

Impact et place des tests syndromiques rapides – Mardi 10 avril 2018

Dr Hervé Jacquier

Maitre de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire de Microbiologie – CHU Lariboisière
Université Paris Diderot
IAME - INSERM UMR 1137

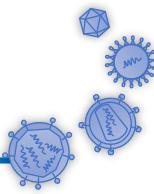


Dr Benoit Visseaux

Maitre de Conférence des Universités – Praticien Hospitalier
Laboratoire de Virologie – CHU Bichat
Université Paris Diderot
IAME - INSERM UMR 1137



Conflit d'intérêt

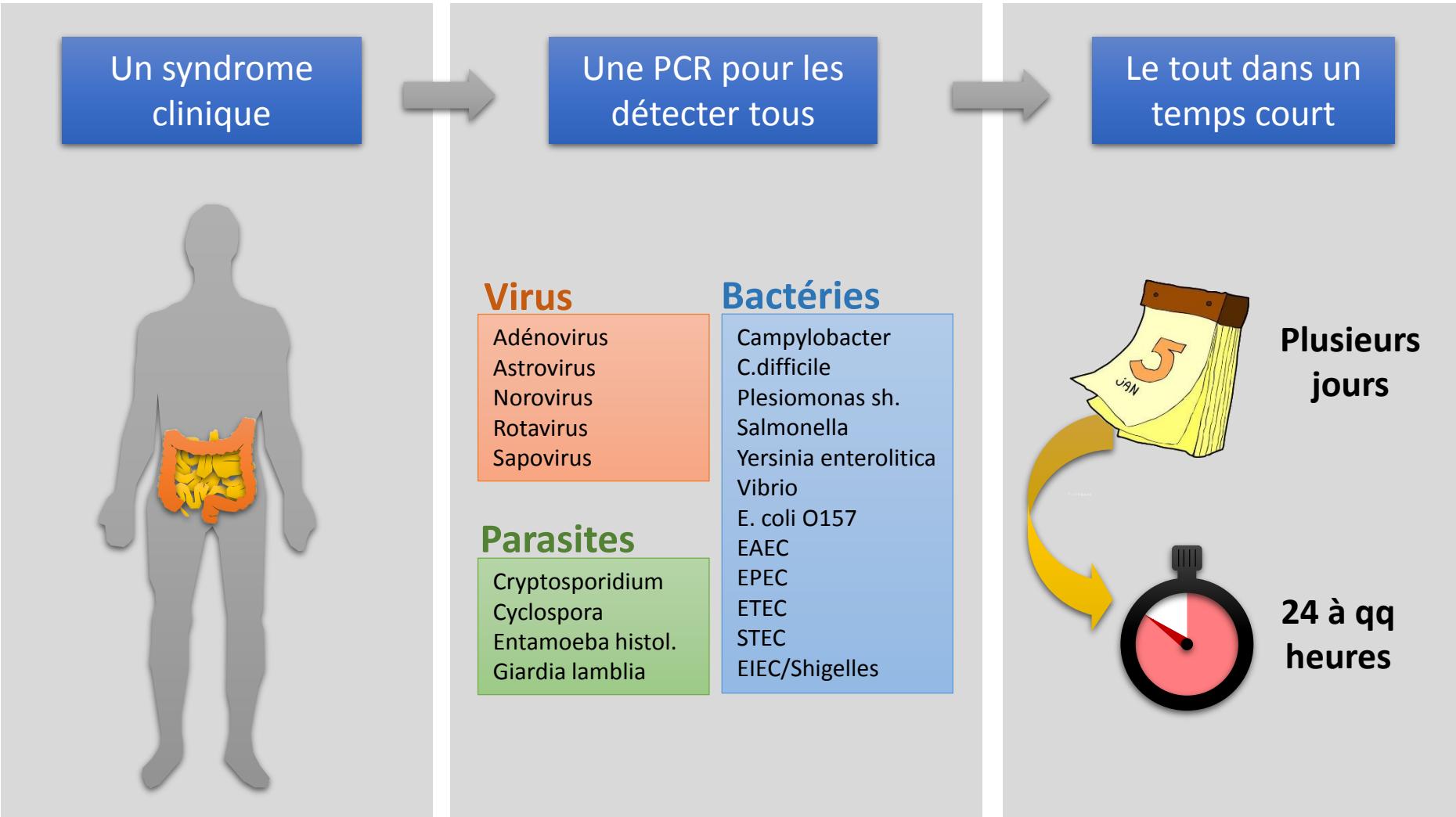


- Hervé Jacquier
 - Evaluation Amplidiag Bacterial GE
 - Lariboisière : évaluation RIHN trousse moléculaires sepsis
- Benoit Visseaux
 - BioMérieux : advisory board, congrès
 - Stat Diagnostica : congrès
 - Janssen : congrès

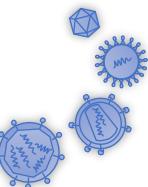


Tests syndromiques...

- ... qu'est ce que c'est ?

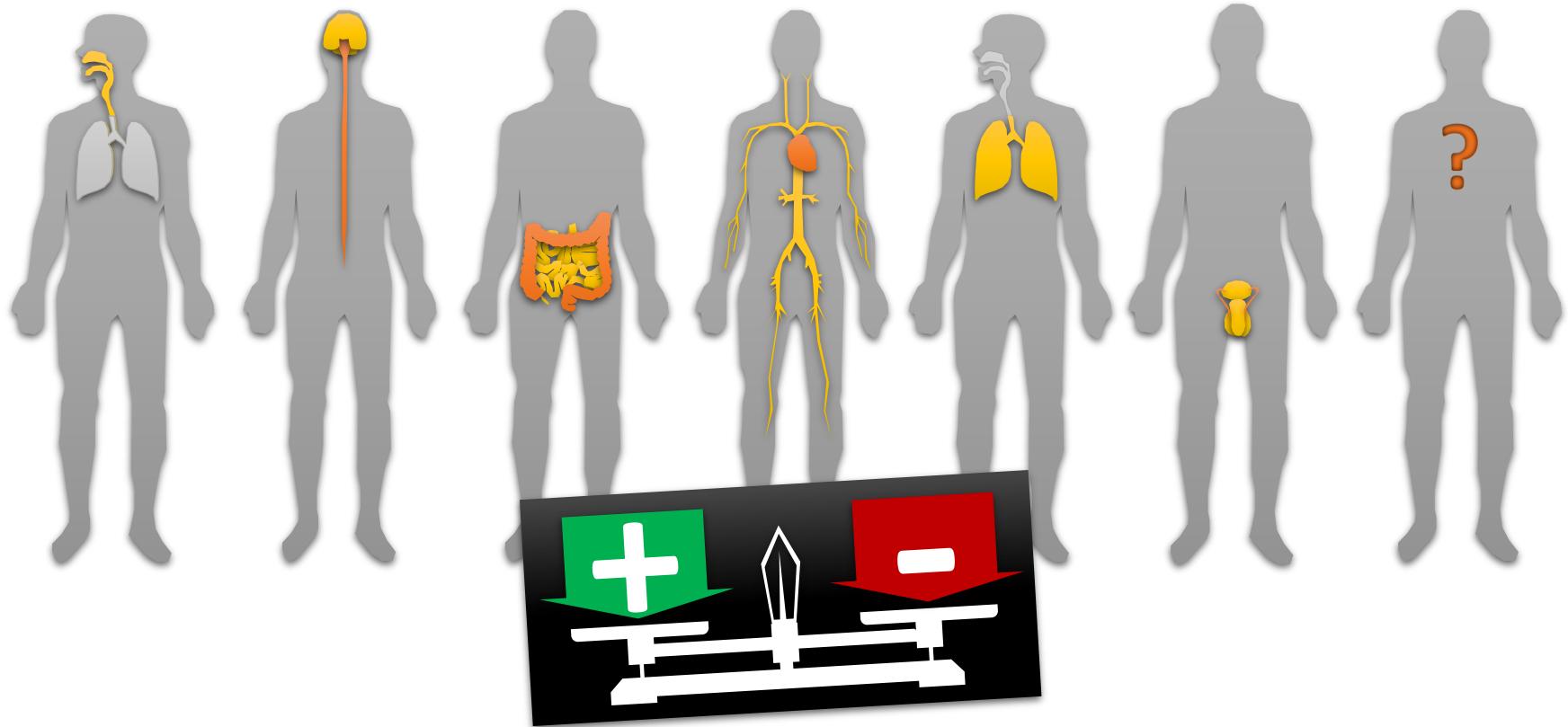


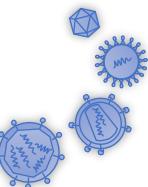
Tests syndromiques rapides...



- Quelles performances et quels apports ?
- Faut-il, et comment, les utiliser ?

Respiratoire (NP)	Méningo- encéphalite	Gastro- intestinal	Sepsis	Pneumonie (LBA)	I.S.T.	A venir ? IOA, Greffe, ...
----------------------	-------------------------	-----------------------	--------	--------------------	--------	----------------------------------





Plan

I. Panel respiratoire

1. Expérience des mPCR – Hôpitaux Univ. Paris Nord Val de Seine
2. Déetecter les virus respiratoires... Pkoi ?
3. Quelle organisation idéale ?
4. Déetecter vite ! Expérience de l'hôpital Lariboisière

II. Panel méningite/encéphalite

1. Questions et défis du diagnostic biologique
2. Performance du panel BioFire® - Expérience des HUPNVS
3. Rationaliser la prescription – Expérience de l'hôpital Lariboisière

III. Panel gastro-intestinal

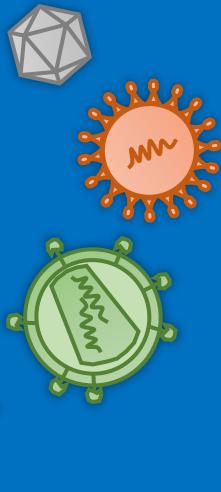
1. Les nombreux panels... Avantages et défauts...
2. Quelques résultats, et quel positionnement

IV. Panel hémoculture

1. Questions et défis du diagnostic biologique
2. Les nombreux panels... Avantages et défauts...

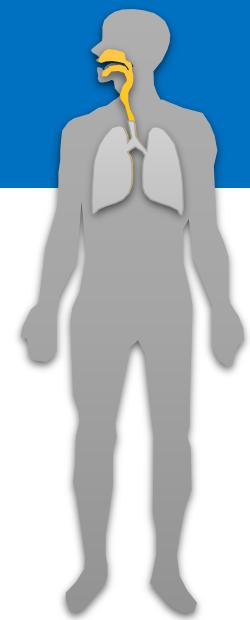
V. Conclusion





Performances et apports... *... panel respiratoire « haut »*

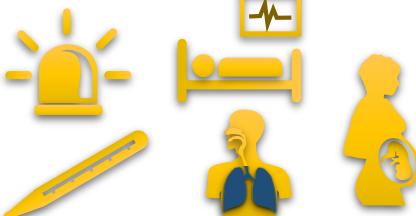
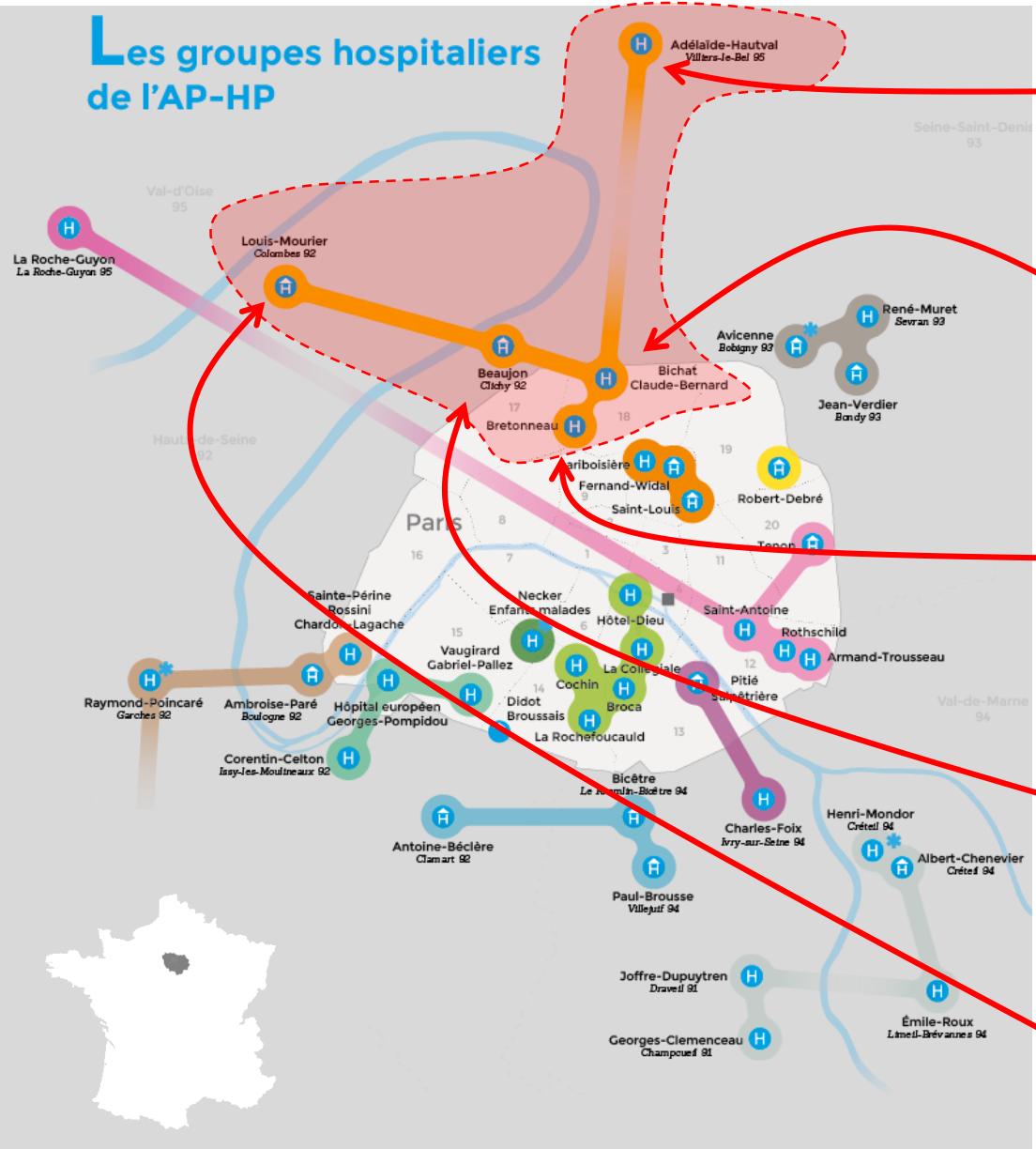
Expérience des mPCR aux HUPNVS

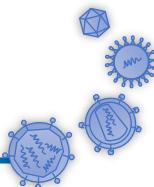




Groupe Hospitalier Paris Nord Val de Seine

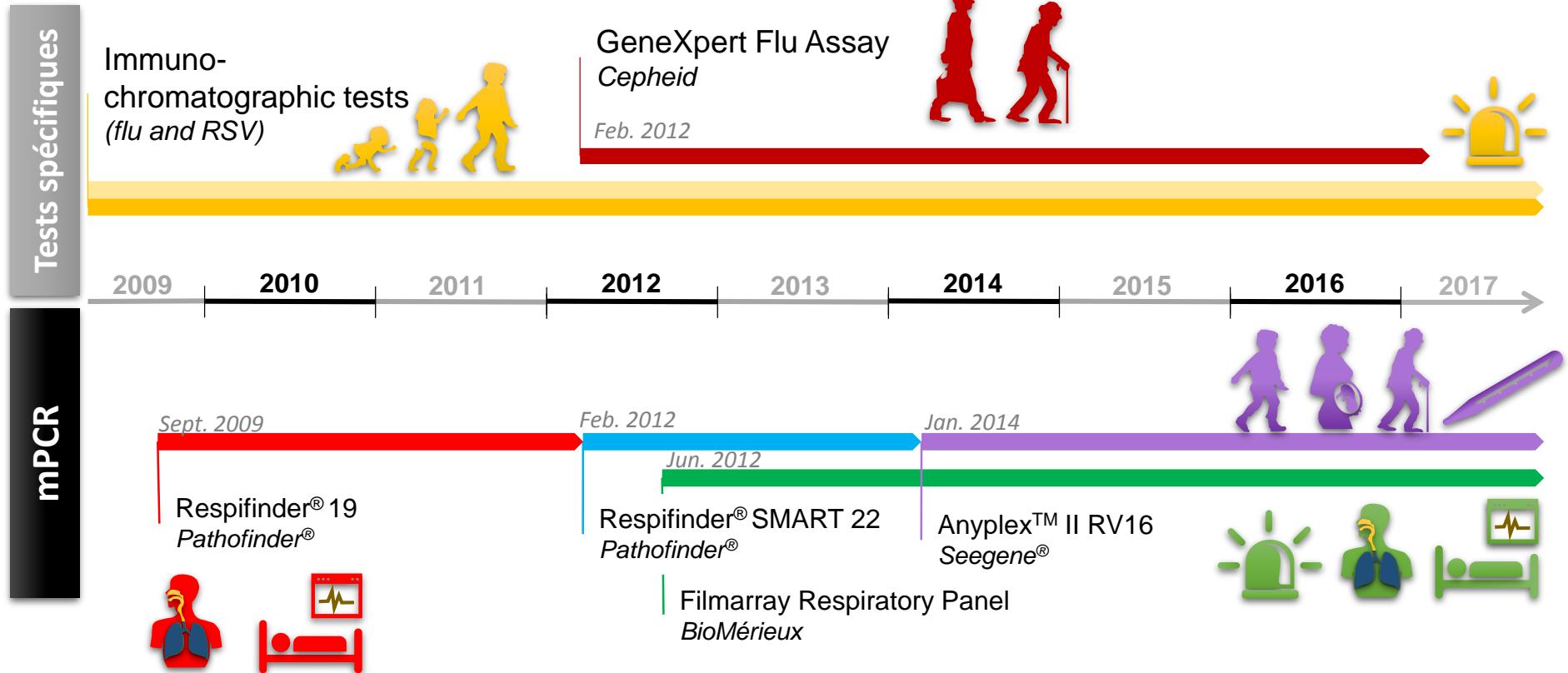
Les groupes hospitaliers de l'AP-HP





Les méthodes diagnostiques

- mPCR tests implémentés en 2009, une requête des cliniciens
 - De la réanimation
 - De l'unité des greffes pulmonaires



Anyplex™ II RV16 et RB5 - Seegene®



Délai de rendu = 24h (ouvrées)

- Adenovirus ; Influenza A/B ; Parainfluenza (1-4) ; Rhinovirus (A-C) ; Enterovirus ; Respiratory syncytial virus A/B ; Bocavirus (1-4) ; Metapneumovirus ; Coronavirus (229E, NL63, OC43) **n= 21 cibles**
- *Mycoplasma pneumoniae* ; *Chlamydophila pneumoniae* ; *Legionella pneumophila* ; *Bordetella pertussis* et *parapertussis* **n= 5 cibles**

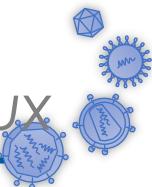


Coût



Temps technicien, compétence,
délai de rendu, plusieurs étapes

Filmarray Respiratory Panel - Biomérieux



Délai de rendu = 1h



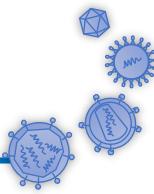
- **Adenovirus ; Influenza A/B ; Parainfluenza (1-4) ; Rhinovirus (A-C) ; Enterovirus ; Respiratory syncytial virus A/B ; Metapneumovirus ; n= 17 cibles**
Coronavirus (HKU1, 229E, NL63, OC43)
- ***Mycoplasma pneumoniae* ; *Chlamydophila pneumoniae* ; *Bordetella pertussis*** **n= 3 cibles**



**Temps technicien, formation,
délai de rendu, délocalisable**



Coût



Performances et apports

- **Tests comparateurs**
 - Immunochromatographie, immunofluorescence : moins sensibles
 - PCR simplex : organisation lourde, consommateur de prélèvement
- **Etudes publiées avant/après**
 - *Rogers B.B. Arch Pathol Lab Med 2015; 139:636-641*
 - Temps de rendu du résultat : **6,4 vs 18,7 h avant mPCR**
 - **78% de résultats positifs** vs 60% avant mPCR
 - *Rappo U. J Clin Microbiol 2016; 54:2096-2103*
 - Temps de rendu du résultat : **virus influenzae → 1,7 vs 7,7 h**
virus non influenzae → 1,5 vs 13,5 h
 - **41% de résultat positifs** vs 8% avant mPCR
 - **Impacts sur la prise en charge des patients (durées d'hospitalisations, d'antibiothérapie) liés au délai de rendu court**

Performances et apports

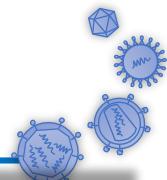
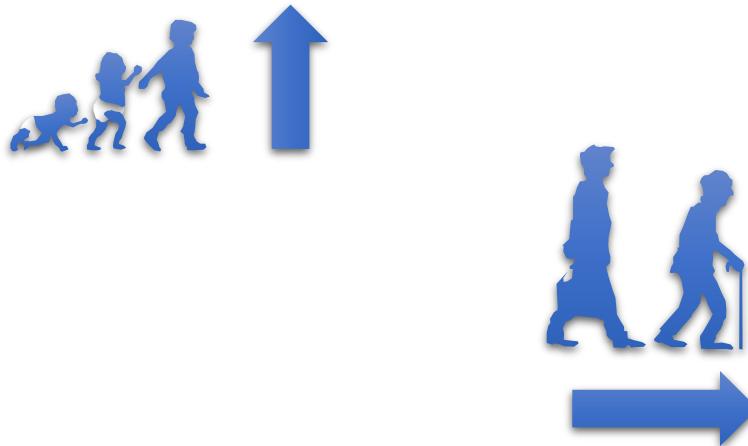
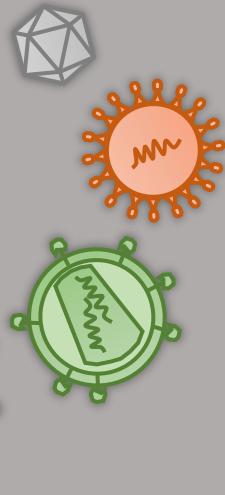


Table 3. Results of Rapid Respiratory Panel (RRP) Testing

Variable	Pre-RRP (n = 365)	Post-RRP (n = 771)
Positive result, No. (%)	216 (59.8)	597 (77.9)
Organism	No. (% of Positive)	No. (% of Positive)
Respiratory syncytial virus	213 (98.6)	289 (48.4)
Influenza A	0	82 (13.7)
Influenza B	0	10 (1.6)
Parainfluenza 1–3	3 (1.4)	21 (3.5)
Parainfluenza 4	Not performed	1 (0.002)
Human metapneumovirus	0	57 (9.6)
Adenovirus	Not performed	4 (0.7)
Rhinovirus/enterovirus	Not performed	126 (21.1)
Coronavirus NL63	Not performed	7 (1.2)



Characteristic	No. (%) in season:	
	1 (n = 198)	2 (n = 139)
Positive test result		
Rapid antigen (alone)	51 (26)	
Prodesse (alone)	56 (28)	
Rapid antigen with reflex to Prodesse ^a	78 (39)	
Discordant (rapid antigen negative, Prodesse positive)	64	
Concordant (rapid antigen positive, Prodesse positive)	14	
Luminex	13 (7)	
Full-panel FilmArray		131 (94)
Individual orders for influenza virus or RSV FilmArray		8 (6)
Viruses detected		
Influenza A virus	142 (72) ^b	36 (26) ^c
Influenza B virus	16 (8)	18 (13)
RSV	29 (15)	9 (6)
Human metapneumovirus	3 (2)	27 (19)
Rhinovirus/enterovirus	8 (4)	42 (30)
Adenovirus	1 (0.5)	1 (0.7)
Coronavirus NL63	NA ^d	4 (3)
Coronavirus HKU1	NA	2 (1)
Parainfluenza virus 1	0	0
Parainfluenza virus 2	0	1 (0.7)
Parainfluenza virus 3	0	3 (2)
Parainfluenza virus 4	NA	1 (0.7)
Viral coinfection		
Double	1 (0.5) ^e	3 (2) ^f
Triple	0	1 (0.7) ^g



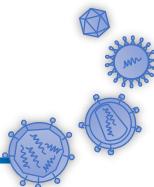
Virus respiratoires observés chez les enfants

Visseaux et al. 2016 PlosOne



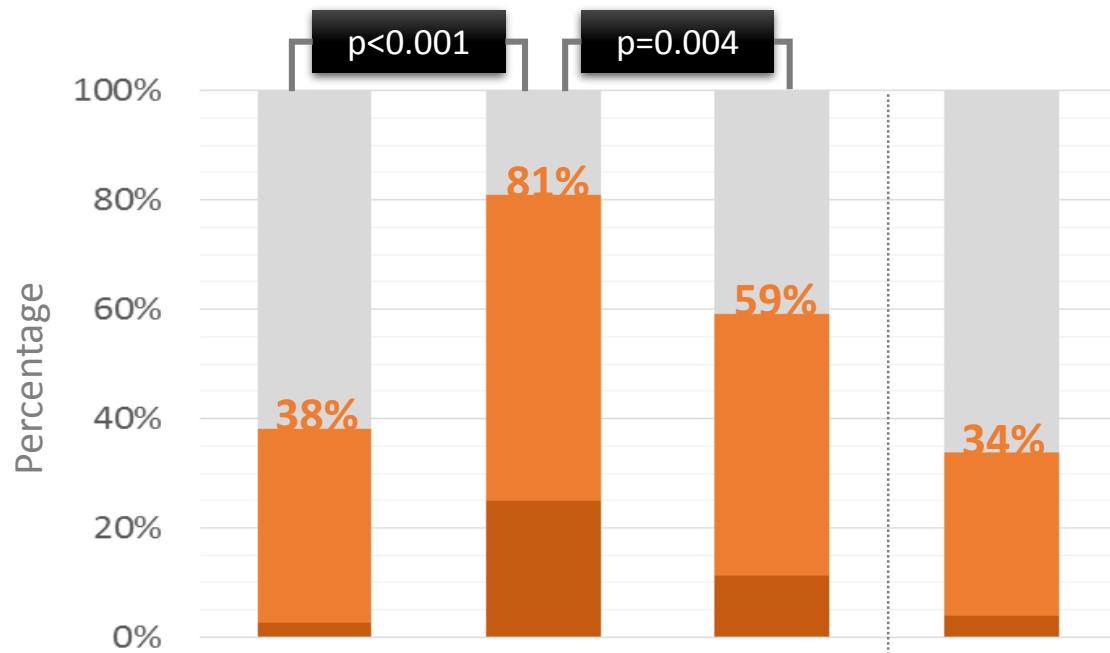


Enfants - Taux de positivité



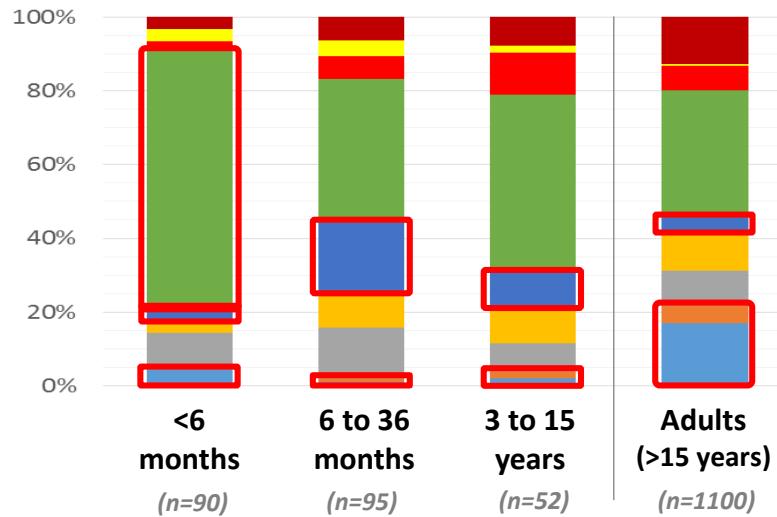
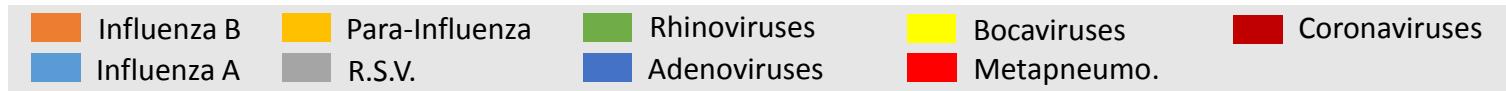
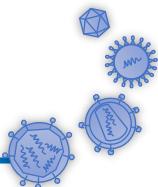
n= 380 échantillons
(345 enfants)

+ Taux de positivité global :
51% (CI₉₅: 46 - 57%)

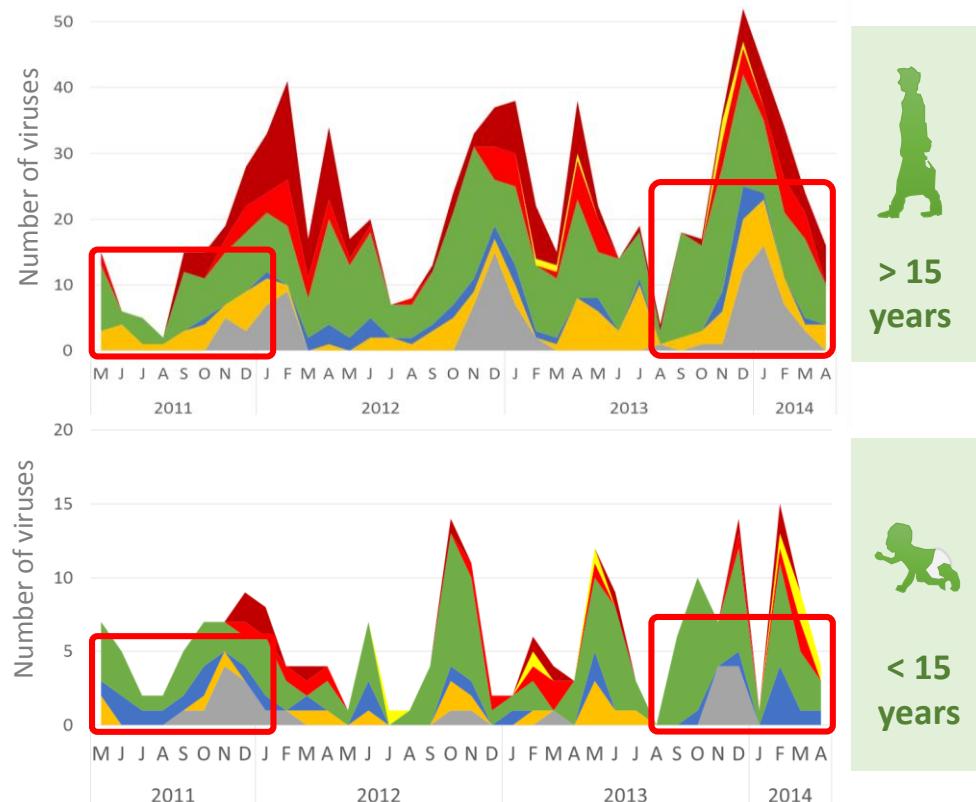


Age groups	<6 months	6 to 36 months	3 to 15 years	Adults (> 15 years)
Negative	62 %	19 %	41 %	66 %
Mono-infection	35 %	56 %	48%	30 %
Co-infection	3 %	25 %	11 %	4 %
Total number of samples	225	84	71	3165

mPCR : taux de positivité

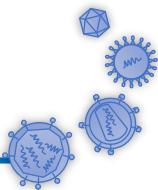


- **Rhinoviruses** les plus prévalents chez les <6 mois (**70 vs 42%, p≤0.04**)
- **Adenoviruses** les plus prévalents chez les 6 à 36 mois (**19 vs 6%, p=0.02**)
- **Influenza viruses** les plus prévalents chez les adultes (>15 years) (**22 vs 3%, p≤0.001**)



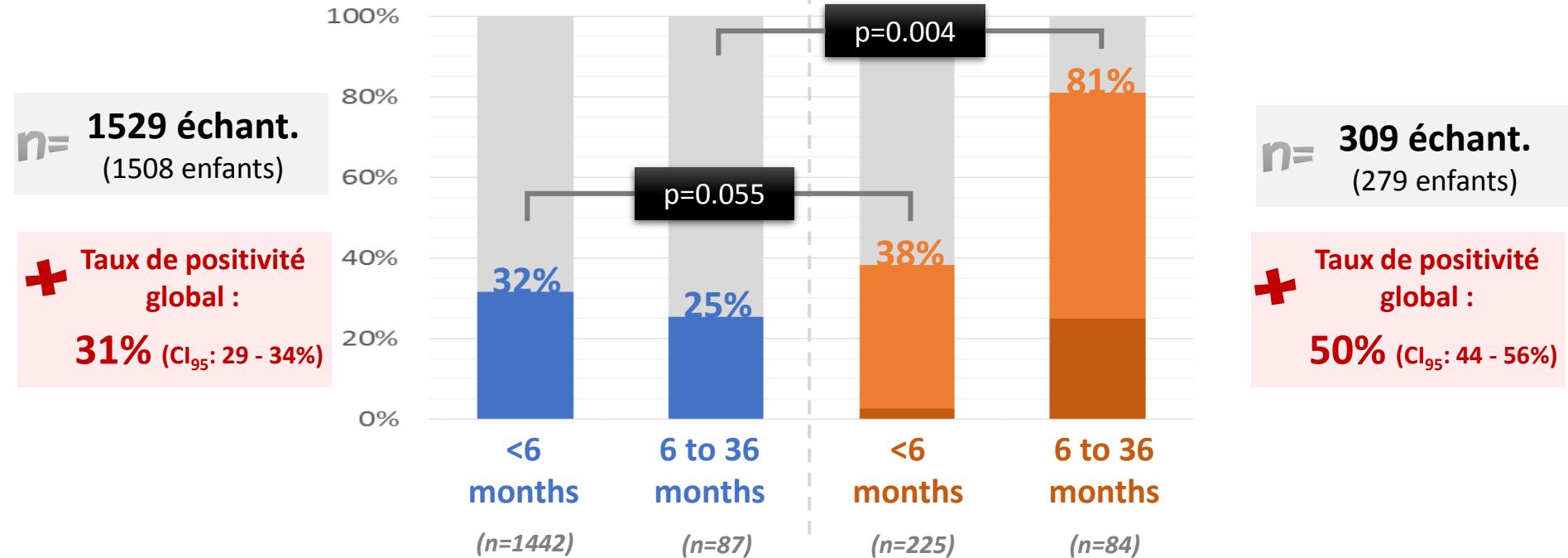
A l'exception des **virus influenzae**, la prévalence de chaque virus ne diffère pas sensiblement entre enfants et adultes

Immunochromato vs mPCR



Immunochromatographie VRS

PCR multiplex



n= 1529 échant.
(1508 enfants)

+ Taux de positivité global :
31% (CI₉₅: 29 - 34%)

n= 309 échant.
(279 enfants)

+ Taux de positivité global :
50% (CI₉₅: 44 - 56%)

IC - VRS

68 enfants testés avec des deux approches

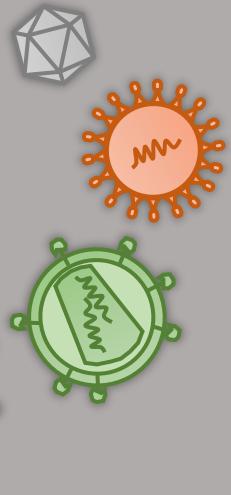
8 positives (11%)

60 négatives(89%)
51 (85%) <6 mois

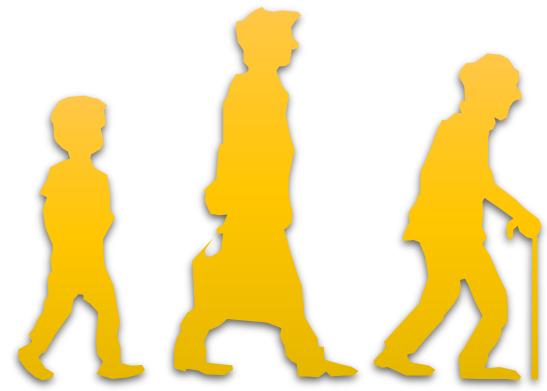
mPCR

27 (45%) positives
6 co-infections

**{ 22 HRV, 3 para-inf.,
2 VRS, 2 ADV,
1 MPV, 1 inf.,
1 Boca., 1 Corona.**

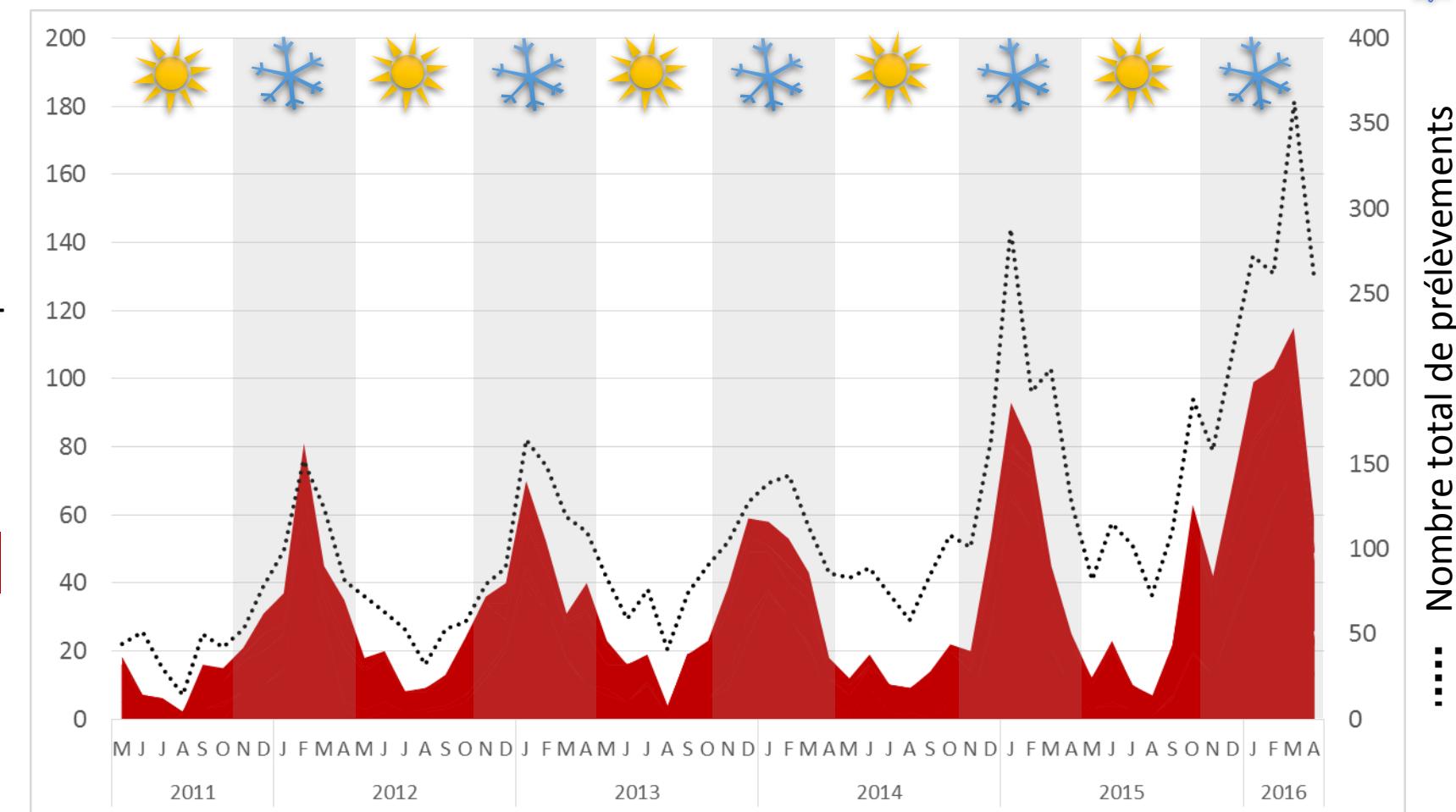
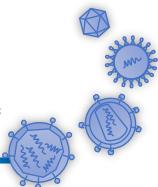


Résultats chez les adultes





Adultes - Taux de positivité

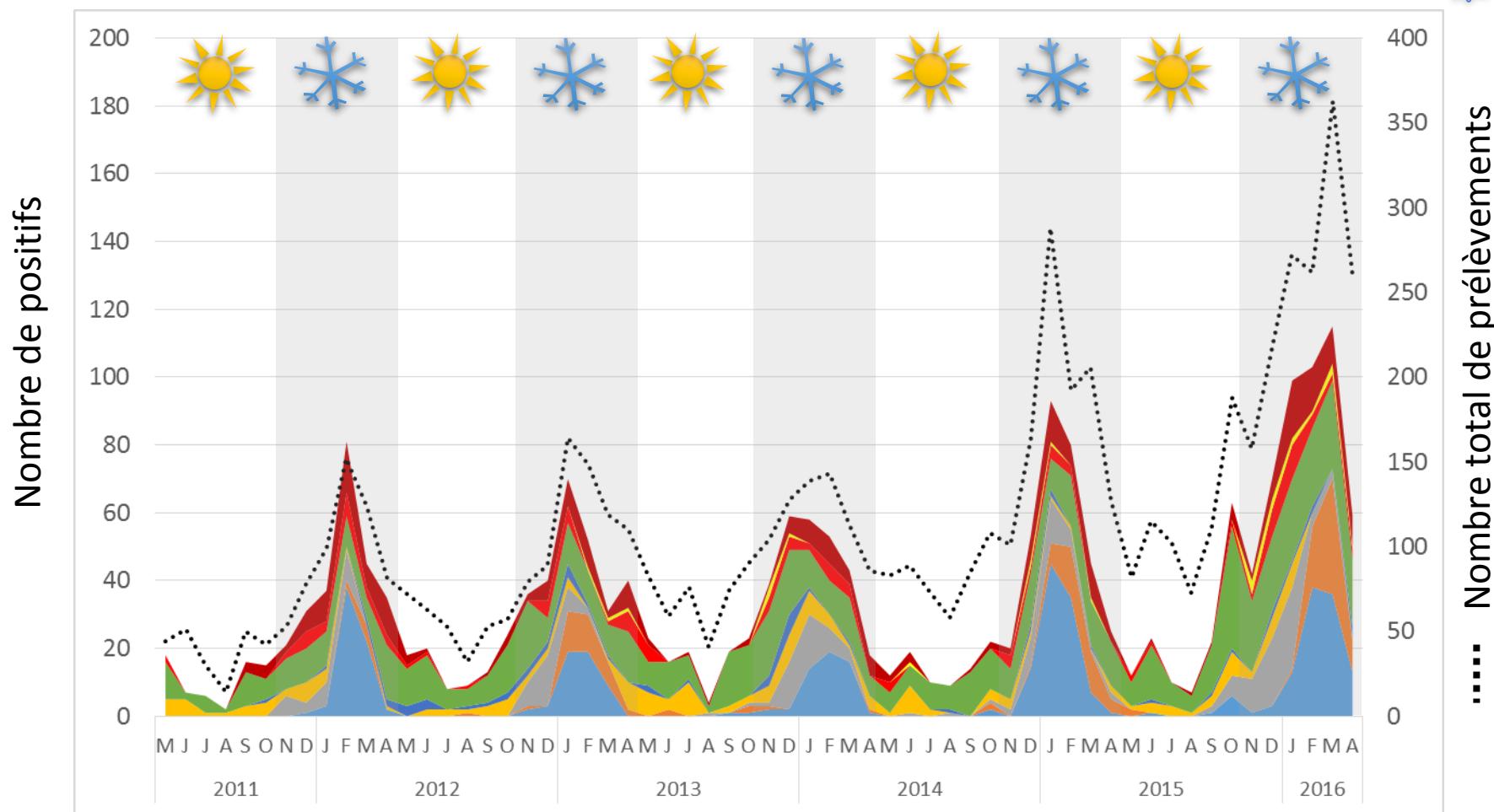
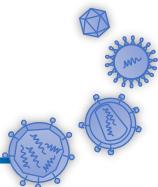


Taux de positivité : 29.2%
1.6% de co-infection virale





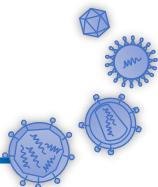
Adultes - Taux de positivité



Category	Virus	Frequency (%)
Highly frequent	Picornavirus	34%
	Influenza B	26%
	Influenza A	
Frequent	Coronaviruses	12%
	Parainfluenza viruses	8%
	R.S.V.	10%
Less frequent	Metapneumoviruses	6%
	Adenoviruses	3%
	Bocaviruses	1%



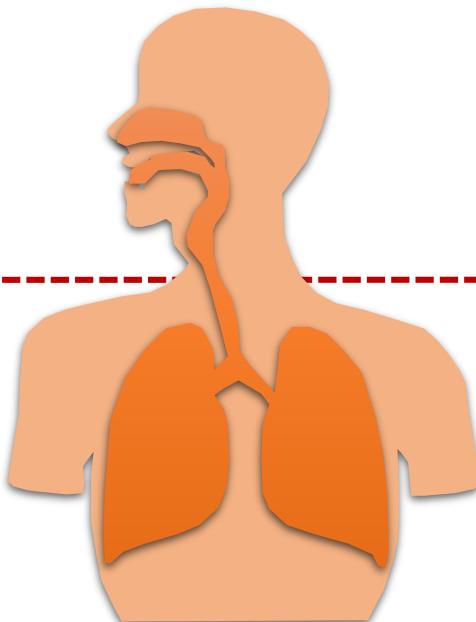
Sphères respiratoires



Prélèvements
naso-pharyngés



Sphère respiratoire haute



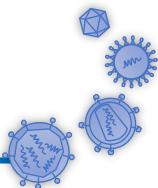
Sphère respiratoire basse



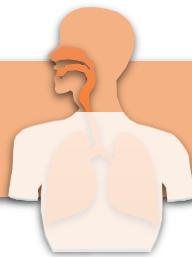
Lavage
broncho-alvéolaire



Sphères respiratoires



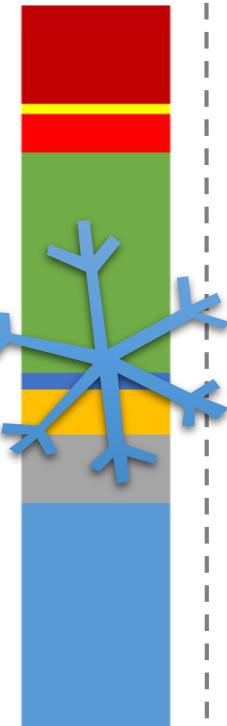
Sphère respiratoire Haute



n= 3864 échantillons

+ Taux de positivité :
32% (CI₉₅: 31 - 34%)

Coronaviruses	14%
Bocaviruses	1%
Metapneumoviruses	5%
Picornavirus	30%
Adenoviruses	2%
Parainfluenza	6%
R.S.V.	10%
Influenza	32%



Sphère respiratoire Basse



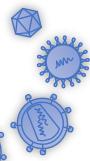
n= 2730 échantillons

+ Taux de positivité :
25% (CI₉₅: 21 - 24%)

Coronaviruses	9%
Bocaviruses	1%
Metapneumoviruses	6%
Picornavirus	41%
Adenoviruses	3%
Parainfluenza	12%
R.S.V.	10%
Influenza	16%

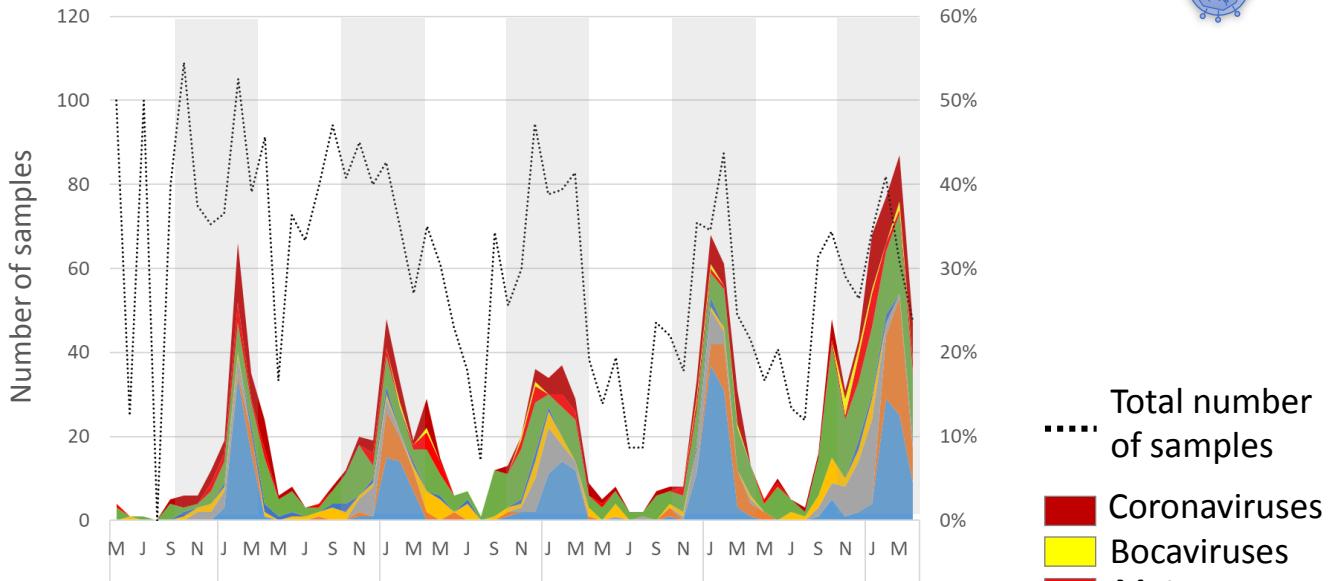


Sphères respiratoires



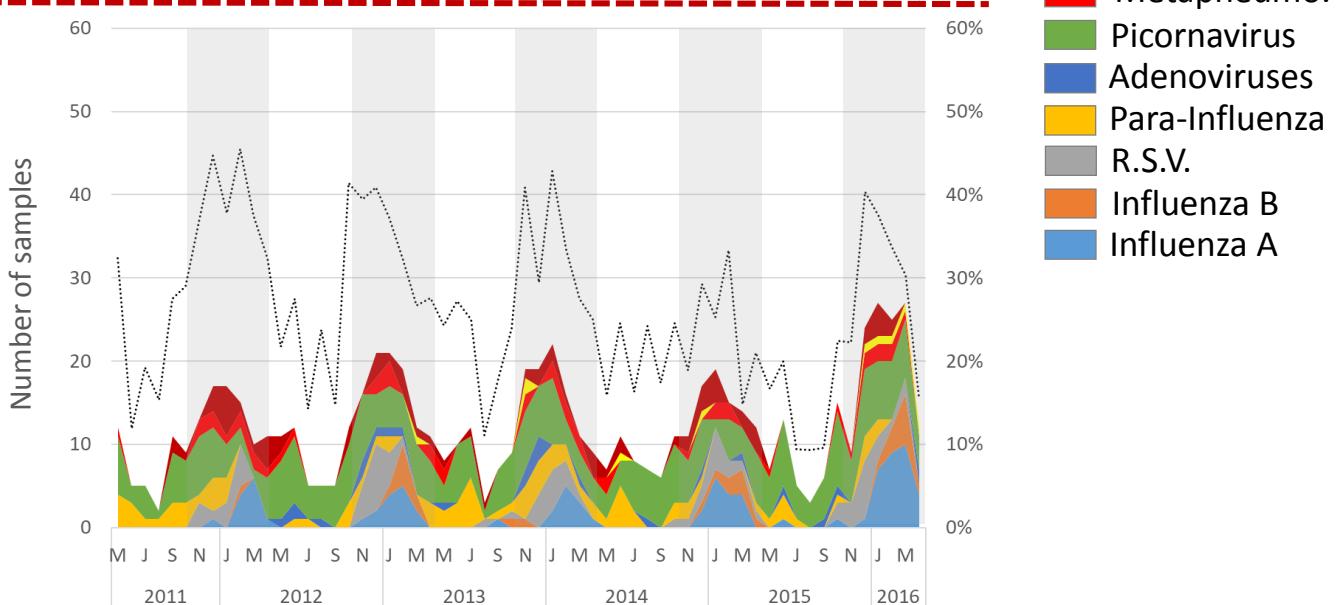
Sphère respiratoire haute

78 %
prélevés
en période
épidémique



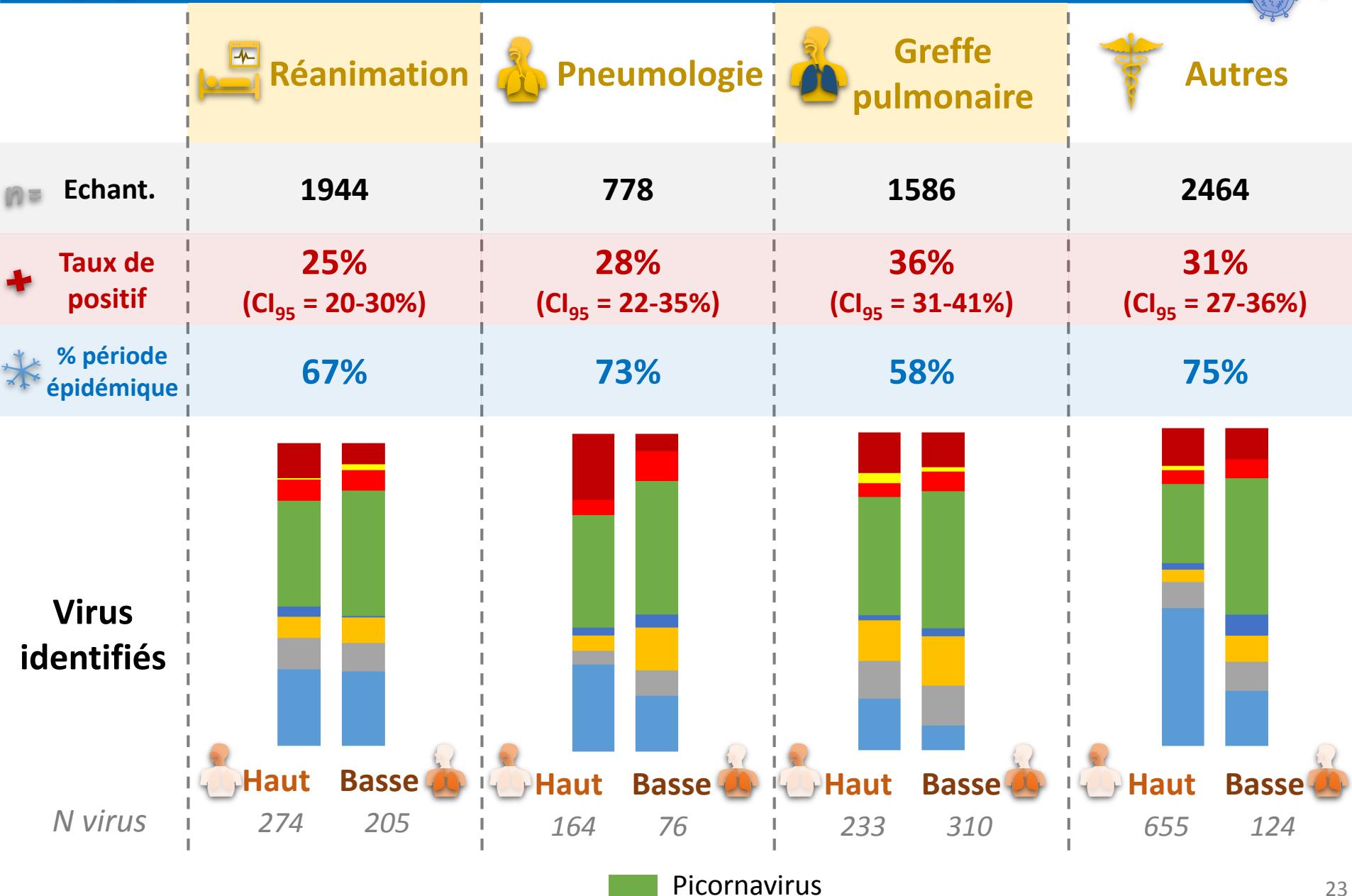
Sphère respiratoire basse

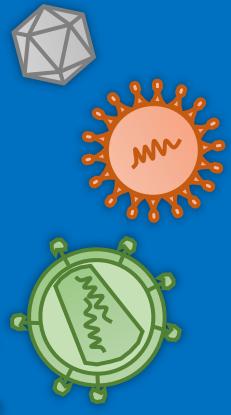
55 %
prélevés
en période
épidémique





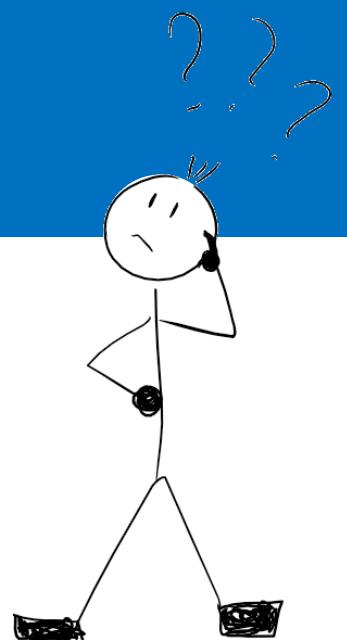
Sphères respiratoires





Diagnostic des infections respiratoires non grippales...

Pourquoi faire ?



Chez l'enfant

• Test rapide grippe aux urgences pédiatriques

- *Noyola DE Pediatr Infect Dis J 2000; 19(4):303-7*
Sharma V Arch Pediatr Adolesc Med 2002; 156:41-3
Esposito S Arch Dis Childhood 2003; 88:525-6
Bonner AB Pediatrics 2003; 112:363-7
Poehling KA Arch Pediatr Adolesc Med 2006; 160:713-8

- ✓ Diminution des tests biologiques et radiographiques
- ✓ Diminution des antibiotiques, augmentation des anti-grippaux
- ✓ Diminution de la durée de séjour aux urgences

• Test mPCR aux urgences pédiatriques

- *Rogers B.B. Arch Pathol Lab Med 2015; 139:636-641*
 - Winter period 2011-12 with IC RSV testing vs.
winter period 2012-14 with mPCR
-
- ✓ La mPCR augmente ces différents bénéfices
 - ✗ Mais... Comment gérer l'avalanche de résultats positifs

Chez l'adulte

• Dépistage grippe seule ou large (mPCR)

- *Falsey AR Arch Intern Med 2007; 167:354-60*
Shiley KT Infect Control Hosp Epidemiol 2010; 31:1177-83
- Patients aux Urgences ou hospitalisés pour infection respiratoire en période hivernale
 - ✓ Meilleure utilisation des traitements anti-grippaux
 - ✓ Antibiotiques continués chez 40 à 63% des patients positifs pour un virus...
 - ✗ ... Même en présence d'une radiographie normale

• mPCR rapide aux urgences

- *Rappo U. J Clin Microbiol 2016; 54:2096-2103*
- Une période hivernale avec IC ± IF ± simplex PCR ± mPCR
L'hiver suivant utilisation d'une mPCR rapide (FilmArray)
 - ✓ Plus de patients renvoyés à domicile
 - ✓ Durées d'hospitalisation plus courtes
 - ✓ Durées d'antibiothérapie plus courtes (*mais autant de patient recevant au moins une dose*)
 - ✓ Moins de radiographie (*mais autant de patient ayant au moins une radiographie*)

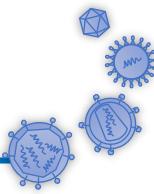
Pour isoler et épargner les AB^a

- **En pédiatrie**
 - Les recommandations :
 - **Etats-Unis :**
 - Tests viraux non recommandés (American Association of Paediatrics)
 - Tests viraux sensibles et spécifiques recommandés chez les enfants de plus de 3 mois (Paediatric Infectious Disease Society)...
 - ... mais ne recommande pas l'arrêt des antibiotiques pour la grippe (autres virus ?)
 - ... ni de recommandations pour les enfants de moins de 3 mois
 - **Europe** (European Society of Paediatrics Infectious Diseases) :
 - « Les tests PCR sont de plus en plus disponibles »
 - Mais pas de recommandation sur l'utilisation des tests ni des résultats

Recommandations...

- **Isolement :**
 - Oui si grippe !!!
 - Autres virus respiratoires : ???
 - **CDC (Etats-Unis)** : “*single patient rooms are prefered when there is a concern about transmission of an infectious agent*”
 - **SF2H (France)** :
 - *Personne qui tousse* : port du masque en milieu de soins
 - *Patient suspect ou atteint de pathologie à transmission respiratoire* : chambre individuelle (niveau C)
 - Fait en pratique dans les services de greffes
- **Arrêt des antibiotiques** : ?

Des virus si peu pathogènes ?



- **Quelques données déjà publiées :**

- Entre **13 et 56% des pneumopathies** acquises communautaires sont d'origines virales avec une minorité de grippe

Legoff et al. JCM 2005;43:455-457 ; Jennings et al. Thorax 2008,63:42–48 ; Johnstone et al. Chest 2008,134:1141–1148 ; Charles et al. CID 2008,46:1513–1521 ; Johansson et al. CID 2010,50:202–209 ; Cilloniz C et al. Crit Care 2011,15:R209

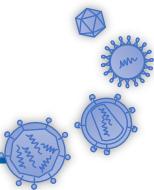
- La **mortalité** des pneumopathies aigues communautaires (PAC) virales (tout agents pathogènes confondus) a été récemment **estimée à 25%** (équivalente à la mortalité résiduelle des PAC bactériennes)

Choi et al. Am J Resp Crit Care Med 2012, 186(4):352-32

- Les **pneumonies aiguës nosocomiales d'origines virales** ne sont **pas rares** (22,5% virales vs 59,5% bactériennes) avec une mortalité équivalente (29,5 et 35,6%)

Hong et al. PlosOne 2014, 21;9(4):e95864

Virus respiratoires en Réanimation



- A Bichat Claude Bernard
 - **Pneumonies aigues communautaires en réanimation médicale**
(n=174, 2011-15)
 - *Voiriot et al. Crit care 2016 25;20(1):375.*
 - **31% Virale**, 26% Bactérienne, **26% co-infection**, 17% sans étiologie
 - **Pneumonies sévères** (décès ou ventilation mécanique > 7 jours):
 - **69% des PAC bactério-virales**
 - 39% des PAC bactériennes
 - 28% des PAC virales
 - 40% des PAC sans étiologies
 - **Pneumonies nosocomiales en réanimation médicale**
(n=999 tested by mPCR, 2014-16)
 - *Loubet et al. J Clin Virol. 2017 Jun;91:52-57.*
 - **17% virale**, 61% bactérienne, **13% co-infection**, 6% sans étiologie
 - **Plus forte mortalité** (62% vs 40%, p=0,3) et **durée d'hospitalisation** (31 vs 15 jours , p<0,001) **si co-infection** bactério-virale que bactérienne seule

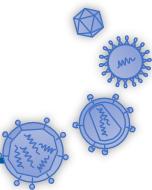
Bénéfices vs coûts...

- **Donc...**
 - Les PCR multiplex permettent l'arrêt des antibiotiques, de certains tests complémentaires, une meilleure gestion des isolements et la sortie des patients

- **Mais...**
 - Ces tests sont chers !
 - Sont-ils coût-efficace ?



La recherche du coût-efficace...



• USA

Economic analysis of rapid and sensitive polymerase chain reaction testing in the emergency department for influenza infections in children

Nelson RE. *Pediatr Infect Dis J* 2015; 34(6):577-82

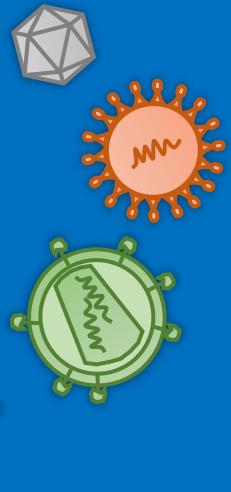
- “Identification of **influenza** in the **emergency department** using **rapid multiplex PCR** testing is a **cost-effective** strategy **for infants and children** 3 months through 18 years”.
- “Including detection of other respiratory viruses in the analysis would further improve cost-effectiveness”.

• UK

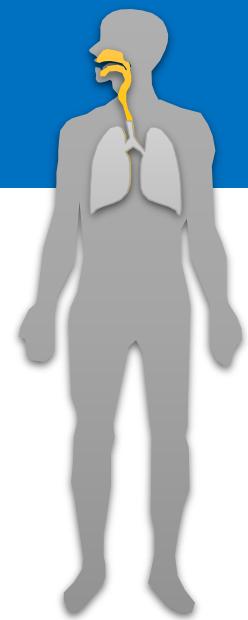
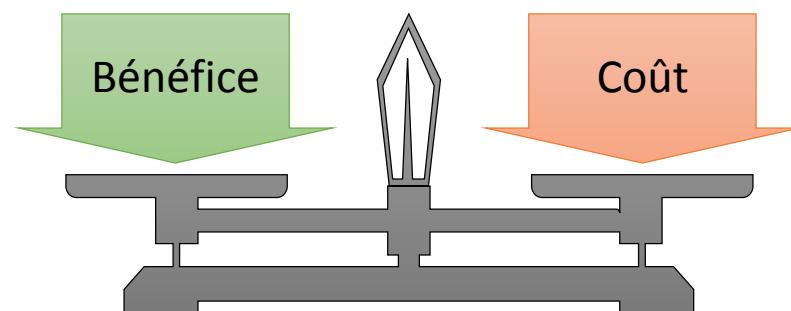
Routine molecular point-of-care testing for respiratory viruses in adults presenting to hospital with acute respiratory illness (ResPOC): a pragmatic, open-label, randomised controlled trial

Brendish NJ. *Lancet Respir Med* 2017; 5(5):401-411

- Ne réduit pas le nombre de patient mis sous antibiotique, mais réduit la durée
- **Réduction de la durée de séjour (5,7 vs 6,8 jours, p=0,04)**
- **“This day equate 200 000 beds at the NHS scale with a cost saving around £ 80 million per year”**
- En attente de l'étude medico-économique complète...

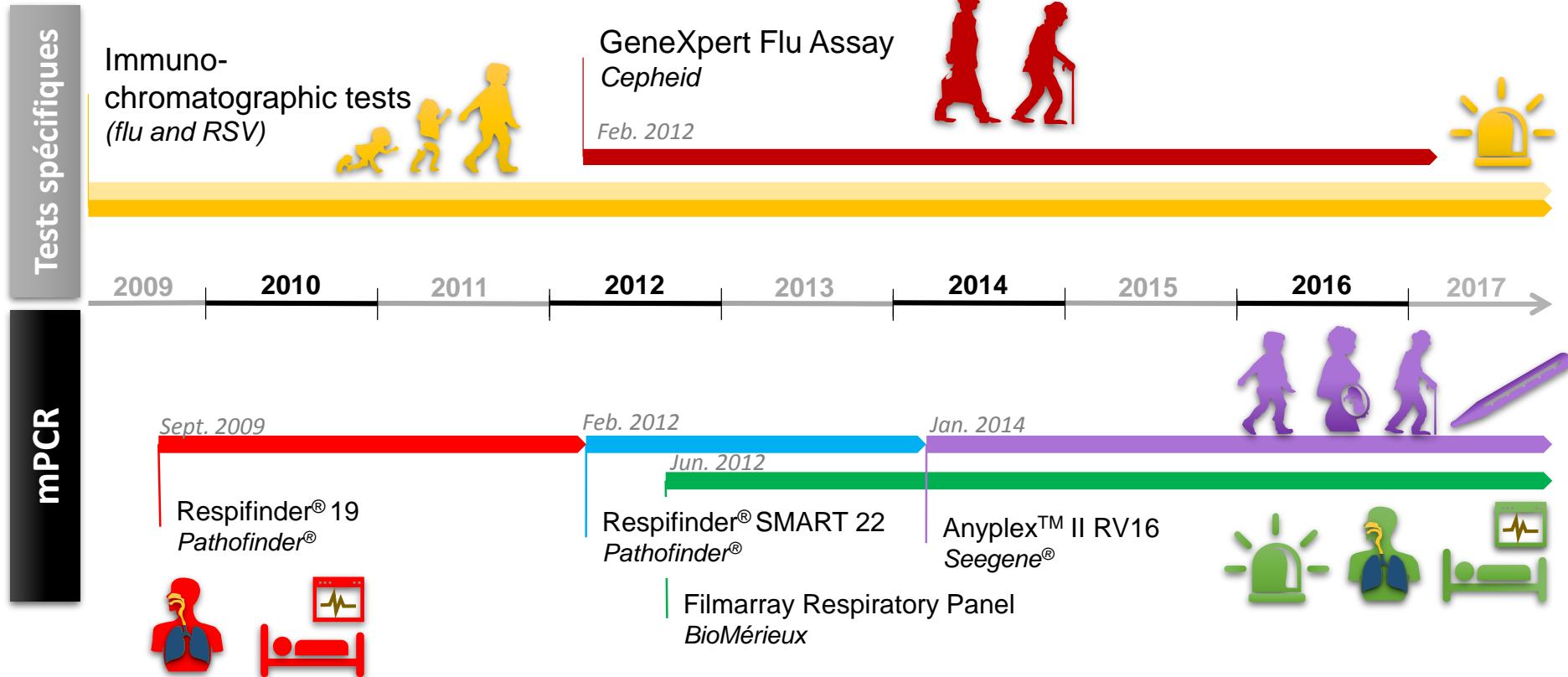


Quelle organisation idéale ? *... panel respiratoire « haut »*



Les méthodes diagnostiques

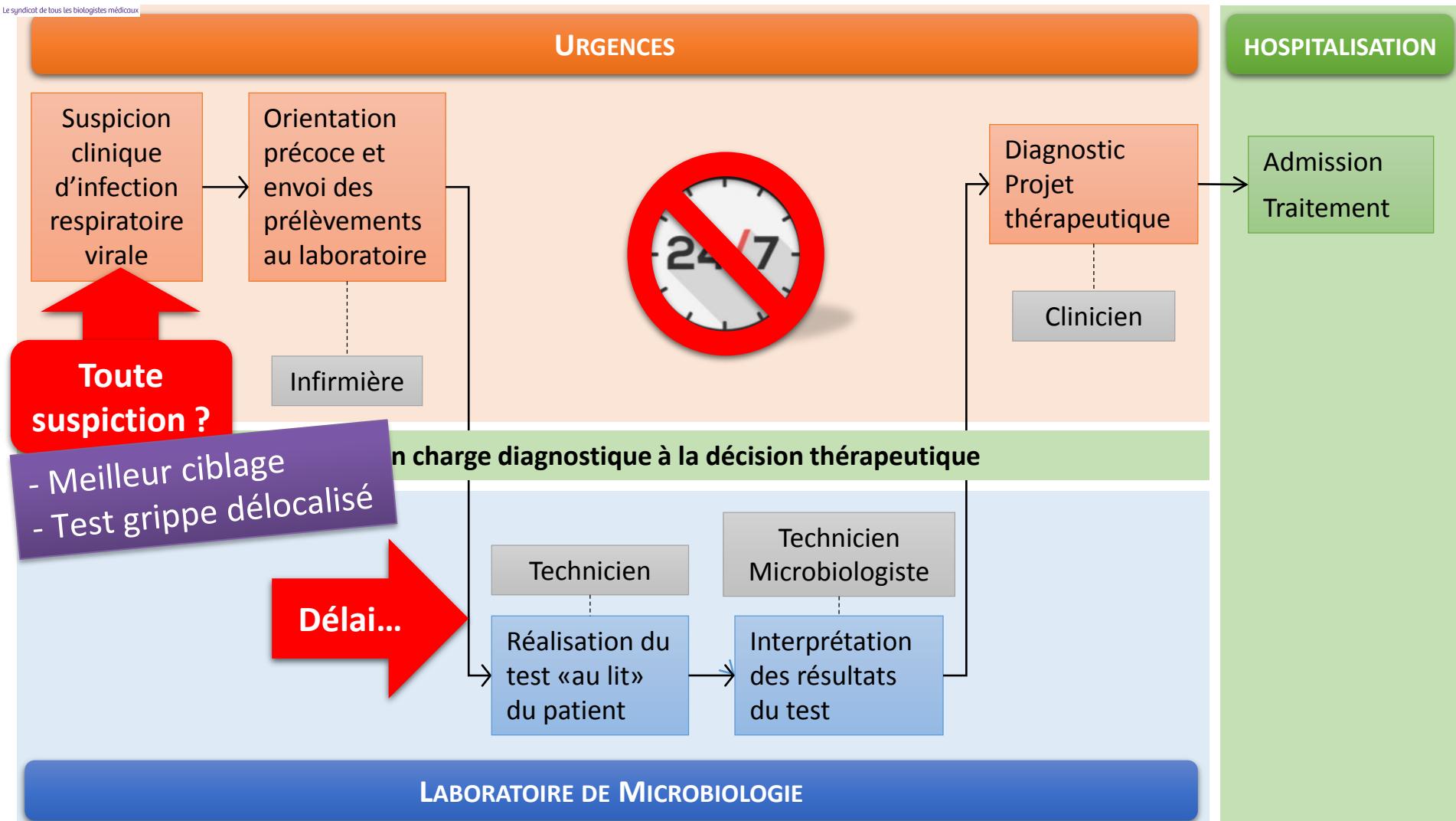
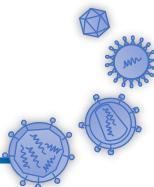
- mPCR tests implémentés en 2009, une requête des cliniciens
 - De la réanimation
 - De l'unité des greffes pulmonaires



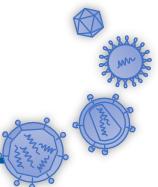
mPCR et infections respiratoires virales



Le syndicat de tous les biologistes médicaux



Une autre révolution annoncée...



THE FILMARRAY LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTION (LRTI) PANEL

Simultaneous detection of 30 Pathogens and 7 ABR markers:



Bacteria

- *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex
- *Chlamydophila pneumoniae*
- *Enterobacter* spp.
- *Escherichia coli*
- *Haemophilus influenzae*
- *Klebsiella oxytoca*
- *Klebsiella pneumoniae*
- *Legionella* spp.
- *Moraxella catarrhalis*
- *Mycoplasma pneumoniae*
- *Proteus* spp.
- *Pseudomonas aeruginosa*
- *Serratia marcescens*
- *Staphylococcus aureus*
- *Staphylococcus epidermidis*
- *Stenotrophomonas maltophilia*
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*
- *Streptococcus pyogenes*



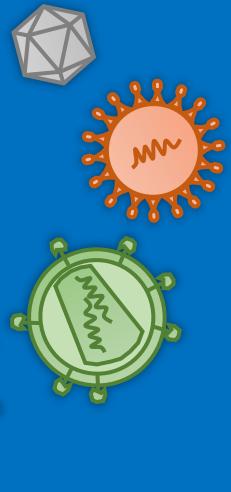
Antibiotic Resistance Markers

- ctx-M (ESBL)
- IMP (Carbapenem resistance)
- KPC (Carbapenem resistance)
- mecA/C (CA-MRSA, MREJ)
- NDM (Carbapenem resistance)
- Oxa-48-like (Carbapenem resistance)
- VIM (Carbapenem resistance)



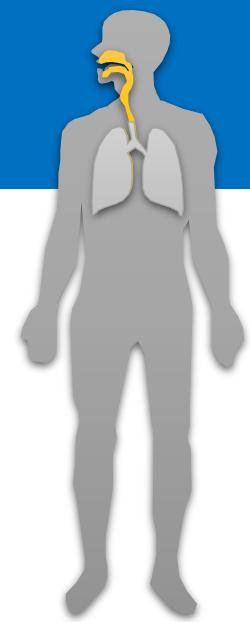
Viruses

- Adenovirus
- Coronavirus
- Human Rhinovirus/Enterovirus
- Human Metapneumovirus
- Influenza A
- Influenza B
- Parainfluenza Virus
- Respiratory Syncytial Virus

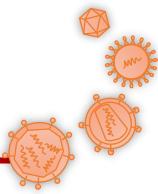


Déetecter vite ! *... panel respiratoire « haut »*

Expérience de l'hôpital Lariboisière



Circuit du prélèvement entre les sites Saint-Louis et Lariboisière



- **Transport LRB → SLS**
 - 2 navettes par jour de semaine entre LRB et SLS (9h30/13h30)
 - Appel à un coursier spécialisé en cas d'urgence
- **Technique sur SLS**
 - 8h-18h les jours de semaine
 - 8h-15h le samedi

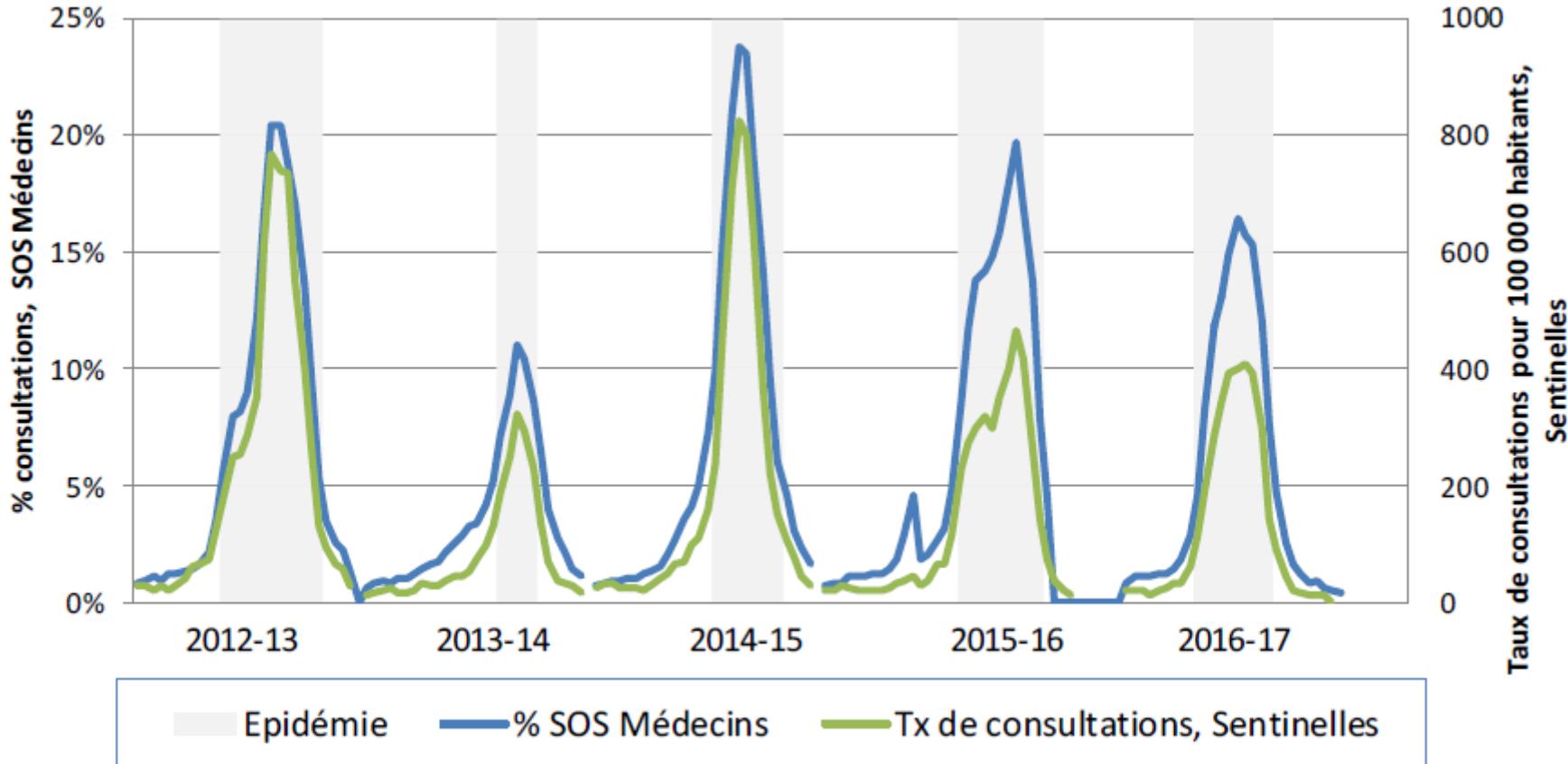
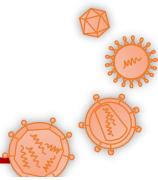
Nécessité de déployer des tests rapides pour une prise en charge optimale des patients, en particulier aux urgences ou en réanimation

Diagnostiquer la grippe à l'hôpital



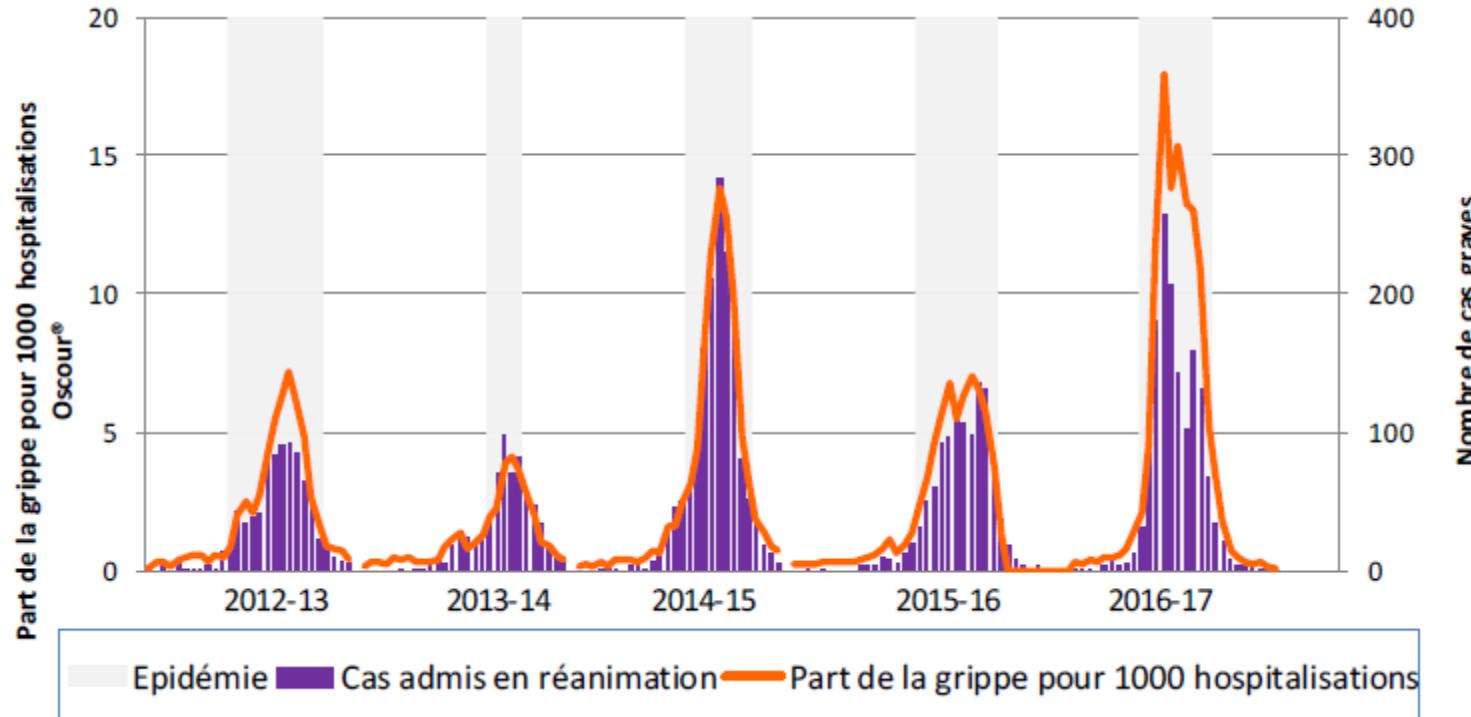
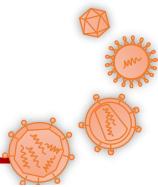
- Dans le contexte des épidémies de grippe :
 - **Diagnostic d'une grippe en vue de la traiter** dans un contexte d'infection sévère et chez les patients à risque nécessitant une hospitalisation.
 - **Prévention de la transmission des infections à virus Influenza et VRS**, dans le cadre d'une hospitalisation en chambre double.

Epidémies grippales 2016 vs 2017



Saison 2017 vs 2016 : même proportion de syndrome grippal en ville

Epidémies grippales 2016 vs 2017



... mais ayant nécessité 3 fois plus d'hospitalisation !

Implantation sur site de la PCR Xpert Flu/RSV XC : Volume de prescription

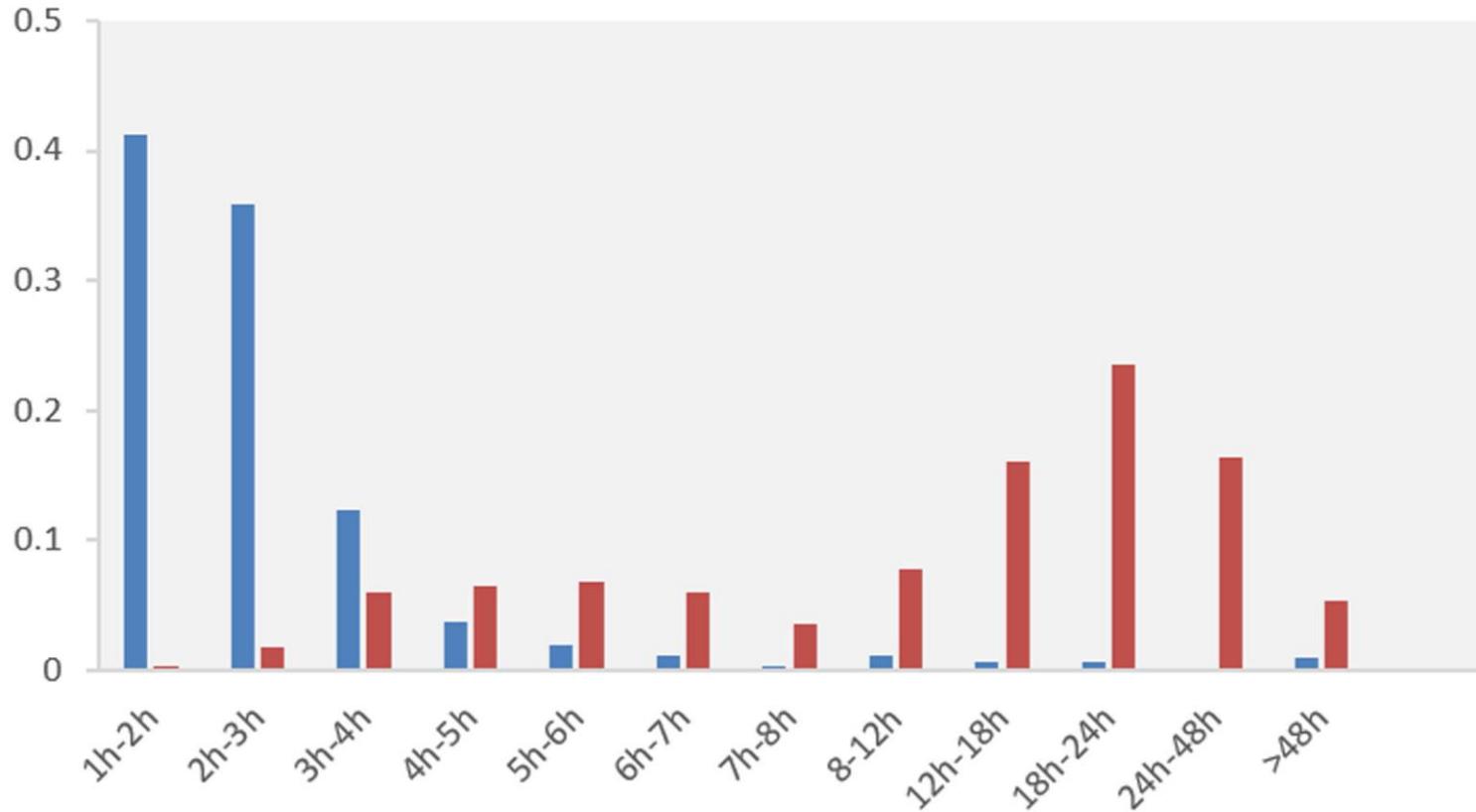


Le syndicat de tous les biologistes médicaux

- Entre les saisons 2016 et 2017
 - 3X plus d'hospitalisation pour syndrome grippal
 - Implantation d'un test rapide sur le site LRB
 - Implantation d'une équipe mobile d'infectieux

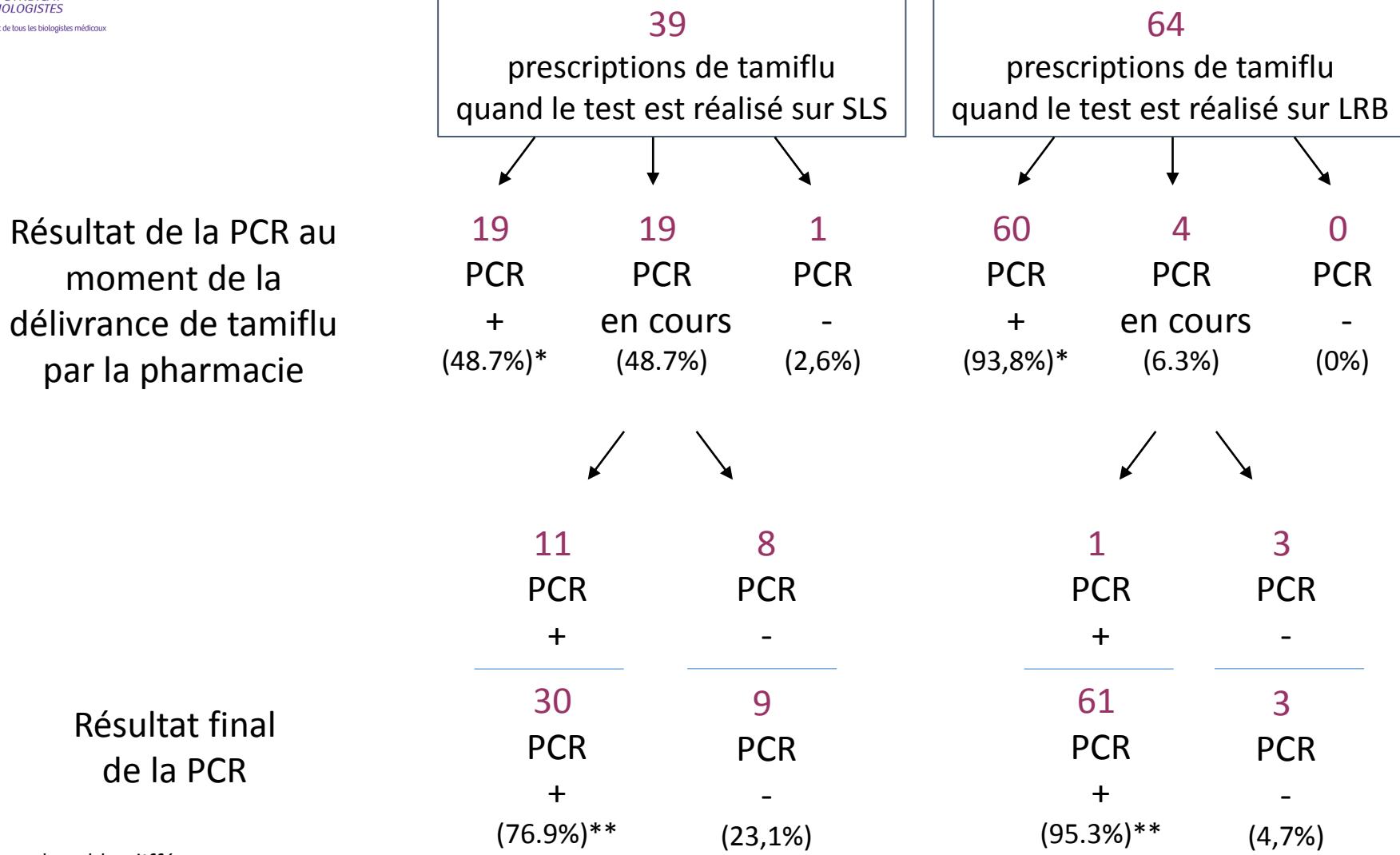
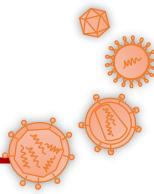
4X plus de tests réalisés entre 2017 et 2016

Implantation sur site de la PCR Xpert Flu/RSV XC : Impact sur le délai de rendu



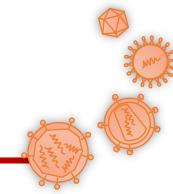
Diminution très significative du délai de rendu !

Implantation sur site de la PCR Xpert Flu/RSV XC : Impact sur la juste prescription de tamiflu



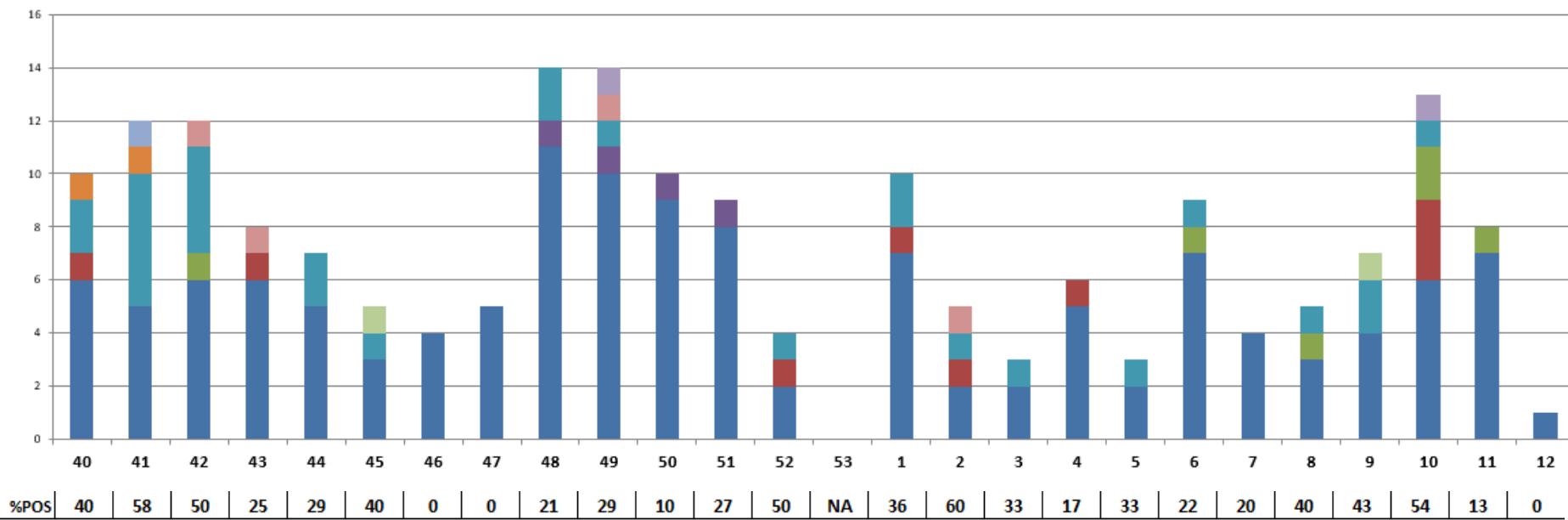
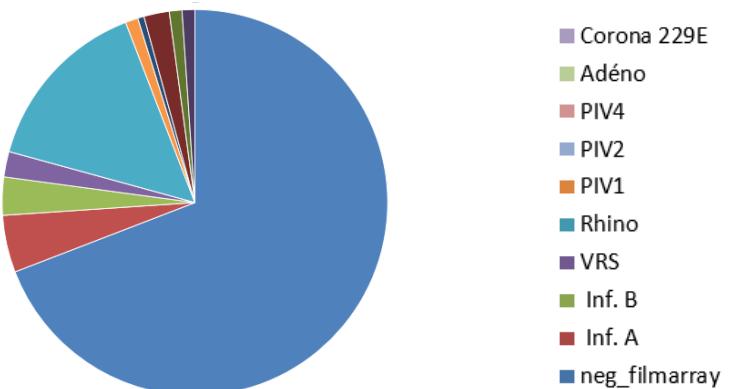
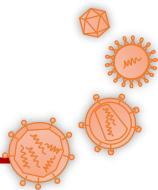
* et ** : différence significative (pFischer < 0,05)

Implantation sur site de la PCR FilmArray® Respiratory Panel 2 plus



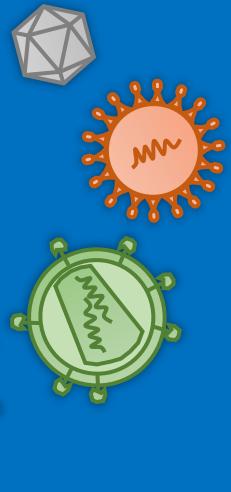
	PCR Xpert Flu/RSV Xpress	PCR Filmarray RP2
Pathogènes détectés	Influenza A et B, VRS	<u>Virus :</u> Influenza A et B, VRS, Metapneumovirus, Parainfluenza 1-4, Coronavirus, MERS-CoV, Rhinovirus/Enterovirus, Adénovirus <u>Bactéries :</u> <i>C pneumoniae, M pneumoniae, B pertussis, B. parapertussis</i>
Durée	30'	45'
Indications	Traitement d'infection sévère chez les patients à risque Prévention dans le cadre d'une hospitalisation en chambre double	Infections respiratoires sévères communautaires (hospi de moins de 48h) de réanimation et/ou Après accord préalable avec le microbiologiste

Implantation sur site de la PCR FilmArray® Respiratory Panel 2 plus

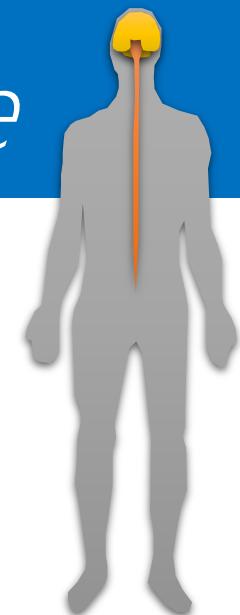


33% de PCR positive

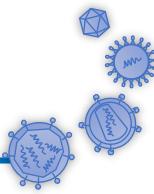
Nécessité d'évaluer l'impact clinique sur notre GH



Performances et apports ... *... panel Méningite/Encéphalite*



Encéphalites

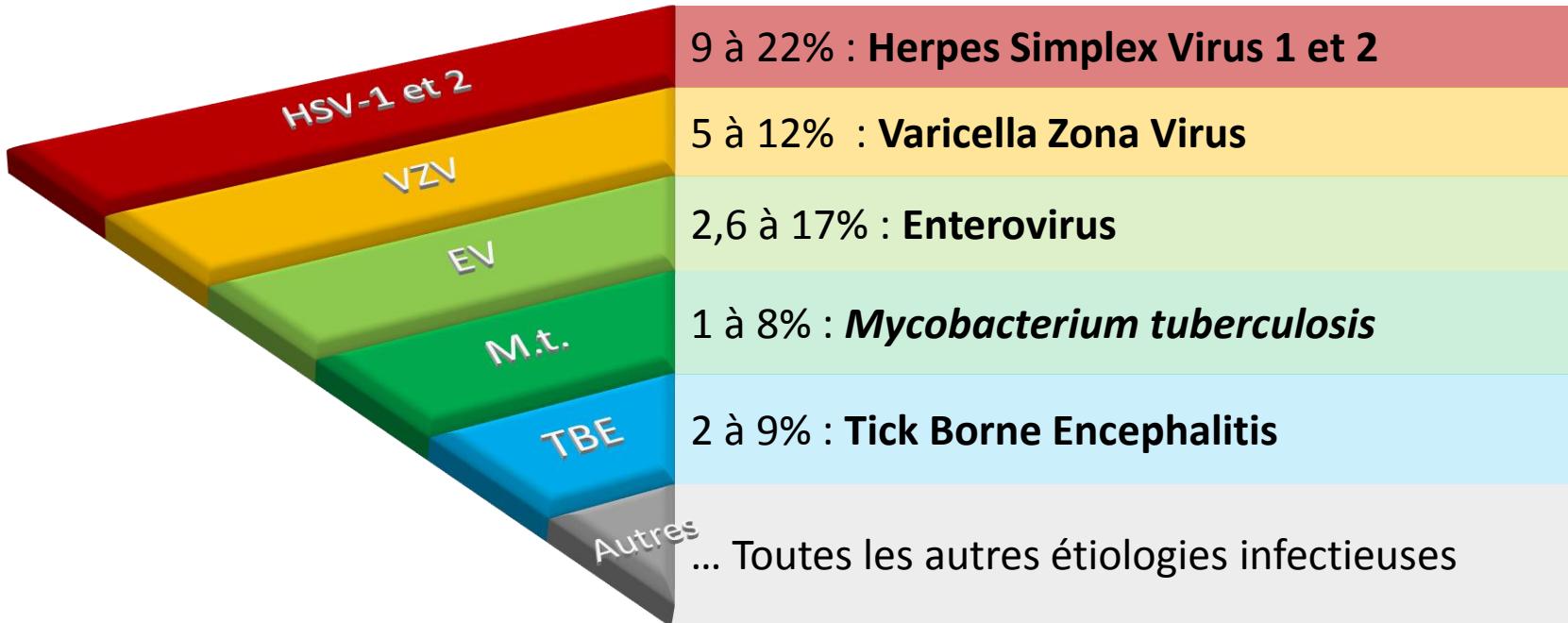


- **Gravité variable et morbi-mortalité élevée**
 - **Mortalité** de 9 à 12% selon les études
 - Persistance des **séquelles graves** chez 40% des patients 3 ans après l'épisode aigu
 - 24% ne reprennent pas d'activité professionnelle
 - **Coût élevé** (hospitalisation, traitements, séquelles et perte de productivité)
- **Epidémiologie**
 - Fréquence mal connue, estimée à 1,5-7 cas /100000 hab. /an
 - **Etiologie identifiée dans seulement 30 à 52% des cas**
 - Grande diversité des agents étiologiques qui nécessitent le recours à plusieurs techniques de diagnostic

Etiologies des encéphalites infectieuses



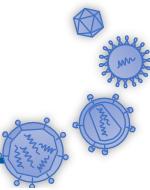
- Principales étiologies :



- Autres étiologies :

- Grippe, HHV-6, EBV, rougeole, listéria...
- Voyages : maladies vectorielles (Zika, West-Niles, Japanese Encephalitis, ...)
- Immunodépression : VIH, JC, CMV, EBV, toxoplasmose...

Etiologies des encéphalites infectieuses



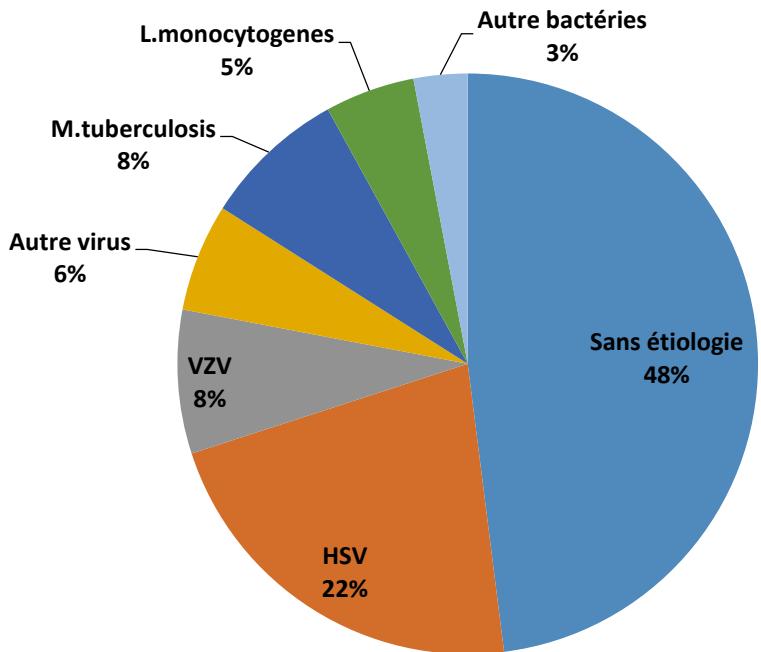
- France, 2007 – Enquête InVS (*A. Mailles et al. CID 2009*)

- 253 cas, incidence estimée à 1,9 cas pour 100 000 habitants/an
- 10% de mortalité
- 18% de séquelles modérées
- 14% séquelles sévères

Etude ENCEIF 2016-17

Résultats préliminaires (SFM octobre 2017)

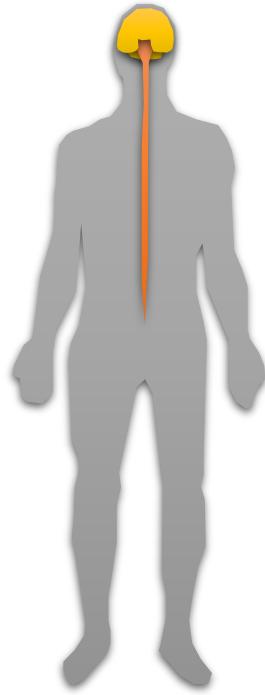
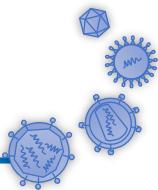
- Pronostic équivalent
- Etiologies proches
 - ↘ M.tuberculosis
 - ↗ T.B.E. et EBV



- Aux USA 2016 (*A L. Leber JCM 2016*)

- Encéphalites aigues = 20000 hospitalisations /an et 1400 DC/an (7%)

Panel BioFire® ME



Virus

HSV-1
HSV-2
Enterovirus
Parechovirus
VZV
CMV
HHV-6

Bactéries

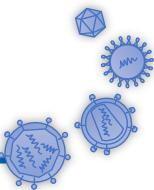
E. coli K1
H. influenzae
L. monocytongenes
N. meningitidis
S. agalactiae
S. pneumoniae

Champignons

Cryptococcus neoformans/gattii

- Volume : **200 µl** de prise d'essai
- Délai moyen de rendu des résultats : **< 3 heures** à partir de l'arrivée du prélèvement au laboratoire (tri, enregistrement, test, validation)

Etude des performances AP-HP 2016

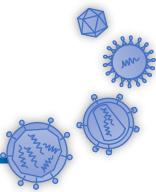


- Etude rétrospective sur LCR congelés (n=200)
 - Saint-Louis, Saint-Joseph, Lariboisière, Bichat
 - Comparaison avec les tests préalables (Gram, culture, PCR), contrôle des discordances par une 3^e méthode
- Résultats
 - Sensibilité pour les virus : 100% (n=67/67)
 - Sauf CMV : 57,9% (n=11/19)
 - Et HHV-6 : 58,3% (n=7/12)
 - Sensibilité pour les bactéries : 100% (n=16/16)
 - *Listeria* non testée
 - Sensibilité pour le cryptocques : 100% (n=10/10)

Discordances liées à des quantités faibles et inférieures au seuil de détection FilmArray

Sensibilité globale : 89,5%
Spécificité globale : 99,7%
Concordance : kappa 0,88

Etude prospective US

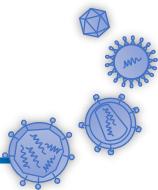


- Résultats étude clinique FilmArray
 - 1560 LCS enfants + adultes ; USA ; 2016

TABLE 3 Performance summary and characteristics of the FilmArray ME Panel versus those of the comparator assays^a

Analyte	Sensitivity/PPA ^b			Specificity/NPA ^b		
	TP/(TP + FN) ^c	%	95% CI	TN/(TN + FP) ^c	%	95% CI
Bacteria						
<i>E. coli</i> K1	2/2	100	34.2–100	1,557/1,558	99.9	99.6–100
<i>H. influenzae</i>	1/1	100		1,558/1,559	99.9	99.6–100
<i>L. monocytogenes</i>	0/0			1,560/1,560	100	99.8–100
<i>N. meningitidis</i>	0/0			1,560/1,560	100	99.8–100
<i>S. agalactiae</i>	0/1	0.0		1,558/1,559	99.9	99.6–100
<i>S. pneumoniae</i>	4/4	100	51.0–100	1,544/1,556	99.2	98.7–99.6
Viruses						
CMV	3/3	100	43.9–100	1,554/1,557	99.8	99.4–99.9
EV	44/46	95.7	85.5–98.8	1,507/1,514	99.5	99.0–99.8
HSV-1	2/2	100	34.2–100	1,556/1,558	99.9	99.5–100
HSV-2	10/10	100	72.2–100	1,548/1,550	99.9	99.5–100
HHV-6	18/21	85.7	65.4–95.0	1,532/1,536	99.7	99.3–99.9
HPeV	9/9	100	70.1–100	1,548/1,551	99.8	99.4–99.9
VZV	4/4	100	51.0–100	1,553/1,556	99.8	99.4–99.9
Yeast						
<i>C. neoformans/C. gattii</i>	1/1	100		1,555/1,559	99.7	99.3–99.9

Objectifs et méthodes



LCS testés en PCR multiplex FilmArray ($n=511$)

Techniques standards Virologie

- HSV-1/2 PCR Altona®
- VZV PCR Altona®
- EV Genexpert®
- CMV Qiagen®

Techniques standards Bactériologie

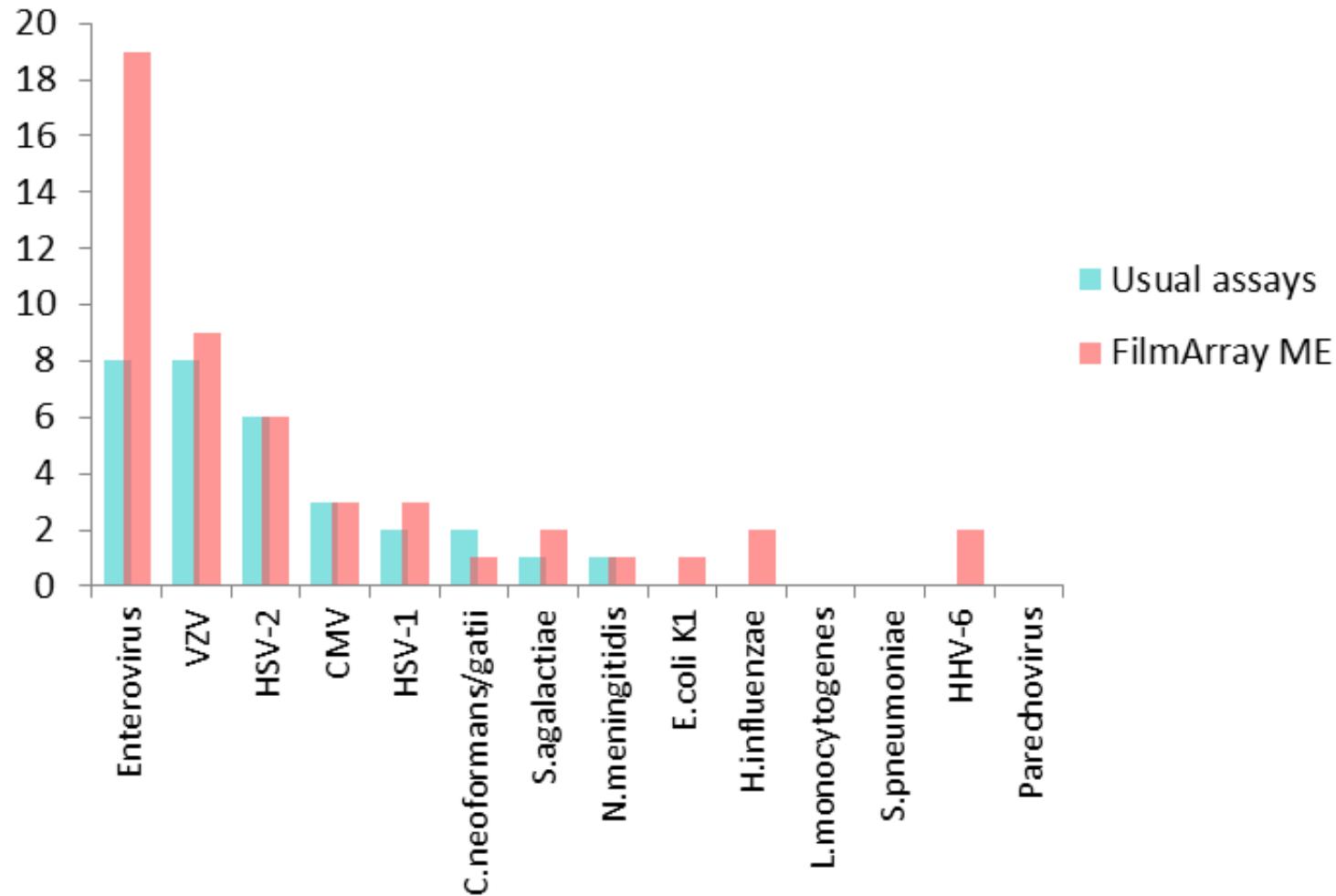
- Examen direct
- Culture
- Cult. prolongée
- Antigène pneumocoque

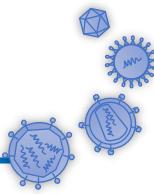
Techniques standards Parasitologie

- Encre de chine
- Culture
- Cult. prolongée
- Antigène cryptocoque

Résultats

- Nombre de pathogènes identifiés avec ou sans mPCR





Concordance mPCR – méthodes usuelles

- **Virus (98,6% de concordance)**

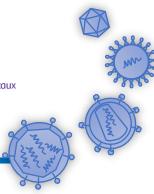
	n tests	n pos. FilmArray	n pos. Standard	Cas discordants	Se	Sp
HSV1	506	3	2	1	100%	99,8%
HSV2	506	6	6	0	100%	100%
VZV	422	8	8	2	87,5%	99,8%
EV	250	7	8	1	87,5%	100%
CMV	369	3	2	1	100%	99,7%
HHV6	ND	2	ND	-	ND	ND
Parechovirus	ND	0	ND	-	ND	ND

- **Bactéries (n=353, 98,9% de concordance)**

- 6 positifs en FilmArray
 - 2 confirmées par le gram ou la culture (1 *N.meningitidis*, 1 *S.agalactiae*)
 - 4 non confirmées (1 *E.coli* K1, 2 *H.influenzae*, 1 *S.agalactiae*)

- **Cryptocoque (n=85, 98,4% de concordance)**

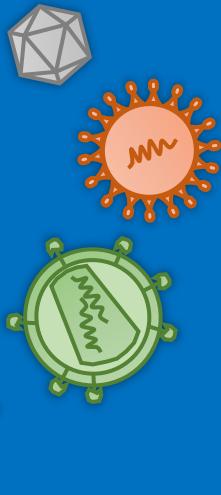
- 1 positif en FilmArray non confirmé par les techniques standards



Concordance mPCR – méthodes usuelles

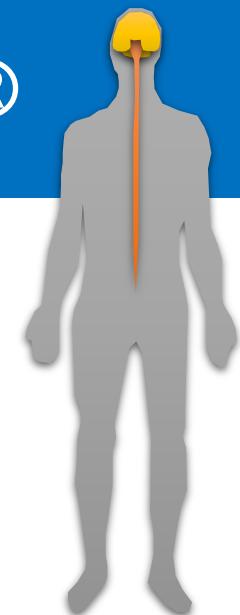
- Analyse des cas discordants

Virus	FilmArray	Usual assays	Retained diagnosis
VZV	Pos.	Neg.	Clinical encephalitis, treated by ACV
	Neg.	Pos. (39.6 Ct)	Encephalitis with ophtalmic zoster treated for 10 days before CSF sampling
	Pos.	Neg.	Children presenting a varicella 1 month before the lumbar puncture
CMV	Pos.	Neg.	Purulent meningitis without bacterial identification associated with a labyrinthitis
EV	Neg.	Pos. (35.6 Ct)	Viral meningitis (both UA and FA were also positive in the patient stool)
Bacteria	4 Pos.	4 Neg.	1 associated to a bacterial meningitis, three retained as false positive as not associated with infectious meningitis
<i>C.neoformans /gattii</i>	Neg.	Pos. (Ag)	Cryptococcal meningitis treated for 1 month before the lumbar puncture
	Neg.	Pos. (cult.)	Scepticemic cryptococcosis without meningitis sign
	Pos.	Neg.	Patient not immunosuppressed without infectious meningitis but presenting two cerebral strokes

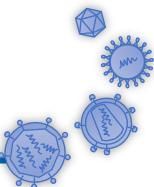


Performance du panel BioFire®

... Expérience des HUPNVS

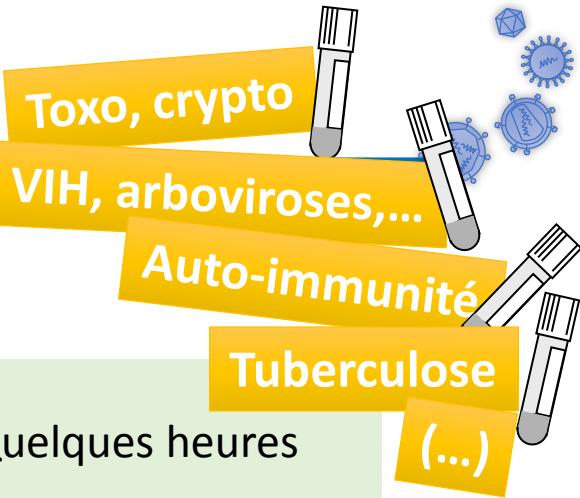


mPCR... Les avantages attendus

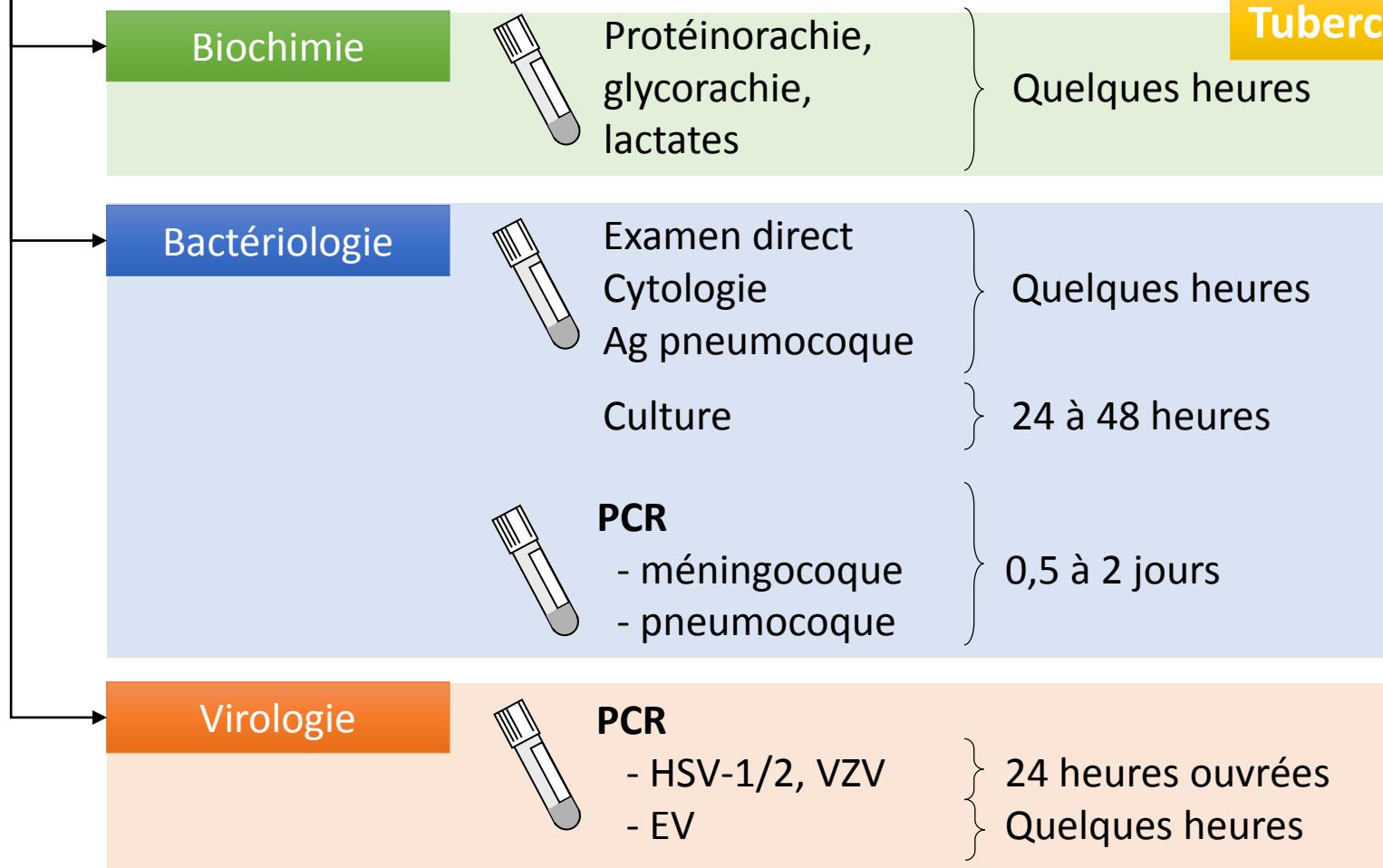


	Tests actuels (Bichat)	FilmArray™ ME
Avantages au laboratoire		
- Etapes techniques	> 3	1
- Temps de réalisation technique	> 6h	1h03
- Nombre de trousse	> 3	1
- Nombre de contrôles qualité	> 15 /sem.	< 1 /sem.
- Risques de contamination	Oui	Minime
- Maintenances automates	> 10 /an	2 par an
- Facilité d'utilisation	Labo spécialisé	Tout labo (garde)
Avantages pour le clinicien		
- Volume d'échantillons	> 600 µl	200 µl
- Délai de rendu des résultats Viro <i>(examen par défaut)</i>	19h à 5 j <i>(sauf EV)</i>	1h25 à 48h <i>(<3h 66%)</i>
- Nombre de cibles détectées Viro <i>(examen par défaut)</i>	3 (<i>HSV-1/2, VZV</i>) +/- EV	7 virus + 5 bact. et crypto

Diagnostic Biologique

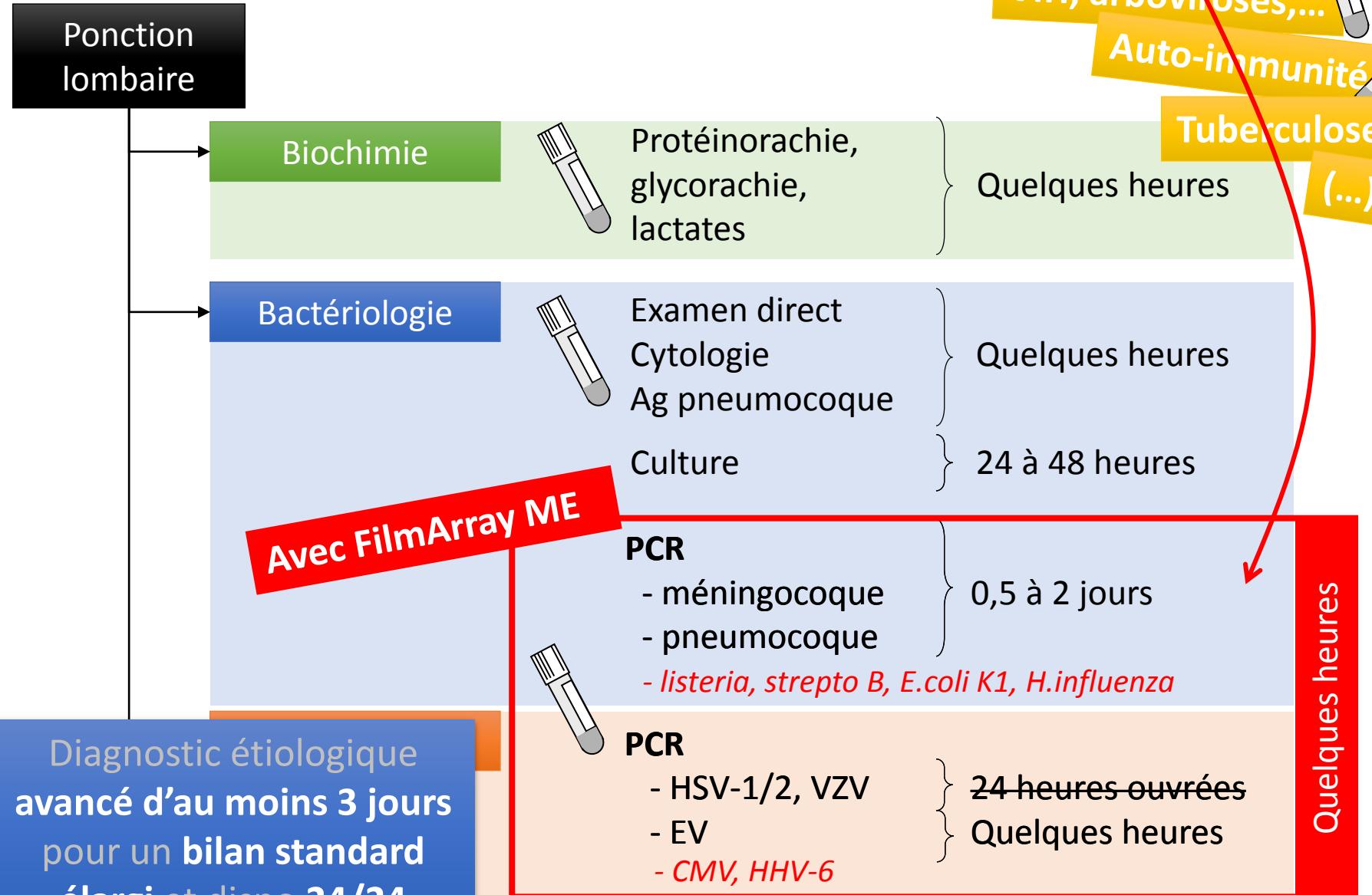


Ponction lombaire

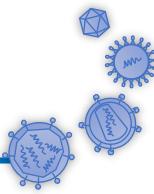


Diagnostic Biologique

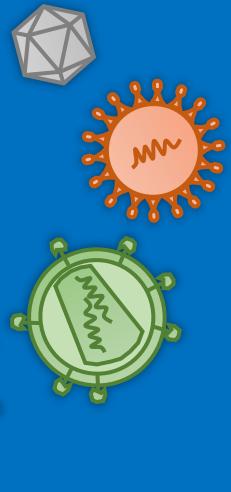
Ponction lombaire



Coût

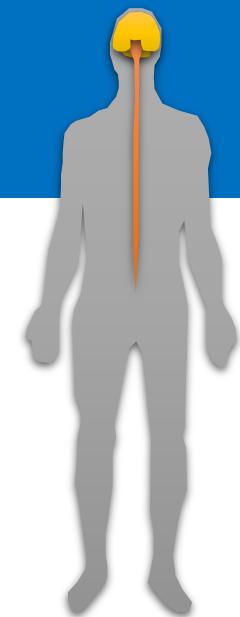


	Analyse	Coût (€ HT)
FilmArray		139 (prix AP-HP)
Virologie		
	PCR HSV1/HSV2/VZV	37,77
	PCR CMV	20
	PCR Entérovirus	58,33
	PCR HHV-6	24,35
	Total	140,45
Bactériologie		
	Identification Spectro de masse	1,18
	Antigène pneumocoque	27
	PCR méningo/pneumo	36,79
	Total	65
Parasitologie		
	Direct, culture et antigénémie	12,48
Total technique standard :		218



Rationaliser la prescription...

... Expérience de l'hôpital Lariboisière



Epidémiologie 01/07/2014 – 31/12/2016 aux urgences de Lariboisière (cultures et PCR simplex)



Bacteria
n=3339 culture
n= 30 PCR M/P

S. pneumoniae n=4
N. meningitidis n=1
H. influenzae n=2
L. monocytogenes n=1
*S. dysgalactiae** n=1

PL communautaires
(n=3339)

Virus
n=359 PCR

Cryptococcus
n=42 cultures

Enterovirus (59/287)
HSV-1 (1/286)
HSV-2 (9/286)
VZV (25/286)
HHV-6A (1/51)
HHV-6B (2/51)
CMV (0/193)

Cryptococcus (1/42)

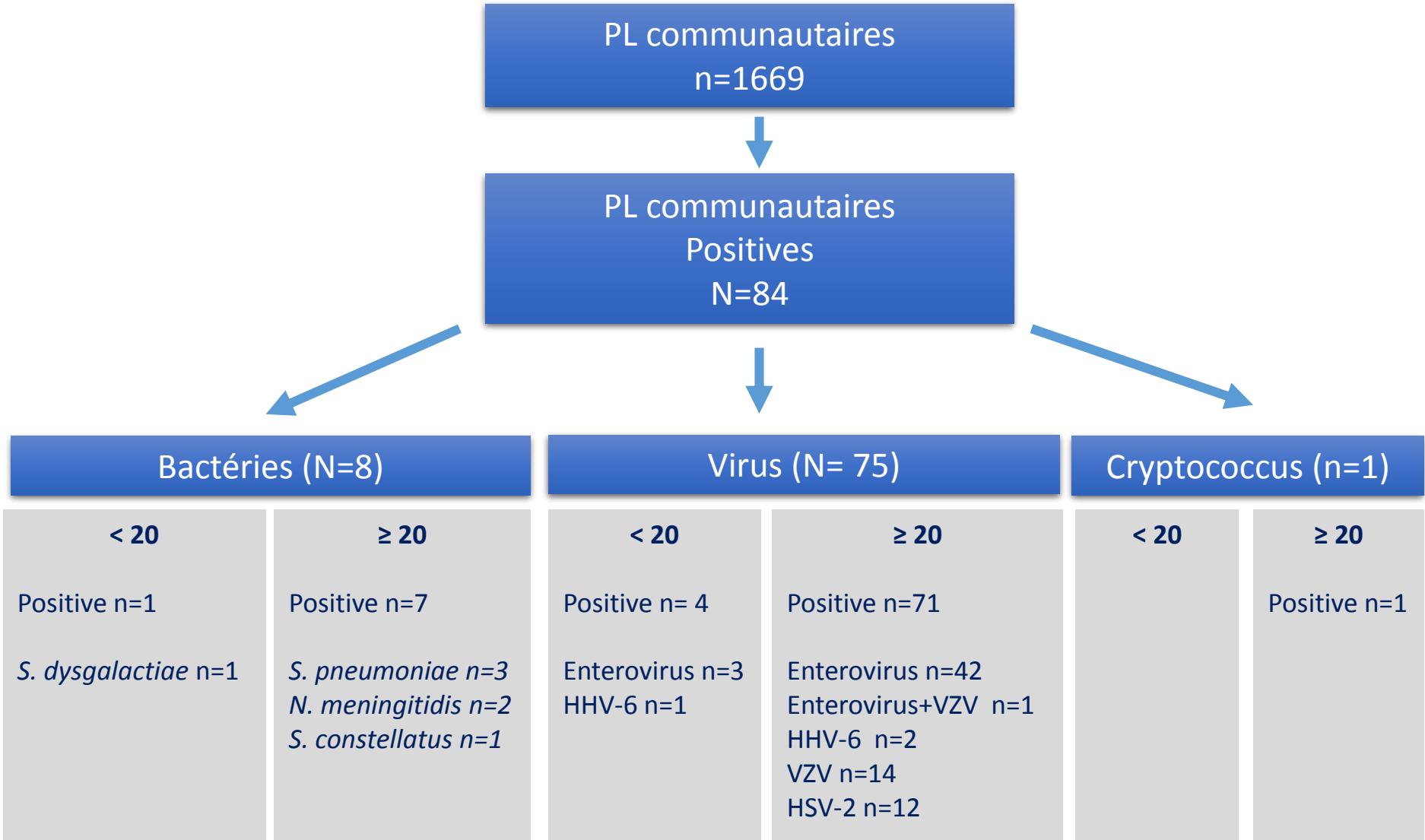
Détermination d'un seuil de leucorrhachie (01/07/2014 – 31/12/2016)



Seuil (GB / mm3)	N		% PCR réalisées	positifs		% positifs		proportion de positifs < seuil	proportion de négatifs ≥ seuil
	< seuil	≥ seuil		< seuil	≥ seuil	< seuil	≥ seuil		
0		3339	100	0	106		100,00	0	1,00
5	2775	564	20,32	3	103	0,11	18,26	2,83	81,74
10	3017	322	10,67	4	102	0,13	31,68	3,77	68,32
20	3055	284	9,30	5	101	0,16	35,56	4,72	64,44
50	3114	225	7,23	23	83	0,74	36,89	21,70	63,11

Enterovirus, n= 1
VZV, n=2
HSV-1, n=1 (patient ayant déjà reçu une dose d'ACV)
Cryptococcus, n=1

Application du seuil après implantation du FilmArray (Epidémiologie 2017)



Autres indicateurs en cours d'exploration



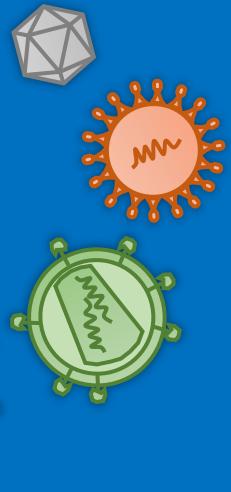
- Nombre de diagnostics microbiologiques établis
 - De 35% à 41%
- Nombre de prescriptions de PCR simplex
 - Diminution relative du nombre de prescription (>40%)
- Délai de rendu de résultats
- Impact sur le parcours de soin

Seuil de cellularité ?

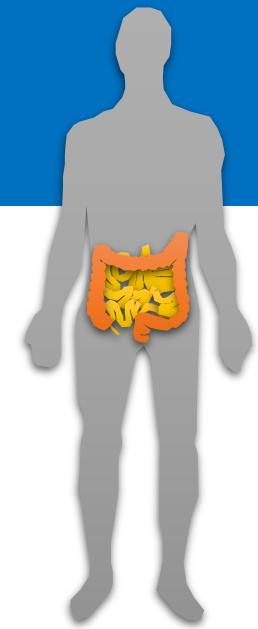
- LCR reçus en Virologie en 2016 (n = 772) :

	<i>n positifs</i>	<i>Médiane des leucocytes [IQR]</i>
• HSV-1	11	7.5 [3.5-28]
• HSV-2	13	139 [34-314]
• VZV	39	81 [11-227]
• CMV	29	3 [1-6]
• EV	23	69 [39-292]

Attention aux **encéphalites virales**, non rares avec des leucocytes < 10 éléments
Attention aux **immunodéprimés**

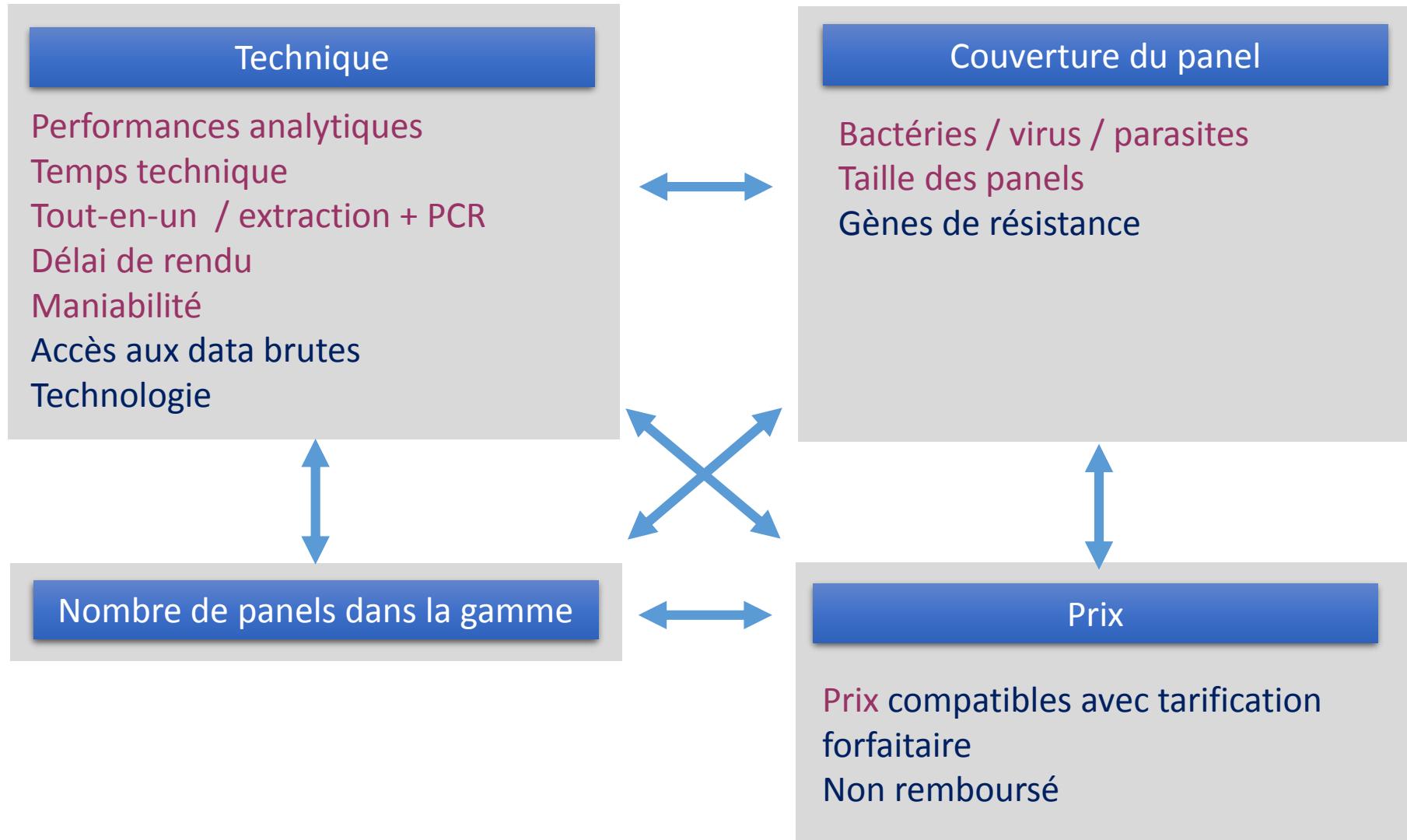
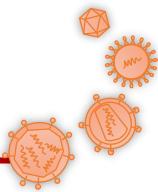


Panels « gastro-intestinal »



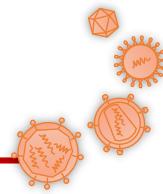
Paramètres des panels syndromiques

Panel gastro-intestinal



Paramètres des panel « gastro-intestinal »

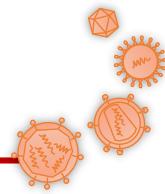
Extraction + PCR séparées



TMM	CLART Enterobac® - Genomica	xTAG GPP® - Luminex	GastroFinder® 2SMART (Pathofinder)	AllPlex GI (Seegene)	kits BSP, EHEC/EPEC/EIEC, VSP, et PSP (rBiopharm)	Amplidiag® (Mobidiag)
Cibles bactériennes	7 cibles	9 cibles	10 cibles	Panel 1 : 7 cibles Panel 2: 6 cibles	Kit BSP: 3 cibles Kit EHEC/EPEC/EIEC : 4 cibles Kit <i>C. diff</i> : séparé	Panel Bacterial GE : 8 cibles Panel <i>C. difficile</i> + O27
Cibles virales	NON	3 cibles	5 cibles	5 cibles	VSP 1&2 : 3 cibles	Viral GE 6 cibles
Cibles parasitaires	NON	3 cibles	4 cibles	6 cibles	3 cibles	Stool Parasites : 4 cibles
Extraction	EasyMag®	EasyMag®	Extraction séparée	Nimbus IVD®	EasyMag®	Amplidiag® Easy Easy Mag®, m2000®
PCR	Puces à ADN	RT-PCR + hybridation Luminex® (MagPix)	LC480 et RotorGeneQ	BioRad CFX96 + logiciel dédié	Plusieurs PCR/RT-PCR en temps réel multiplexée en parallèle	BioRad CFX96 + logiciel dédié Rotorgene, ABI
Durée	4-5 heures	<5 heures	≈ 2,5 heures	≈ 4 heures	≈ 4 heures	≈ 3,5 heures

Adapté de Olivier Dauwalder,
https://collegebvh.org/system/files/fichiers/document/fichiers/dauwalder_pdf.pdf

Paramètres des panel « gastro-intestinal » Extraction + PCR couplées



TMM	Novodiag® (Mobidiag)	3 barrettes : EBP, EVP et EPP sur automate BD Max (BD)	FilmArray GPP - BioFire
Cibles bactériennes	Panel Bacterial GE : 12 cibles, dont <i>C. difficile</i> Panel <i>C. difficile</i>	4 cibles <i>C. difficile</i> séparé Panel complémentaire EBPx	13 cibles
Cibles virales	NON	2 cibles	5 cibles
Cibles parasitaires	Panel parasites : courant 2018 20 cibles	3 cibles	4 cibles
Principe	<ul style="list-style-type: none">• Totalement automatisée• Approche séquentielle: bactéries/ virus/parasites• PCR/microarray	<ul style="list-style-type: none">• Totalement automatisée• Approche séquentielle: bactéries/ virus/parasites• PCR/RT-PCR	<ul style="list-style-type: none">• Totalement automatisée• 1 seul panel bactério/viro/parasito• Nested PCR
Durée	≈ 1 heure	2-3 heures	<2 heures

Adapté de Olivier Dauwalder,
https://collegevh.org/system/files/fichiers/document/fichiers/dauwalder_pdf.pdf

Panel gastro-intestinal : gastro-entérites bactériennes

Logistique d'implantation



Extraction + PCR séparées

J0

Extractions en série



J1

PCR multiplex



Mise en cultures

Extraction + PCR couplées

Systèmes intégrés



Mise en cultures

+ Coût réactif moindre

+ Travail en série

- Viabilité des germes fragiles ?

- Délai de rendu

+ Rendu immédiat : impact

+ logistique (et clinique ?)

- Coût réactif plus élevé

Choix dépendant de la topologie du site

Panel gastro-intestinal : gastro-entérites bactériennes

Logistique d'implantation



Le syndicat de tous les biologistes médicaux

Recherches séparées

Bactério / virologie /parasitologie

- + Coût réactif moindre
- + Travail séquentiel
- Travail séquentiel

Recherche couplée

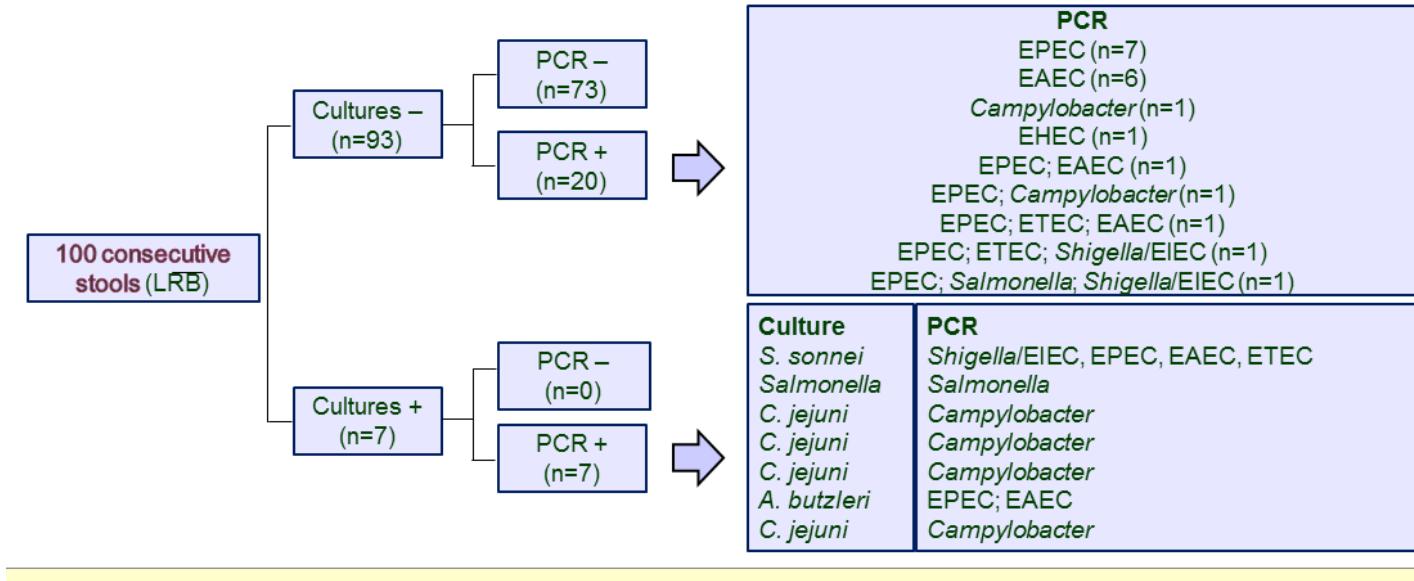
Bactério + virologie + parasitologie

- + Rendu immédiat : impact logistique (et clinique ?)
- Coût réactif plus élevé

Panel gastro-intestinal : gastro-entérites bactériennes Expérience à Lariboisière



Evaluation de l'Amplidiag Bacterial GE assay (Mobidiag)



43 frozen stools
(RDB)

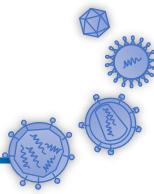
Identification obtained by culture	Detection of the cultured pathogen by PCR	Added microorganism detected by PCR
Campylobacter (n=12)	12	6
Salmonella (n=20)	15	10
Shigella (n=10)	10	5
Yersinia (n=1)	1	0

Rasoandrasana, ECCMID, 2016

Des performances compatibles avec une utilisation en routine

Panel gastro-intestinal

Données de la littérature



- Gains de sensibilité sur les pathogènes bactériens, viraux et parasitologiques^{1,2,3}
- Gains de sensibilité sur les co-infections^{1,2,3}
- Impact sur les précautions d'hygiène⁴
- Impact sur le coût global de prise en charge du patient⁵
- Quel impact du diagnostic de certains pathogènes en absence de recommandations ?
Ex: 20% d'EPEC chez des enfants asymptomatiques⁶

¹Buss, J Clin Microbiol, 2015, 53:915–925

²Khare J Clin Microbiol, 2014, 52:3667–3673

³Liu, Lancet Infect Diseases, 14:8, p716–724

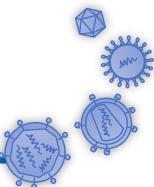
⁴Rand Diagn Microbiol Infect Dis, 2015, 82:154 –157

⁵Goldenberg, J Infect, 2015 70:504–511

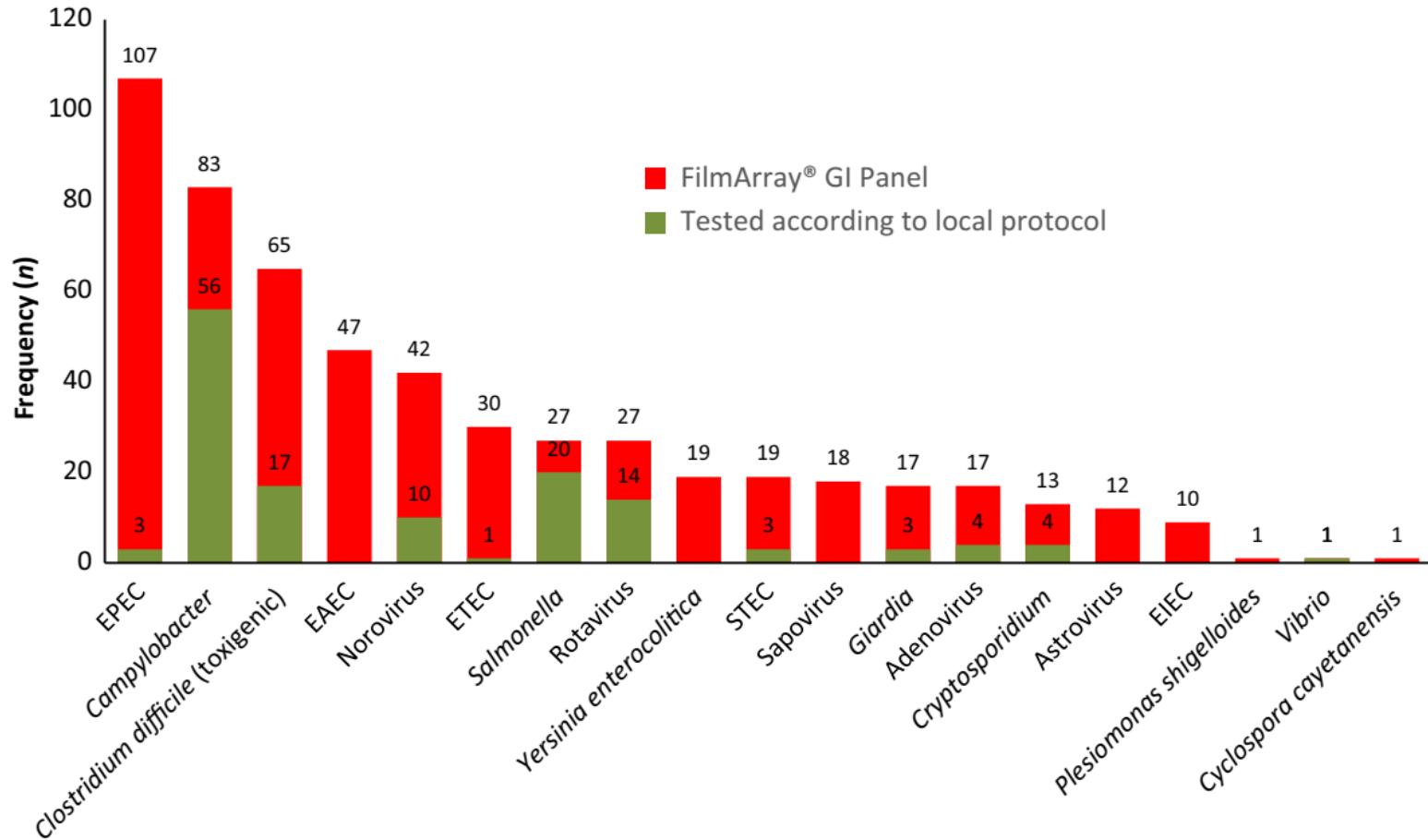
⁶Enserink, PLoS One, 2014, 9:e89496

Panel gastro-intestinal

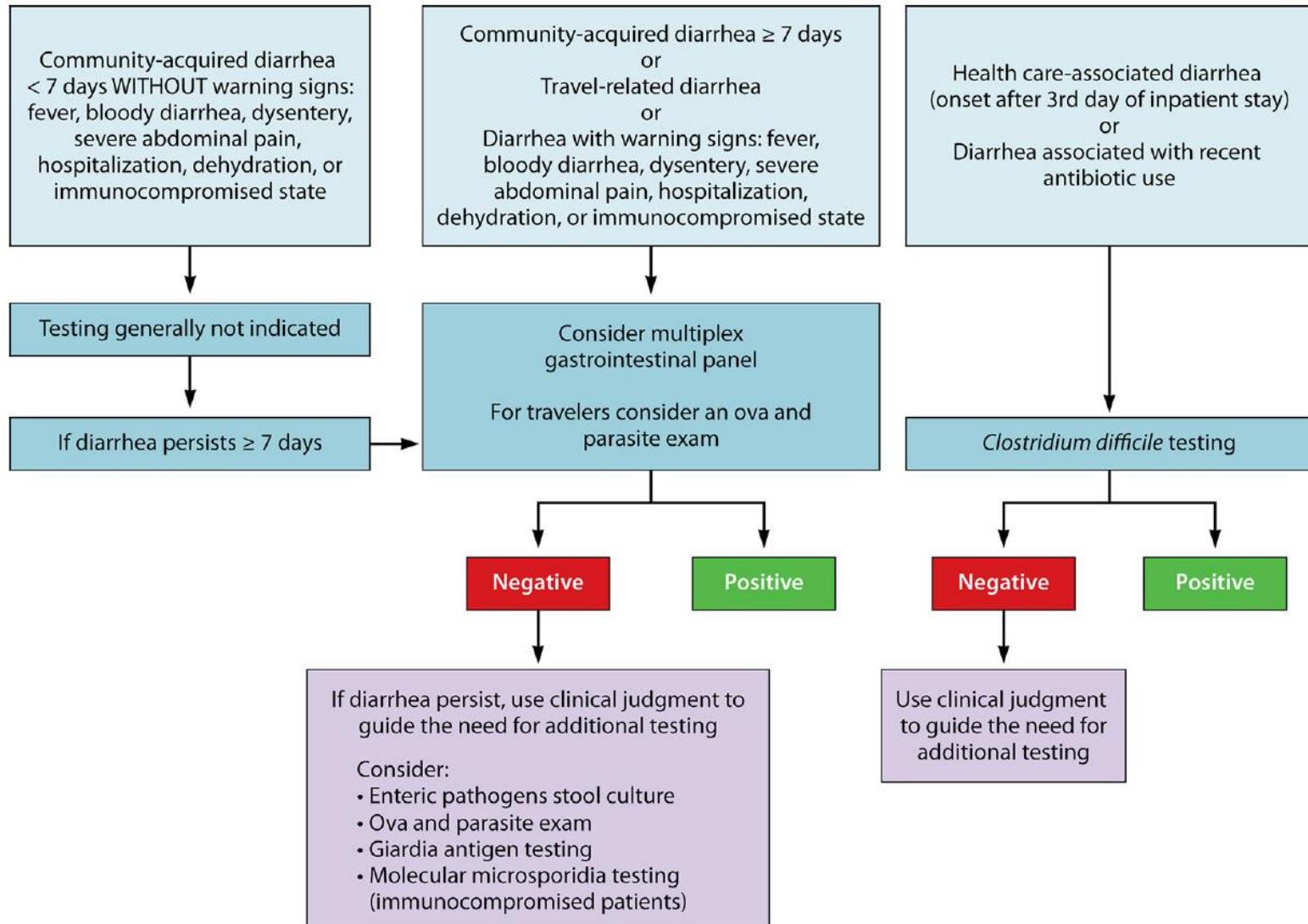
Données de la littérature : étude européenne



Le syndicat de tous les biologistes médicaux

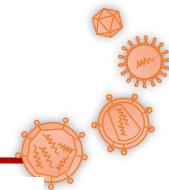


Algorithme décisionnel Mayo Clinic¹



¹ Ramanan et al, Clin Microbiol Rev. 2017 Nov 15;31(1)

Faut-il implanter un panel « gastro-intestinal »



Oui car + performant

Oui car + rapide

De plusieurs jours à quelques heures...

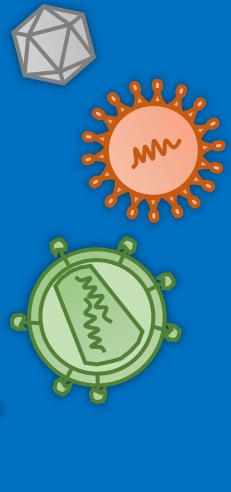
Oui car + efficient

Impact sur la prise en charge clinique des patients

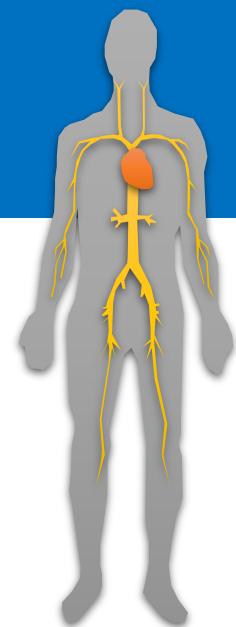
... mais...

le choix du kit est orienté par :

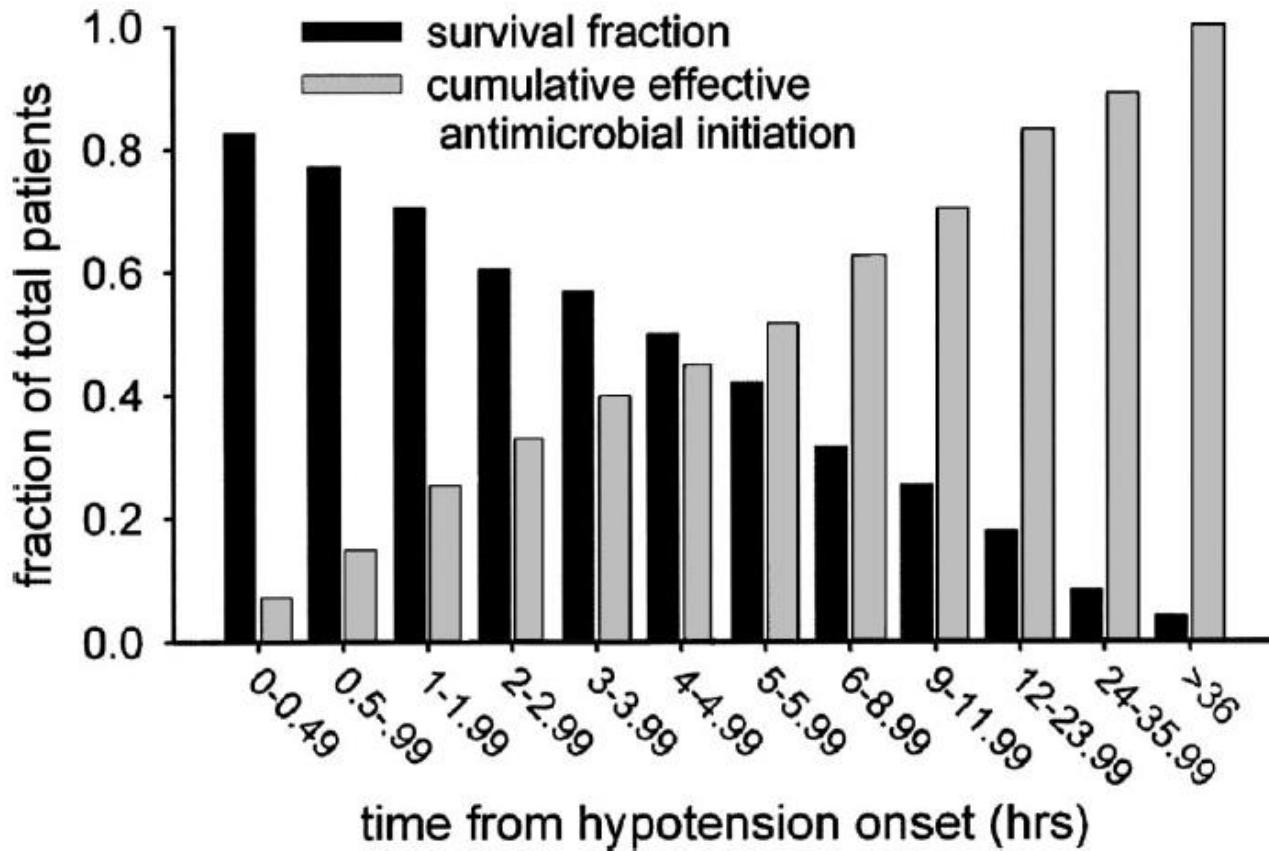
- la topologie du site
- le type de facturation (B/RIHN)



Panels Hémoculture



Impact du délai d'une antibiothérapie adaptée dans le sepsis

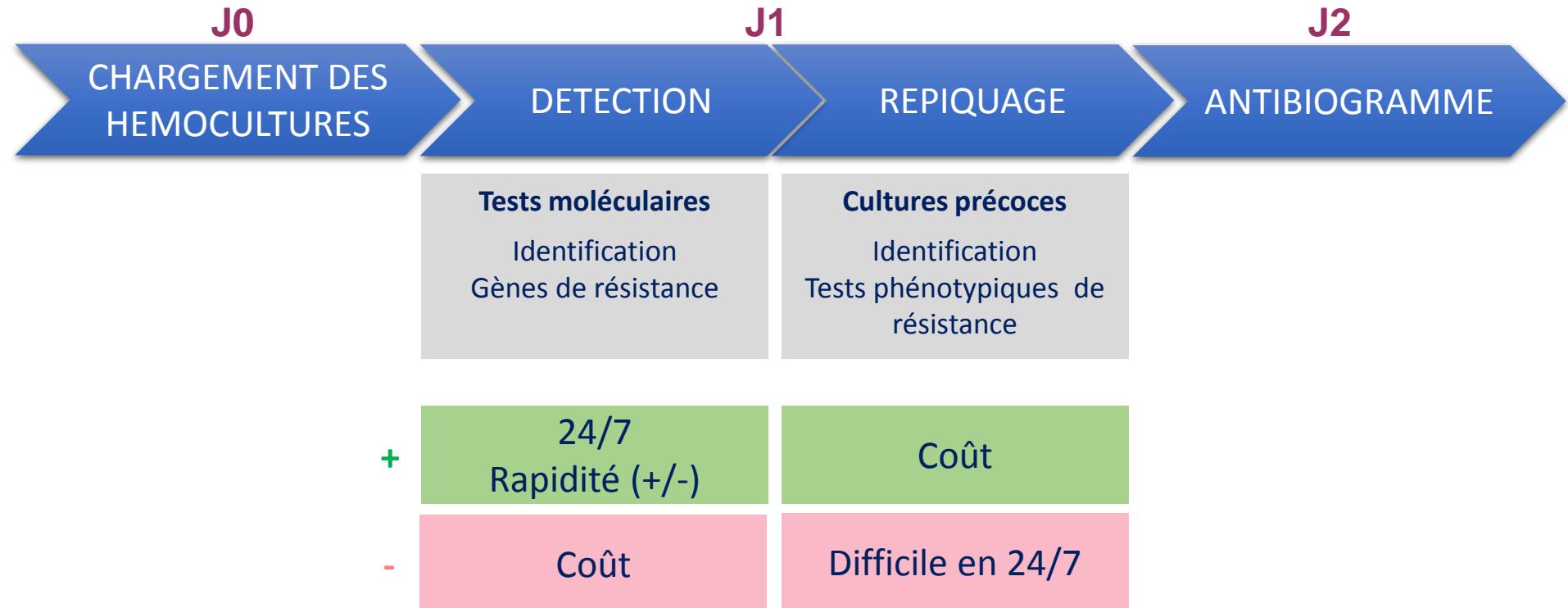


Le **sepsis** est une **urgence médicale** dont la survie du patient dépend de la **précocité** d'un traitement **antibiotique adapté**

Panels hémoculture disponibles

TMM	GenMark ePlex	Verigene	Accelerate diagnostic	T2 Biosystems	Biofire FilmArray BC	Unyvero (Curetis)
Cibles	<u>Panel BCID-GP</u> 20 cibles 4 gènes de résistance <i>mecA, mecC, vanA, vanB</i> Pan Targets: Pan Gram-Negative + Pan Candida <u>Panel BCID-GN</u> 21 cibles 6 gènes de résistance CTX-M, KPC, NDM, VIM, IMP, OXA, VIM Pan Targets: Pan Gram-Positive + Pan Candida <u>Panel BCID-FP</u> 16 cibles	<u>Panel GP</u> 13 cibles 3 gènes de résistance <i>mecA, vanA et VanB</i> <u>Panel GN</u> 9 cibles 6 gènes de résistance CTX-M, IMP, KPC, NDM, OXA, VIM	37 cibles bactériennes 20 ATB	<u>Panel bactérien</u> 6 cibles <u>Panel levure</u> 5 cibles	19 cibles bactériennes 5 cibles fongiques 3 gènes de résistance <i>mecA, vanA/B, kpc</i>	26 cibles bactériennes 9 cibles fongiques 16 gènes de résistance
méthode	PCR mutliplexée microfluidique + eSensor	Puces à ADN	FISH + détection optique de l'antibiogramme	Nanoparticules + résonance magnétique	PCR nichée automatisée	PCR mutliplexée
Délai	≈ 1h10	2h30	ID: ≈ 1h AST: ≈ 7h	≈ 4 heures	≈ 1h10	≈ 5h30 heures

Diagnostic bactériologique du sepsis : approches phénotypiques et génotypiques



Sepsis et panel syndromique « hémoculture »



Point de vue du clinicien¹

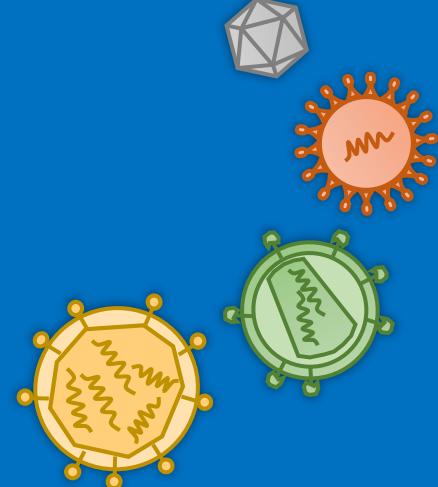
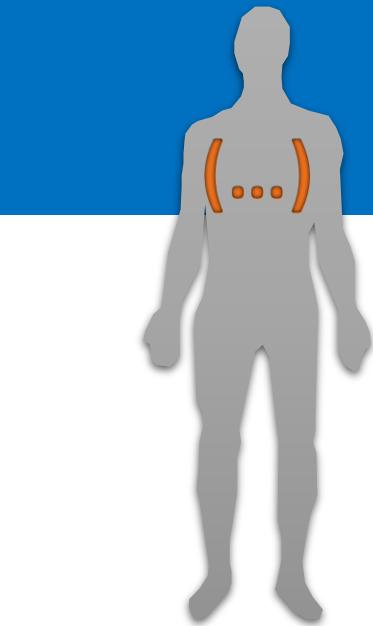
- Antibiotic stewardship
 - Diminution du délai de désescalade ou d'antibiothérapie adéquate
- Mortalité
 - Diminution variable du taux de mortalité
- Impact médico-économique
 - Diminution de la durée de séjour
 - Diminution de prescription d'antibiothérapies inutiles (hémocultures à SCN)

Point de vue du biologiste

- Quel positionnement par rapport aux tests phénotypiques et tests moléculaires « simplex » ?

¹ Ramanan et al, Clin Microbiol Rev. 2017 Nov 15;31(1)

Autres panels



Autres panels

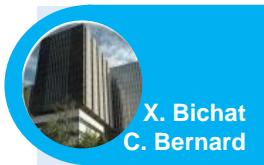
- **Autres panels existants**
 - *Helicobacter pylori* + ClariR (Amplidiag)
 - Résistances Carba (Amplidiag)
 - Panel ostéo-articulaires (Unyvero, Amplidiag)
 - Panels STI (Anyplex, Fast Track...)
- **Panels à venir**
 - Panels ostéo-articulaires (Filmarray, Novodiag)
 - Panels urinaires (Unyvero)
 - Panels résistance (Novodiag)
 - Panel infections respiratoires basses (Filmarray)
 - (...)

Conclusions

- Les approches syndromiques ont pour la plupart montré un **gain** en terme **médico-économique** et de **prise en charge** des patients
- Elles peuvent se positionner comme des tests d'**urgence**, de **screening**, ou se **substituer aux PCR simplex**
- Leur **gain relatif** par rapport aux PCR simplex ou des méthodes phénotypiques repose sur des problématiques de **coût**, de **facturation**, et de **topologie** du laboratoire et des services **prescripteurs**



Remerciements



X. Bichat
C. Bernard



Virologie

Dr Charlotte Charpentier
G. Collin
Pr Diane Descamps
Dr Nadhira Houhou
Dr Houria Ichou
Alexandre Storto



Parasitologie

Pr S. Houze
Dr N. Argy



Bacteriologie

Pr A. Andremond
Dr L. Armand-Lefebvre
Dr N. Grall
Dr JC. Lucet
Dr E. Mammeri



C.I.C. - D.I.M.

Pr X. Duval
N. Beldjoudi
D. Van Gysel



Réanimation Médicale

Dr L. Bouadma
Dr B. Mourvillier
Dr R. Sonneville
Pr JF. Timsit
Pr M. Wolff



Maladies infectieuses

Dr V. Joly
Dr S. Lariven
Dr X. Lescure
Dr P. Loubet
Pr S. Matheron
Dr C. Rioux
Pr Y. Yazdanpanah



Urgences

Pr E. Casalino
Dr C. Choquet



Beaujon



Bacteriologie

Pr MH Nicolas-Chanoine



Médecine interne

Pr B. Fantin
Pr A. Lefort des Ylouses
Dr V. Zarrouk



Réanimation

Pr C. Paugam Burtz



Virologie Saint-Louis

Dr J. Le Goff



Bacteriologie Lariboisière

Dr H. Jacquier
Dr G Pean de Ponfilly



Louis
Mourier



Bacteriologie

Dr L. Landraud



Médecine interne

Pr E. Aslangul
Pr I. Mahe



Pédiatrie

Dr JC. Mercier
Dr B. Mesplès



Réanimation

Pr JD. Ricard
Pr D. Roux



Robert Debré

Pr S. Bonacorsi
Pr A. Faye