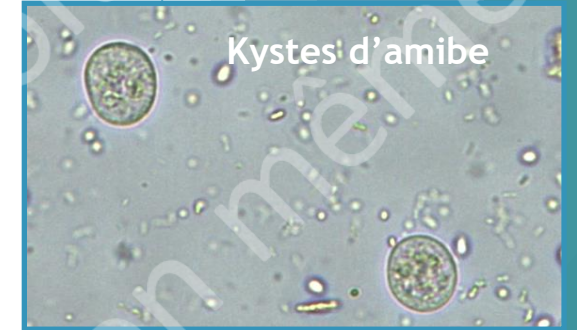
A vous de participer ...

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

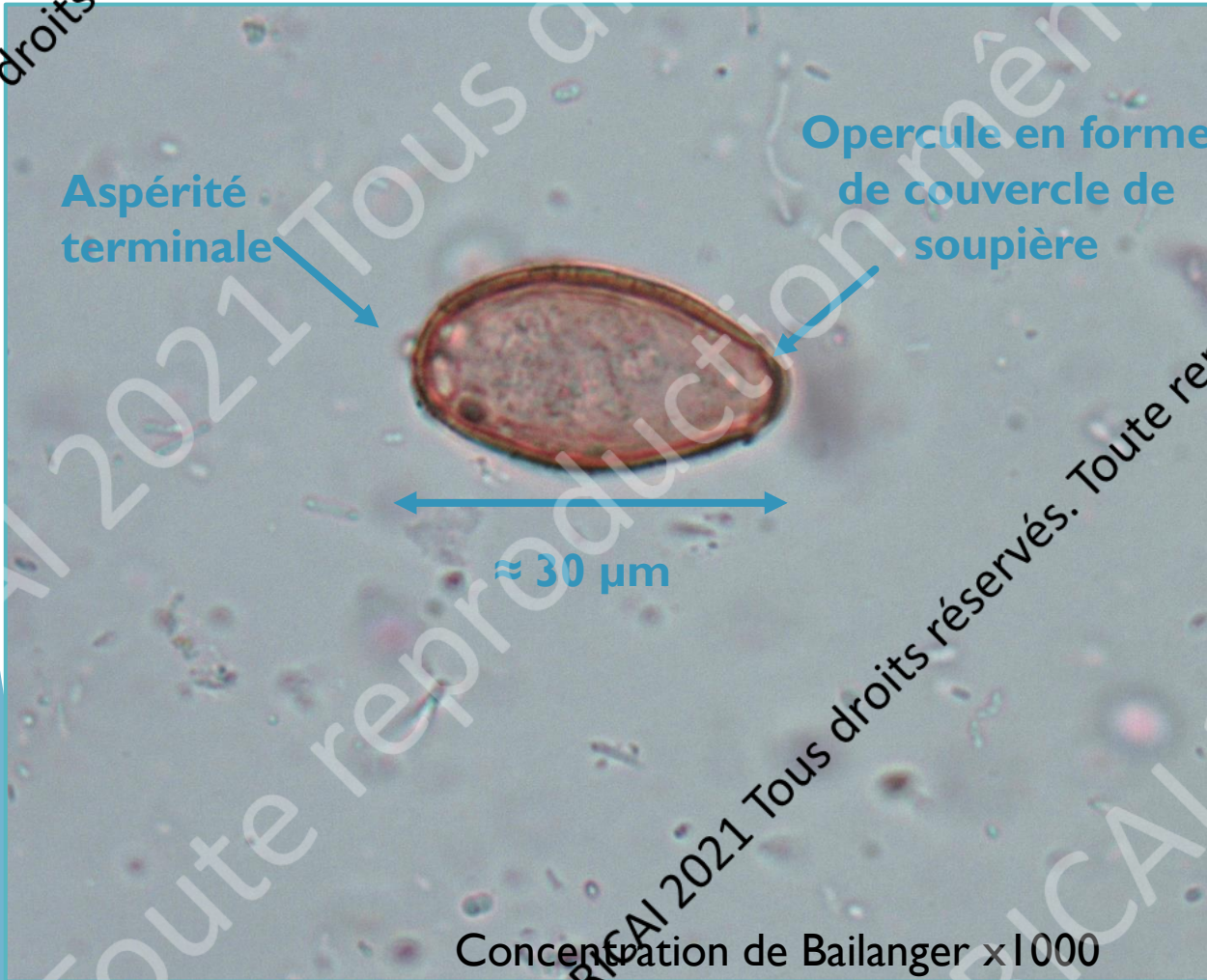
Diagnostic retenu = distomatose hépato-biliaire à *Clonorchis sinensis*



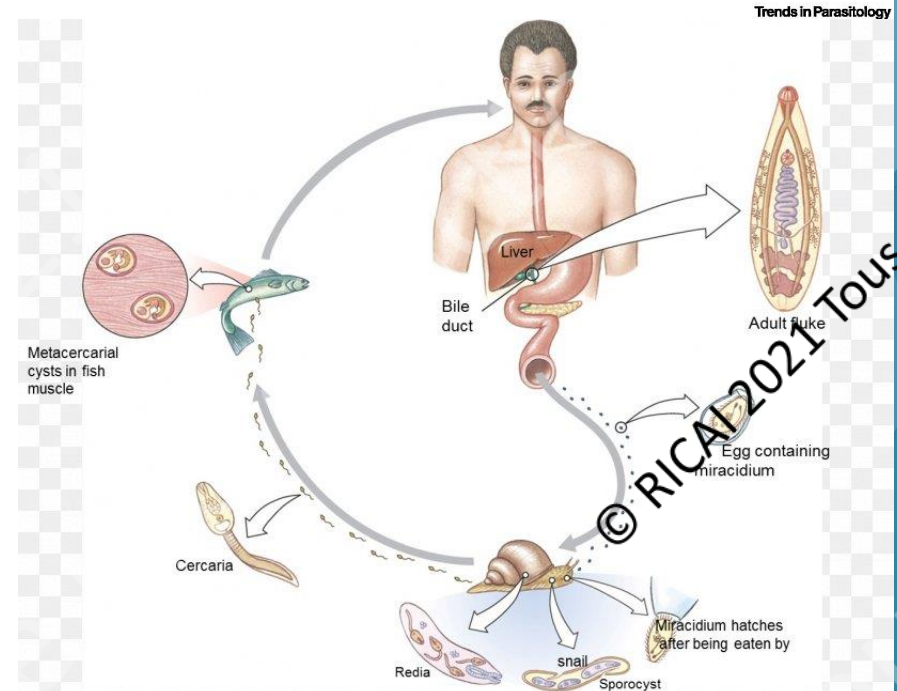
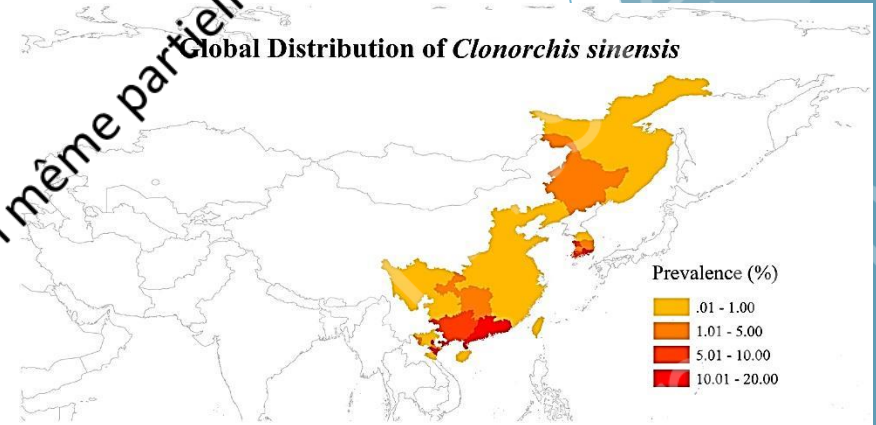
Concentration de Baillenger x1000



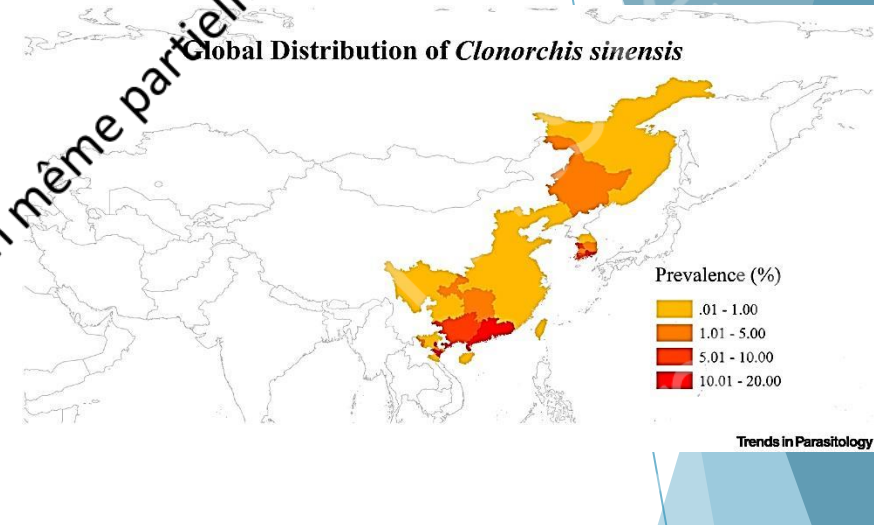
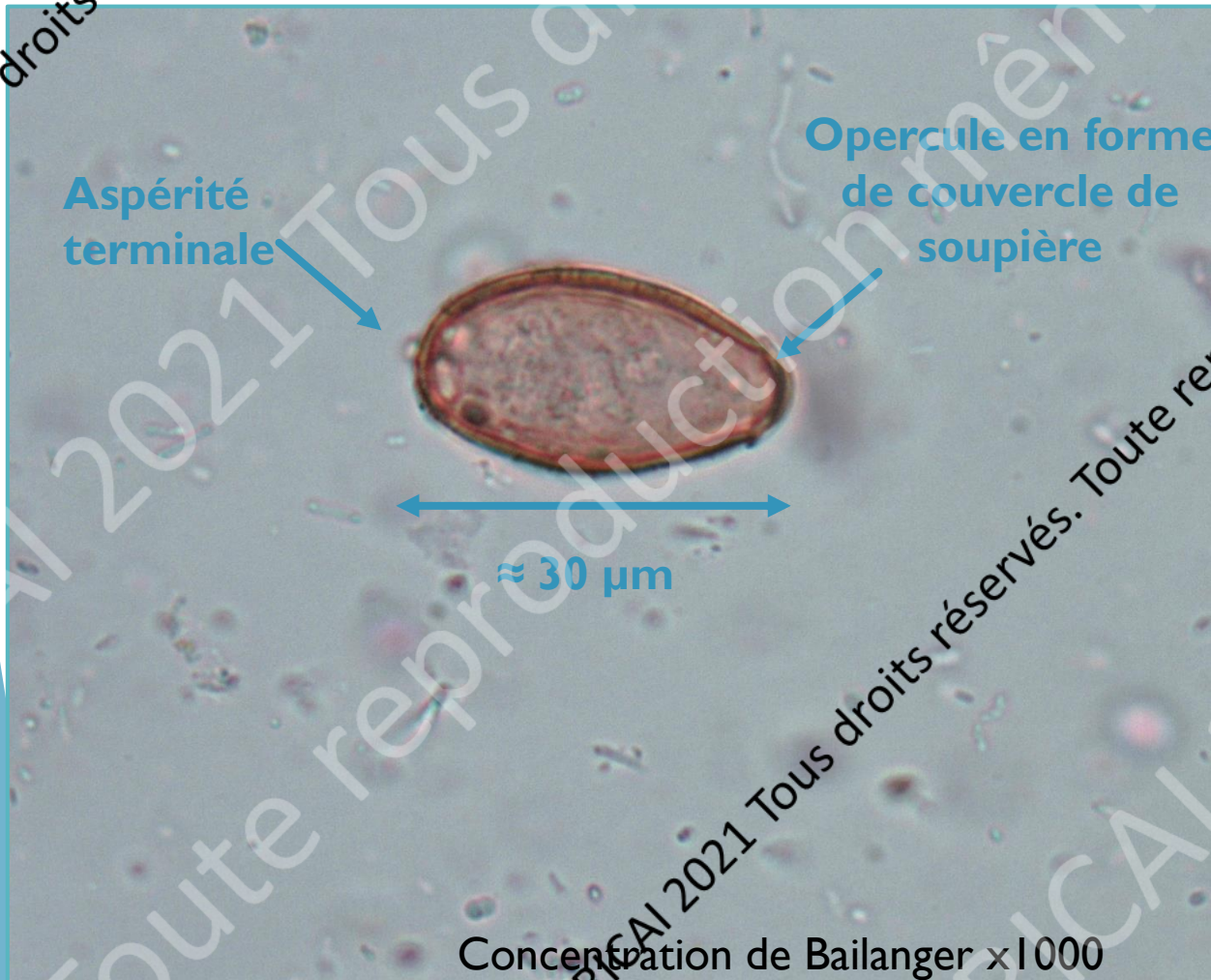
Diagnostic retenu = distomatose hépato-biliaire à *Clonorchis sinensis*



Concentration de Bailanger x1000



Diagnostic retenu = distomatose hépato-biliaire à *Clonorchis sinensis*



Traitement antidistomien

- praziquantel 75 mg/Kg en cure minute journalière (en trois fois)

Conclusion

- **EPS à examiner immédiatement et à répéter**
- **éviter les laxatifs et s'interroger sur les repas de la veille**
- **se méfier des faux-amis et se rappeler du catalogue parasitaire**

Selles du jour émises dans un pot de recueil propre (à température ambiante)





Figure 1 Rice body elements. (A) Dissection of the left hip compartment showing multiple surrounding white bodies. (B) Same hip after removing the superficial white bodies. (C) Numerous rice body-like structures removed from the hip prosthesis.

Femme 58 ans avec coxarthrose

- Douleurs chroniques post-PTH

IRM et ponction non contributives

Remplacement de la PTH



Figure 1 Rice body elements. (A) Dissection of the left hip compartment showing multiple surrounding white bodies. (B) Same hip after removing the superficial white bodies. (C) Numerous rice body-like structures removed from the hip prosthesis.

Femme 65 ans avec fibrome utérin

- Résection chirurgicale sans complication
- Aspiration du liquide péritonéal

Femme 58 ans avec coxarthrose

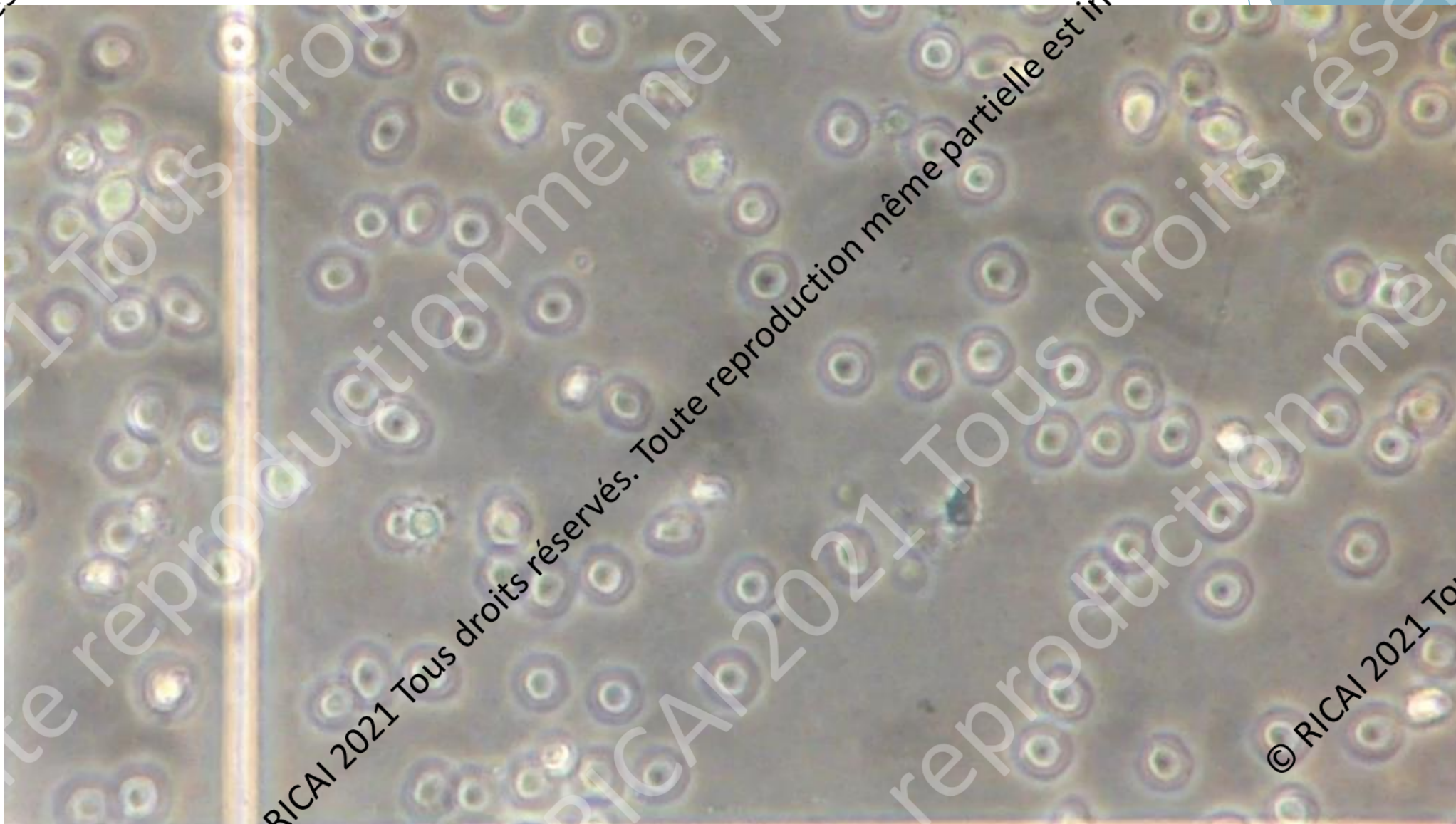
- Douleurs chroniques post-PTH

IRM et ponction non contributives

Remplacement de la PTH

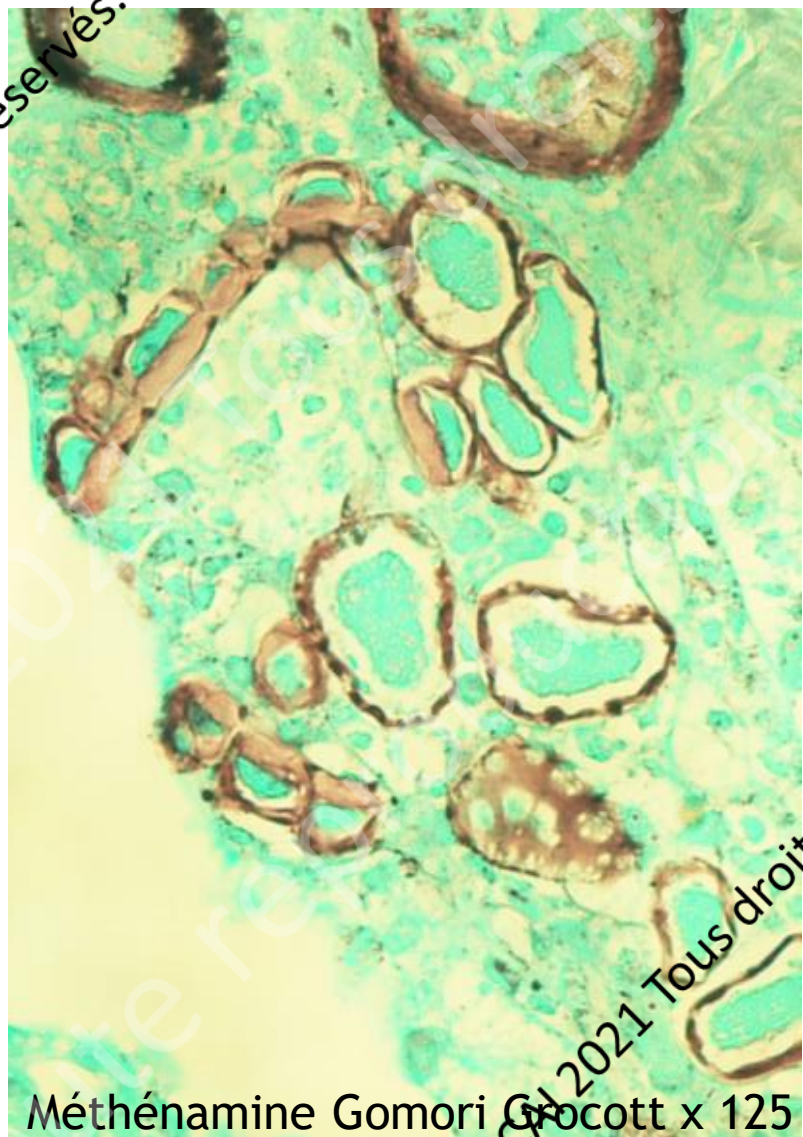


Figure 2 Observation of ciliocytophthoria particles at the fresh mounting examination $\times 400$. Ciliocytophthoria artefacts are degenerated from bronchial cells and each one is constituted by the nucleus (nc) with small cytoplasm that bears the cilia (ci). The latter arise from the terminal bar (tb).



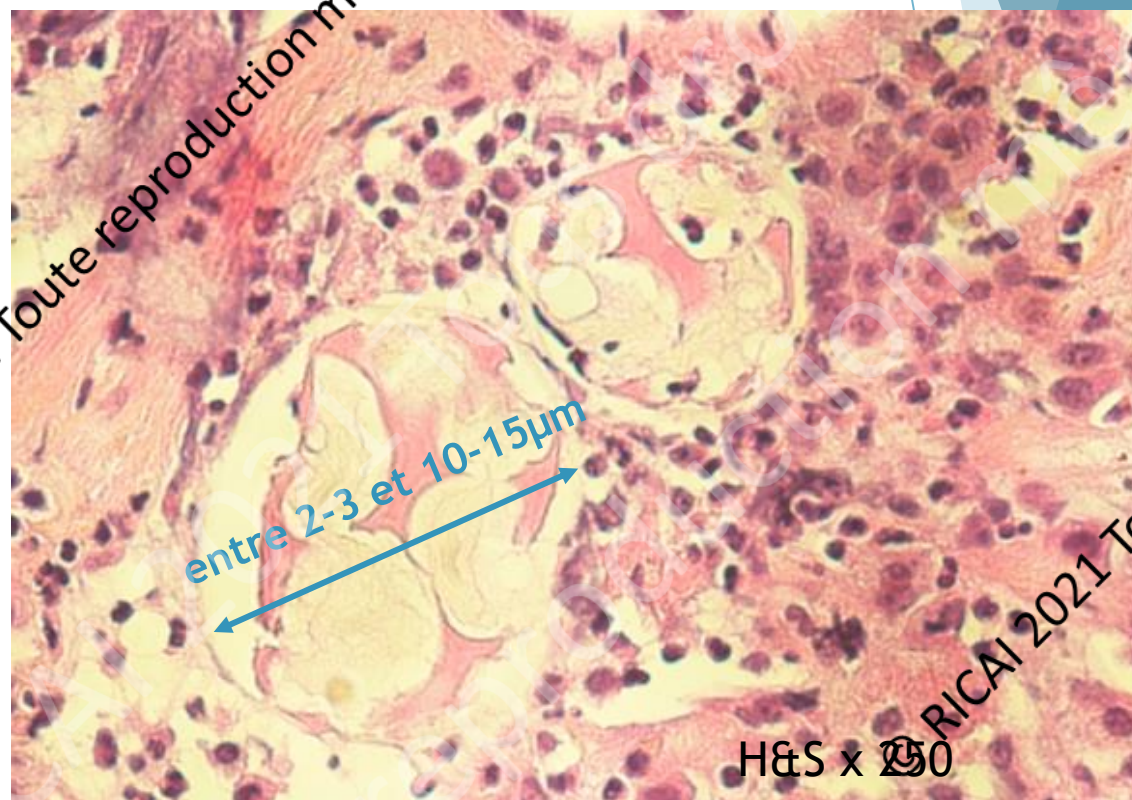
© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.



Homme 58 ans mort spontanément

- Autopsie



Femme de 59 ans a passé deux semaines en zone rurale sénégalaise. Elle a de la fièvre à 40°C à partir du lendemain du retour, surtout perceptible le soir, a duré six jours, puis est revenue 7 jours plus tard. Ressent aussi des myalgies et céphalées.

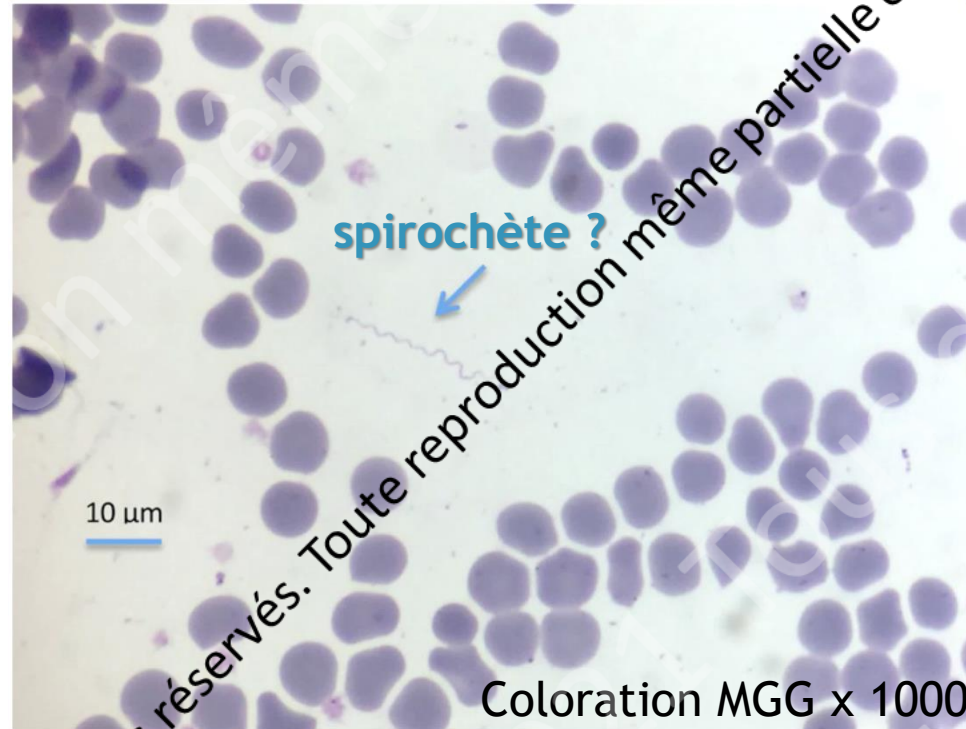
Interrogatoire

- prophylaxie antipaludique par atovaquone – proguanil bien observée
- vaccination à jour pour hépatite A et B, fièvre jaune et méningite

Signes biologiques

- numération - formule sanguine (NFS) normale
- recherche sérique négative pour Dengue, Chikungunya, CMV et HIV
- immunité ancienne pour EBV et toxoplasmose
- 1^{ère} recherche de paludisme négative

Frottis sanguin mince (2^{ème} recherche de paludisme à 48H)



Séquençage région 16S rRNA

- similitudes = 100 % avec souche *B. crocidurae* (435 pb)

Traitement antibiotique

- doxycycline 100 mg 2/ jour pendant 7 jours

© RICA I 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Merci

