

# Vrais et faux pathogènes des examens de selles

Laurent Beaugerie  
Service de Gastro-entérologie et Nutrition  
Hôpital Saint-Antoine  
Paris



## Eric, 27 ans

- Consulte son médecin généraliste pour diarrhée
  - Apparue soudainement trois jours avant
  - Sans prise d'antibiotiques ni de séjour hors de métropole dans les 3 mois précédents
  - Persistant malgré un régime sans résidus et un traitement par lopéramide
  - Aucun traitement au long cours ou récemment introduit, prise occasionnelle de paracétamol, jamais d'AINS
- Une coproculture et un examen parasitologique des selles sont réalisés

# Les examens de selles à J4 d'une gastro-entérite non résolutive

- Rentables
  - Positivité >50% (surtout bactéries) dans certaines séries<sup>1</sup>
- Légitimes<sup>2,3</sup>
  - Ni trop tôt
    - >80% des «gastros» guérissent avant J4
    - Les examens de selles et l'antibiothérapie empiriques à ce stade auraient un rapport coût/efficacité et bénéfice/risque défavorable
  - Ni trop tard
    - Impact de l'antibiothérapie sur la durée de la diarrhée

<sup>1</sup> Dryden MS et al., *Clin Infect Dis* 1996;22:1919-25

<sup>2</sup> Anonyme, *Gastroenterol Clin Biol* 2003;27:627-42

<sup>3</sup> Beaugerie L & Sokol H, *Presse Med* 2013;42:52-9

# Médiane de début du traitement : J4

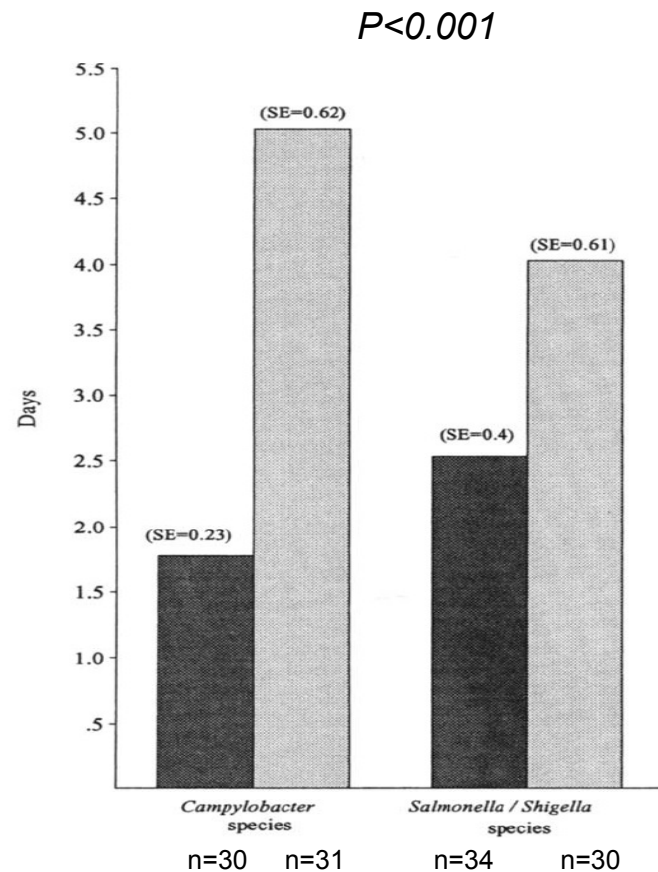


Figure 2. Mean duration of diarrhea in days after starting treatment with ciprofloxacin (■) or placebo (□).

## Que faire et que penser si sont identifiés dans les selles

- *Staphylococcus aureus* ?
- *Candida albicans* ?
- Très nombreux *E.coli* ?
- *Hafnia alvei* ?
- *Dientamoeba fragilis* ?
- *Blastocystis hominis* ?

## *Staphylococcus aureus*

- Intoxinations (< 24 heures)
- Commensal fréquent
- Aucun élément de preuve de l'existence d'infections intestinales aiguës symptomatiques chez l'immunocompétent

## *Candida albicans*

- Levure commensale habituelle des muqueuses
- Aucun élément de preuve de l'existence d'infections intestinales aiguës symptomatiques chez l'immunocompétent

## Nombreuses colonies d' *E. coli*, sans plus de précisions

- Les *E.coli* font partie du microbiotique intestinal normal et sont majoritairement non pathogènes
- Parmi les souches pathogènes, 5 pathovars principaux:
  - ETEC (entéro-toxinogènes : turista)
  - EPEC (entéro-pathogènes)
  - EIEC (entéro-invasifs)
  - EAEC (entéro-adhérents)
  - **EHEC (entéro-hémorragiques)**  
Enjeux forts (SHU, pas d' antibiotiques)  
**Recherche indiquée (milieu sélectif pour O157:H7) en cas de diarrhée hémorragique<sup>1,2</sup>**

<sup>1</sup> Anonyme, *Gastroenterol Clin Biol* 2003;27:627-42

<sup>2</sup> Beaugerie L & Sokol H, *Presse Med* 2013;42:52-9

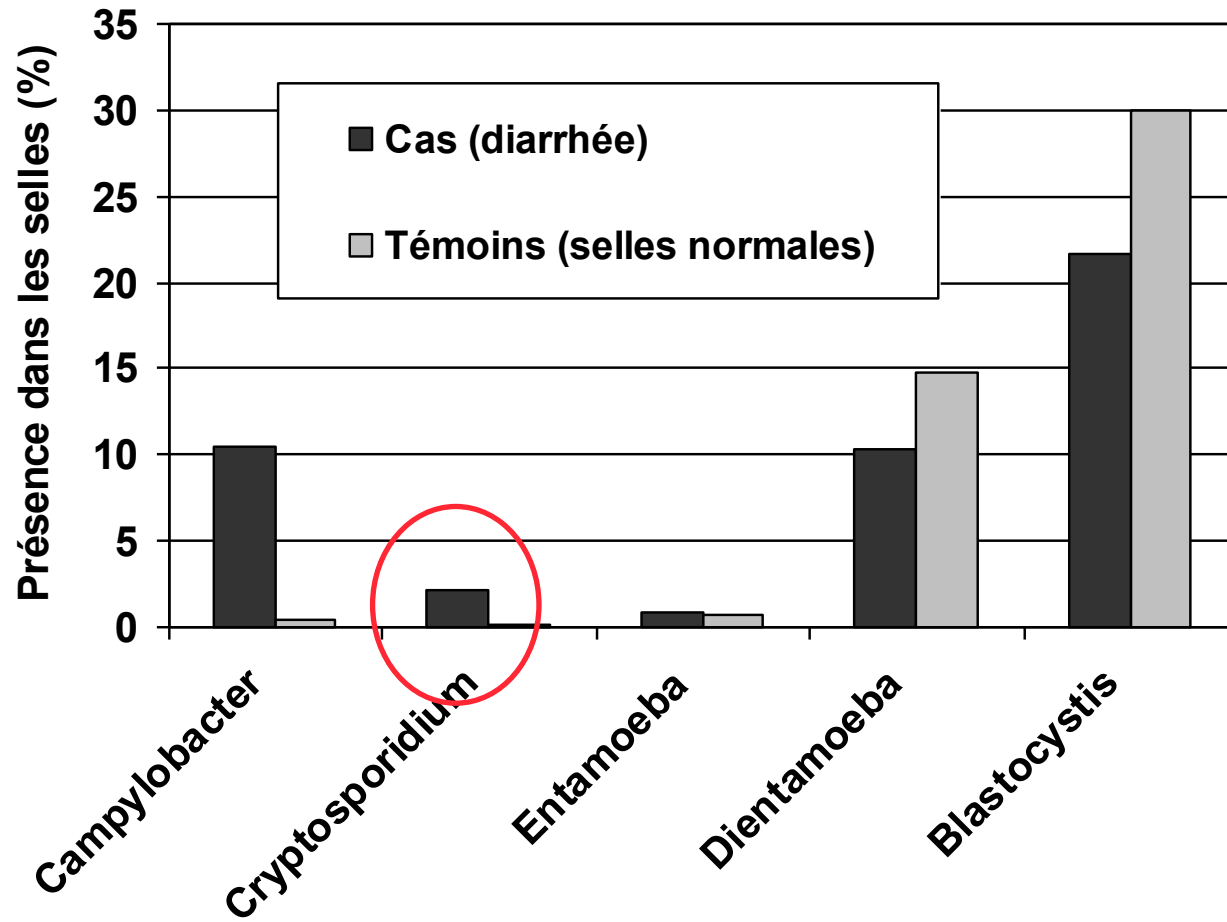


## Que faire et que penser si sont identifiés

- *Staphylococcus aureus* ?
- *Candida albicans* ?
- Très nombreux *E.coli* ?
- *Hafnia alvei* ?
- *Blastocystis hominis* ?
- *Dientamoeba fragilis* ?

# Cahier des charges d' un pathogène intestinal

1. Corrélation entre la présence de l'agent et la maladie induite présumée  
*Etudes cas/témoins*
2. Incidence de la maladie fréquente chez les personnes exposées  
*Epidémies liées à l'agent*
3. Distribution gaussienne des durées d'incubation et de symptômes  
*Epidémies liées à l'agent*
4. Réponse biologique mesurable  
*Ex : anticorps*
5. Modèle expérimental (si possible animal) reproduisant les lésions
6. Impact net du traitement curatif ou préventif (vaccination) sur l'histoire naturelle de la maladie  
*Essais randomisés*
7. Le tout fait sens



*De Wit MA et al. Clin Infect Dis 2001;33:280-8*  
 867 cas / 574 témoins

# *Cryptosporidium parvum*

1. Corrélation entre la présence de l'agent et la maladie induite présumée  
*De Wit et al.*
2. Incidence de la maladie fréquente chez les personnes exposées  
*Milwaukee*
3. Distribution gaussienne des durées d'incubation et de symptômes  
*Milwaukee*
4. Réponse biologique mesurable  
*Colostrum hyperimmun*
5. Modèle expérimental (si possible animal) reproduisant les lésions  
*Veau*
6. Impact net du traitement curatif ou préventif (vaccination) sur l'histoire naturelle de la maladie  
*Nitazoxanide Lancet 2002*
7. Le tout fait sens

## *Hafnia alvei*

- Entérobactérie identifiée dans les années 1960
- Petites épidémies
- Pathovar de type *E.coli* entéro-adhérent identifié dans certaines souches (reclassification)
- Traitement court par quinolones légitime lorsque *Hafnia alvei* est le seul pathogène identifié
  - Type ofloxacine per os 200 mg matin et soir pendant 3 jours

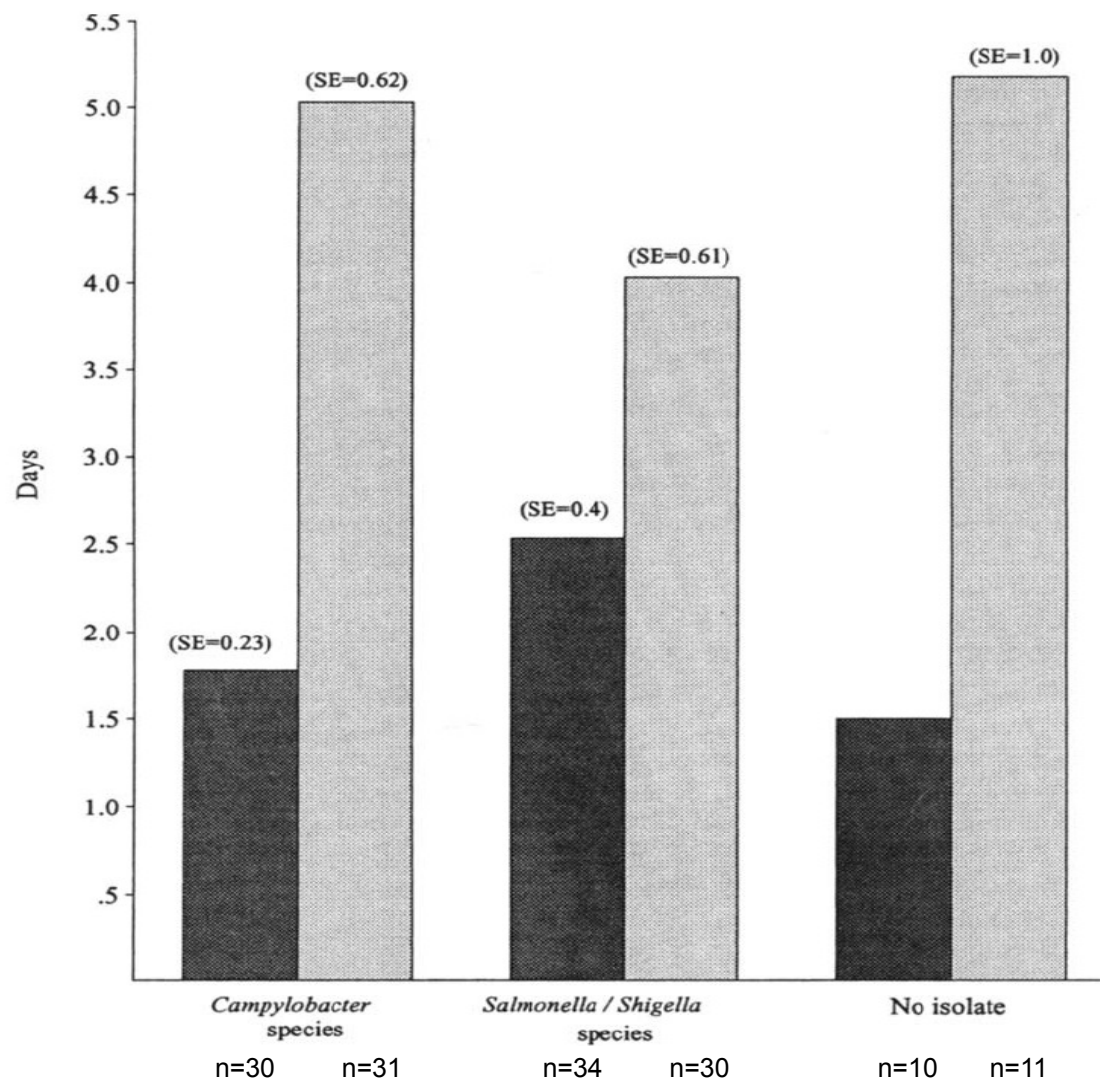
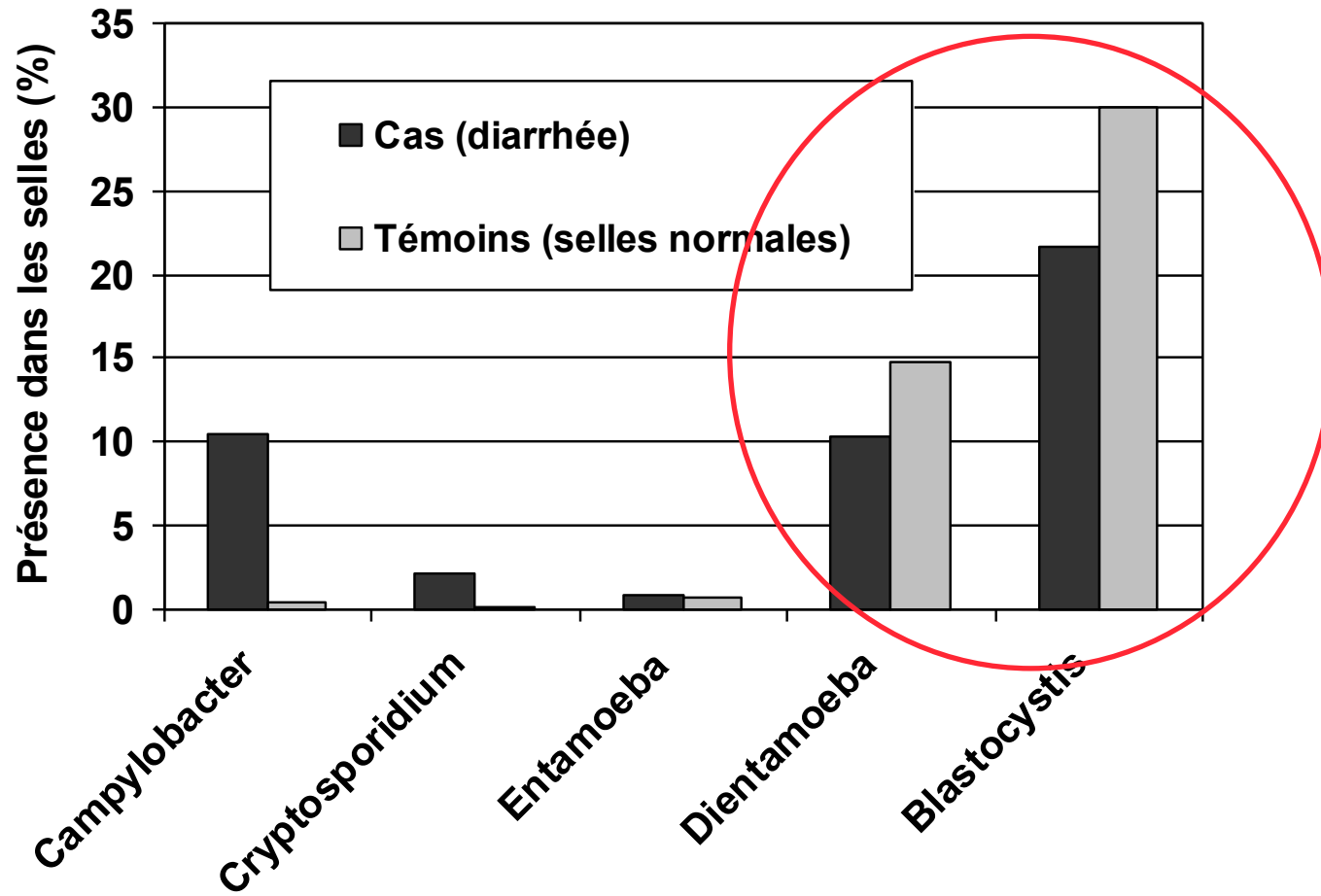
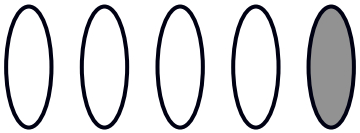
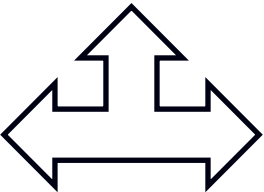
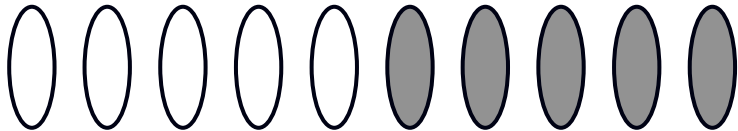


Figure 2. Mean duration of diarrhea in days after starting treatment with ciprofloxacin (■) or placebo (□).

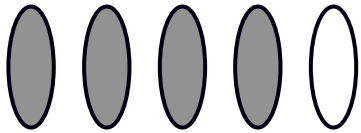


*De Wit MA et al. Clin Infect Dis 2001;33:280-8*  
867 cas / 574 témoins

Hypothèse : formes pathogènes ( ◐ ) et non pathogènes ( ◑ ) de l'agent en proportions équivalentes dans l'environnement



Selles des Témoins



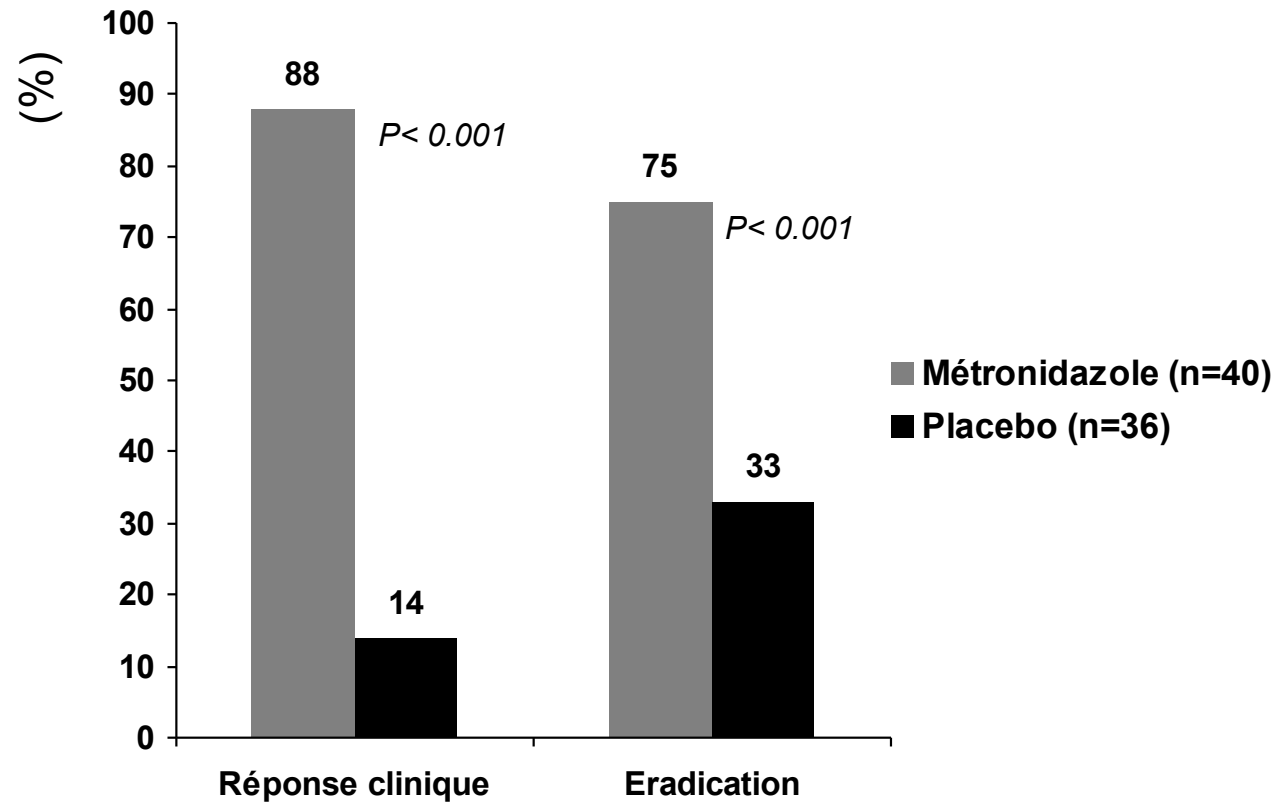
Selles des Cas



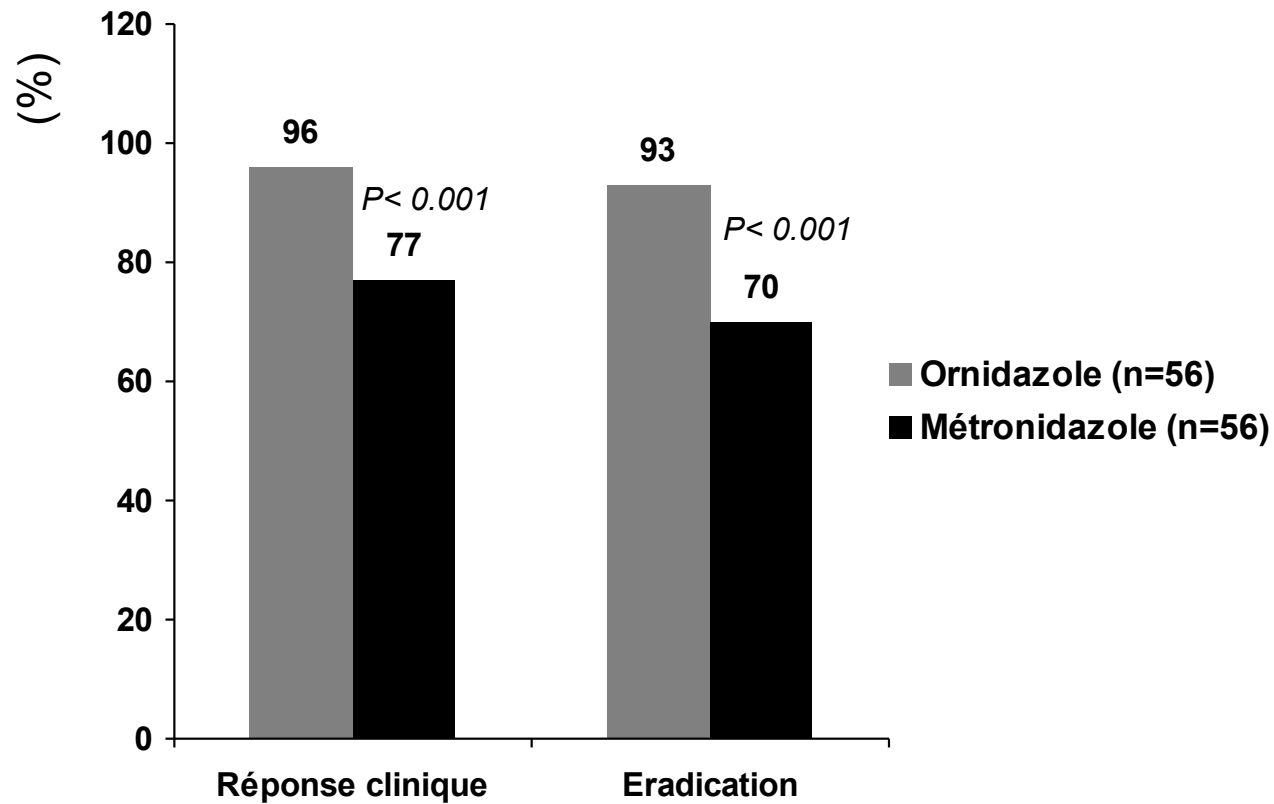
# *Blastocystis hominis*

1. Corrélacion entre la présence de l'agent et la maladie induite présumée  
*Non*
2. Incidence de la maladie fréquente chez les personnes exposées  
*Petites épidémies*
3. Distribution gaussienne des durées d'incubation et de symptômes
4. Réponse biologique mesurable  
*Non*
5. Modèle expérimental (si possible animal) reproduisant les lésions  
*Non*
6. **Impact net du traitement curatif ou préventif (vaccination) sur l'histoire naturelle de la maladie**
7. Le tout fait sens

# Métronidazole et *Blastocystis hominis* en Sicile



# Ornidazole, métronidazole et *Dientamoeba fragilis* (pas d'épidémies) en Turquie



## Diarrhée et examen parasitologique des selles *Blastocystis hominis* / *Dientamoeba fragilis*

- Rôle pathogène plausible
- Efficacité empirique des imidazolés, dont le **traitement minute par secnidazole (un sachet à 2 g chez l'adulte)**
- D'autant plus indiqué que la diarrhée est prolongée

## Claire, 34 ans

- Ampicilline per os (2g/jour) depuis 3 jours pour angine
- Soudainement, la constipation habituelle de la patiente fait place à une diarrhée fécale (3 selles liquides non glairo-hémorragiques), associée à une fébricule (37,8°C)

## Que faire et que penser si sont identifiés dans les selles

- De très nombreuses colonies *de Candida albicans* ?
- *Clostridium difficile* par la recherche de la Glutamate Déshydrogénase (GDH) avec recherche immuno-enzymatique de toxines A et B négative ?
- *Klebsiella oxytoca* ?

## *Candida albicans* sous antibiotiques

- Colonies normalement plus nombreuses sous antibiotiques (dysbiose)
- Pas de corrélation avec l'apparition ou non d'une diarrhée

## *Clostridium difficile* et diarrhée des antibiotiques

- Preuve de la présence du germe dans les selles
  - Culture (milieu sélectif, long et difficile)
  - Glutamate déshydrogénase (spécifique et sensible)
- Preuve de la présence des toxines A et B dans les selles
  - Cytotoxicité de la toxine B
  - Techniques immuno-enzymatiques et PCR : sensibilité et spécificité bonnes, mais imparfaites

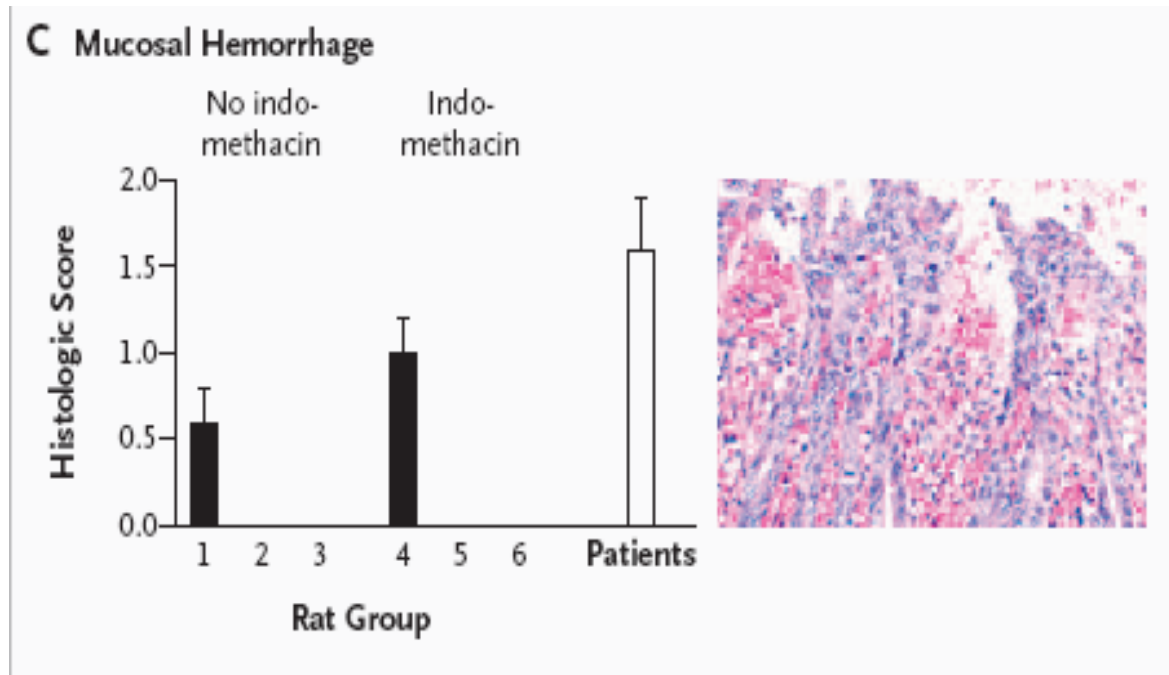


# Diarrhée des antibiotiques

## *Clostridium*+, toxines- dans les selles

- Gestion théorique : recherche du pouvoir toxinogène de la souche
  - Culture plusieurs jours
  - Recherche de toxines dans le surnageant
- Gestion pratique : traitement empirique par antibiothérapie dirigée contre *Clostridium difficile* de niveau 1 (métronidazole 1g/j 10 jours)

# Démonstration du rôle pathogène de *Klebsiella oxytoca* Modèle murin



1 Amox/AcCl + KO

2 Amox/AcCl seul

3 KO seul

4 Amox/AcCl + KO + AINS

5 Amox/AcCl + AINS

6 KO + AINS

*Klebsiella oxytoca* identifié  
par coproculture standard au cours  
d' une diarrhée des antibiotiques non hémorragique

- Témoigne d' une présence massive du germe
  - L'ensemencement sur milieu sélectif n' est indiqué qu' en cas de diarrhée hémorragique
- Traiter
  - L' arrêt seul de l' antibiotique suffit souvent
  - Sinon, ofloxacine 200 mg X2 /jour 3 jours per os

## Elodie, 23 ans

- Retour d' un séjour de 3 semaines en Inde
- Syndrome dysentérique dans l' avion de retour
- Hospitalisation et recto-sigmoïdoscopie à l' arrivée : rectite érosive

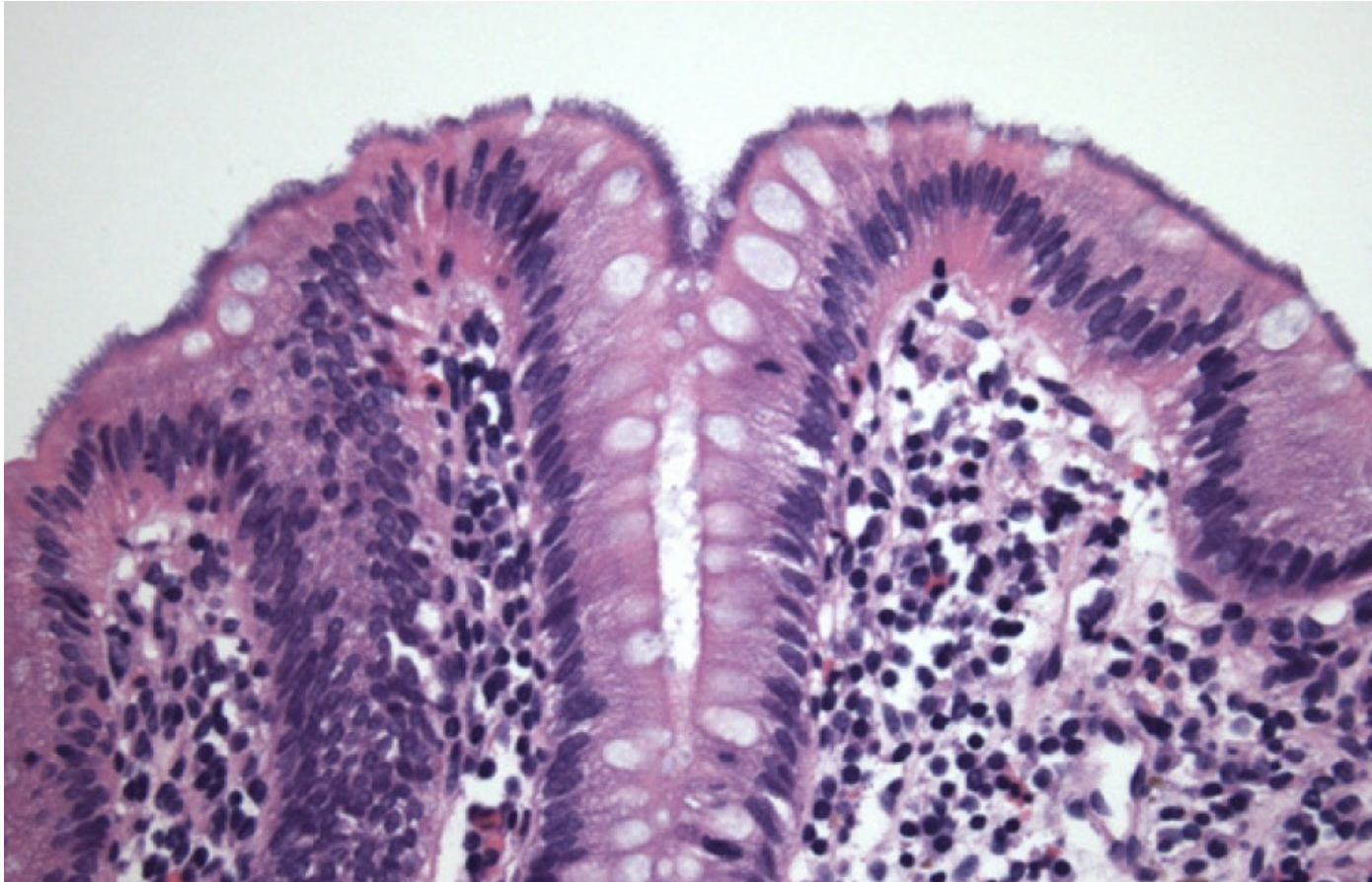
Que faire et que penser si sont identifiés :

- Dans les selles : des kystes d' *Entamoeba histolytica* ?
- Sur les biopsies rectales : de très nombreux spirochètes adhérant à l' épithélium ?

# *Entamoeba histolytica* et rectite

- Formes végétatives mobiles et hématophages
  - Spécifiques d' *Entamoeba histolytica*
  - Très fragiles *ex vivo*, ne peuvent être identifiées que par une technique spécifique sur selles fraîchement émises
  - Peu réalisable et réalisé en pratique
- Formes kystiques
  - Ne peuvent être distinguées morphologiquement des kystes d' *Entamoeba dispar*, amibe non pathogène et plus fréquente
  - Seules la biologie moléculaire est discriminante, mais n' a pas diffué
- Rectite + endémie + kystes d' Entameoba = taritement par métronidazole (1,5 g/j 7 jours) ou secnidazole (un sachet)

# La spirochètose colique



Dossier vide !

# Points-clefs

- Au cours d'une diarrhée aiguë d'allure infectieuse sans notion de prise récente d'antibiotiques, la présence dans les selles de *Staphylococcus aureus*, de *Candida albicans* et de nombreuses colonies non typées d'*E.coli*, n'est pas l'explication de la diarrhée. L'entérobactérie *Hafnia alvei* pourrait être une cause de diarrhée aiguë infectieuse ; son identification au cours d'une coproculture justifie un traitement court par quinolones ;
- Le rôle pathogène possible des protozoaires *Blastocystis hominis* et *Dientamoeba fragilis* au cours des diarrhées aiguës, est maintenant probable. L'identification de ces parasites au cours d'un examen parasitologique des selles justifie un traitement imidazolé, qui est empiriquement le plus souvent efficace ;
- Au cours d'une diarrhée des antibiotiques, surtout si elle est hémorragique, l'identification par culture de *Klebsiella oxytoca* doit faire conclure à la responsabilité de la bactérie. Une culture positive pour *Clostridium difficile* sans toxine décelable ne démontre pas définitivement le caractère non toxigène, donc non pathogène, de la souche. Il faut donc traiter ;
- L'examen parasitologique des selles standard ne permet pas de distinguer les kystes d'*Entamoeba histolytica*, amibe pathogène, de ceux d'*Entamoeba dispar*, amibe non pathogène, chez un patient consultant pour diarrhée et/ou colite. Les techniques de biologie moléculaire sont discriminantes, mais ont encore très peu diffusé. Dans le doute, il faut traiter ;
- Les spirochètes sont des bactéries spiralés qui adhèrent parfois en grand nombre à la muqueuse colique chez des patients ayant eu des biopsies coliques pour diarrhée ou colite. Le caractère pathogène de leur présence n'a jamais été démontré.





# Démonstration du rôle pathogène de KO

CLINICAL GASTROENTEROLOGY AND HEPATOLOGY 2003;1:370-376

## *Klebsiella oxytoca* as an Agent of Antibiotic-Associated Hemorrhagic Colitis

LAURENT BEAUGERIE,\* MICHAELA METZ,† FRÉDÉRIC BARBUT,§ GUY BELLAICHE,||  
YORAM BOUHNİK,¶ LAURENT RASKINE,# JEAN-CLAUDE NICOLAS,\*\*  
FRANÇOIS-PATRICK CHATELET,†† NORBERT LEHN,† JEAN-CLAUDE PETIT,§ and  
THE INFECTIOUS COLITIS STUDY GROUP

Departments of \*Gastroenterology and §Microbiology, Saint-Antoine Hospital, Paris, France; †Department of Microbiology, University of Regensburg, Regensburg, Germany; ||Department of Gastroenterology, Aulnay-sous-Bois Hospital, Aulnay-sous-Bois, France; Departments of ¶Gastroenterology and #Microbiology, Lariboisière Hospital, Paris, France; and Departments of \*\*Microbiology and ††Pathology, Rothschild Hospital, Paris, France

The NEW ENGLAND JOURNAL of MEDICINE

ORIGINAL ARTICLE

## *Klebsiella oxytoca* as a Causative Organism of Antibiotic-Associated Hemorrhagic Colitis

Christoph Högenauer, M.D., Cord Langner, M.D., Eckhard Beubler, Ph.D.,  
Irmgard T. Lippe, Ph.D., Rudolf Schicho, Ph.D., Gregor Gorkiewicz, M.D.,  
Robert Krause, M.D., Nikolas Gerstgrasser, M.D., Guenter J. Krejs, M.D.,  
and Thomas A. Hinterleitner, M.D.

N Engl J Med 2006;355:2418-26.

# Démonstration du rôle pathogène de KO

**Table 2.** Intestinal Bacteria Identified in the Prospective Cohort of 93 Patients With Acute Colitis

	No antibiotic intake within the 2 months preceding the onset of diarrhea (n = 62)		Antibiotic intake within the 2 months preceding the onset of colitis (n = 1)	
	Established pathogen identified (n = 25)	No established pathogen identified (n = 37)	AAHC (n = 4)	Nonhemorrhagic colitis (n = 27)
<i>Salmonella</i>	12 (48.0)		2 (50.0)	2 (7.4)
<i>Shigella</i>	7 (28.0)		0 (0)	0 (0)
<i>Campylobacter</i>	4 (16.0)		0 (0)	0 (0)
<i>C. difficile</i>	3 <sup>a</sup> (4.0)		0 (0)	12 (44.4)
<i>Plesiomonas</i>	0 (0)		0 (0)	0 (0)
<i>Aeromonas</i>	0 (0)		0 (0)	0 (0)
Mycobacteria	0 (0)		0 (0)	0 (0)
<i>K. oxytoca</i>	1 <sup>b</sup> (4.0)	4 (11.4)	2 (50.0)	1 (3.7)

P < 0,05

NOTE. Values are number (% in the subgroup).

AAHC, antibiotic-associated hemorrhagic colitis, clinically defined as sudden occurrence of bloody diarrhea during antibiotic treatment; *C. difficile*, *Clostridium difficile*; *K. oxytoca*; *Klebsiella oxytoca*.

<sup>a</sup>Two cases in the setting of first attack of inflammatory bowel disease and the third in association with *Campylobacter*.

<sup>b</sup>In association with *Shigella*.

**Cytotoxicity assay of *K. oxytoca* strains.** Fourteen of the 17 (82.4%) *K. oxytoca* strains from patients with AAHC and 42 of the 90 (46.7%) *K. oxytoca* strains isolated in healthy carriers were cytotoxic for HEp-2 cells. The difference in the cytotoxicity rate of *K. oxytoca* strains between patients with AAHC and healthy carriers of the germ was statistically significant ( $P = 0.003$ ).