

Avril 2016

Sommaire :

- Clostridium difficile
- Onychomycoses
- hCG chez l'homme
- A jeun ?

Biolyss recherche

C. difficile par biologie moléculaire



Clostridium difficile

L'incidence des infections à *Clostridium difficile* a beaucoup augmenté ces dernières années justifiant l'importance d'un diagnostic rapide et fiable.

Celui-ci repose sur la mise en évidence des toxines ou d'une souche toxigène directement à partir des selles diarrhéiques. De nombreux tests sont disponibles détectant soit les toxines (toxine A, enterotoxine, Toxine B, cytotoxine) soit la bactérie ou ses composants soit les gènes des toxines.

Clostridium difficile est un bacille à gram positif, sporulé, anaérobie strict, retrouvé dans l'environnement ainsi que dans l'intestin de l'homme et de l'animal. Cette bactérie est responsable de 10 à 25% des diarrhées associées aux antibiotiques et de 95% des colites pseudo-membraneuses. Elle est la première cause de diarrhées infectieuses nosocomiales chez l'adulte dans les pays industrialisés. La transmission de *C. difficile* se fait à partir des mains contaminées ou de l'environnement où ses spores résistantes aux traitements de désinfection classiques, peuvent persister pendant des mois.

Les principaux facteurs de risque sont:
- Age >65 ans
- Prise d'antibiotiques

- Antécédents d'hospitalisation. Cependant des cas sont rapportés chez des sujets à faible risque : enfants, femmes enceintes, sujets en bonne santé sans antécédent d'hospitalisation ou sans exposition préalable à un traitement antibiotique.

Portage asymptomatique :
- fréquent chez les enfants de moins de 2 ans (30-80%) sans aucune preuve du rôle pathogène à cet âge.
- au-delà de 2 ans et adulte, estimé à <3 %.

En pratique quand demander une recherche de *Clostridium difficile* ?

Sur prescription explicite :
◇ Devant une diarrhée avec facteurs de risque d'infection à *C. difficile*

◇ Devant une diarrhée chez des patients hospitalisés depuis plus de 3 jours.

◇ Devant une colite pseudo-membraneuse.

◇ Devant une diarrhée aiguë d'origine communautaire.

Le prélèvement à faire réaliser : selles, qui doivent être non moulées, prenant la forme du pot. A apporter au laboratoire dans la journée (conserver au réfrigérateur en attendant).

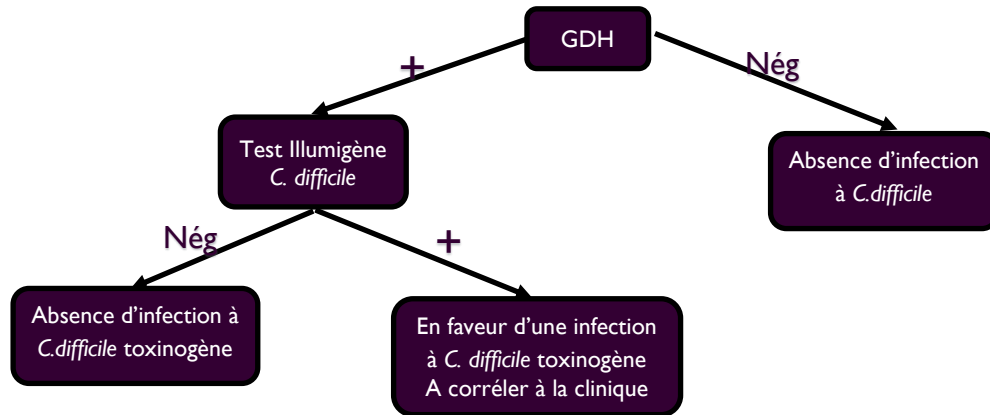
Que fait le laboratoire en cas de prescription explicite de *Clostridium difficile* (voir figure 1)?

◇ Détection de la GDH (Glutamate deshydrogénase) : test de très bonne sensibilité avec excellente valeur prédictive négative. Un résultat négatif permet d'exclure le diagnostic d'infection à *Clostridium difficile* (ICD).

◇ En cas de résultat positif au test de GDH, un test de confirmation est indispensable : Biolyss a choisi une méthode moléculaire, le test Illumigène qui utilise la technique de l'amplification isotherme de l'ADN facilitée par boucle (ou loop-mediated isothermal DNA amplification (LAMP)) et cible une partie conservée du gène de la toxine A présente chez les souches toxigènes y compris les souches Toxine A- Toxine B+.

Le test est à la Nomenclature des Actes de Biologie médicale, remboursé B60 soit 16.20€.

Références: REMIC 2015; Diagnostic des infections à *Clostridium difficile*, Eckert C et al., Journal des anti-infectieux, 2011



Un résultat positif doit faire l'objet d'un isolement et de la mise en place de précautions « contact »

Figure 1: algorithme diagnostique de l'infection à *Clostridium difficile*

Les dermatophytes sont les plus fréquemment isolés



L'existence d'une atteinte clinique d'un ongle (onychopathie) ne signifie pas onychomycose : cette dernière représente de 18 à 50 p. 100 des onychopathies. Les autres causes sont le fait des traumatismes, d'affections dermatologiques ou générales : psoriasis, etc.

Une onychomycose est définie comme une infection fongique de l'appareil unguéal.

L'atteinte du pied est la plus fréquente, essentiellement le gros orteil. Il s'agit surtout d'une maladie de l'adulte : sa prévalence est de 30 p. 100 après 70 ans. Elle demeure rare chez l'enfant. Une atteinte familiale est fréquente.

Le groupe de travail de la Société française de dermatologie, pour la prise en charge des onychomycoses, recommande « L'obligation d'un prélèvement mycologique systématique, fait avec une technique rigoureuse dans un laboratoire qui a l'habitude de ces prélèvements, avant tout traitement local et à fortiori systémique. Le laboratoire doit fournir les résultats de l'examen direct et de la culture »

Le traitement doit tenir compte du résultat du prélèvement : plusieurs espèces de

champignons sont responsables. Il s'agit de **dermatophytes** ou pseudodermatophytes (prédominant aux pieds), de **levures** du genre *Candida* (prédominant aux mains, parfois classé en maladie professionnelle) et de **moisissures**. La réalité de l'infection pour ces dernières est parfois difficile à affirmer.

Les espèces fongiques les plus fréquemment isolées d'un ongle pathologique sont:

◇ **Dermatophytes** : *Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes var interdigitale*

◇ **Levures** : *Candida albicans*, *Candida parapsilosis*

◇ **Moisissures** : *Scopulariopsis brevicaulis*, *Acremonium sp.*, *Fusarium sp.*

La **transmission** est souvent interhumaine pour les dermatophytes. Il existe de nombreux facteurs favorisants : facteurs immunitaires, génétiques, et surtout environnementaux : pratique sportive (piscine, sports de combat, marathoniens, etc.), profession (militaires, mineurs, maîtres-nageurs) et mode de vie (port de chaussures fermées), patho-

logies (psoriasis, diabète, troubles trophiques des membres inférieurs chez les sujets âgés, présence d'un hallux valgus, traitement systémique corticoïde)...

La **Clinique** dépend du lieu de pénétration de l'agent infectieux et du stade évolutif. Elle comprend cinq types :

◆ L'onychomycose sous-unguéale

◇ distolatérale : la plus fréquente ; elle est provoquée dans la majorité des cas par un dermatophyte.

◇ proximale : rare, sur un terrain immunodéprimé, polydactylique

◆ La leuconychomycose superficielle (dermatophyte, ou moisissure). Le champignon pénètre la tablette unguéale, après un traumatisme local ou une macération.

◆ L'onychomycodystrophie totale (dite secondaire) est le stade ultime des variétés précédentes. Elle traduit l'envahissement progressif et la destruction de toute la tablette unguéale. Un perionyxis peut être observé en particulier dans certaines infections (moisissures).

◆ L'onychomycose candidosique débute habituellement par un perionyxis d'évolution subaiguë ou chronique, souvent douloureuse lors de son installation. Elle survient principalement au niveau des ongles des doigts. Elle peut être primaire (due presque toujours à *C. albicans*) ou secondaire (due à diverses espèces de *Candida*).

Principaux diagnostics différentiels

- ◇ Les dystrophies unguéales mécaniques et le psoriasis unguéal sont les principaux diagnostics différentiels à évoquer devant une onychomycose sous unguéale latérodistale, résultant de troubles de la statique (hallux erectus,...).
- ◇ lichen plan, pelade, érythrodermie peuvent être discutés. Cependant, les localisations unguéales de ces dermatoses s'intègrent dans un cadre plus général de la maladie.
- ◇ Certaines onychodystrophies pluridigitales sont liées à des microtraumatismes. Il ne faut pas méconnaître une tumeur maligne de l'ongle.
- ◇ Il faut parfois évoquer une maladie systémique (dysfonctionnement thyroïdien, sarcoïdose...)

Attention, l'association d'une onychomycose et d'une onychopathie d'autre étiologie est toujours possible !!!

Le prélèvement mycologique

La fenêtre thérapeutique doit être de trois mois en cas de

traitement local par une solution filmogène, un vernis, ou un traitement systémique. Elle peut être réduite à 15 jours en cas d'application de crème antifongique.

Le prélèvement, réalisé de préférence au laboratoire, est adapté à la symptomatologie clinique afin que l'échantillon soit recueilli au sein de la zone infectée où le champignon est vivant. Cet examen peut être désagréable, mais il n'est pas réellement douloureux ni invasif.

Récupérer des ongles ne présente pas d'intérêt puisque cette partie est morte : il faut collecter des squames, recueillir du matériel à la partie interne de l'ongle, où le champignon prolifère.

Si des filaments sont observés à l'examen direct, cet examen direct confirme en quelques heures l'origine mycosique de l'onychomycose. Un examen direct négatif n'exclut pas le diagnostic et seule la culture, plus sensible, permettra l'identification précise du champignon responsable (genre et espèce) et d'adapter le traitement. Le temps de développement des colonies fongiques est variable : quelques jours pour les levures et les moisissures, deux à quatre semaines pour les dermatophytes : ce qui justifie une conservation des cultures pendant 45 jours.

L'interprétation des résultats

Les résultats de l'examen mycologique doivent être interprétés pour conclure ou non à une onychomycose. En général, il existe une bonne concordance entre le résultat de l'examen direct et celui de la culture.

En cas d'examen direct positif et de culture pure d'une moi-

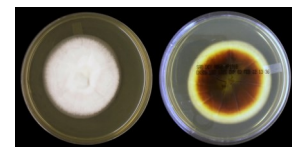
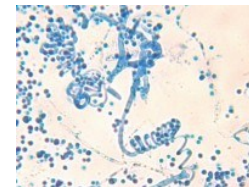
sisure, il sera nécessaire pour valider le diagnostic d'onychomycose de renouveler l'examen à la recherche de la même moisissure, à l'exception d'une leuconychie.

En cas d'examen direct positif et de culture négative, un nouveau prélèvement pourra être indiqué en sachant que la négativité des cultures, du fait de l'ancienneté des lésions ou d'applications antérieures insuffisantes ou mal adaptées d'antifongiques n'infirme en rien le diagnostic quand l'examen microscopique est positif.

Enfin, l'antifongigramme n'a aucun intérêt en l'absence de méthodes évaluées. Les échecs thérapeutiques observés ne sont pas dus à une résistance des dermatophytes ou *Candida* aux agents fongiques (hormis les moisissures intrinsèquement résistantes), mais à une prise en charge thérapeutique insuffisante ou mal adaptée.

Le coût de l'examen mycologique est négligeable (B 70 soit 18.90 €) comparé à celui d'un traitement antifongique empirique ou inadapté à l'onychopathie. Un examen mycologique sera également réalisé sur les lésions cutanées associées : leur présence doit être prise en compte dans la décision thérapeutique.

Références: Rémic 2015 Dermatophytoses; RFL Mai 2011 Onychomycoses Dominique CHABASSE, Onychomycoses Annales de Dermatologie vénéréologie 2007



L'interprétation des résultats est essentielle

**BULLETIN
D'INFORMATION
BIOLOGIQUE DES
LABORATOIRES DU
GROUPE BIOLYSS**

Comité de rédaction:

Frédérique Colas
(f.colas@biolyss.fr)

Sylvie Maach-Barbarie
(s.maach@biolyss.fr)

Thierry Ménard
(t.menard@biolyss.fr)

Fabienne Ponson
(f.ponson@biolyss.fr)

Eric Sevin
(e.sevin@biolyss.fr)

Et les autres biologistes de Biolyss

**hCG totale et
chaîne β libre
sont à doser
simultanément**

hCG chez l'homme

L'hormone chorionique gonadotrope (hCG) est une glycoprotéine qui, en cas de pathologie cancéreuse, est sécrétée par les cellules des tumeurs germinales malignes (issues des ovules et des spermatozoïdes), de type placentaire et testiculaire.

Ces tumeurs sécrètent de l'hCG sous forme intacte et sous forme de chaîne Béta libre.

La présence de hCG chez un homme est pathognomonique de tumeur.

Généralement les tumeurs testiculaires sont suivies par des dosages d'hCG totale, et de sous unités bêta (hCG chaîne libre), associés à un dosage d'alphafoetoprotéine. (AFP)

Dans les tumeurs non séminomateuses: l'élévation de hCG est fréquente, les valeurs sont généralement élevée (sup à 5000 UI/l). hCG et chaîne libre évoluent parallèlement. Le traitement efficace fait régresser les deux marqueurs, tandis qu'une rechute les fait réaugmenter.

Dans les séminomes: l'élévation de l'hCG est moins fréquente et moins importante (inf à 2000 UI/l). Fréquemment, seule la chaîne libre est sécrétée (1/3 des cas). Là aussi, le marqueur est intéressant en suivi de traitement et prédictif de récurrence.

Le dosage d'hCG ne nécessite pas d'être à jeun. La cotation est de B30 soit 8.10 €.

L'hCG libre est transmise à un laboratoire partenaire, nécessitant une congélation dans les 4 heures après le prélèvement (cotation B75 soit 20.25 €).

Références: Recommandations HAS mai 2011, actualisation juillet 2012

A jeun ou non ? Quand prélever les dosages de médicaments?

Le jeûne, c'est l'absence d'ingestion de tout aliment (solide ou liquide, sauf l'eau plate), pendant 12 heures au moins.

En règle générale, il est préférable d'éviter de prendre un repas riche en sucres ou en lipides juste avant une prise de sang.

Certaines analyses nécessitent

impérativement d'être strictement à jeun. Ce sont les dosages de la glycémie, des triglycérides, du cholestérol et de la prolactine.

Les autres analyses peuvent être pratiquées sans être à jeun.

Bien entendu, un examen sanguin urgent pourra être pratiqué même en dehors d'un état

de jeûne strict.

Pour les dosages de médicaments, il convient en général de réaliser le prélèvement juste avant la nouvelle prise. En cas de traitement par héparine fractionnée (HBPM), le prélèvement doit être réalisé 4 heures après l'injection.

