

Approche syndromique BIOFIRE® FILMARRAY® : performances et bénéfices

Lors de la journée des utilisateurs FILMARRAY® organisée par la société bioMérieux à Paris le 20 décembre 2017, deux évaluations des panels Méningite-Encéphalite (ME) et Respiratoire 2 plus (RP2plus) ont été présentées aux participants, ainsi que des cas cliniques démontrant un apport des panels ME et BCID (Identification des hémocultures positives).

Évaluation prospective des performances du panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® par le Dr Nadira HOUHOU, biologiste médicale au laboratoire de virologie du CHU Bichat Claude Bernard à Paris

Nous avons implémenté le test Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® en janvier 2017. Une vérification préalable des performances était nécessaire avant la mise en place de ce test dans notre laboratoire.

Étude rétrospective AP-HP 2016

Une première étude (1) rétrospective a été réalisée à l'AP-HP en 2016 en coopération entre les hôpitaux Saint Louis, Saint Joseph, Lariboisière et Bichat. 200 LCS (liquide cébro-spinal) congelés ont été testés avec le panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY®. Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux des techniques de routine (Gram, culture et PCR). Les discordances ont été vérifiées à l'aide d'une troisième méthode. Pour les échantillons positifs en virus, nous avons observé 100 % de concordance, à l'exception des virus l'HHV6 et CMV sur des charges virales faibles, toutes inférieures au seuil de détection du Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY®. Pour les bactéries (sauf *Listeria* qui n'a pas été testée), nous avons obtenu 100 % de concordance. Pour les cryptocoques, nous avons observé 100 % de concordance quand il s'agissait de dépistage et quelques discordances liées aux traitements. En résumé, les résultats de cette étude ont montré une sensibilité globale de 89,5%, une spécificité globale de 99,7 % et une concordance avec un kappa de 0,88.

Étude prospective américaine 2016

Une autre étude multicentrique, prospective (2), réalisée aux Etats-Unis sur 1560 LCS a montré des résultats similaires, à l'exception des bactéries *Listeria monocytogenes* et *Neisseria meningitidis* qui n'ont pas été testées.

Résultats de l'évaluation prospective réalisée à Bichat Claude Bernard entre janvier et septembre 2017

Le panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® a été mis en routine à partir de janvier 2017. En accord avec les cliniciens (réanimateurs, infectiologues, urgentistes), le test Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® était réalisé en parallèle avec les tests standard. Ainsi, à partir du 15 janvier 2017, tous les prélèvements de LCS reçus dans notre laboratoire de Virologie ont été testés en parallèle par les techniques standard selon les demandes des cliniciens et par



Dr Nadira HOUHOU

le panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY®. Les LCS ont été testés d'abord par BIOFIRE® FILMARRAY®, puis le même jour par les techniques de routine utilisées au laboratoire (cf. Figure 1). Nous avons testé 535 LCS, en provenance des Urgences adultes (143), de la Réanimation (127), du service des maladies infectieuses (60) et d'autres services (162) comme la Cancérologie, la Rhumatologie et la Neurologie. L'hôpital Robert Debré nous a transmis quelques prélèvements de la pédiatrie (43). Au total, 48 LCS ont été retrouvés positifs avec le panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY®, avec un taux de positivité de 9 %. La répartition des positifs par services demandeurs a été la suivante : 12,6 % pour les LCS en provenance des Urgences (17 virus et 1 bactérie), 4,7 % pour la Réanimation (4 virus et 2 bactéries), 8,3 % pour le service des maladies infectieuses (3 virus et 2 bactéries), 25,6 % en Pédiatrie (10 virus et 1 bactérie) et 4,7 % pour les autres services (7 virus et 1 cryptococque). En termes de concordance avec les techniques standard, nous avons obtenu 99,8 % pour l'Herpès 1 (HSV1), 100 % pour l'Herpès 2 (HSV2), 99,6 % pour l'Entérovirus (EV), 99,5 % pour la Varicelle (VZV), 99,7 % pour le CMV (Figure 2).

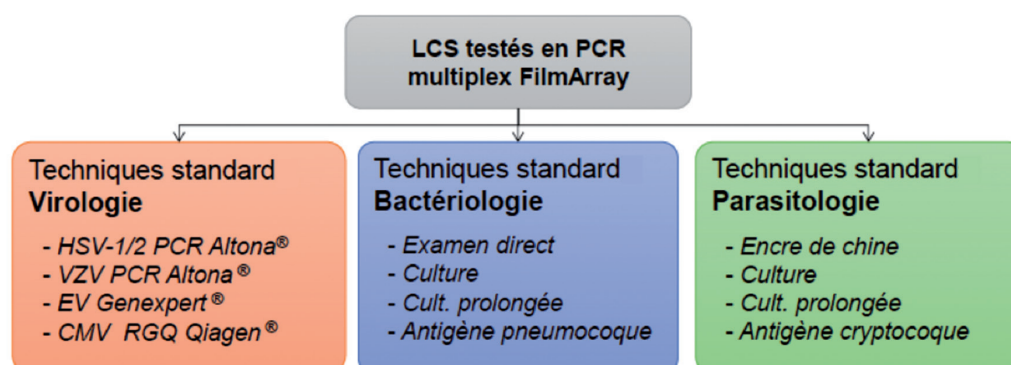


Figure 1. Techniques standard utilisées aux laboratoires de virologie, bactériologie et parasitologie de l'Hôpital Bichat Claude Bernard

Pour les bactéries, sur 353 LCS testés en parallèle avec les méthodes standard, nous avons observé une concordance avec BIOFIRE® FILMARRAY® de 99,4 %. 6 prélèvements ont été trouvés positifs en BIOFIRE® FILMARRAY® dont 4 n'ont pas été confirmés par les techniques standard. Enfin, pour les cryptocoques, sur 85 LCS testés avec les comparateurs, la concordance a été de 98,7 %. 1 positif en BIOFIRE® FILMARRAY® n'a pas été confirmé avec les techniques standard pour *C. neoformans*.

La discussion doit porter sur l'étude des discordances. Un HSV1 positif en BIOFIRE® FILMARRAY®, non confirmé par technique standard, était une encéphalite traitée par Acyclovir, donc il ne s'agissait pas d'un faux positif. Pour la Varicelle, nous avons eu 2 discordants : le premier était négatif en BIOFIRE® FILMARRAY®, faiblement positif en technique standard (Ct 39,6), pour une encéphalite traitée par Acyclovir 10 jours avant la ponction lombaire ; le deuxième cas était positif en BIOFIRE® FILMARRAY® et négatif en technique standard pour un enfant qui avait eu une varicelle un mois avant la ponction lombaire. Ces 2 discordances peuvent donc se justifier. Pour le CMV, nous avons eu un positif en BIOFIRE® FILMARRAY®, négatif en technique standard dans un cas de méningite purulente non liée au CMV, mais le dossier du patient mentionnait une labyrinthite avec surdité totale gauche depuis 6 ans. En ce qui concerne l'Entérovirus, nous avons eu 1 faux négatif en BIOFIRE® FILMARRAY®, qui était positif en technique standard (Ct 35,6) dans un cas de vraie méningite. Pour les 4 cas discordants en bactéries (positifs en BIOFIRE® FILMARRAY® et négatifs en techniques standard), il s'agissait d'une méningite pu-

rule et de 3 autres cas qui n'étaient pas des méningites. Enfin pour les 2 cryptocoques positifs discordants : un cas positif en BIOFIRE® FILMARRAY® et négatif en techniques standards présentait un trouble de l'équilibre avec une paralysie faciale, soit certainement un faux positif ; et une discordance inverse (positif en BIOFIRE® FILMARRAY®, négatifs en techniques standard) était une méningite à cryptocoque traitée depuis un mois.

Nous avons consulté les données du DIM (département de l'information médicale) pour les 525 LCS reçus, n'ayant pas eu le temps de consulter tous les dossiers des patients. Sur les 40 dossiers codés méningite, 2 étaient positifs en bactéries et 13 étaient positifs en virus. Sur les 30 patients codés méningo-encéphalite, aucun n'était positif en bactéries et seulement 4 étaient positifs en virus. Les données du DIM ont leur limite, l'idéal est de revoir tous les dossiers des patients par des experts pour mieux définir les cas.

Nous avons étudié la pertinence de limiter l'utilisation du test BIOFIRE® FILMARRAY® en fonction du nombre de leucocytes présents dans le LCS. Sur les 48 LCS positifs obtenus, 19 avaient une cellularité disponible au laboratoire, 9 d'entre eux avaient une cellularité inférieure à 10 éléments (47 %). Sur ces 9 LCS, le diagnostic d'encéphalite a été retenu chez 4 patients. Il faut donc faire attention aux encéphalites virales non rares avec l'énumération inférieure à 10 éléments, ainsi qu'aux patients immunodéprimés. La discussion reste ouverte pour les méningites. Nous avons donc vérifié le nombre de leucocytes présents dans les LCS positifs reçus au laboratoire en 2016. Les médianes du nombre de leucocytes sont à 7,5 pour l'HSV1, 139 pour l'HSV2, 81 pour le VZV, 3

	n tests	n pos. FILMARRAY®	n pos. Standard	Cas discordants	Concordance	Se	Sp
HSV1	506	3	2	1	99,80%	100%	99,8%
HSV2	506	6	6	0	100%	100%	100%
VZV	422	8	8	2	99,5%	87,5%	99,8%
EV	250	7	8	1	99,6%	87,5%	100%
CMV	369	3	2	1	99,7%	100%	99,7%
HHV6	ND	2	ND	-	ND	ND	ND
Parechovirus	ND	0	ND	-	ND	ND	ND

ND= non demandé

Figure 2. Résultats de comparaison du panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® versus techniques standard pour les virus

pour le CMV et 69 pour l'EV. La variabilité est donc importante en fonction du virus. On ne peut donc pas établir un seuil de cellularité pour la recherche des virus.

Les avantages de la plateforme de biologie moléculaire PCR multiplexe BIOFIRE® FILMARRAY®

Les avantages sont nombreux permettant de mettre en oeuvre cette plateforme dans tous les laboratoires, y compris en garde (cf. Figure 3). Pour les cliniciens, le faible volume de prélèvement nécessaire (200 µL) pour la réalisation du test est appréciable. Le délai de rendu des résultats, antérieurement de 19h à 5 jours avec les méthodes standard, est maintenant compris entre 1h25 et 48h avec BIOFIRE® FILMARRAY® (Le temps d'analyse avec Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® : 65 min). Pour 66 % des patients, ce délai est inférieur à 3 heures. Le nombre de cibles détectées avec BIOFIRE® FILMARRAY® est aussi beaucoup plus important. Le diagnostic étiologique est avancé au moins de trois jours pour un bilan standard élargi et il est disponible 24h/24.

Suite à l'amélioration des délais de rendu des résultats, les patients sont orientés plus rapidement et les traitements sont adaptés plus vite. Les examens complémentaires et les envois extérieurs sont en baisse. Les résultats négatifs confirmés plus tôt permettent une baisse de consommation des antibiotiques et des antiviraux et une instauration plus facile des corticoïdes. De même, une baisse des durées moyennes de séjours est permise grâce aux résultats négatifs et aux résultats positifs pour les Entérovirus.

En conclusion, les performances du panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® sont rassurantes. Il reste à expertiser des discordances observées et à conduire une étude d'impact pour confirmer les bénéfices de BIOFIRE® FILMARRAY®.

Références

- (1) Le Goff *et al.*, 36^e RICAI, 2016
- (2) Leber *et al.*, JCM, 2016

	Tests actuels (Bichat)	FilmArray™ ME
Avantages au laboratoire		
- Etapes techniques	> 3	1
- Temps de réalisation technique	> 6h	1h03
- Nombre de trousses	> 3	1
- Nombre de contrôles qualité	> 15 /sem.	< 1 /sem.
- Risques de contamination	Oui	Minime
- Maintenances automatées	> 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 (examen par défaut)	19h à 5 j (sauf EV)	1h25 à 48h (<3h 66%)
- Nombre de cibles détectées Viro (examen par défaut)	3 (HSV-1/2, VZV) +/- EV	7 virus + 5 bact. et crypto

Figure 3. Avantages de BIOFIRE® FILMARRAY®

Remerciements



Virologie BCB

Dr Charlotte Charpentier
G. Collin
Pr Diane Descamps
Dr Houria Ichou
Alexandre Storto
Dr Benoit Visseaux



Virologie St Louis

Dr J. Le Goff



Bacteriologie Larib.

Dr H. Jacquier
Dr G Peon -de-Ponfilly



Parasitologie BCB

Pr S. Houze
Dr N. Argy



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



Bacteriologie BCB

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



Réanimation

Dr L. Bouadma
Dr B. Mourvillier
Dr R. Sonnevillie
Pr JF. Timsit



C.I.C.

Pr X. Duval
N. Beldjoudi

Evaluation du panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus pour le MERS-CoV, par le Dr Martine VALETTE, biologiste médicale au Centre National de Référence des Virus des Infections Respiratoires, Institut des Agents Infectieux aux Hospices Civils de Lyon

Le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus permet le dépistage simultané de 22 pathogènes respiratoires, y compris le Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS-CoV). Ce virus est apparu chez l'homme en 2012 avec les premiers cas détectés en Arabie Saoudite. Il s'agit d'une zoonose. Le dromadaire est un hôte réservoir majeur qui contamine l'homme par contact ou consommation de produits (lait, viande) crus ou insuffisamment cuits. On sait que la transmission se fait de l'animal à l'homme parce que les souches isolées chez l'homme sont identiques à celles isolées chez le dromadaire. La contamination d'homme à homme se fait en cas de contact proche et en particulier chez les soignants qui s'occupent de patients infectés. La situation est particulièrement préoccupante au Moyen-Orient où l'on observe le plus grand nombre de cas. L'Arabie Saoudite concentre 80 % des détections, ensuite viennent la Corée et les Émirats Arabes Unis. En 2017, les données rapportées par l'OMS montrent en Arabie Saoudite une circulation régulière du MERS-CoV tout au long de l'année, avec une mortalité autour de 30 %. À partir de cette zone de circulation régulière, le virus a été importé dans 27 pays par l'intermédiaire de voyageurs (données ECDC au 4 Décembre 2017. Figure 4). En Corée notamment, une épidémie a eu lieu en 2015 suite à une prise en charge inappropriée des patients index de retour dans le pays. De nombreux cas ont été rapportés chez les soignants. À partir de la Corée, le virus a été introduit en Chine.

Au total, les données de l'OMS à mi-novembre 2017 rapportent 2103 cas avec une mortalité de 35 %. La surveillance des cas bénins n'existant pas, ce pourcentage de mortalité pourrait être surestimé.

La situation du diagnostic du MERS-CoV en France

Deux cas de MERS-CoV ont été rapportés en France : celui d'un patient consécutif à un voyage en Arabie Saoudite et un cas d'infection nosocomiale correspondant à la contamination du voisin de chambre du premier patient. Le diagnostic virologique a été mis en place en 2012, en premier lieu dans les deux centres nationaux de référence de Lyon et Paris et au CIBU (Centre d'Intervention Biologique d'Urgence - Institut Pasteur). Ce diagnostic a été progressivement décentralisé à l'ensemble des laboratoires de virologie du réseau RENAL (Réseau national des laboratoires hospitaliers), et en particulier à ceux disposant d'un laboratoire de sécurité BSL-3. Le diagnostic repose sur une PCR couplant deux cibles et les CNR ont mis à disposition des laboratoires les protocoles de PCR et un témoin positif, de façon à standardiser les techniques et valider les résultats afin d'habiliter les laboratoires participants au diagnostic. Les patients suspectés d'être infectés par le MERS-CoV sont hospitalisés en chambres d'isolement et les prélèvements respiratoires sont acheminés vers le laboratoire habilité.



Dr Martine Valette

La surveillance centralisée initialement pilotée par l'InVS (Institut National de Veille Sanitaire, devenu Santé publique France en 2016) a été transférée en régions vers les CIRE (15 Cellules d'Intervention en Région constituant le dispositif régional de Santé publique France au sein des Agences Régionales de la Santé) en collaboration avec un infectiologue. Le diagnostic du MERS-CoV est réalisé 7 jours sur 7. L'évaluation des patients se fait par le clinicien/infectiologue et seuls les cas possibles sont signalés et validés par l'ARS/CIRE. Les cas possibles sont enregistrés dans la base de données.

Les contraintes du diagnostic du MERS CoV

Le MERS-CoV est classé MOT (Micro-organismes et toxines hautement pathogènes) par l'ANSM (Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), ce qui a posé un problème pour la prise en charge du diagnostic de ces suspicions. L'ANSM a accepté de déclasser les échantillons respiratoires afin de permettre la réalisation du diagnostic par l'ensemble des laboratoires habilités. Si le diagnostic est positif, le laboratoire doit prendre contact avec un des deux CNR disposant d'une autorisation MOT pour la prise en charge de ce type de pathogène. La réalisation des PCR impose la présence de contrôle positif. Dans ce cas, on utilise un transcrit identique pour les deux PCR. Ce transcrit permet de valider les différentes plateformes de PCR utilisées dans les laboratoires qui prennent en charge ce diagnostic. Il est demandé de pratiquer des prélèvements respiratoires profonds car l'étiologie ne sera complètement validée que sur ce type de prélèvement. La définition des

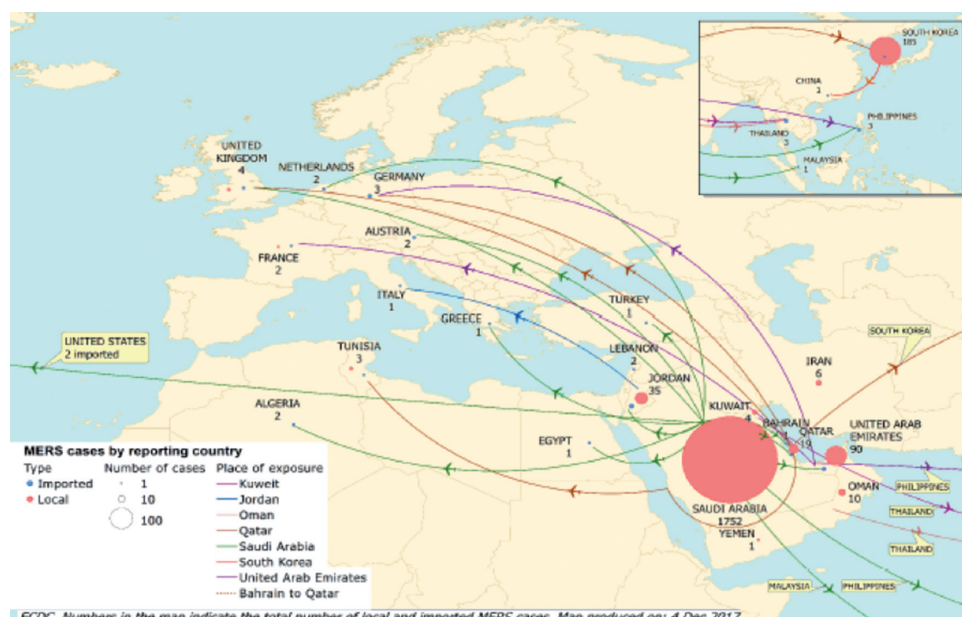


Figure 4. Nombre de cas de MERS-CoV signalés dans le monde (au 4 décembre 2017).

cas de prise en charge a été beaucoup discutée. Lors du retour de pèlerinage à La Mecque, les laboratoires font face à un afflux important de prélèvements. Un ciblage correct des patients permet de traiter le plus rapidement possible les cas les plus importants. Le délai de rendu des résultats impacte le coût de réalisation des analyses et de prise en charge des patients qui sont hospitalisés en chambres d'isolement.

Evaluation du panel Respiratoire 2 plus BIOFIRE® FILMARRAY® (RP2plus)

La première étape a été consacrée à évaluer les performances de ce nouveau test BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus sur la cible MERS-CoV, en comparaison avec les outils du CNR (PCR upE et ORF1a, Corman *et al.* 2012). Nous avons étudié la sensibilité analytique (Limite de Détection, LoD) du test et les performances sur des échantillons respiratoires profonds enrichis en MERS-CoV.

Pour déterminer la limite de détection, nous avons utilisé les contrôles du panel QCMD 2017 MERS-CoV (2017 MERS-CoV EQA Programme) dilués extemporanément en raison 10. A partir d'une charge virale de 28 Ct, 4 répliquats ont été analysés et, à proximité de la limite de détection, le nombre de

répliquats a été augmenté à 10 pour chaque valeur de Ct. Les analyses ont été systématiquement réalisées par deux PCR (upE et ORF1a), à l'identique de ce qui est réalisé au laboratoire en routine pour tout échantillon de patient, et en parallèle par le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus (Figure 5). Pour les charges virales variant de 22 Ct jusqu'à 33-34 Ct, la sensibilité est de 100% dans les 2 techniques.

Le pourcentage de détection diminue à 70 % pour les charges de 36-37 Ct. A cette charge, le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus a détecté 6 répliquats sur 10 et fourni des résultats équivoques pour 3, nécessitant une ré-analyse de ces échantillons. Seuls 2 échantillons parmi les 3 ont pu être ré-testés et un a été trouvé positif. Des résultats équivoques ont été aussi observés par les techniques PCR standard du laboratoire pour 4 des 10 répliquats. Suite à la reprise de ces échantillons équivoques, 1 sur 4 a été trouvé positif. Les limites de détection sont identiques pour les 2 techniques : le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus et les PCRs de diagnostic du CNR (Figure 5).

La deuxième étape consistait à valider le test BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus sur les échantillons profonds.

En effet, le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus est marqué

Ct cible (PCR upE & ORF1a)	nb de répliquats analysés	FilmArray BIOFIRE RP2plus				PCR CNR (upE et ORF1a)			
		nb de positifs	nb de résultats équivoques	nb de positifs après re-analyse	% de détection	nb de positifs	nb de résultats équivoques	nb de positifs après re-analyse	% de détection
22	1	1	0	NR	100	1	0	NR	100
25	1	1	0	NR	100	1	0	NR	100
27-28	4	4	0	NR	100	4	0	NR	100
30-31	4	4	0	NR	100	4	0	NR	100
33-34	10	10	0	NR	100	10	0	NR	100
36-37	10	6	3	1 ^a	70 (7/10)	6	4	1 ^b	70 (7/10)
39-40	10	1	0	NR	10 (1/10)	0	3	1	10 (1/10)

(a) Seuls 2 des 3 échantillons équivoques ont pu être ré-analysés = 1 positif ; 1 négatif. (b) Sur 4 échantillons équivoques ré-analysés : 1 positif, 1 négatif et 2 équivoques ; NR : non réalisé.

Figure 5. Comparaison des limites de détection du panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus et des PCRs du CNR (Corman *et al.*, 2012).

Publi-reportage

Echantillon	1		2		3		4		5		6		7		8		9	
Nature du prélèvement	Crachat		Crachat		Crachat		Crachat		Crachat		Crachat		LBA		LBA		ATB	
Technique utilisée (Ct)	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+	CNR	RP2+
MERS CoV	+	(38)	+	(32)	+	(36)	+	(35)	+	(32)	+	(34)	+	(33)	+	(30)	+	(32)
Rhinovirus/Enterovirus	+	(24)	+	(36)	-	-	-	-	+	(23)	-	-	+	(27)	-	-	NR	-
Influenzavirus A	-	-	-	-	-	-	-	-	+	(37)	-	-	-	-	-	-	+	(29)
Influenzavirus B	-	-	-	-	-	-	+	(30)	-	-	-	-	-	-	+	(25)	-	-
Coronavirus humains	+	(29)	+	-	-	-	-	-	+	(22)	-	-	+	(32)	-	-	-	-
Parainfluenzavirus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Adenovirus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
Bocavirus	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Figure 6. Comparaison des résultats de la détection du MERS-CoV et des autres virus respiratoires obtenus sur 9 prélèvements profonds avec les PCR utilisées par le CNR (Ct) et le test RP2plus (RP2+).

CE-IVD et approuvé FDA pour le prélèvement respiratoire supérieur (écouvillon nasopharyngé). Différentes natures de prélèvements ont été sélectionnées : des crachats, des LBA et une aspiration trachéo-bronchique parmi les échantillons des suspicions réceptionnés au CNR et conservés à -80°C. Les 9 échantillons ont été enrichis en MERS-CoV, avec une charge virale relativement faible. Ces prélèvements ont été traités à la protéinase K avant d'être analysés par PCRs de diagnostic du CNR et par le panel BIOFIRE® FILMARRAY®. Le diagnostic des virus respiratoires a été réalisé à l'aide des PCR duplex MWS R-GENE® bioMérieux (Rhino&EV/Cc ; HCoV/HPIV ; AdV/hBoV) et de la PCR duplex influenza A/B du CNR.

Le test BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus a permis la détection de tous les virus respiratoires présents dans les échantillons sélectionnés. Pour l'échantillon 7, BIOFIRE® FILMARRAY® a détecté un Adénovirus, non détecté par la PCR MWS R-GENE® (Figure 6).

En conclusion, la sensibilité analytique du panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus pour MERS-CoV est strictement identique à celle observée pour PCRs du CNR (Corman *et al.*, 2012). Toutes les deux approches diagnostiques utilisent 2 cibles d'amplification pour MERS-CoV.

Par ailleurs, les virus présents dans des échantillons respiratoires profonds sont détectés de la même façon que dans des prélèvements hauts. Ce critère est indispensable pour la validation du diagnostic virologique des suspicions MERS-CoV. Le panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus présente l'avantage d'un rendu du résultat plus rapide (45 min au lieu de 2H30 avec les techniques standard) et d'un diagnostic différentiel virologique et bactériologique. Pour les suspicions MERS-CoV négatives l'identification de l'étiologie simultanément est un atout majeur. Ces résultats sont des arguments qui permettent le déclassement du cas et la levée de l'isolement pour le patient.

Évaluation prospective du panel BIOFIRE® FILMARRAY® RP2plus en situation réelle

Nous avons souhaité réaliser le diagnostic du Mers-CoV en temps réel, sur des échantillons provenant des patients de retour de pèlerinage de La Mecque, à la fois sur les techniques classiques du CNR et sur BIOFIRE® FILMARRAY®. Nous avons mis en place une période de surveillance du 4 septembre au 8 octobre 2017 avec un diagnostic 7 jours sur 7. Les inclusions ont été faites selon les critères de Santé publique France, validés par les infectiologues

Concordants

Diagnostic	Nbre Patient	FilmArray RP2plus	CNR PCR "in house" / Argene
Picornavirus	5		
V. Grippal A H1N1pdm09	2		
V. Grippal A H3N2 + Picornavirus	2		Pico Ct=41,5
V. Grippal A H3N2 + VRS + OC43 (hCoV)	1		
Picornavirus + AdV	1		
V. Grippal A H1N1pdm09	1	V. Grippal A équivoque	
V. Grippal A H1N1pdm09 + Pico + OC43 (hCoV)	1	A H1N1pdm09 équivoque	
V. Grippal B + V. Grippal A H1N1pdm09	1	V. Grippal A équivoque	
V. Grippal B + Myc. pneumoniae	1		
VRS	1		
	16		

Discordants

1	V. Grippal B + H1N1pdm09 + Picornavirus	V. Grippal B + H1N1pdm09
1	Picornavirus + métagpneumovirus	Picornavirus
1	Picornavirus + CoronaOC43 + Corona229E	Picornavirus
1	Picornavirus*	Négatif
4		

Figure 7. Comparaison des résultats de l'étude prospective

et la CIRE. Pour les 21 patients inclus dans cette évaluation nous avons reçus un total de 46 échantillons respiratoires, les patients ayant été prélevés 1, 2 ou 3 fois. Aucun échantillon n'était positif en MERS-CoV. Les virus respiratoires le plus fréquemment détectés étaient les Picornavirus (13 patients détectés par BIOFIRE® FILMARRAY® et 11 par les techniques PCR classiques du laboratoire), ensuite viennent les virus grippaux H1N1, H3N2 ou B (9 patients) puis d'autres virus (Coronavirus humain, VRS, métagneumovirus, AdV) et une bactérie *Mycoplasma pneumoniae*. Les détectations étaient soit uniques (1 virus) soit multiples (plusieurs virus ou virus-bactérie) (Figure 7). Un seul patient parmi les 21 a été négatif pour tous les pathogènes du panel.

Pour les 3 résultats équivoques en BIOFIRE® FILMARRAY®, les diagnostics de grippe ont été confirmés par les PCR du laboratoire. Le cas de discordance où un Picornavirus seul a été détecté par BIOFIRE® FILMARRAY® est très intéressant pour le clinicien. Il s'agit d'un patient MERS-CoV négatif, pour lequel le diagnostic étiologique a été posé grâce au

BIOFIRE® FILMARRAY® (Picornavirus). Si ce patient évolue favorablement sur le plan clinique, il est déclassé et l'isolement est levé.

En conclusion de cette étude, la sensibilité globale du BIOFIRE® FILMARRAY® pour le MERS-CoV et les autres virus respiratoires est excellente. Le retour des techniciens et des biologistes ayant participé à ce travail était très favorable par rapport à la praticabilité du BIOFIRE® FILMARRAY® et sa simplicité d'utilisation. Le délai de rendu des résultats a été très apprécié par les cliniciens. La seule limite concerne l'absence d'information sur la charge des différents pathogènes détectés, en particulier pour les co-détectations.

Remerciements

Les techniciens du CNR : Clio, Gwendolyne, Nomin & Rémi
Dr Maude Bouscambert-Duchamp et Pr Bruno Lina
Martina Hnatova – Société bioMérieux

Panel Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® : Cas clinique présenté par le Dr Lucile MENDES MARTINS, Biologiste Médicale au laboratoire du Centre Hospitalier de Cahors

Dans notre laboratoire, nous utilisons le panel respiratoire BIOFIRE® FILMARRAY® depuis quelques années et récemment nous avons implémenté le panel Méningite-Encéphalite.

Je vous décris le cas clinique d'une femme de 73 ans, hospitalisée pour une cholécystectomie à l'hôpital de Figeac. Au 4^{ème} jour de son hospitalisation, elle a présenté un syndrome confusionnel avec éruption vésiculaire des mains et du membre supérieur droit. La ponction lombaire n'a pas pu être réalisée. A défaut, ils ont prélevé les lésions cutanées mais la mise en culture bactérienne s'est révélée négative. Le scanner était normal. Devant le tableau clinique, le médecin a suspecté une méningite ou une méningo-encéphalite. Il a donc prescrit un traitement par CLAFORAN® et ZOVIRAX® IV 10 mg/kg, débuté le 10 juin 2016. Quatre jours plus tard, l'état de la patiente ne s'étant toujours pas amélioré, elle a été transférée en neurologie à l'hôpital de Cahors. Elle présentait toujours des signes neurologiques à type de désorientation temporo-spatiale et d'ataxie lors de la verticalisation sans signe de focalisation. Elle avait une CRP à 14 mg/L. L'analyse de la ponction lombaire a montré une hyperprotéinorachie à 0.86 g/L, une glycorachie normale, une légère augmentation des globules blancs à 26/mm³ (88 % de lymphocytes) et des globules rouges à 67/mm³. Nous avons réalisé un Gram qui s'est avéré négatif. Devant le tableau neurologique de la patiente, nous avons analysé son LCS avec deux tests PCR monoplex HSV et entérovirus, tous les deux négatifs. Nous avons téléphoné les résultats au clinicien qui a demandé un avis dermatologique. Ce dernier a confirmé une évolution purpurique des lésions cutanées (forte suspicion clinique de méningite à *N. meningitidis*). Il a fait prélever des hémocultures et nous avons proposé une PCR multiplex Méningite-Encéphalite BIOFIRE® FILMARRAY® sur le LCS. La PCR a été positive pour le virus varicelle (VZV). Une sérologie VZV a été positive en IgG et négative en IgM, résultats en faveur d'une réactivation du VZV.



Dr Lucile MENDES-MARTINS

Le CLAFORAN® a été arrêté et la posologie du ZOVIRAX® a été augmentée à 15 mg/kg. L'IRM a confirmé une absence d'image typique d'encéphalite et l'EEG était normal.

Le 23 juin, les troubles cognitifs étaient toujours présents. La patiente est sortie de l'hôpital avec une prise en charge ambulatoire. Un bilan neurologique réalisé en novembre 2016 a montré une forte amélioration des fonctions cognitives. La plateforme BIOFIRE® FILMARRAY® nous a permis de réaliser un diagnostic rapide de cette méningo-encéphalite à VZV. Les antibiotiques ont pu être arrêtés rapidement et la posologie du traitement anti-viral adaptée.

Publi-reportage

BIOFIRE® FILMARRAY® BCID (Identification des Hémocultures Positives) : cas clinique présenté par le Dr Hélène PAILHORIES, Biologiste Médicale au laboratoire de bactériologie - hygiène hospitalière du CHU d'Angers

Nous traitons environ 58000 flacons d'hémoculture par an avec un taux de positivité des hémocultures de 7,5 %. L'activité du laboratoire est de 24h/24 et 7J/7. Les identifications et les antibiogrammes sont donc lancés en continu, nuit et jour, tout comme les examens directs.

Nous avons implémenté au laboratoire une plateforme de biologie moléculaire BIOFIRE® FILMARRAY® au mois de mars 2017 et utilisons les panels d'identification des hémocultures et Méningite-Encéphalite. Nous avons positionné le panel d'Identification des hémocultures en complément du Gram, sur les Gram non contributifs ou d'interprétation difficile.

Je vous décris le cas clinique d'une patiente hospitalisée suite à une chute avec fracture L1-L2 et qui a fait une syncope. L'examen d'AngioTDM thoracique a éliminé l'embolie pulmonaire. Son syndrome fébrile a fait suspecter une pneumopathie d'inhalation. En conséquence, elle est traitée 24h par amoxicilline-acide clavulanique. Comme les hémocultures prélevées sortent négatives et la radiographie thoracique est normale, l'antibiothérapie empirique est arrêtée.

Suite à une nouvelle syncope, la patiente est transférée en cardiologie. Au 16ème jour de l'admission, elle devient fébrile à 39°C avec tachycardie et frissons. Étiquetée Sepsis sévère, elle est alors mise sous antibiothérapie par vancomycine et gentamicine. Des hémocultures sont prélevées en parallèle et 24h plus tard, elles sont trouvées positives au laboratoire. Cependant, nous rencontrons un problème d'interprétation du Gram entre un Cocci Gram positif et un Bacille Gram négatif mal coloré. Face à cet examen direct douteux, nous réalisons un panel d'Identification des Hémocultures Positives BIOFIRE® FILMARRAY® qui rend en 1 heure



Dr Hélène PAILHORIES

l'identification d'*Acinetobacter baumannii*. Ce résultat nous a permis d'orienter le clinicien qui a arrêté la vancomycine pour démarrer une antibiothérapie piperacilline-tazobactam. L'*Acinetobacter baumannii* s'étant avéré résistant, le clinicien a mis en place une antibiothérapie par imipénème au vu de l'antibiogramme final.

À PROPOS DE BIOMÉRIEUX

Pioneering Diagnostics

Acteur mondial dans le domaine du diagnostic *in vitro* depuis plus de 50 ans, bioMérieux est présente dans plus de 150 pays au travers de 43 filiales et d'un large réseau de distributeurs. En 2017, le chiffre d'affaires de bioMérieux s'est élevé à 2,3 milliards d'euros, dont plus de 90 % ont été réalisés à l'international.

bioMérieux offre des solutions de diagnostic (systèmes, réactifs et logiciels) qui déterminent l'origine d'une maladie ou d'une contamination pour améliorer la santé des patients et assurer la sécurité des consommateurs. Ses produits sont utilisés principalement pour le diagnostic des maladies infectieuses. Ils sont également utilisés pour la détection de micro-organismes dans les produits agroalimentaires, pharmaceutiques et cosmétiques.

bioMérieux est une société cotée sur Euronext Paris.

Code : BIM - Code ISIN : FR0013280286

Reuters : BIOX.PA / Bloomberg : BIM.FP

Site internet : www.biomerieux.fr



• Contact : Martina Hnatova – bioMérieux France – Chef de Marché FilmArray
5 rue des Aqueducs – BP 10 – 69 290 Craaponne – France
martina.hnatova@biomerieux.com