

Prévalence des co-infections bactériennes entériques chez les patients diarrhéiques en contexte épidémique en RDC : Apport de la PCR Multiplex

Prevalence of enteric bacterial co-infections in patients with diarrhea during an epidemic in the DRC: The role of multiplex PCR

César Christian CARRENARD ODZALI^{1,2,*}, Dieudonné MWAMBA KAZADI¹, Destin MBONGI MOKE^{1,3}, Tatiana BUABA⁴, Patricia MBUNZU NDIBAYOLA⁶, Charlotte TSHINGUTA LONDJI⁵, Aubin KAYOMBO KANDE¹, Curé Georges TSHILENGE MBUYI⁵, Joseph LUMANDE KASALI², Aimée OKITO AMBATE², Jeff ITEKU BEKOMO², Jean-Paul KOTO-TE-NYIWA NGBOLUA², Odette KABENA NGANDU², Erick KAMANGU NTAMBWE^{1,3}

¹ Institut National de Santé Publique, République Démocratique du Congo ;

² Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

³ Université de Kinshasa Faculté de Médecine, République Démocratique du Congo ;

⁴ Clinique Kinoise, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

⁵ Laboratoire Vétérinaire central, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

RESUME:

En 2025, la République Démocratique du Congo (RDC) fait face à sa crise de choléra la plus sévère depuis deux décennies. Cependant, le diagnostic clinique et les tests rapides (TDR) se limitent souvent à l'identification d'un seul pathogène, ignorant la complexité des co-infections. Cette étude évalue la prévalence de la salmonellose, de la shigellose et des souches d'*E. coli* chez les patients atteints de diarrhée. Le but du présent travail était de mettre en évidence les cas de co-infections bactériennes entériques chez les patients diarrhéiques en contexte épidémique en RDC. Étude observationnelle transversale fondée sur 255 prélèvements de selles analysés entre décembre 2025 et février 2026 par le panel PCR multiplex RADiOne 5-Plex. Les prévalences sont présentées avec IC95 %. Les associations par paires ont été explorées par tableaux 2x2, rapports de prévalence (RP), odds ratios (OR), tests du χ^2 ou exact de Fisher selon les effectifs. Une matrice et un réseau de co-occurrence pondéré par le nombre de co-détections ont complété l'analyse. Le seuil de significativité était de 5 %. *V. cholerae* a été détecté chez 207/255 patients (81,2 % ; IC95 % 75,9–85,8), *Shigella* chez 118/255 (46,3 % ; IC95 % 40,0–52,6), *ETEC* chez 85/255 (33,3 % ; IC95 % 27,6–39,5), *Salmonella* chez 13/255 (5,1 % ; IC95 % 2,7–8,6) et *STEC* chez 4/255 (1,6 % ; IC95 % 0,4–4,0). Au moins deux pathogènes ont été détectés chez 138/255 patients (54,1 %). L'association *Shigella*–*ETEC* était significative (OR 1,85 ; IC95 % 1,09–3,14 ; $p=0,021$). L'association *Salmonella*–*STEC* était également significative (OR 21,82 ; IC95 % 2,81–169,66 ; $p=0,014$), mais reposait sur seulement quatre cas de *STEC* et doit être considérée comme exploratoire. Aucune association statistiquement significative n'a été démontrée entre le choléra et chacun des quatre autres agents. Ces résultats démontrent que la diarrhée en contexte épidémique de choléra en RDC n'est pas mono-pathogène. La haute fréquence des co-infections suggère une contamination environnementale saturée ;

Mots clés : Choléra, Co-infection, *Shigella*, Diarrhée, PCR Multiplex, Kinshasa.

ABSTRACT :

In 2025, the Democratic Republic of Congo (DRC) faced its most severe cholera crisis in two decades. However, clinical diagnosis and rapid diagnostic tests (RDTs) are often limited to the identification of a single pathogen, ignoring the complexity of co-infections. This study evaluates the prevalence of *Salmonella*, *Shigella*, and *E. coli* strains in patients with diarrhea. The aim of this study was to highlight cases of enteric bacterial co-infections in diarrheal patients during an epidemic in the DRC. This was a cross-sectional observational study based on 255 stool samples analyzed between December 2025 and February 2026 using the RADiOne 5-Plex multiplex PCR panel. Prevalences are presented with 95% confidence intervals (CI). Pairwise associations were explored using 2x2 tables, prevalence ratios (PR), odds ratios (OR), and chi-square or Fisher's exact tests, depending on sample size. A matrix and a co-occurrence network weighted by the number of co-detections completed the analysis. The significance level was set at 5%. *V. cholerae* was detected in 207/255 patients (81.2%; 95% CI 75.9–85.8), *Shigella* in 118/255 (46.3%; 95% CI 40.0–52.6), *ETEC* in 85/255 (33.3%; 95% CI 27.6–39.5), *Salmonella* in 13/255 (5.1%; 95% CI 2.7–8.6), and *STEC* in 4/255 (1.6%; 95% CI 0.4–4.0). At least two pathogens were detected in 138/255 patients (54.1%). The *Shigella*–*ETEC* association was significant (OR 1.85; 95% CI 1.09–3.14; $p=0.021$). The *Salmonella*–*STEC* association was also significant (OR 21.82; 95% CI 2.81–169.66; $p=0.014$), but was based on only four cases of *STEC* and should be considered exploratory. No statistically significant association was demonstrated between cholera and any of the other four agents. These results demonstrate that diarrhea in the context of a cholera epidemic in the DRC is not monopathogenic. The high frequency of co-infections suggests saturated environmental contamination.

Keywords: Cholera, Co-infection, *Shigella*, Diarrhea, Multiplex PCR, Kinshasa.

*Adresse des Auteur(s)

César Christian CARRENARD ODZALI, Institut National de Santé Publique & Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

E-mail : cesar.carrenard@insp.cd

Tél : +243 812599855 ;

Dieudonné MWAMBA KAZADI, Institut National de Santé Publique, République Démocratique du Congo ;

Destin MBONGI MOKE, Institut National de Santé Publique & Université de Kinshasa Faculté de Médecine, République Démocratique du Congo ;

Tatiana BUABA, Clinique Kinoise, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

Patricia MBUNZU NDIBAYOLA, Pistis Medical Center, République Démocratique du Congo ;

Charlotte TSHINGUTA LONDJI, Laboratoire Vétérinaire central, Kinshasa, République Démocratique du Congo ;

Aubin KAYOMBO KANDE, Institut National de Santé Publique, République Démocratique du Congo

TSHILENGE MBUYI Curé Georges

Laboratoire Vétérinaire central, Kinshasa, République Démocratique du Congo

Joseph LUMANDE KASALI, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

Aimée OKITO AMBATE, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

Jeff ITEKU BEKOMO, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

Jean-Paul KOTO-TE-NYIWA NGBOLUA, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

Odette KABENA NGANDU, Université de Kinshasa, Faculté des Sciences, mention Sciences de la Vie, République Démocratique du Congo ;

Erick KAMANGU NTAMBWE, Institut National de Santé Publique & Université de Kinshasa Faculté de Médecine, République Démocratique du Congo ;

I. INTRODUCTION

Les maladies diarrhéiques sont des affections intestinales fréquentes, principalement causées par des infections virales (rotavirus), bactériennes (*Salmonella spp*, *E. coli*, *Shigella spp*) ou parasitaires (*Giardia*, *Cryptosporidium*), souvent via des aliments ou eaux contaminés, mais aussi par des intolérances ou médicaments, se manifestant par des selles liquides fréquentes et risquant la déshydratation, surtout chez les jeunes enfants [1], [2].

Des bactéries entéro-invasives telles que *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia* ou *Campylobacter jejuni* peuvent également causer des diarrhées aiguës, généralement glairo-sanglantes et accompagnées de symptômes généraux. Des bactéries comme *Escherichia coli* entérotoxigènes et *Vibrio cholerae*, connues pour produire des toxines, sont à l'origine de diarrhées hydriques sévères [3] [4].

La RDC est confrontée à une épidémie de gastro-entérite associée au choléra. Le choléra constitue un défi constant de santé publique en République démocratique du Congo (RDC) depuis le milieu des années 1990, avec des tendances particulièrement alarmantes apparues en 2025 [5]. Le choléra est une maladie diarrhéique aiguë épidémique, strictement humaine, due à la bactérie *Vibrio cholerae* des sérogroupes O1 (et rarement O139). Une résurgence du choléra au niveau mondial est observée depuis 2022 après de nombreuses années de baisse du nombre de cas [6].

La shigellose est une infection gastro-intestinale causée par l'une des quatre espèces de bactéries *Shigella* (*Shigella sonnei*, *S. flexneri*, *S. boydii* et *S. dysenteriae*) [7]. Ces bactéries, qui se trouvent dans le tractus intestinal des personnes infectées, peuvent se transmettre de plusieurs manières avec un risque élevé de contamination humaine, animale et environnementale [8], [9].

La fièvre typhoïde est une infection potentiellement mortelle due à la bactérie *Salmonella typhi*. Elle se propage généralement par la consommation d'eau ou d'aliments contaminés. Une fois la bactérie ingérée, elle se multiplie et passe dans la circulation sanguine. [10], [11].

Une triple épidémie présumée de gastro-entérite ayant pour causes probables la fièvre typhoïde, la shigellose et le choléra s'est avérée en République du Congo. Les analyses réalisées par le Laboratoire national de santé publique ont mis en évidence 83 cas d'infection à *Shigella*, 22 cas d'infection à *Salmonella Typhi* et 21 cas d'infection à *Vibrio*

cholerae, pour lesquels aucun test de toxigénicité de la souche n'a été effectué [12]. De plus, dans cette triple épidémie, on ne sait pas dire si tous les malades diagnostiqués avaient simultanément les trois maladies ou bien si les trois maladies étaient simultanément apparues chez différents patients.

En RDC, ces trois maladies ainsi que d'autres gastro-entérites existent mais jusque-là, les cas de co-infection n'ont pas pu être démontrés étant donné que chaque maladie est mise en évidence de manière séparée.

Le diagnostic du choléra par TDR, culture, ou signe clinique permettait de mettre en évidence uniquement le choléra mais pas les autres pathologies entériques. De plus, l'inconvénient des TDR est souvent leur insuffisance en sensibilité et en spécificité qui conduit à des résultats faussement positifs ou faussement négatifs.

Face à ces difficultés, nous avons acquis un équipement permettant de détecter les microorganismes du genre *Shigella*, *E. coli* entérotoxiques, *Salmonella typhi*, *Vibrio cholerae* (souches O1 et O139) dans un même échantillon.

L'objectif du présent travail est de mettre en évidence les cas de co-infection de salmonellose, shigellose, choléra et de la souche *E. coli*/ETEC chez les patients atteints de diarrhée.

II. MATERIEL ET METHODES

II.1. Type d'étude : PCR/POC

II.2. Conception de l'étude et élaboration des méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive et analytique transversale, conduite entre décembre 2025 et juin 2026 dans plusieurs zones de santé de Kinshasa (RDC). L'objectif principal était d'explorer les corrélations entre *Vibrio cholerae* et les co-pathogènes entériques (*Shigella spp.*, *E. coli* ETEC, *Salmonella spp.*, *E. coli* STEC). La méthodologie a intégré des approches microbiologiques (PCR multiplex) et statistiques multivariées (Chi², OR, AFC, analyse de réseau) afin de caractériser la dynamique des co-infections.

II.3. Population de l'étude

Un total de 255 échantillons a été inclus :

II.4. Echantillons humaine

Selles de patients présentant une diarrhée aqueuse ou dysentérique suspecte de choléra ou écouvillon rectal.

II.5. Critères

Inclusion

Patients présentant une diarrhée aiguë (< 7 jours), absence de traitement antibiotique préalable, consentement éclairé obtenu.

Exclusion

Patients sous antibiothérapie récente, échantillons incomplets ou contaminés, refus de consentement.

- Critère d'inclusion des échantillons : échantillon positif au TDR choléra
- Critère de non-inclusion des échantillons : échantillon négatif au TDR choléra

II.6. Collecte des données

Les échantillons ont été prélevés dans des conditions stériles, transportés en milieu réfrigéré et analysés dans les **24 heures** suivant le prélèvement.

Extraction d'ADN : lyse thermique suivie de purification sur colonne de silice.

PCR multiplex : ciblant les gènes de virulence :

- *ctxA* pour *Vibrio cholerae*
- *ipaH* pour *Shigella spp.*
- *lt/st* pour *E. coli* ETEC
- *invA* pour *Salmonella spp.*
- *stx1/stx2* pour *E. coli* STEC

Les valeurs de cycle seuil (CT) ont été enregistrées pour estimer la charge bactérienne.

Des contrôles positifs et négatifs ont été inclus à chaque série d'amplification.

II.7. Analyse statistique

Les données ont été saisies et analysées avec **SPSS v26** et **R Studio v4.3**.

Analyses descriptives : fréquences, pourcentages, moyennes $\pm$ écart-type, médianes et intervalles interquartiles (IQR).

Tests d'association : Chi² de Pearson, selon les effectifs.

Analyse de réseau (co-occurrence) : réalisée avec le package *igraph* pour visualiser les interactions entre pathogènes.

II.8. Prélèvement

L'écouvillonnage a été réalisé de la manière suivante :

- L'écouvillon a été humidifié dans un milieu de transport stérile (Cary-Blair) puis introduit dans le sphincter rectal avec des mouvements de rotation ;
- La présence des traces de matières fécales sur l'écouvillon a été vérifiée à sa sortie.
- L'écouvillon a été introduit dans le milieu de transport réfrigéré tel que décrit dans les protocoles puis le tube a été placé dans une glacière.

III. RESULTATS

L'étude a permis de mettre en évidence une complexité étiologique importante chez les patients diarrhéiques, avec une prédominance marquée des co-infections détectées par PCR multiplex.

Tableau1 : Analyses descriptives des données (n = 255)

Variable étudiée	Modalités / Valeurs	Effectif (n=255)	Pourcentage (%)
Sexe	Masculin	133	52,2
	Féminin	122	47,8
Âge (ans)	0–5 ans	46	18,04
	6–17 ans	56	21,96
	≥18 ans	153	60,0
Résultat Choléra	Positif	207	81,18
	Négatif	48	18,82
Résultat Shigella	Positif	118	46,27
	Négatif	137	53,73
Résultat <i>E. coli</i> ETEC	Positif	85	33,33
	Négatif	170	66,67
Résultat <i>Salmonella</i>	Positif	13	5,1
	Négatif	242	94,9
<i>E. coli</i> STEC/EHEC	Positif	4	1,6
	Négatif	251	98,4

Prévalence des co-infections bactériennes entériques chez les ...

Tableau 2. Prévalence globale des pathogènes

Pathogène	Positifs (n/N)	Prévalence (%)
Vibrio cholerae	207/255	81,18
Shigella	118/255	46,27
ETEC	85/255	33,33
Salmonella	13/255	5,10
STEC	4/255	1,57

La prévalence du choléra est élevée (81,18 %), confirmant la gravité de l'épidémie. Plus d'un patient sur deux est infecté. Près de la moitié des patients (46,27 %) présentent une shigellose associée, traduisant une co-circulation importante et une contamination hydrique ou alimentaire commune.

Près de 20 % des patients sont infectés par *E. coli* entérotoxigène, renforçant l'hypothèse d'une **synergie bactérienne** avec le choléra. La prévalence est faible pour *Salmonella sp* (5,1 %) ainsi que pour *E. coli* STEC/EHEC (1,6 %), ce qui suggère une implication secondaire ou sporadique dans cette épidémie.

Prévalence des co-pathogènes chez les patients positifs au Choléra

Sur l'ensemble des patients dont l'échantillon a révélé la présence de *Vibrio cholerae*, les analyses montrent une superposition de plusieurs autres germes entériques : Shigellose avec une prévalence de 47,3 %, soit environ un patient sur deux ; Souche *E. coli*/ETEC avec une prévalence de 34,8 %, soit un patient sur trois ; Salmonellose avec une prévalence de 5,3 %, soit un patient sur vingt et enfin Souche STEC avec une prévalence de 1,4 %, soit un patient sur cent (Figure 1).

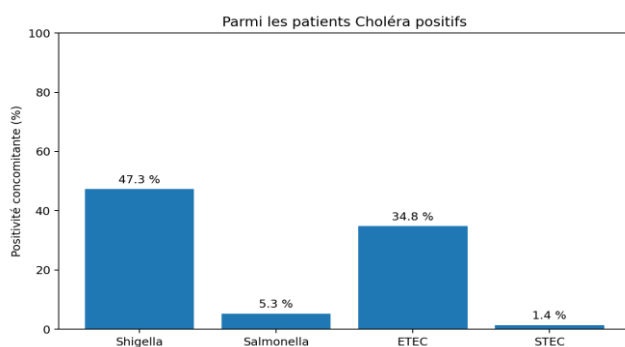


Figure 1 Prévalence de la salmonellose, shigellose chez les patients atteints de Choléra

Prévalence des co-pathogènes chez les patients positifs à la Shigellose

Pour les patients atteints de Shigellose, les taux de co-infection avec le choléra sont particulièrement élevés (Figure 2) :

- Choléra : Une prévalence de 83,1 %, soit huit patients sur dix.
- Souche *E. coli* ETEC : Une prévalence de 40,7 %, soit un peu plus d'un patient sur trois.
- Salmonellose : Une prévalence de 5,9 %, soit environ un patient sur vingt.
- Souche STEC : Une prévalence de 2,5 %, soit un patient sur cinquante.

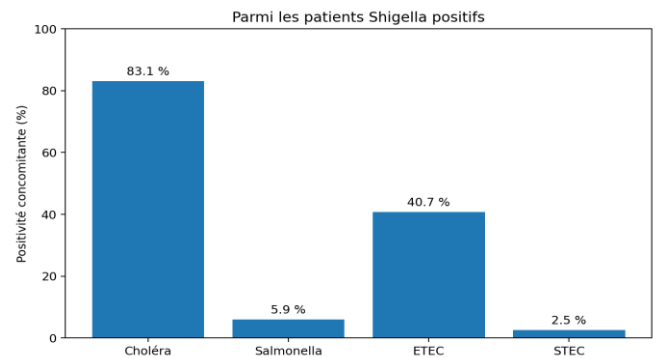


Figure 2 Prévalence de la salmonellose, Shigellose chez les patients atteints de Choléra

Prévalence chez les porteurs de la souche *E. coli* ETEC

Les individus positifs pour *E. coli* entérotoxigène (ETEC) présentent le profil de co-infection le plus lourd (Figure 3) : le choléra avec une prévalence de 84,7 %, soit près de neuf patients sur dix ; la Shigellose avec une prévalence de 56,5 %, soit plus d'un patient sur deux ; la Salmonellose avec une prévalence de 8,2 %, soit près d'un patient sur dix et enfin la Souche STEC/EHEC avec une prévalence de 2,4 %, soit un patient sur cinquante.

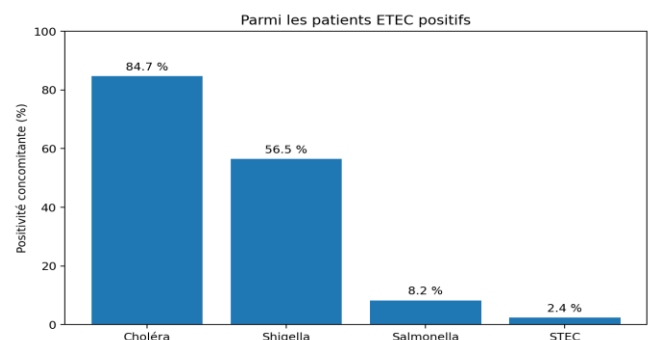


Figure 3 Prévalence Salmonella, shigella, cholera chez les individus atteints de la souche *E. coli*/ETEC.

Ces résultats corroborent les observations antérieures soulignant que la co-infection par des pathogènes entériques multiples est de plus en plus fréquente dans les contextes épidémiques [13].

Prévalence chez les patients atteints de Salmonellose

Enfin, chez les patients positifs à *Salmonella*, les co-infections se répartissent comme suit (Figure 4) :

- Choléra : Une prévalence de 84.6 %, soit plus de huit patients sur dix.
- Shigellose : Une prévalence de 53.8 %, soit plus d'un patient sur deux.
- Souche *E. coli* ETEC : *choléra* prévalence de 53.8 %, soit plus d'un patient sur deux.
- Souche *E. coli* STEC/EHEC : Une prévalence de 15,4 %, soit un patient sur cinquante.

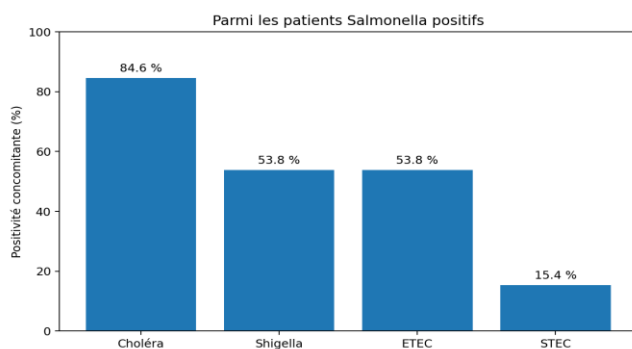


Figure 4 Prévalence de *Shigella*, *cholera* et de la souche *E. coli*/ETC chez les individus atteints de la *Salmonellose*

Prévalence chez les patients porteurs de *E. coli* STEC/EHEC

Enfin, chez les patients positifs à *Salmonella*, les co-infections se répartissent comme suit (5) :

- Choléra : Une prévalence de 75 %, soit plus de huit patients sur dix.
- Shigellose : Une prévalence de 75 %, soit plus d'un patient sur deux.
- Souche *E. coli* ETEC : Une prévalence de 50 %, soit plus d'un patient sur deux.
- *Salmonellose* : Une prévalence de 50 %, soit un patient sur cinquante

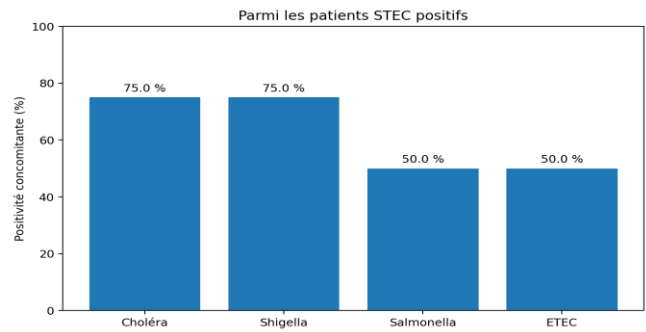


Figure 5. Co-positivité des autres agents parmi les patients STEC positifs.

RESEAU DE CO-INFECTION

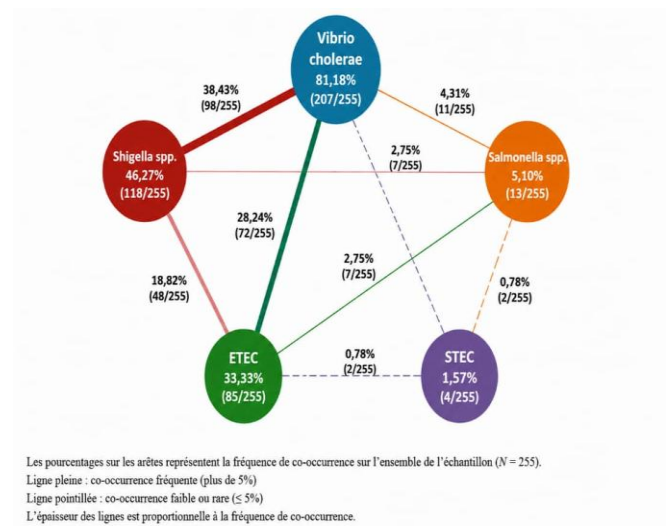


Figure 5: Réseau de Co-infections Bactériennes

- **Structure générale du réseau.** Le réseau est dominé par trois pathogènes : *Vibrio cholerae*, *Shigella* et *ETEC*. *V. cholerae* présente la prévalence globale la plus élevée et participe aux deux co-détectons les plus fréquentes. Cette centralité descripticoexistencea forte présence dans la population étudiée ; elle ne démontre pas à elle seule une influence causale sur les autres pathogènes.
- **Axe *Vibrio cholerae*–*Shigella* spp..** Il s'agit de la co-existence la plus fréquente: 98/255, soit 38,43 %. Autrement dit, plus d'un tiers de tous les patients inclus étaient simultanément positifs à *V. cholerae* et *Shigella* sp. Dans l'analyse conditionnelle, ces mêmes 98 cas correspondent à 47,3 % des choléra positifs et à 83,1 % des *Shigella* positifs.

Prévalence des co-infections bactériennes entériques chez les ...

- **Axe *Vibrio cholerae*–ETEC.** La deuxième co-occurrence majeure concerne *V. cholerae* et ETEC : 72/255, soit 28,24 %. Cette paire constitue donc un autre axe important de co-circulation des bactéries entériques dans la population étudiée.
- **Axe *Shigella*–ETEC.** La troisième co-occurrence majeure est *Shigella*–ETEC : 48/255, soit 18,82 %. Cette paire est particulièrement importante car l'analyse comparative antérieure a montré une association statistiquement significative entre les deux agents (OR = 1,85 ; $p = 0,021$; $\phi = 0,145$). Elle constitue donc le signal d'association le plus robuste du réseau au-delà de la simple fréquence de co-détection.
- **Co-existences impliquant *Salmonella* et STEC.** Les liens impliquant *Salmonella* et surtout STEC sont beaucoup moins fréquents dans l'échantillon total. Choléra–*Salmonella* représente 4,31 %, *Shigella*–*Salmonella* 2,75 %, *Salmonella*–ETEC 2,75 %, Choléra–STEC et *Shigella*–STEC 1,18 %, tandis que *Salmonella*–STEC et ETEC–STEC représentent chacun 0,78 %. Les pourcentages élevés obtenus lorsque l'on conditionne sur les quatre seuls cas STEC doivent donc être interprétés avec prudence.
- **Portée épidémiologique.** La configuration observée est compatible avec une co-circulation importante de plusieurs agents à transmission féco-orale. Elle soutient l'intérêt du diagnostic multiplex chez les patients diarrhéiques. Toutefois, une co-détection PCR ne prouve ni une interaction biologique directe ni qu'un pathogène cause ou favorise l'autre. L'expression « influence » doit donc être réservée aux analyses comparatives fondées sur les rapports de prévalence, odds ratios, intervalles de confiance et tests statistiques.

IV. DISCUSSION

La présente étude a consisté à mettre en évidence les cas de co-infection de salmonellose, shigellose, choléra et de la souche *E. coli*/ETEC chez les patients atteints de diarrhée. Les résultats obtenus montrent qu'il y a une fréquence élevée des co-infections.

La présence simultanée de ces bactéries, cela serait due à une synergie bactérienne car la présence de l'une n'inhiberait pas les autres, mais au contraire, elle favoriserait leur croissance. Le fait que ces microorganismes aient les mêmes exigences d'habitat, des besoins nutritionnels similaires renforcent la coexistence.

Nos résultats, montrant des taux de 83 % à 86 % de co-infection au choléra chez les patients porteurs d'autres germes, suggèrent une source de contamination environnementale saturée. L'accès insuffisant à l'eau potable et à l'assainissement reste le moteur principal de cette circulation simultanée de *V. cholerae*, *Shigella* et *Salmonella*.

Cette approche permet d'identifier les situations de co-infection tout en précisant si nous avons des cas de double infection, triple infection ou quadruple infection. Le fait de déterminer la prévalence de ces 5 co-pathogènes entériques les uns sur les autres est une nouveauté dans la microbiologie congolaise et africaine. Ce qui est contraire à la triple épidémie présumée de gastro-entérite ayant pour causes probables la fièvre typhoïde, la shigellose et le choléra déclarée en République du Congo où il était difficile de démontrer avec si tous les malades diagnostiqués avaient les simultanément les trois maladies ou bien si les 3 maladies étaient simultanément apparues chez différents patients.

Sur le plan génétique, les bactéries du genre *Shigella* sont des membres de l'espèce *E. coli*. Cependant, du fait de leurs caractères biochimiques particuliers et de leur pouvoir pathogène chez l'homme, la communauté médicale a conservé cette dénomination [14], [15]. Ces similitudes génétiques facilitent ainsi la conjugaison bactérienne. Ce qui explique pourquoi un individu sur deux contaminé par la souche d'*E. coli* /ETEC est aussi atteint de shigellose.

Transmission commune : La prévalence élevée de multiples pathogènes chez un même individu pointe vers une source de contamination environnementale commune, principalement l'eau et les aliments souillés par des déjections humaines.

La mise en évidence de ces co-infections remet en question les protocoles de traitement standardisés : Un patient traité uniquement pour le choléra (réhydratation) pourrait rester porteur de *Shigella* ou *Salmonella Typhi*, nécessitant une antibiothérapie spécifique pour éviter des complications graves comme la perforation intestinale ou la mort.

La détection de souches ETEC et STEC chez plus d'un tiers des patients cholériques nécessite une surveillance accrue de la résistance aux antibiotiques en milieu hospitalier.

Les méthodes moléculaires telles que la PCR ont prouvé être une technique sensible et spécifique par rapport à d'autre capable de réaliser un examen microscopique pour le diagnostic des selles parasites [16]

L'utilisation de la PCR Point-of-Care (POC) représente un saut technologique majeur pour la RDC. Contrairement à la culture classique, qui nécessite 48 à 72 heures, le système

RADIOne a permis d'obtenir une confirmation en moins de 90 minutes.

L'intégration de la PCR multiplex dans la routine diagnostique est essentielle pour une réponse épidémiologique efficace en RDC, permettant de passer d'une gestion mono-pathogène à une prise en charge globale des gastro-entérites infectieuses, notamment pour le cas de Shigellose associés au choléra.

Le taux élevé de co-détection rejoint les observations récentes en Zambie lors de l'épidémie de choléra 2023–2024, où l'utilisation d'un panel multiplex a mis en évidence une forte diversité de co-pathogènes chez des patients présentant un syndrome cholériforme [17], [18]. Ces résultats renforcent l'intérêt d'une surveillance syndromique multi-pathogènes pendant les flambées, mais les profils d'agents diffèrent selon les contextes géographiques et les panels utilisés.

Au Bangladesh, une surveillance hospitalière de longue durée a montré la coexistence de *V. cholerae* et d'ETEC, confirmant que ces deux agents peuvent circuler simultanément chez des patients diarrhéiques [19]. Dans notre série, ETEC était fréquent (33,3 %) mais son association avec *V. cholerae* n'atteignait pas la significativité statistique ($p=0,308$). Il serait donc excessif de conclure à une influence directe du choléra sur ETEC.

L'association Shigella–ETEC était le signal statistique le plus cohérent. Des travaux au Burkina Faso montrent également que ces deux agents représentent des cibles importantes dans les diarrhées pédiatriques et que les méthodes moléculaires augmentent leur détection par rapport à certaines approches conventionnelles [20]. Une explication épidémiologique plausible est le partage de voies de transmission oro-fécale ; nos données ne permettent toutefois pas de démontrer une interaction biologique, une conjugaison ou un effet de croissance mutuelle.

L'association Salmonella–STEC doit être interprétée avec une grande prudence. La présence de seulement quatre cas STEC produit des IC95 % très larges et expose à une instabilité des estimations. Ce résultat doit être présenté comme exploratoire et confirmé dans un échantillon plus large. Cette prudence est d'autant plus importante que la performance des PCR ciblant les pathotypes d'*E. coli* peut varier selon les lignages circulants ; une étude nigériane récente a montré des discordances importantes entre PCR et séquençage pour certains pathotypes [21].

Les panels PCR multiplex améliorent généralement le rendement et la rapidité diagnostiques, mais une détection moléculaire ne signifie pas nécessairement infection active

ou causalité clinique. Des évaluations récentes de panels gastro-intestinaux multiplex soulignent leur haute performance pour plusieurs cibles tout en rappelant la nécessité d'interpréter les résultats selon le contexte clinique et épidémiologique [22] [23].

Par ailleurs, la prévalence élevée de co-infections observée souligne la nécessité d'élargir les stratégies thérapeutiques au-delà du seul traitement ciblant *V. cholerae* pour inclure une couverture antibiotique adaptée au spectre bactérien circulant. Cette réorientation stratégique s'aligne sur les initiatives actuelles du ministère de la Santé en RDC, préconisant une approche globale intégrant des mesures d'hygiène renforcées à une prise en charge thérapeutique diversifiée [24]. En effet, la gestion des cas de co-infection, particulièrement chez les populations vulnérables comme les personnes immunodéprimées, demeure un défi clinique majeur qui nécessite une vigilance accrue face aux complications potentielles [17], [25].

V. CONCLUSION

Cette étude, menée dans le contexte épidémique critique de l'année 2025 en République Démocratique du Congo, apporte un éclairage nouveau sur l'étiologie des maladies diarrhéiques. En utilisant la technologie PCR multiplex RADIOne, nous avons démontré que l'infection à *Vibrio cholerae* est rarement isolée.

Les résultats montrent que plus de 80 % des patients positifs au choléra présentent des co-infections avec d'autres pathogènes majeurs tels que *Shigella* et *E. coli* ETEC. L'analyse de réseau réalisée via le logiciel R a mis en évidence une interconnectivité pathologique dense, suggérant que les sources de contamination environnementale sont saturées par une diversité de germes entériques.

Chez les 255 patients diarrhéiques analysés, *V. cholerae* était le pathogène le plus fréquemment détecté, suivi de *Shigella* spp. et d'ETEC. Plus de la moitié des patients présentaient au moins deux cibles bactériennes. L'association Shigella–ETEC était statistiquement significative, tandis que l'association Salmonella–STEC constituait un signal exploratoire fragile en raison du très faible nombre de cas STEC. Aucune association statistiquement significative n'a été démontrée entre *V. cholerae* et chacun des autres agents. Ces résultats fournissent de nouvelles données sur la co-circulation d'agents entériques en contexte épidémique à Kinshasa et soutiennent l'intérêt d'une surveillance moléculaire multiplex, à confirmer par des études multicentriques, des données cliniques mieux documentées et une validation analytique locale.

Prévalence des co-infections bactériennes entériques chez les ...

Il est impératif d'intégrer la PCR multiplex dans les protocoles de surveillance épidémiologique en RDC. Cette approche permet une détection simultanée, rapide (en moins de 60 minutes) et précise, indispensable pour une gestion efficace des foyers épidémiques.

La circulation simultanée de multiples souches bactériennes augmente le risque de transfert de gènes de résistance. Une surveillance génomique régulière est recommandée pour adapter les antibiogrammes nationaux.

La "toile de l'infection" identifiée pointe directement vers une faille des infrastructures d'eau et d'assainissement. La priorité doit rester l'accès à l'eau potable et le traitement des eaux usées pour briser ce cycle de poly-contamination.

REFERENCES

1. H. U. Ugbo, O. C. Nwinyi, S. U. Oranusi, and J. O. Oyewale, "Childhood diarrhoeal diseases in developing countries," *Heliyon*, vol. 6, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.1016/j.heliyon.2020.e03690
2. Organisation mondiale de la Santé (OMS), "Maladies diarrhéiques (Diarrhoeal disease)." [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease> le 12/12/2025 à 11h10
3. S. Panwar et al., "Toxin-linked mobile genetic elements in major enteric bacterial pathogens," *Gut Microbiome*, vol. 4, Jan. 2023, doi: 10.1017/gmb.2023.2.
4. M. J. G. Farthing et al., "Acute Diarrhea in Adults and Children," *Journal of Clinical Gastroenterology*, vol. 47, no. 1, pp. 12–20, Dec. 2012, doi: 10.1097/mcg.0b013e31826df662.
5. M. S. (MSF) Frontières, "Democratic Republic of Congo: Cholera epidemic rapidly spreading across the country."
6. O. mondiale de la Santé, "Cholera." [Online]. Available: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cholera>
7. J. B. Kaper, J. P. Nataro, and H. L. T. Mobley, "Pathogenic *Escherichia coli*," *Nature Reviews Microbiology*, vol. 2, no. 2, pp. 123–140, Feb. 2004, doi: 10.1038/nrmicro818.
8. I. Pasteur, "Shigellose." [Online]. Available: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/shigellose>
9. K. L. Kotloff, M. S. Riddle, J. A. Platts-Mills, P. B. Pavlinac, and A. K. M. Zaidi, "Shigellosis," *The Lancet*, vol. 391, no. 10122, pp. 801–812, Dec. 2017, doi: 10.1016/s0140-6736(17)33296-8.
10. W. H. Organization, "Typhoid," WHO, 2010.
11. J. A. Crump and E. D. Mintz, "Global Trends in Typhoid and Paratyphoid Fever," *Clinical Infectious Diseases*, vol. 50, no. 2, pp. 241–246, Dec. 2009, doi: 10.1086/649541.
12. O. mondiale de la (OMS) Santé, "Suspected triple outbreak of typhoid fever, shigellosis and cholera – Congo," *Disease Outbreak News*.
13. Md A. Gazi, Md A. Alam*, S. M. Fahim, B. Z. Wahid, S. S. Khan, Md O. Islam, Md M. Hasan, S. M.T. Hasan, S. Das, M. Mahfuz, R. Haque, T. Ahme, "Infection With *Escherichia Coli* Pathotypes Is Associated With Biomarkers of Gut Enteropathy and Nutritional Status Among Malnourished Children in Bangladesh," *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, vol. 12, pp. 901324–901324, Jul. 2022, doi: 10.3389/fcimb.2022.901324.
14. S. F. de (SFM) Microbiologie, "*Escherichia coli* et *Shigella* spp. : caractéristiques microbiologiques et diagnostic," 2019.
15. R. Lan and P. R. Reeves, "*Escherichia coli* in disguise: molecular origins of *Shigella*," *Microbes and Infection*, vol. 4, no. 11, pp. 1125–1132, Sep. 2002, doi: 10.1016/s1286-4579(02)01637-4.
16. J. J. Verweij and C. R. Stensvold, "Molecular Testing for Clinical Diagnosis and Epidemiological Investigations of Intestinal Parasitic Infections," *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 27, no. 2, pp. 371–418, Apr. 2014, doi: 10.1128/cmr.00122-13.
17. D. H. Kuntawala et al., "Prevalence and Patterns of Enteric Co-Infections Among Individuals Presenting with Cholera-like Diarrheal Disease During Seasonal Cholera Outbreaks," *Pathogens*, vol. 14, no. 12, pp. 1224–1224, Nov. 2025, doi: 10.3390/pathogens14121224.

18. A. Chauwa, S. Bosomprah B. Phiri N.M. Laban, D. H. Kuntawala D. Ngosa, H. Ng'ombe, F.Liswaniso, C.C. Luchen, M. Muchimba, I. Mwape, B.T. Nzangwa, S. F. Tigere, K. Chibesa, S. Silwamba, M. Simuyandi, N. Mbewe, R. Chilengi and C. Chisenga. Centre for Infectious Disease Research in Zambia, P.O. Box 34681, Lusaka 10101, Zamb, "Rotavirus Prevalence, Genetic Diversity, and Co-Infections During the 2023–2024 Cholera Outbreak in Zambia: Insights from Multi-Pathogen Diagnostics," *Viruses* , vol. 18, no. 5, pp. 508–508, Apr. 2026, doi: 10.3390/v18050508.
19. J. Alam, S. N. Shaima, R. Das, Md. A. Haque, Md. N. Hossain, S. H. Khan, S. Nuzhat, M. J. Chisti, T. Ahmed, S. Chakraborty, A. S. G. Faruque. "Epidemiology and clinical profile of diarrhea associated with enterotoxigenic Escherichia coli and Vibrio cholerae in Bangladesh: Findings from a hospital-based surveillance system, 2008–2023," *PLoS neglected tropical diseases* , vol. 19, no. 11, Nov. 2025, doi: 10.1371/journal.pntd.0013697.
20. Héma, A.; Sermé, S.S.; Sawadogo, J.; Diarra, A.; Barry, A.; Ouédraogo, A.Z.; Nébié, I.; Tiono, A.B.; Houard, S.; Chakraborty, S.; "Contribution of the Rapid LAMP-Based Diagnostic Test (RLDT) to the Evaluation of Enterotoxigenic Escherichia coli (ETEC) and Shigella in Childhood Diarrhea in the Peri-Urban Area of Ouagadougou, Burkina Faso," *Microorganisms* , vol. 11, no. 11, pp. 2809–2809, Nov. 2023, doi: 10.3390/microorganisms11112809.
21. O. C. Akinlabi, R. A. Dada, E. Q. Nwoko, and I. N. Okeke, "PCR diagnostics are insufficient for the detection of Diarrhoeagenic Escherichia coli in Ibadan, Nigeria," *PLOS Global Public Health* , vol. 3, no. 8, Aug. 2023, doi: 10.1371/journal.pgph.0001539.
22. X. Hu, C. Lin, G. Li, T. Jiang, and J. Shen, "A microfluidic chip-based multiplex PCR-reverse dot blot hybridization technique for rapid detection of enteropathogenic bacteria," *Journal of Microbiological Methods* , vol. 211, pp. 106785–106785, Jul. 2023, doi: 10.1016/j.mimet.2023.106785.
23. J. Mohtar et al. , "Enhancing enteric pathogen detection: implementation and impact of multiplex PCR for improved diagnosis and surveillance," *BMC Infectious Diseases* , vol. 24, no. 1, pp. 171–171, Feb. 2024, doi: 10.1186/s12879-024-09047-z.
24. C. Williams, O. Cumming, L. Grignard, B. B. Rumedeka, J. M. Saidi, D. Grint, C. Drakeley & A. J. Altmét, "Prevalence and diversity of enteric pathogens among cholera treatment centre patients with acute diarrhea in Uvira, Democratic Republic of Congo," *BMC Infectious Diseases* , vol. 20, no. 1, pp. 741–741, Oct. 2020, doi: 10.1186/s12879-020-05454-0.
25. Kuntawala, D.H.; Martins, F.; Vitorino, R.; Rebelo, S.. , "Prevalence and Patterns of Enteric Co-Infections Among Individuals Presenting with Cholera-like Diarrheal Disease During Seasonal Cholera Outbreaks," Oct. 31, 2025. doi: 10.20944/preprints202510.2449.v1.