

## La CRENO Bretagne

- ① Qui ?
- ② Où ?
- ③ Pourquoi ?
- ④ Comment ?
- ⑤ Combien ?
- ⑥ Quoi ?

## La CRENO Bretagne : qui ?

- Responsable d'UF : Geneviève HERY-ARNAUD (MCU-PH)
- Coordination médicale : Nicolas ROUZIC (PH)
- Coordination biologique : Florence LE GALL (AHU)
- Biologistes référents
  - Bactériologie (antibiorésistance) : Didier TANDE (PH)
  - Bactériologie (typage moléculaire) : Geneviève HERY-ARNAUD (MCU-PH)
  - Hygiène – Environnement : Florence LE GALL (AHU)
  - Virologie : Adissa MINOUI-TRAN (PH)
  - Mycologie : Solène LE GAL (AHU)

## La CRENO Bretagne : où ?

- Département de Bactériologie-Virologie, Hygiène et Parasitologie-Mycologie (Pr Christopher PAYAN)

CHRU Brest

- Laboratoire de Microbiologie (Pr Christopher PAYAN)  
UFR de Médecine de Brest - UBO

## La CRENO Bretagne : pourquoi ?

### Champs d'action

A la demande du réseau CCLIN-ARLIN, la CRENO apporte son aide aux établissements de santé et médico-sociaux de la région Bretagne.

- Etroite collaboration avec l'ARLIN Bretagne
- Laboratoire expert de proximité permettant aux établissements de disposer d'une aide rapide pour la gestion des épidémies (dans un contexte local, régional, voire interrégional)
- Ne se substitue en aucun cas aux CNR; collaboration dans les missions d'expertise, de surveillance, d'alerte et de conseil

## La CRENO Bretagne : pourquoi ?

### Rôles:

Aide microbiologique, en identifiant ou en typant rapidement les microorganismes soupçonnés d'être à l'origine de cas groupés d'infections nosocomiales ou associées aux soins

- Participation à des enquêtes spécifiques régionales ou interrégionales
- Rôle d'appui de l'ARLIN dans l'aide épidémiologique apportée aux Ets
- Participation aux formations à destination des biologistes médicaux hygiénistes, responsables signalement, organisées régulièrement par le CCLIN Ouest, l'ARLIN et les microbiologistes référents

## La CRENO Bretagne : comment ?



## La CRENO Bretagne : combien ?

Expertise **gratuite** si :

- A visée épidémiologique
- Cas groupés
- Après accord de l'ARLIN Bretagne
- Transmission d'un bon d'examen dûment renseigné

## La CRENO Bretagne : quoi ?

Domaines d'expertise:

- Typage des microorganismes
  - Typage des résistances aux ATB
  - Epidémiologie moléculaire
  - ...
- contribution des différents référents du DBVHPM

## Expertise en Bactériologie

### LES METHODES DE TYPAGE

#### PHENOTYPIQUE

Le support de la variabilité est le **caractère** qui peut prendre plusieurs états :

- Biotypes
- **Antibiotypes** (ex. OXA-48)
- Sérotypes (ex. pyo P12)

#### GENOTYPIQUE

Le support de la variabilité est une ou des **séquences nucléotidiques** ou au sens large **les gènes**.

Le **locus** est l'emplacement de cette séquence sur le chromosome et **les allèles** sont les différents variants d'une séquence pour un locus donné.  
Ex. : **Epidémiologie moléculaire**

## Expertise en Bactériologie

### TYPAGE PHENOTYPIQUE

- Pour commencer : une bonne identification
- Un diagnostic de certitude
- La base des études de la résistance

☞ **Intérêt de la spectrométrie de masse**

## Expertise en Bactériologie

### TYPAGE PHENOTYPIQUE

1/ Etude des sensibilités :

- Etude de nombreuses molécules = nombreux marqueurs de résistance
- Comparaisons possibles basées sur ces marqueurs
- Recherche des solutions thérapeutiques

2/ Recherche du mécanisme de résistances :

- Aide au choix des méthodes moléculaires
- Comparaison phénotype - génotype
- Critiques des résultats de ces méthodes moléculaires : du bon sens

## Expertise en Bactériologie

### TYPAGE PHENOTYPIQUE

**Recherche (confirmation) du mécanisme de résistances :**

- Mise en œuvre de tests phénotypiques
- recherche de synergie avec des inhibiteurs :
  - cloxacilline
  - acide boronique
  - EDTA
- détermination des CMI

## Expertise en Bactériologie

### TYPAGE PHENOTYPIQUE : exemple d'une carbapénémase



avec Acide boronique KPC

CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

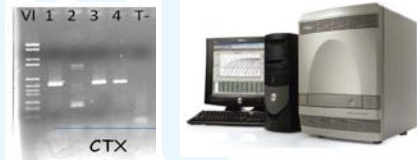
CHRU

## Expertise en Bactériologie

### TYPAGE GENOTYPIQUE

Mise en évidence des gènes de résistances par biologie moléculaire

Ex: - carbapénémases de type OXA-48, SHV-38  
-  $\beta$ LSSE de type CTX-M-15  
- ...



CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

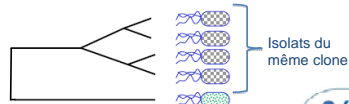
CHRU

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

**OBJECTIF** prouver la **clonalité** entre des isolats cliniques susceptibles d'être liés épidémiologiquement.

**Clone ?** Groupes d'isolats issus d'un **ancêtre commun** : **maillons d'une chaîne** directe de transmission d'hôte à hôte ou de l'environnement à l'hôte



CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

CHRU

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

**Intérêt sur le plan INDIVIDUEL** comprendre l'histoire de la maladie

#### • Infection chronique :

- Rechute ou récurrence ?

Ex. Endocardite, infection osseuse → comparaison des souches isolées à différents moments

- Implication d'une bactérie ?

Ex. comparaison d'isolats de SCN retrouvés sur une biopsie osseuse

#### • Infection aiguë : porte d'entrée ?

Identifier le foyer initial si infection disséminée

CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

CHRU

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

**Intérêt sur le plan COLLECTIF** investiguer et surveiller une épidémie (1)

• La prouver sur le plan moléculaire

• Identifier le clone épidémique

• Déterminer l'ampleur de sa diffusion dans

- l'espace (un service, un ES, une région, pays, monde)

- le temps (mois, années)

CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

CHRU

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

**Intérêt sur le plan COLLECTIF** investiguer et surveiller une épidémie (2)

Initialement, l'épidémiologie moléculaire permet :

Etude de bactéries présentant :

• un phénotype de **résistance aux antibiotiques identique**

Ex. KP BLSE

• une **pathogénicité identique**

Ex. Furunculose familiale à SARM

CREAO Bretagne

ARLIA Bretagne

CHRU

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

Intérêt sur le plan COLLECTIF investiguer et surveiller une épidémie (3)

Questions auxquelles va permettre de répondre le typage moléculaire :

- Diffusion à l'échelon locale ?
- Origine nosocomiale ? Autre ?
- Voies de contamination (personnel, environnement, matériel contaminé, ...) ?

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

#### STRATEGIES DE TYPAGE MOLECULAIRE A BREST

##### Sans PCR

- PFGE = « champ pulsé » : digestion du chromosome bactérien et migration en gel

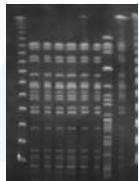
##### Avec PCR

- MLST : amplification-séquençage de 7 gènes de ménage et analyse bioinformatique (arbre phylogénétique)
- Ribotypage
- VNTR...

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

STRATEGIE DE TYPAGE MOLECULAIRE A BREST :  
le « champ pulsé » (PFGE) : épidémiologie locale



Ex. Identification d'un clone de *K. pneumoniae* BLSE  
→ Mise en évidence d'un **pulsotype identique** pour tous les isolats = **même profil de bandes**

- Envoi groupé des souches avec les antibiogrammes
- Délai de réponse : 3 semaines
- Conservation des souches

## Expertise en Bactériologie Moléculaire

### EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

STRATEGIE DE TYPAGE MOLECULAIRE A BREST :  
Le MLST : épidémiologie locale + mondiale



Ex. Identification d'un clone épidémique de *B. cenocepacia*  
→ Mise en évidence d'un **même Sequence Type, ST 31**  
→ **Clone de diffusion mondiale**  
→ **Source environnementale écartée**

- Envoi groupé des souches avec les antibiogrammes
- Délai de réponse : 3 semaines
- Conservation des souches

## Environnement

### Contexte épidémique

Recherche de la bactérie en cause dans l'environnement des patients infectés ou colonisés (source de contamination?)

Idem/matériel contaminé

### Objectif

Prouver la clonalité par comparaison des souches cliniques et environnementales



## Apport de la Virologie

### 1 Diagnostic de l'agent étiologique d'une épidémie de gastro-entérites

#### - Collectivités de personnes âgées

##### Recherche de NOROVIRUS

Test rapide (immunochromatographie) : Une heure \*  
Recherche d'ARN (RT-PCR temps réel) : 3 à 5 jours  
Typage (séquençage) : si nécessaire

#### - Unités d'hospitalisation

##### Détection des toxines A et B de *C. difficile*

Détection de glutamate déshydrogénase (GDH) : Une heure \*  
Valeur prédictive négative : 99,3%  
Valeur prédictive positive : 53%  
En cas de positivité,  
Détection des Toxines A/B (techniques immuno-enzymatique et/ou génomique)

## Apport de la Virologie

### ② Diagnostic de l'agent étiologique d'une épidémie d'infections respiratoires

#### Diagnostic des Virus grippaux A et B

Diagnostic rapide (immunochromatographie) : Une heure \*

En cas de négativité, et en période épidémique, complétés par:

Détection génomique (RT-PCR temps réel) : 1 à 2 jours \*

#### Autres Virus respiratoires

Virus parainfluenza  
Virus respiratoire syncytial (VRS)  
Rhinovirus  
Métagpneumovirus  
...

CRENO | ARLIA

\* Du Lundi 8h00 au Samedi 12h00



## Parasitologie et Mycologie

### *Pneumocystis jirovecii*

- Détection de *P.jirovecii* dans les prélèvements respiratoires  
PCR en temps réel  
Délai < 1 semaine
- Typage moléculaire de *P.jirovecii* (1)  
MLST (ITS1&2, DHPS, mtLSUrRNA)  
Délai 4 semaines
- Détection et typage de *P.jirovecii* dans des prélèvements d'air (2)  
Prélèvements d'air par impaction en milieu liquide  
PCR en temps réel  
MLST  
Délai < 1 semaine pour la détection, 4 semaines pour le typage

CRENO | ARLIA



## Parasitologie et Mycologie

### Champignons filamenteux et levures

- Identification de souches fongiques  
Spectrométrie de masse, identification moléculaire  
Délai de 24h (spectrométrie) à 2 semaines (identification moléculaire)
- Détermination de la sensibilité aux antifongiques  
Méthode des E-tests  
Délai 24-48h

### *Acanthamoeba* spp.

- Détection d'*Acanthamoeba* spp.  
Microscopie, culture, PCR en temps réel  
Délai <48h (microscopie, PCR), jusqu'à 1 mois (culture)

CRENO | ARLIA



Pour toute demande d'expertise:

ARLIN Bretagne / CRENO Bretagne

02.98.22.34.66

creno.bretagne@chu-brest.fr

CRENO | ARLIA



ARLIN  
Bretagne  
Antenne Régionale  
de Lutte contre les Infections Nosocomiales

Lorem ipsum dolor sit amet,  
consectetur adipiscing elit,  
sed do eiusmod tempor incididunt  
ut labore.

HÔPITAUX

ÉTABLISSEMENTS  
SOCIAUX

Usagers

Contact