



Dominique DESCAMPS

Apport de l'approche syndromique en pratique courante dans la prise en charge des diarrhées aiguës communautaires en pédiatrie. Évaluation du panel BIOFIRE® FILMARRAY® Gastro-Intestinal

par Dr. Dominique DESCAMPS, Chef du service de Microbiologie du CH de Béthune.

Le Centre Hospitalier de Béthune comporte 621 lits et places et enregistre environ 36 000 passages par an aux urgences. Notre étude a été réalisée en collaboration avec le Service de Pédiatrie et notre secteur Microbiologie-Hygiène du Laboratoire de Biologie médicale.

Méthodologie de l'évaluation du panel BIOFIRE® FILMARRAY® Gastro-Intestinal

Nous avons conduit une étude prospective monocentrique du 1^{er} décembre 2017 au 30 mars 2018. Nous avons inclus tous les examens de selles prescrits par le service de pédiatrie durant cette période, soit 182 échantillons. Cette évaluation s'est faite en plusieurs étapes. Avant d'intégrer le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI, nous avons cartographié le flux de la prise en charge des selles au niveau du laboratoire. Nous avons ensuite réalisé une étude comparative pour évaluer les performances du panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI versus nos techniques conventionnelles (phase 1, du 1^{er} décembre 2017 au 15 janvier 2018). Enfin, nous avons mené une étude interventionnelle pour analyser l'impact clinique du panel GI sur la prise en charge des gastroentérites aiguës en pédiatrie (phase 2, du 1^{er} au 30 mars 2018). En termes de nombre d'inclusions, nous avons inclus 91 enfants en phase 1 et 86 en phase 2. Plus de 83 % d'entre eux avaient moins de 5 ans et plus de 93 % ont été admis en hospitalisation.

Cartographie des flux

L'analyse des flux a comporté 3 jours d'observation et de mesures au laboratoire, l'analyse des documents descriptifs des modes opératoires et l'analyse statistique de nos données extraites du système d'information du laboratoire. L'extraction de données a concerné 530 examens de selles venant du service de pédiatrie, sur une période de 8 mois, du 1^{er} janvier 2017 au 31 août 2017. Nous avons analysé les délais médians des différentes étapes (Tableau 1).

Tableau 1.

Analyse statistique de prise en charge des selles pédiatriques (N=530): délais médians des différentes étapes.

Etape	Temps médian
Acheminement des prélèvements (Pédiatrie => laboratoire)	43m30s
Réception => Enregistrement	7m06s
Rendu des résultats Rotavirus/Adénovirus après enregistrement	1h10m20s
Rendu des résultats pour une coproculture négative après enregistrement	2j02h09m14s
Rendu des résultats pour une coproculture positive après enregistrement	4j03h01m40s

Nous avons cartographié le processus complexe du flux de travail en pièce technique (Figure 1).

Il comporte 31 étapes, dont une vingtaine sans valeur ajoutée et 11 avec valeur ajoutée, apportant une transformation utile à l'obtention du résultat. Certaines étapes sont potentiellement chronophages (8), comportent des risques d'erreurs (2) et/ou nécessitent du personnel qualifié (4). Le temps technique représente moins de 1 % des étapes à valeur ajoutée du processus, avec un temps technicien moyen de 10 mn 52 s pour le traitement d'une selle alors que le temps d'incubation représente plus de 88 %, notamment pour les coprocultures. **Pour améliorer la prise en charge des examens de selles au laboratoire, il faut donc une évolution technologique, d'où notre décision de tester le panel BIOFIRE® FILMARRAY® Gastro-Intestinal.**

Phase 1 : étude de performances du panel FILMARRAY® GI

Les performances du panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI ont été évaluées sur 93 échantillons de selles en comparant les résultats du BIOFIRE® FILMARRAY® GI avec les résultats des examens prescrits réalisés en techniques conventionnelles. La moyenne d'âge des enfants était de 2,4 ans (de 22 jours à 13 ans), 75 % des enfants ayant moins de 3 ans. Nous avons pris en charge, selon la prescription médicale, 68 demandes de coprocultures « standard », 92 demandes de recherche de virus entéropathogènes (dont seulement 2 demandes de norovirus) et 1 demande de parasitologie des selles. Nos techniques conventionnelles, classiques en laboratoire d'un

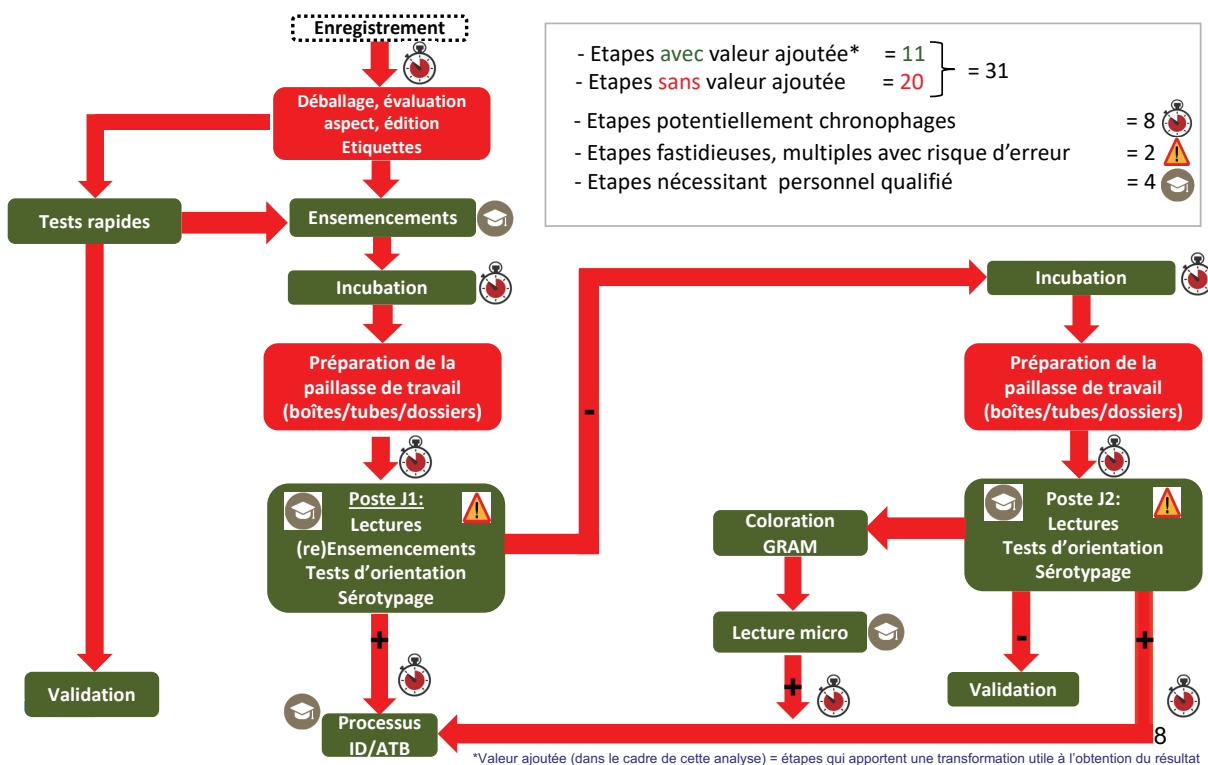


Figure 1. Cartographie du flux de travail avec les méthodes conventionnelles pour la prise en charge des selles au laboratoire de microbiologie.

hôpital général, sont des tests immunochromatographiques pour les recherches virologiques (Rotavirus/Adénovirus, Norovirus), la coproculture standard selon les bonnes pratiques, sur des milieux sélectifs, des milieux d'enrichissement avec 48 h d'incubation, et une analyse par microscopie après concentration pour la parasitologie des selles. Il s'agit d'un processus complexe. En comparaison, BIOFIRE® FILMARRAY® GI détecte, en 1 seul test, 22 pathogènes (13 bactéries, 5 virus, 4 parasites) en 1 heure, directement à partir des selles dans un milieu de transport Cary Blair (200 µl) (Figure 2). La technologie FILMARRAY® emploie la PCR nichée.

Figure 2. BIOFIRE® FILMARRAY® GI panel : composition

Bactéries		Virus
<i>Campylobacter (jejuni, coli et upsaliensis)</i>	<i>E. coli</i> diarrhéogène/ <i>Shigella</i> :	Adénovirus F 40/41
<i>Clostridium difficile</i>	<i>E. coli</i> entéroaggrégative (EAEC)	Astrovirus
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	<i>E. coli</i> entéropathogène (EPEC)	Norovirus GI/GII
<i>Salmonella</i>	<i>E. coli</i> entérotoxigénique (ETEC) lt/st	Rotavirus A
<i>Yersinia enterocolitica</i>	<i>E. coli</i> producteurs de Shigatoxines (STEC) stx1/stx2	Sapovirus (I, II, IV et V)
<i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus et cholerae)</i>	<i>E. coli</i> O157	
<i>Vibrio cholerae</i>	<i>Shigella/E. coli</i> entéroinvasive (EIEC)	Parasites
		<i>Cryptosporidium</i>
		<i>Cyclospora cayentanensis</i>
		<i>Entamoeba histolytica</i>
		<i>Giardia lamblia</i>

Sur 93 selles reçues, 68 ont été testées en coproculture selon la prescription médicale et le total de 93 a été analysé avec le test syndromique BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Pour les bactéries, le taux de positivité des techniques conventionnelles a été de 5,9 %, contre 24,7 % pour le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Nous n'avons pas pris en compte les

résultats positifs du panel pour *Clostridium difficile*, observés chez des enfants de moins de 2 ans, comme le portage asymptomatique est fréquent dans cette tranche d'âge. Concernant les virus, sur 93 selles reçues, 92 ont été testées avec les tests immunochromatographiques Rotavirus/Adénovirus et 2 avec le test Norovirus, selon les prescriptions. Les techniques conventionnelles ont eu un taux de positivité de 20,6 % contre 57 % pour le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Les 2 virus les plus prévalents étaient le rotavirus (dans 21,5 % d'échantillons) et le norovirus (19,3 %) alors que pour ce dernier sa recherche n'a été prescrite que dans 2 cas. Concernant la parasitologie, le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI a détecté *Giardia* dans un échantillon.

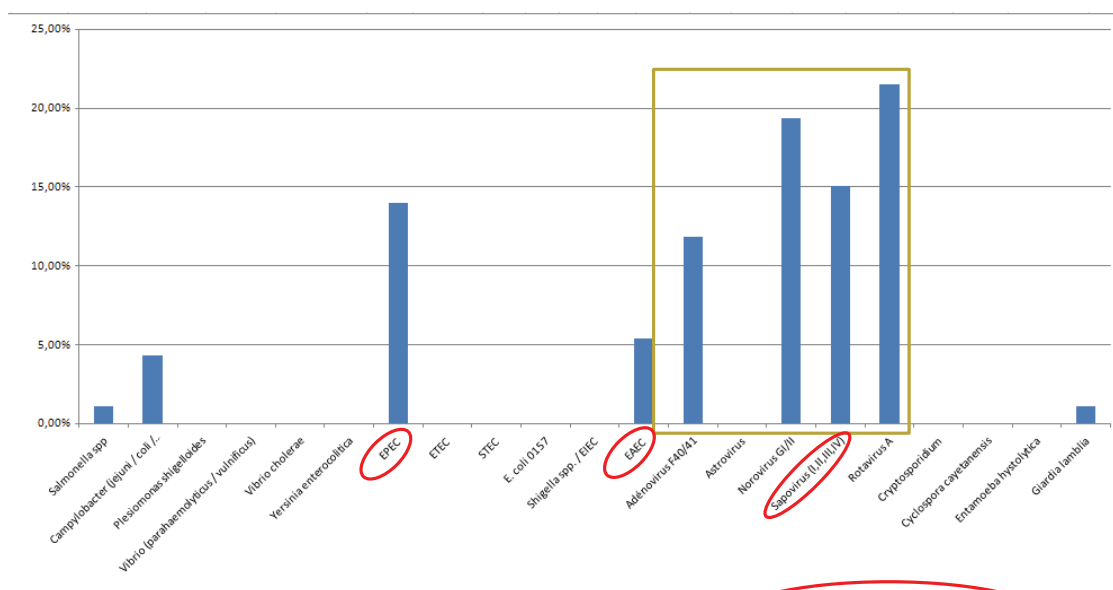
Sur l'ensemble des pathogènes détectés dans 93 échantillons analysés (Figure 3), il y a une majorité de virus, puis des *E.coli* entéropathogènes (EPEC) et des *E.coli* entéroaggrégatifs (EAEC). Les EPEC et les Adénovirus ont été détectés majoritairement en coinfections par le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI (Figure 4).

En synthèse de cette analyse de performances, 62 échantillons ont été trouvés positifs avec le panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI sur 93 testés (taux de positivité global de 66,7 %).

Le panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI a rapporté des détections multiples dans 21 échantillons. Cela représente 33,8 % des échantillons positifs (21/62) et 22,5% de l'ensemble des échantillons (21/93). La majorité des coinfections contenait 2 pathogènes.

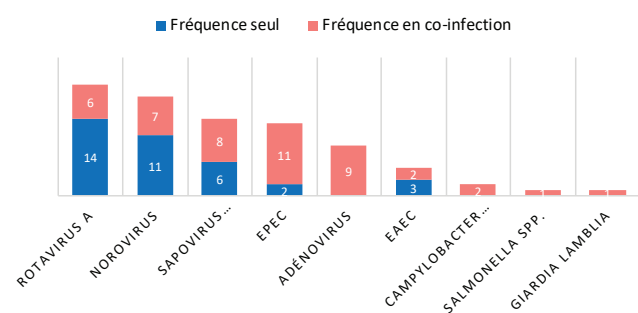
En techniques conventionnelles, réalisées selon prescriptions médicales, le taux global de positifs a été de 24,7 % seulement contre 66,7 % (hors *Clostridium difficile*) avec le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Tous les pathogènes détectés en méthodes conventionnelles ont été également détectés

Figure 3. Pathogènes détectés par FILMARRAY® GI du 01/12/17 au 15/01/18



Pathogènes pos en FA, non recherchés par nos techniques conventionnelles

Figure 4. Pathogènes détectés en coinfection.



par le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Aucune coinfection n’a été détectée en techniques conventionnelles alors que le taux de co-infections a été de 22,5 % (21/93) avec le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI.

Analyse des résultats discordants FILMARRAY® versus techniques conventionnelles et confirmation des pathogènes non recherchés

Nous avons vérifié les résultats rendus positifs avec BIOFIRE® FILMARRAY® GI dans 36 échantillons par les

techniques moléculaires indépendantes (PCR, séquençage). Des selles conservées à -80°C (pendant 3 à 4 mois) ou des aliquots en milieu de transport (Fecalswab®) à +4°C (pendant 3 à 4 mois) ont été analysés. Sept paramètres ont été ré-testés, soit pour cause de résultats discordants BIOFIRE® FILMARRAY® GI positifs/techniques conventionnelles négatifs (3 Norovirus, 3 Rotavirus, 8 Adénovirus, 2 Campylobacter), soit pour confirmer les résultats du test BIOFIRE® FILMARRAY® GI lorsque les paramètres n’avaient pas été recherchés par les techniques conventionnelles (14 Sapovirus, 5 EAEC, 12 EPEC). La majorité des résultats du test BIOFIRE® FILMARRAY® GI ont été confirmés (Tableau 2).

Phase 2 : évaluation de l’impact clinique du panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI

Pendant la période du 1^{er} au 30 mars 2018, nous avons remplacé les techniques conventionnelles par le panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI. Nous avons analysé 89 échantillons de selles. La moyenne d’âge des enfants était de 2,6 ans (de 10 jours à 15 ans), 71,9% d’entre eux ayant moins de 3 ans. Nous avons évalué l’impact clinique du panel GI via un questionnaire mis en place dans le service de pédiatrie pour tout examen de selles

Tableau 2. Analyse des discordants BIOFIRE® FILMARRAY® GI positifs versus méthodes conventionnelles négatifs ou non analysés. Confirmation des résultats FILMARRAY® GI positifs par techniques moléculaires indépendantes (PCR, séquençage).

RESULTATS	Sapovirus	Norovirus	Rotavirus	Adenovirus	Campylobacter	EAEC	EPEC
N° de tests confirmés	8 /14*	3/3	0/3*	8/8	2/2	5/5	12/12

*Les échantillons non-confirmés : la discordance peut être expliquée par une dégradation de l’ARN suite au long stockage de l’échantillon (hors Fiche Technique) et parfois la faible charge virale proche de la limite de détection de l’essai de comparaison.

prescrit. Les pédiatres remplissaient ce questionnaire lors de la réception du résultat. Il leur était demandé s'ils avaient reçu les résultats du test avant la sortie du patient, si le résultat avait eu un impact sur le diagnostic clinique, sur les précautions complémentaires mises en place, sur l'orientation du patient, sur l'instauration d'un traitement infectieux, etc.

Le taux global d'échantillons positifs en FILMARRAY® a été de 88,7 % (79/89) et le taux de coinfections de 23,6 % (21/89). Nous étions en période de gastro-entérite aiguë, ce qui explique une large majorité de Rotavirus détectés dans 76,40 % (68/89) des échantillons.

Nous avons comparé les délais de rendu de résultats entre la phase 1 et 2 de l'étude. Le délai médian des coprocultures est de 59h58 (phase 1), le délai des tests immunochromatographiques pour les virus est de 2h40 (phase 1), versus 6h45 pour le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI (du prélèvement au rendu de résultats ; phase 2). Précisons que le laboratoire fonctionne 7 jours/7 mais pas 24h/24, et que le personnel technique est habilité à rendre les résultats des recherches de virus dans les selles.

Nous avons ensuite analysé le nombre d'enfants sortis de l'hôpital avec les résultats complets, soit 45,9 % lorsqu'ils étaient obtenus par les méthodes conventionnelles et 92,5 % avec le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI.

En termes d'impact sur le diagnostic clinique, les réponses à notre questionnaire ont montré que dans 84 % des cas (72/86), le résultat a permis de faire un diagnostic de certitude, dans 8 % des cas de modifier le diagnostic (7/86) et l'absence d'impact n'a été relevé que dans 8 % des cas (7/86). Dans 16,2 % des cas (14/86), les résultats du test BIOFIRE® FILMARRAY® GI étaient inattendus, incluant des pathogènes non suspectés (*Campylobacter spp.* ou *Giardia*), un résultat négatif chez un patient suspect de gastro-entérite aiguë ou un résultat positif chez un patient non suspecté de gastro-entérite aiguë. Un traitement anti-infectieux a été instauré pour 4,6 % des patients (2 infections à *Campylobacter*, 1 *Giardia* et 1 *E.coli* enteroaggrégatif). Durant cette phase, la détection des *E.coli* diarrhégeniques en association avec un virus n'a pas conduit à l'instauration d'un traitement.

Nous avons enfin analysé l'impact des résultats FILMARRAY® sur l'adaptation des mesures d'hygiène. Pour les 10 résultats rendus négatifs sur les 89 échantillons testés avec BIOFIRE® FILMARRAY® GI, des précautions complémentaires avaient été instaurées dans 2 cas, la levée d'isolement a été effective pour un seul cas. Parmi les 79 cas positifs, 39 avaient le questionnaire renseigné de manière à pouvoir analyser l'impact sur les précautions d'hygiène. Dans ces 39 patients, les résultats FILMARRAY® ont permis une mise en place de précautions complémentaires contact dans 3 cas et le maintien des précautions déjà en place dans 24 cas.

Conclusion

Le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI est plus performant que les techniques conventionnelles dans le diagnostic des gastro-entérites aiguës. Il améliore le taux de positivité et le taux de détection des coinfections, fréquentes chez les enfants de moins de 5 ans.

Ce test a permis de détecter les pathogènes non suspectés (Sapovirus, Astrovirus, EPEC, EAEC) ou non recherchés systématiquement en pratique courante (Norovirus, *Giardia*). Les pathogènes les plus fréquemment rencontrés durant la phase 2 de notre étude ont été les Rotavirus, Norovirus, Adénovirus, Sapovirus, EPEC, EAEC.

Pour le laboratoire, le panel BIOFIRE® FILMARRAY® GI est un véritable saut technologique. Le processus est simplifié en 1 seule étape contre 31 avec les méthodes conventionnelles. Une seule analyse permet la détection rapide (en 1h) d'une diversité de pathogènes. Le panel est bien adapté au diagnostic de gastro-entérite aiguë en pédiatrie (hors recherche de *Clostridium difficile* toxigène chez les enfants en bas âge).

En ce qui concerne l'impact clinique, le délai de rendu des résultats est nettement diminué par rapport à celui d'une coproculture. La proportion d'enfants sortant de l'hôpital avec un résultat définitif est nettement améliorée, plus de 90 %. Grâce au FILMARRAY®, nous avons pu instaurer le traitement anti-infectieux ciblé et adapter les précautions complémentaires contact.

Il ne faut toutefois pas oublier qu'il s'agit d'une technique génotypique qualitative, qui ne nous donne pas d'information sur la viabilité du pathogène.

Le taux de détection des *E.coli* diarrhégeniques est un peu surprenant. Quelle est leur signification clinique ? Le plus souvent détectées en coinfections, elles sont fréquentes chez les enfants de moins de 5 ans.

L'approche syndromique est un outil diagnostique performant. Il doit s'accompagner d'une adaptation du laboratoire et d'une prescription ciblée. Nous avons décidé de réserver le test BIOFIRE® FILMARRAY® GI aux enfants présentant des symptômes de diarrhée invasive ou atypique, ou des signes cliniques de sévérité, nécessitant un diagnostic rapide. ■

REMERCIEMENTS

- Dr Anne Martinet Chef de service de pédiatrie CH Béthune
- Antoine Hilmoine : interne en biologie
- Biologistes et techniciens du secteur microbiologie du laboratoire de biologie médicale du CH Béthune
- Mme Martina Hnatova (Chef de marché BIOFIRE®, BIOMERIEUX)
- M. Cédric Delaire (consultant BIOMERIEUX certifié Lean)
- Équipe R&D Grenoble (BIOMERIEUX) : Isabelle Sothier, Pauline Pinel, Coralie Mousset, Stéphane Magro (pour analyse des discordants)



- Contact : Martina Hnatova
BIOMERIEUX France – Chef de Marché BIOFIRE
5 rue des Aqueducs – BP 10 – 69 290 Craponne
martina.hnatova@biomerieux.com