

Amplification génomique multiplex ou le diagnostic syndromique: prêt pour la clinique ?

F. Bally, A. Dumoulin, Institut Central des Hôpitaux, Hôpital du Valais, Sion

Les progrès du diagnostic par biologie moléculaire (DBM), basé sur la mise en évidence d'ADN ou d'ARN d'un agent infectieux, permettent désormais de détecter une vingtaine de cibles en une fois et dans un seul échantillon. Ces techniques appelées aussi PCR multiplex sont utilisées notamment pour le diagnostic des infections respiratoires ou des gastro-entérites. D'autres exemples sont: le diagnostic des infections sexuellement transmissibles, de la méningite et des pneumonies. Afin d'être utile au clinicien et au patient, le résultat doit être disponible rapidement, interprétable dans le contexte clinique et avoir une conséquence, idéalement la prescription d'un traitement ou au minimum la pose d'un diagnostic permettant d'éviter d'autres investigations. Les bénéfices de ces méthodes sont à mettre en relation avec leurs coûts, actuellement peu réglementés et souvent très élevés, et le risque de résultats sans relevance clinique.[1]

Infections intestinales

Le diagnostic des infections intestinales se base sur une multitude de techniques (tableau 1), incluant la culture, l'examen direct par microscopie, les méthodes moléculaires ou des techniques sérologiques. Difficilement automatisable et exigeant, ce faisceau de tests entraîne, de plus, des coûts combinés élevés. L'examen direct par microscopie, une méthodologie datant du 19^e siècle et peu modifiée depuis, souffre d'une sensibilité moindre en comparaison avec l'amplification génomique, mais a aussi d'autres désavantages. De même, la culture, bien que pratiquement aussi sensible que le DBM, ne permet pas de distinguer les *E. coli* commensales des souches pathogènes, notamment ETEC et EHEC.

	Avantage	Désavantage
Microscopie	Rapide	Sensibilité moindre Exigeant (expérience nécessaire) et pas automatisable Met en évidence des amibes apathogènes, morphologiquement identique ou similaires (par exemple : <i>Entamoeba dispar</i>)
Culture	Sensible Polyvalente (détecte tous les agents cultivables)	Résultat après 24 à 48 heures seulement
Sérologie	Rapide	Sensibilité dépendante de la phase de la maladie (problème de la fenêtre sérologique)
Diagnostic par biologie moléculaire	Rapide Sensible Spécifique	Ne distingue pas une infection d'un simple portage. Ne détecte que les pathogènes compris dans le panel choisi. Pas d'antibiogramme. Coût souvent élevé.

Tableau 1 : avantages et désavantages des différentes méthodes

Les méthodes de DBM sont généralement caractérisées par une très haute sensibilité, qui permet plus souvent de détecter un pathogène, comme par exemple dans le cas de la détection de *Giardia duodenalis*, où les méthodes moléculaires sont trois fois plus sensible que les méthodes traditionnelles.[2] Cette sensibilité peut cependant être un désavantage dans certains cas, car elle ne permet pas de distinguer entre un agent pathogène provoquant des symptômes, ou un agent présent mais inactif (colonisant). Ceci explique en partie l'augmentation constatée par l'OFSP des déclarations d'*E. coli* entérohémorragiques (EHEC) bien que les cas de maladie (p.ex. syndrome hémolytiques-urémique) n'augmentent pas.[3]

Pour les gastroentérites aiguës d'une durée de moins de 7 jours, sans fièvre ni sang dans les selles (avec traitement symptomatique), aucune investigation n'est recommandée.[4] En cas de fièvre ou de sang dans les selles, la culture des selles classique ou une méthode de biologie moléculaire ne mettant en évidence que les bactéries entéro-pathogènes les plus fréquentes (tableau 2) restent les méthodes de choix, en absence d'histoire de voyage et d'immunosuppression. Une recherche de *C. difficile* peut être indiquée en cas d'exposition récente à des antibiotiques. La recherche de Norovirus n'est recommandée que pour l'investigation d'épidémies de gastroentérites dans des institutions.

Chez les patients revenant d'un voyage ou avec des diarrhées persistantes, le spectre de pathogènes est plus large.[5] Pour les patients immunosupprimés la recherche de pathogènes particuliers s'impose (tableau 2) rendant le DBM multiplex intéressant même en première intention. En cas de diarrhées persistant plus de 3 semaines, le DBM et un examen spécialisé sont recommandés à la recherche de maladies de type entéropathie inflammatoire, malabsorption, cœliaquie, insuffisance pancréatique, intolérances alimentaires, hyperthyroïdie, etc.

Infections respiratoires

Le DBM multiplex n'est pas utile chez des patients habituellement en bonne santé, se présentant chez le médecin de premier recours avec une infection des voies respiratoires, hautes ou basses. De toutes les infections courantes avec des virus respiratoires, la grippe est celle qui a le plus de complications et est aussi la seule traitable. Durant la période de grippe saisonnière, chez les patients hospitalisés, les tests diagnostiques devraient se limiter à la recherche du virus Influenza, pour autant que les symptômes soient récents (bénéfice du traitement si < 5 jours chez le patient hospitalisé). Chez le patient ambulatoire à risque de complications (femmes enceintes, personnes âgées ou atteintes de maladies chroniques), la recherche des virus Influenza A et B peut être utile si les symptômes sont récents (bénéfice du traitement si < 48h). Un traitement empirique est alors recommandé en attendant le résultat (oseltamivir).

La recherche d'autres virus respiratoires (Parainfluenza, RSV etc.) peut se justifier dans des cas particuliers, notamment lors d'infections sévères chez des patients immunosupprimés nécessitant des soins intensifs. Pour les enfants hospitalisés, le diagnostic du virus syncytial respiratoire (RSV) permet, par la prise de mesures d'isolement, de limiter la transmission nosocomiale.

En cas de pneumonie, la culture des expectorations et les hémocultures se discutent uniquement pour les patients hospitalisés, toujours en combinaison avec la recherche d'antigènes urinaires de *Legionella* et *Streptococcus pneumoniae*. L'utilisation du DBM pour le diagnostic des pneumonies est prometteur, mais cette approche nécessite encore d'être confirmée.[6]

Syndromes	Recommandations de prescription des tests	Pathogènes à rechercher en première intention	Pour aller plus loin
Infections intestinales	Aucune investigation en cas de diarrhée de moins de 7 jours, sans fièvre, ni sang dans les selles.	<i>Campylobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> par culture ou PCR	Retour de voyage : <i>E. coli</i> pathogènes (ETEC, EPEC, EAEC, EHEC), <i>Yersinia</i> , <i>Vibrio</i> <i>Amibes</i> , <i>Giardia</i> , <i>Cryptosporidium</i> Cas particuliers : <i>Vibrio</i> , <i>Strongyloides</i> , helminthes, <i>Dientamoeba fragilis</i> , <i>Isospora belli</i> Patients immunosupprimés : <i>Yersinia</i> , <i>Cryptosporidium</i> , <i>Microsporidium</i> , <i>Blastocystis hominis</i> , <i>Isospora belli</i> , <i>Cyclospora</i>
Infections respiratoires	Patient ambulatoire: aucune investigation		Patients à risque de complication ou hospitalisés PCR Influenza Patients immunosupprimés : Panel multiplex pour virus respiratoires

Tableau 2 : tests recommandés pour des syndromes fréquents en médecine ambulatoire

Conclusions

Les panels d'analyses par biologie moléculaire (PCR multiplex) ont l'avantage de permettre la détection d'un large spectre de pathogènes dans un seul prélèvement. Cependant, ces panels d'analyses ne devraient être appliqués qu'à des cas choisis, selon la clinique et les circonstances (p.ex. sévérité, voyage, immunosuppression). Le clinicien doit être conscient qu'en demandant ces tests, il pourra être confronté à des résultats inattendus dont l'interprétation pourrait être complexe. Dans certains cas des tests de confirmation sont nécessaires. Utilisés de manière rationnelle, ces instruments de diagnostics peuvent cependant être une aide précieuse.

Références

- [1] Schrenzel J. White paper on molecular diagnostic panels in microbiology. *Pipette*. 2019(1):21-2.
- [2] Stensvold CR, Nielsen HV. Comparison of Microscopy and PCR for Detection of Intestinal Parasites in Danish Patients Supports an Incentive for Molecular Screening Platforms. *J. Clin. Microbiol.* 2012 Feb;50(2):540-1.
- [3] Augmentation inattendue du nombre de déclarations d'infections à *E. coli* entérohémorragique ces derniers mois en Suisse. *Bull OFSP*. 2015(52):987-9.
- [4] Bellini C, Dumoulin A. Prise en charge ambulatoire de la diarrhée aiguë. *Rev. Med. Suisse*. 2018 Oct 10;14(622):1790-4.
- [5] Gétaz L, Chappuis F, Loutan L. Parasitoses intestinales et hépatiques : diagnostic et traitement. *Rev. Med. Suisse*. 2007 May 16;3(111):1254-8.
- [6] Gadsby NJ, Russell CD, McHugh MP, Mark H, Morris AC, Laurenson IF, et al. Comprehensive Molecular Testing for Respiratory Pathogens in Community-Acquired Pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 2016 Apr 1;62(7):817-23

Personnes de contact

Dr Frank Bally
Dr Alexis Dumoulin

frank.bally@hopitalvs.ch
alexis.dumoulin@hopitalvs.ch