

Approche syndromique multiplexe en réanimation

Multiplex PCR syndromic testing in intensive care units

B. Visseaux · L. Armand-Lefèvre

Reçu le 26 février 2019 ; accepté le 26 mai 2019
© SRLF et Lavoisier SAS 2019

Résumé Le développement récent des nouveaux tests de diagnostic rapide par PCR multiplexe à visée syndromique, capables de détecter plusieurs dizaines de pathogènes en quelques heures, a entraîné un changement de paradigme en microbiologie et en pratique clinique. Plusieurs d'entre eux, comme les panels pour détecter les germes en cause dans les bactériémies, les infections respiratoires hautes ou basses et les méningoencéphalites, sont déjà disponibles et peuvent apporter une aide dans le diagnostic des infections chez les patients de réanimation. Bien que ces nouvelles techniques présentent des avantages évidents pour le dénombrement de micro-organismes et parfois pour la détection simultanée de gènes de résistance, pour les délais d'exécution et de rendus de résultats, elles présentent cependant certains défis, comme l'évaluation de leurs performances réelles, leur coût très élevé, le choix des stratégies d'utilisation et l'interprétation clinicobiologique des résultats. Dans cet article, nous avons passé en revue les différents tests qui peuvent ou pourront aider les réanimateurs dans leur pratique quotidienne, relevé leurs limites et leur impact bénéfique potentiel sur le soin des patients.

Mots clés PCR · Multiplex · Syndromique · Diagnostic rapide · Réanimation

Abstract The recent development of multiplex PCR syndromic assays, able to detect dozens of pathogens within a few hours, has led to a paradigm shift in microbiology and clinical

practice. Several of them, such as the panels detecting pathogens responsible for bacteremia, high or low respiratory infections or meningoencephalitis, are already available and can be used to help in the diagnosis of infections among intensive care units patients. Although these new techniques have obvious advantages such as the high number of microorganisms simultaneously tested, detection of resistance genes, and very short delay of results, they also present strong challenges, such as their exact performance assessment, their high cost, the best strategies of use and sometimes complex interpretation of the results. In this article, we review the different panels of syndromic assays currently available that can or will help ICU physicians in their daily practice. We will highlight both their limitations and their potential beneficial impacts on patient care.

Keywords Multiplex · Syndromic · Rapid diagnosis · Intensive care unit

Introduction

La microbiologie clinique a connu d'importants changements au cours de la dernière décennie, notamment grâce à l'arrivée de nouvelles technologies qui ont et vont améliorer le diagnostic des maladies infectieuses. Ces innovations comprennent des méthodes moléculaires commerciales qui détectent et identifient de façon simultanée un grand nombre d'agents pathogènes, de virus, de bactéries et de champignons, associés à des syndromes cliniques : les PCR multiplexes à visée syndromique. Ces tests multiplex sont révolutionnaires, car ils permettent aux cliniciens de diagnostiquer certaines infections plus rapidement et, par conséquent, de prendre des décisions cliniques (hospitalisation, mise en isolement d'un patient, mise en route ou non d'un traitement antibiotique et le cas échéant par quelle antibiothérapie...) de façon beaucoup plus rapide. En effet, le diagnostic classique des infections bactériennes ou fongiques nécessite un délai minimum de 24 heures après la mise en culture du

L. Armand-Lefèvre (✉)
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat Claude Bernard,
HUPNVS, AP-HP, 46 rue Henri Huchard,
F-75877 Paris cedex 18, France
e-mail : laurence.armand@aphp.fr

B. Visseaux
Laboratoire de Virologie, Hôpital Bichat Claude Bernard,
HUPNVS, AP-HP, 46 rue Henri Huchard,
F-75877 Paris cedex 18, France

B. Visseaux · L. Armand-Lefèvre
Paris University, IAME, Inserm, Paris, France

prélèvement pour connaître les espèces bactériennes ou fongiques présentes dans le prélèvement et un minimum de 24 heures supplémentaires pour avoir le résultat des tests de sensibilité aux antimicrobiens. Le diagnostic virologique classique, quant à lui, est souvent contraint à des techniques de biologie moléculaire longues (quatre à six heures) imposant de travailler en série et de ne rendre la plupart des résultats au mieux le lendemain après-midi de la réception du prélèvement.

Ces nouvelles techniques de diagnostic rapide présentent une véritable innovation aussi bien pour ce qui est des délais d'exécution avec des systèmes « clés en main » et des durées de manipulation variant de trois à dix minutes que pour les délais de rendus de résultats avec des tests permettant un accès aux résultats en une heure pour les plus rapides. Mais ces technologies présentent également différentes difficultés. Ces tests sont souvent très coûteux, et une réflexion doit être menée pour guider leur utilisation de façon appropriée et utile dans le soin des patients. L'interprétation des résultats de ces tests est complexe et nécessite un dialogue clinico-biologique ainsi qu'une réflexion sur les conduites à tenir pour maximiser leur impact clinique.

Dans cet article, nous passerons en revue les principaux tests disponibles en France et pouvant apporter un bénéfice chez les patients hospitalisés dans les services de réanimation. Il s'agit des panels détectant la présence de micro-organismes pathogènes associés à des syndromes cliniques comme les bactériémies (panels « hémocultures »), les infections respiratoires hautes et basses (panels « nasopharyngés » et « pneumonies ») et les infections du système nerveux central (panels « méningites et méningoencéphalites »). La lecture de cet article ne doit pas faire oublier que ce champ diagnostique est en constante évolution et que nous apprenons encore à ce jour à utiliser ces nouveaux outils.

Panels « hémocultures »

Les bactériémies sévères et sepsis sont parmi les principales causes de mortalité chez les patients hospitalisés dans les services de réanimation [1]. Chez les patients en état de choc septique, un retard dans l'administration d'un traitement antibiotique efficace est associé à des taux de mortalité accrus [2]. Les recommandations internationales sur la prise en charge du sepsis et du choc septique conseillent d'initier un traitement antimicrobien au plus vite, idéalement dans la première heure suivant le diagnostic de sepsis ou choc septique [3]. Mais devant l'augmentation des résistances bactériennes, l'adéquation de l'antibiothérapie probabiliste est de plus en plus compromise et justifie la mise en place de tests de diagnostics rapides. Deux approches ont été développées par les industriels pour accélérer le

diagnostic d'une bactériémie. La première approche consiste à rechercher la présence de germes directement sur sang total, dès le prélèvement. Cette approche est, d'un point de vue théorique, idéale puisqu'elle permet de faire le diagnostic de bactériémie, au plus tôt, en s'affranchissant du délai d'incubation (au minimum de huit heures) des hémocultures dans les automates. Plusieurs tests ont été développés selon cette approche, parmi lesquels SeptiFast Test MGRADE[®] (Roche Diagnostic), IRIDICA BAC BSI (Abbott) et Sepsitest[™]-UMD (Molzym), seul ce dernier est commercialisé pour usage diagnostique en Europe (marquage CE IVD). Malheureusement, cette approche a vite été confrontée à des problèmes de sensibilité devant le faible inoculum bactérien présent dans le sang au cours des bactériémies. Une méta-analyse portant sur 62 articles montrait une sensibilité moyenne de 48 % [IC 95 % : 21–74], 65 % [60–71] et 81 % [69–90] respectivement pour Sepsitest[™], SeptiFast et IRIDICA et des spécificités variant de 84 à 86 % [4]. De plus, à l'instar des kits que nous détaillerons dans la suite de cet article, ces panels ne sont pas « clés en main », mais nécessitent un temps technique conséquent aboutissant à des délais de rendu de résultats de l'ordre de six à sept heures. Cette approche semble être plus intéressante pour les patients en sepsis sévère chez qui elle augmente le nombre de diagnostics de septicémie et diminue le temps de rendu de résultat [5]. À ce jour, la stratégie marketing des industriels ne semble pas aller vers une poursuite du développement et de l'amélioration de ces outils. La seconde approche consiste à identifier à l'aide de PCR la présence de germes et de quelques gènes de résistance à partir d'une hémoculture positive. Il existe à ce jour quatre panels qui répondent à cette approche, les kits FilmArray[®] BCID (Biofire[®], bioMérieux), Verigene[®] BC-GP/GN (Luminex), ePlex[®] BCID (Genmark) et Unyvero[®] BCU (Curetis). La composition des panels varie légèrement d'un fabricant à un autre. Certains industriels ont fait le choix de regrouper l'ensemble des germes au sein d'un même panel, c'est le cas de FilmArray[®] BCID et de Unyvero[®] BCU ou de séparer les tests en différents panels, c'est le cas de Verigene[®] qui possède un panel Gram positif (Verigene[®] BC-GP) et un Gram négatif (Verigene[®] GN-GP) ou de ePlex[®] qui possède trois panels, un Gram positif BDID-GP, un Gram négatif BCID-GN et des levures et champignons BCID-FP (Tableau 1). Les performances analytiques de ces kits sont bonnes pour détecter les bactéries ciblées dans le panel. Globalement, les sensibilités varient de 94 à 100 % et les spécificités de 97 à 100 % et sont assez proches d'un panel à un autre [6–8]. Pour la détection de levures, la sensibilité semble moindre, pouvant descendre à 76 % [7]. Concernant la détection des gènes de résistance, les performances sont également très bonnes, bien que dans chacune des études la prévalence de bactéries multirésistantes reste faible [7,9].

Tableau 1 Composition et caractéristiques des principaux panels syndromiques destinés à l'exploration des sepsis				
	FilmArray® BCID	ePlex® BCID	Verigene® BC	Unyvero® BCU
Nombre de cibles	27	57	22	50
Délai de PCR (h)	~1	~1,5	~2,5	~4-5
Bactéries à Gram positif				
<i>Staphylococcus spp.</i>		X	X	
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	X	X
Staphylocoque à coagulase négative				X
<i>Staphylococcus epidermidis</i>		X	X	
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>		X	X	
<i>Micrococcus spp.</i>		X		
<i>Streptococcus spp.</i>		X	X	X
<i>Streptococcus agalactiae</i>	X	X	X	X
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	X	X	X	X
<i>Streptococcus pyogenes</i>	X	X	X	
<i>Streptococcus pyogenes/dysgalactiae</i>				X
<i>Streptococcus anginosus group</i>		X	X	
<i>Enterococcus spp.</i>	X			X
<i>Enterococcus faecalis</i>		X	X	X
<i>Enterococcus faecium</i>		X	X	
<i>Listeria spp.</i>		X	X	
<i>Listeria monocytogenes</i>	X	X		X
<i>Corynebacterium spp.</i>		X		X
<i>Propionibacterium acnes</i>		X		X
<i>Bacillus cereus group</i>		X		
<i>Bacillus subtilis group</i>		X		
<i>Lactobacillus</i>				X
Bactéries à Gram négatif				
<i>Citrobacter spp.</i>		X	X	
<i>Citrobacter freundii/koseri</i>				X
<i>Escherichia coli</i>	X	X	X	X
<i>Enterobacter spp.</i>		X	X	
<i>Enterobacter cloacae complex</i>	X	X		X
<i>Cronobacter sakazakii</i>		X		
<i>Enterobacter aerogenes</i>				X
<i>Klebsiella oxytoca</i>	X	X	X	X
<i>Klebsiella pneumoniae group</i>	X	X	X	X
<i>Klebsiella variicola</i>				X
<i>Morganella morganii</i>		X		
<i>Proteus spp.</i>	X	X	X	X
<i>Proteus mirabilis</i>		X		
<i>Serratia spp.</i>		X		
<i>Serratia marcescens</i>	X	X	X	X
Salmonella		X		
<i>Acinetobacter spp.</i>			X	
<i>Acinetobacter baumannii complex</i>	X	X		X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X	X
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		X		X
<i>Haemophilus influenzae</i>	X	X		X

(Suite page suivante)

Tableau 1 (suite)				
	FilmArray® BCID	ePlex® BCID	Verigene® BC	Unyvero® BCU
<i>Bacteroides fragilis</i>		X		
<i>Fusobacterium nucleatum</i>		X		
<i>Fusobacterium necrophorum</i>		X		
<i>Neisseria meningitidis</i>	X	X		X
Levures/champignons				
<i>Candida spp.</i>				X
<i>Candida albicans</i>	X	X		X
<i>Candida auris</i>		X		
<i>Candida dubliniensis</i>		X		X
<i>Candida famata</i>		X		
<i>Candida glabrata</i>	X	X		X
<i>Candida guilliermondii</i>		X		
<i>Candida kefyr</i>		X		
<i>Candida krusei</i>	X	X		X
<i>Candida lusitanae</i>		X		
<i>Candida parapsilosis</i>	X	X		X
<i>Candida tropicalis</i>	X	X		X
<i>Cryptococcus gattii</i>		X		
<i>Cryptococcus neoformans</i>		X		
<i>Fusarium</i>		X		
<i>Rhodotorula</i>		X		
<i>Aspergillus spp.</i>				X
Mycobactérie				
<i>Mycobacterium spp.</i>				X
Gènes de résistance				
Résistance aux aminosides				
<i>aac(6')/aph(2'')</i>				X
<i>aacA4</i>				X
Résistance aux macrolides				
<i>ermA</i>				X
Résistance à la méticilline				
<i>mecA</i>	X	X	X	X
<i>mecC</i>		X		X
Résistance aux macrolides				
<i>vanA</i>	X	X	X	X
<i>vanB</i>	X	X	X	X
BLSE				
<i>ctx-M</i>		X	X	X
Résistance aux macrolides				
<i>kpc</i>	X	X	X	X
<i>imp</i>		X	X	X
<i>ndm</i>		X	X	X
<i>oxa-48 like</i>		X	X	X
<i>vim</i>		X	X	X
<i>oxa-23</i>				X
<i>oxa-24/40</i>				X
<i>oxa-58</i>				X

Impact

Devant les coûts élevés de ces techniques, plusieurs équipes ont évalué leurs impacts clinique et économique. Unanimentement, ces études montrent une diminution des délais de rendu de l'identification et des délais de mise en route d'une antibiothérapie adéquate surtout lorsque les résultats sont communiqués et pris en compte rapidement [6]. La désescalade antibiotique est quant à elle idéalement accomplie lorsque les résultats sont accompagnés de conseils individualisés en antibiothérapie [10]. Cependant, les résultats sont moins probants en ce qui concerne l'impact sur les taux de mortalité ou la durée d'hospitalisation [6]. Parmi les études les plus importantes, Banerjee et al. [10] ont montré l'impact de la mise en place de la PCR multiplexe (FilmArray® BCID) seule et accompagnée de conseil en antibiothérapie (PCR + AS) chez 617 sujets présentant une bactériémie. Le délai entre la positivité de l'hémoculture et l'identification du micro-organisme était plus court dans le groupe PCR que dans le groupe témoin (1,3 vs 22,3 heures, $p < 0,001$). Une diminution de l'utilisation d'antibiotiques à large spectre comme la pipéracilline-tazobactam (témoin : 56 h, PCR : 44 h, PCR + AS : 45 h, $p = 0,01$) et une augmentation de l'utilisation d'antibiotiques à spectre étroit comme la céfazoline (témoin : 42 h ; PCR : 71 h ; PCR + AS : 85 h ; $p = 0,04$) étaient notées dans les groupes PCR. Le changement d'antibiothérapie pour une adéquation avait lieu plus tôt dans les deux groupes PCR (5 h dans le groupe PCR + AS, 6 h dans le groupe PCR contre 24 h dans le groupe témoin, $p < 0,01$). En revanche, le délai pour réaliser une désescalade de l'antibiothérapie n'était diminué qu'après intervention d'une équipe d'infectiologie (21 h dans le groupe PCR + AS contre 38 h dans le groupe PCR et 34 dans le groupe témoin, $p = 0,04$). Aucune différence n'a été observée entre les groupes sur la mortalité, la durée de séjour ou le coût [10]. Une méta-analyse visant à évaluer l'impact des tests de diagnostic rapide sur le pronostic des patients bactériémiques a repris 31 études regroupant 5 920 patients. Cette analyse a montré que l'utilisation d'un test de diagnostic rapide permettait de diminuer le délai de mise en route d'un traitement efficace en moyenne de cinq heures (IC 95 % : [8,6–1,5]) et la durée d'hospitalisation de 2,5 jours [3,9–1,1]. D'un point de vue global, le risque de mortalité était diminué chez les patients ayant bénéficié d'un test de diagnostic rapide (OR : 0,66 ; IC 95 % : [0,54–0,80]), mais cette diminution n'était retrouvée que chez les patients ayant bénéficié d'un test de diagnostic rapide accompagné de conseils en antibiothérapie [0,64 ; 0,51–0,79], et non chez ceux ayant bénéficié des tests seuls [0,72 ; 0,46–1,12]. Les auteurs de cette méta-analyse concluent que l'utilisation de ces tests devrait faire partie de l'offre standard de soin [11]. Un des enjeux majeurs actuels est la juste utilisation des antibiotiques à large spectre, comme les carbapénèmes, largement prescrits en probabiliste malgré la relative faible prévalence des bactéries

à bactéries multirésistantes. Trois des quatre panels détectent aujourd'hui le gène *ctx-m*, responsable de la synthèse de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) [une seconde version du FilmArray®, détectant ce gène est en cours de validation], et leur utilisation permettrait également de limiter la durée de prescription des carbapénèmes en probabiliste.

Cependant, certains pays ont déjà mis en place des circuits courts avec des méthodes déjà disponibles et moins coûteuses. Ainsi, dans les années 1980, l'introduction des automates à hémoculture a révolutionné le diagnostic des bactériémies, et certains pays comme la France ont d'emblée mis en place la réalisation de l'antibiogramme directement à partir des flacons d'hémocultures positifs sans culture intermédiaire, permettant de gagner jusqu'à 24 heures sur le rendu de la sensibilité aux antibiotiques. Mais les sociétés savantes américaines et européennes recommandent toujours de passer par une étape intermédiaire de culture avant de réaliser l'antibiogramme. Dans les années 2010, la démocratisation de la spectrométrie de masse a permis d'accélérer encore le rendu des identifications bactériennes par la réalisation des identifications directement à partir des flacons d'hémocultures [12,13] ou à partir de cultures dites « rapides » (trois à quatre heures après mise en culture) avec de bonnes performances dans les deux cas [14]. Un grand nombre de laboratoires ont mis en place ces dernières techniques permettant de réaliser l'identification des hémocultures à bacilles à Gram négatif et d'y ajouter les recherches de résistance aux céphalosporines de troisième génération par le biais de tests phénotypiques rapides comme le β -LACTA™ test (Biorad), par exemple, et ce, sans augmentation importante des coûts [14]. De la même façon, pour les hémocultures à cocci à Gram positif en amas, l'utilisation d'une PCR recherchant la présence de *S. aureus* et du gène *mec* codant la résistance à la méticilline [15] ou la réalisation de l'identification bactérienne sur culture rapide associée à la recherche de la PLP2a, produit du gène *mec*, par immunochromatographie permet de répondre aux demandes des cliniciens pour un coût bien inférieur à celui des PCR multiplexes [16]. Dans ce contexte et devant les coûts élevés des tests syndromiques sur les hémocultures positives, leur place est difficile à trouver en France. À ce jour, aucune étude d'impact comparant ces nouveaux tests de diagnostic rapide aux organisations optimisées actuellement mises en place dans nos laboratoires n'a été réalisée. Nous pensons que seule une diminution du coût de ces tests permettra leur implémentation en routine sur les patients les plus graves, voire de façon systématique sur toutes les hémocultures positives.

Panels « infections respiratoires hautes »

Les tout premiers panels qui ont été développés par les laboratoires industriels s'adressaient au dépistage des virus

respiratoires à partir de prélèvements nasopharyngés. Les infections respiratoires hautes (rhinopharyngite, angine, sinusite aiguë et otite moyenne aiguë) ou basses (bronchites aiguës, exacerbations de bronchopneumopathie chronique obstructive) et les pneumonies aiguës (communautaires — PAC — ou nosocomiales — PAN) représentent un motif fréquent de consultation en médecine générale et aux urgences. Des données issues de l'Observatoire de la médecine générale rapportent, pour les infections respiratoires basses, plus de quatre millions de motifs de consultation de médecine générale par an, dont 90 % de bronchites et 10 % de pneumonies [17,18].

De nombreux panels ont été développés pour ces syndromes. Parmi ceux développés en méthodes rapides (< 2 h), on distingue la trousse FilmArray® RP2+ (BioFire®, bioMérieux), ePlex® RP (GenMark Dx) ou encore le DiagCORE® RP2 (STAT-Dx, Qiagen®). Ces différents panels permettent le dépistage de la quasi-totalité des virus respiratoires et de quelques bactéries atypiques (Tableau 2). Il existe aussi d'autres panels de conception plus classique et moins coûteux mais présentant des délais de rendu plus long, 24 heures ouvrées après réception au laboratoire. On peut ainsi citer les panels Anyplex® (Seegene) ou Respifinder® (Pathofinder). Les performances de tous ces tests sont très bonnes avec des sensibilités et spécificités très élevées [19–23]. Comparées point à point avec les PCR de référence-correspondant à chacune des cibles, les sensibilités sont comprises entre 80 et 100 % pour la quasi-totalité des cibles virales, mais parfois de seulement 50 % pour certaines cibles bactériennes, principalement *Bordetella pertussis* qui doit toujours être recherchée par des techniques spécifiques en cas de forte suspicion. Les spécificités sont toutes très proches de 100 % [24,25]. Les techniques multiplexes comparées entre elles montrent d'excellentes concordances, même si chacune peut présenter des sensibilités légèrement différentes en fonction des cibles [20,21,25]. Le panel DiagCORE® RP2 est le premier à permettre une introduction directe de l'écouvillon dans la cartouche contenant les réactifs, rendant cette technologie parfaitement compatible avec une utilisation en biologie délocalisée. Ce panel est aussi le premier panel rapide à proposer le rendu d'un résultat virologique semi-quantitatif, et non plus strictement qualitatif. L'intérêt de cette quantification reste cependant à démontrer pour les virus respiratoires à l'exception d'un suivi des traitements par l'oséltamivir en cas d'infection à virus influenza pour rechercher d'éventuelles résistances.

Impact

Bien que développés initialement pour diagnostiquer des infections virales respiratoires hautes, ces panels ont aussi été largement utilisés pour rechercher la présence de virus dans des prélèvements respiratoires profonds comme les

aspirations bronchiques, les prélèvements distaux protégés et les liquides bronchoalvéolaires. Depuis l'émergence de ces tests, la prévalence importante des virus respiratoires influenza mais également non influenza, dans les infections respiratoires hautes et basses, est rapportée dans un nombre croissant d'études. Aucun signe clinique ne permet de distinguer les syndromes grippaux causés par les différents virus respiratoires, et seule la moitié des patients présentant un syndrome grippal pendant les épidémies hivernales est porteur de virus influenza [26,27]. En effet, la circulation des virus respiratoires non influenza s'étale sur la totalité de la période hivernale, entre novembre et avril, et se superpose avec les épidémies de virus influenza (Fig. 1). Chez les 1 452 patients de l'étude Fluvac hospitalisés pour un syndrome grippal, respectivement 39 et 15 % des patients étaient porteurs de virus influenza ou de virus respiratoires non influenza [28]. Dans les tableaux de pneumonies aiguës communautaires observées dans l'étude française PACS-CAN (pneumonie aiguë communautaire aux urgences), 11 et 17 % des patients présentaient respectivement un virus influenza ou un autre virus respiratoire dans leurs sécrétions nasopharyngées [29]. Les virus respiratoires sont aussi fréquemment identifiés dans les pneumonies nosocomiales en réanimation. Ainsi, dans une étude rétrospective française, 30 % des pneumonies nosocomiales présentaient un virus respiratoire, dont seules 27 % étaient dues à des virus influenza [30]. Si la pathogénicité des virus influenza est bien reconnue, les autres virus respiratoires ont longtemps été considérés comme ayant un pouvoir pathogène faible ou négligeable et comme pouvant être fréquemment retrouvés chez des personnes non symptomatiques. Si on peut en effet identifier un virus respiratoire chez 20 à 30 % des enfants asymptomatiques [31–33], cette observation n'est cependant par retrouvée chez les adultes. Ainsi, dans une récente étude américaine de grande ampleur menée en période hivernale, un virus respiratoire n'était retrouvé que chez 2 % des 238 adultes asymptomatiques contre 23 % des 2 320 patients présentant des signes radiographiques de pneumonie [34]. Plusieurs études récentes ont retrouvé parmi les personnels soignants des hôpitaux, asymptomatiques, très fortement exposés aux virus respiratoires, un portage de virus respiratoire chez 3 à 10 % d'entre eux en période hivernale [35,36]. Dans une étude sud-coréenne menée en réanimation médicale et portant sur les pneumonies aiguës communautaires, les patients présentant un virus respiratoire avaient une mortalité de 26 %, similaire à celle observée dans le cas des infections bactériennes [37]. Dans une étude française menée en réanimation médicale, les virus respiratoires étaient retrouvés dans 57 % des pneumonies aiguës communautaires associées ou non à une bactérie. Les patients avec une co-infection bactériovirale avaient plus fréquemment une pneumonie sévère (69 %) que ceux ayant une infection bactérienne seule (39 %), soulignant ainsi un

Tableau 2 Composition et caractéristiques des principaux panels syndromiques destinés à l'exploration des infections respiratoires. Seuls les panels rapides, développés pour fonctionner au coup par coup et non en série analytique, sont présentés ici					
	FilmArray® RP2+	ePlex® RP	DiagCORE® RP2	FilmArray® Pneumonia+	Unyvero® HPN
Nombre de cibles	22	17	22	33	36
Délai de PCR	45 min	~1 h	~1 h	~1 h	4–5 h
Type de détection	Qualitative	Qualitative	Semi-quantitative (Ct)	Semi-quantitative (+ à +++)	Quantitative (10 ² à 10 ⁷)
Pathogènes recherchés :					
Virus					
Adénovirus	X	X	X	X	
Coronavirus		X		X	
Coronavirus HKU1	X		X		
Coronavirus NL63	X		X		
Coronavirus 229E	X		X		
Coronavirus OC43	X		X		
<i>Human bocavirus</i>			X		
<i>Human metapneumovirus</i>	X	X	X	X	
Influenza A virus	X	X	X	X	
Subtype H1	X	X	X		
Subtype H3	X	X	X		
Subtype 2009 H1N1	X	X	X		
Influenza B virus	X	X	X	X	
Virus parainfluenza				X	
Virus parainfluenza 1	X	X	X		
Virus parainfluenza 2	X	X	X		
Virus parainfluenza 3	X	X	X		
Virus parainfluenza 4	X	X	X		
<i>Respiratory syncytial virus</i>	X		X	X	
<i>Respiratory syncytial virus A</i>		X			
<i>Respiratory syncytial virus B</i>		X			
Rhinovirus/entérovirus	X	X	X	X	
MERS-CoV	X			X	
Bactérie					
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	X	X	X	X	X
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	X	X	X	X	X
<i>Bordetella pertussis</i>	X		X		
<i>Bordetella parapertussis</i>	X				
<i>Bordetella bronchiseptica</i>					
<i>Legionella pneumophila</i>			X	X	X
<i>Acinetobacter calcoaceticus- baumannii</i>				X	X
<i>Citrobacter freundii</i>					X
<i>Enterobacter cloacae</i>				X	X
<i>Escherichia coli</i>				X	X
<i>Haemophilus influenzae</i>				X	X
<i>Klebsiella aerogenes</i>				X	X
<i>Klebsiella oxytoca</i>				X	X
<i>Klebsiella pneumoniae</i>				X	X
<i>Moraxella catarrhalis</i>				X	X

(Suite page suivante)

Tableau 2 (suite)					
	FilmArray® RP2+	ePlex® RP	DiagCORE® RP2	FilmArray® Pneumonia+	Unyvero® HPN
<i>Morganella morganii</i>					X
<i>Proteus spp.</i>				X	X
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				X	X
<i>Serratia marcescens</i>				X	X
<i>Staphylococcus aureus</i>				X	X
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>					X
<i>Streptococcus agalactiae</i>				X	
<i>Streptococcus pneumoniae</i>				X	X
<i>Streptococcus pyogenes</i>				X	
Autre agent étiologique					
<i>Pneumocystis jirovecii</i>					X
Gènes de résistance					
Résistance aux macrolides					
<i>ermB</i>					X
Résistance aux macrolides					
<i>mecA</i>				X	X
<i>mecC</i>				X	X
Résistance aux macrolides					
<i>tem</i>					X
<i>shv</i>					X
BLSE					
<i>ctx-M</i>				X	X
Résistance aux macrolides					
<i>imp</i>					X
<i>kpc</i>				X	X
<i>ndm</i>				X	X
<i>oxa 48</i>				X	X
<i>vim</i>				X	X
<i>oxa 23</i>					X
<i>oxa 24/40</i>					X
<i>oxa 58</i>					X
Résistance aux macrolides					
<i>gyrA83</i> et <i>gyrA87</i>					X

pouvoir pathogène aggravant des virus respiratoires dans les pneumonies bactériennes [38].

Si le pouvoir pathogène des virus respiratoires non influenza est donc de plus en plus souligné dans la littérature, leur détection ne permet pas la mise en place de traitement spécifique aujourd'hui, en dehors des pneumonies graves à VRS ou des populations immunodéprimées pour lesquelles un traitement par ribavirine peut se discuter malgré des niveaux de preuves faibles. Néanmoins, elle peut impacter de façon bénéfique le patient et la communauté. Ainsi, plusieurs études observent, après la mise en place des PCR multiplexes, une diminution de la durée des antibiothérapies, plus fréquemment arrêtées à 48 heures, une diminution du nombre d'examen complémentaires et une diminution de la

durée de séjour [39–41]. Une récente étude prospective utilisant ces tests en biologie délocalisée aux urgences a quantifié la diminution de la durée de séjour à une journée dans le groupe bénéficiant de la PCR multiplexe, laissant envisager une balance coût/efficacité bénéfique [42]. Dans cette dernière étude, il est important de noter que si la proportion d'antibiothérapie courte (< 48 h) a été plus importante dans le groupe bénéficiant de la PCR multiplexe ; en revanche, la proportion de patients ayant reçu une première dose d'antibiotique était la même dans les deux groupes. L'apport concret de cette approche sur l'épargne antibiotique reste donc à démontrer et nécessitera un apprentissage et un ciblage multifactoriels des patients pour lesquels l'antibiothérapie pourrait ne pas être initiée. Cette étude a aussi

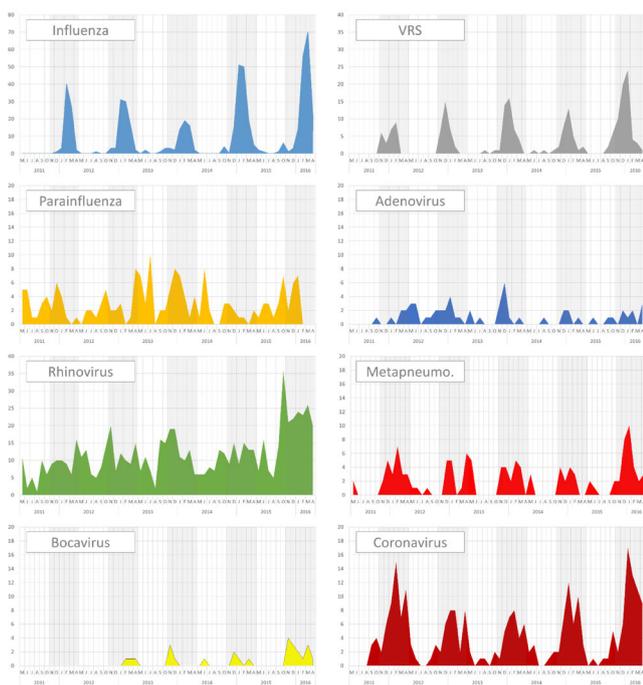


Fig. 1 Distribution temporelle des virus respiratoires identifiés chez l'adulte. En abscisse est indiquée la période temporelle (mois et année) tandis que le nombre de virus identifiés est indiqué en ordonnée, l'échelle varie en fonction des groupes viraux. Les périodes hivernales (de novembre à avril) sont indiquées par les zones grisées. Données obtenues sur l'ensemble du groupe des hôpitaux universitaires Paris Nord Val de Seine de mai 2011 à avril 2016 [27]

souligné l'importance d'un délai de rendu très rapide pour maximiser l'ensemble de ces impacts [43]. D'autres études sont cependant encore nécessaires aujourd'hui pour confirmer ces aspects.

Panels « infections respiratoires basses » ou « pneumonies »

Les pneumonies acquises à l'hôpital représentent la deuxième cause d'infection nosocomiale après les infections urinaires et sont associées à une morbidité importante, notamment pour celles requérant l'admission en réanimation [44]. Si l'étiologie bactérienne est clairement prédominante [45], comme nous venons de le voir, le rôle des virus respiratoires suscite un intérêt croissant [19] motivé par la disponibilité récente des outils de PCR multiplexe.

Les pneumopathies sévères, qu'elles soient communautaires ou nosocomiales, sont une cause importante d'admission en réanimation. Secondairement, les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont une des premières complications des patients intubés et ventilés.

Bien que guidée par les recommandations des sociétés savantes, la prise en charge des pneumopathies nosocomiales en réanimation reste compliquée, et il n'est pas toujours aisé de présager des agents responsables d'une pneumopathie nosocomiale et de mettre une antibiothérapie d'emblée adaptée sans qu'elle soit à trop large spectre.

Nous l'avons vu, de nombreux kits développés pour les prélèvements nasopharyngés et visant à rechercher les virus respiratoires hauts ont été utilisés sur des prélèvements respiratoires bas montrant la prévalence importante des virus dans les pneumonies en réanimation [30,37,38]. En revanche, les kits visant à rechercher les bactéries, avec ou sans les virus respiratoires, dans les pneumonies sont très récents. Deux kits recherchant les agents en cause dans les pneumonies communautaires et nosocomiales sont actuellement disponibles. Le panel Unyvero[®] HPN (Curetis) [mis sur le marché en 2017] recherche 21 bactéries de façon semi-quantitative et 15 gènes de résistance sur une durée d'environ cinq heures. Le panel FilmArray[®] Pneumonia+ (mis sur le marché en fin d'année 2018) recherche la présence de 18 bactéries de façon quantitative (10^2 à 10^8), sept gènes de résistance et les huit grandes familles de virus respiratoires en environ 1 h 30 (Tableau 2). En raison de leur développement plus récent, ces deux systèmes clés en main ont encore été peu évalués. Le panel Unyvero[®] HPN a été utilisé sur des prélèvements respiratoires profonds (lavages bronchoalvéolaires, aspirations trachéales, liquides pleuraux) de 79 enfants et nouveau-nés (âge moyen : 1,8 an) suspects de pneumopathies. Comparée à la culture quantitative classique, la sensibilité globale de la méthode était de 73 % et la spécificité de 98 %. La sensibilité était essentiellement abaissée en raison d'une mauvaise sensibilité sur les bactéries à Gram positif (46,2 %). Les gènes de résistance étaient concordants à l'antibiogramme dans 75 % des cas [46]. Une autre étude visant à évaluer ce même panel chez 95 prélèvements respiratoires de patients adultes présentant une pneumopathie sévère montrait une sensibilité globale de 88,8 % et une spécificité de 94,9 % [47]. Au sein du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Bichat, nous avons évalué le panel Unyvero[®] HPN sur 85 prélèvements respiratoires profonds provenant de patients hospitalisés en réanimation et atteints de pneumopathies sévères ou de PAVM. La sensibilité analytique globale était de 80 % (IC 95 % : 71–88) et la spécificité de 99 % (IC 95 % : 99–100). Plusieurs germes n'ont pas été détectés en raison de leur absence du panel, il s'agissait essentiellement d'*Hafnia alvei* (6/9) et de *Citrobacter koseri* (2/9) [données personnelles, ECCMID 2019]. À ce jour, une seule publication rapporte les performances du panel FilmArray[®] Pneumonia+, évaluées chez 117 patients de réanimation suspects de PAVM, et montre un pourcentage de concordance positive de 89,0 % et de concordance négative de 95,9 % [48]. L'évaluation de ce même panel que nous avons mené à l'hôpital Bichat, sur 60 échantillons dont

51 profonds (LBA ou PDP), cinq expectorations et quatre aspirations trachéales prélevées chez 59 patients suspects de pneumopathies sévères (nosocomiales et PAVM) et hospitalisés en réanimation montrait une sensibilité analytique globale du test de 95,7 % et une spécificité de 97,6 %. Sept germes n'ont pas été détectés car absents du panel, il s'agissait de trois *Morganella morganii*, deux *Stenotrophomonas maltophilia*, un *Hafnia alvei* et un *Citrobacter koseri*. Les cinq gènes CTX-M associés à la production de BLSE et un gène *mecA* ont bien été détectés par le test (*données personnelles, ECCMID 2019*).

Impact

Ces nouveaux kits de diagnostic des pneumopathies ont été très récemment mis sur le marché, et leur impact a encore été peu évalué. Concernant la mise en route des traitements antibiotiques, ces kits possèdent un double intérêt. D'un côté, ils permettent d'adapter au plus vite une antibiothérapie inadéquate grâce à la détection de certaines bactéries naturellement résistantes, comme *Pseudomonas aeruginosa* ou grâce à la détection de gènes de résistance comme le gène *ctx-m*, codant pour les BLSE. Et d'un autre côté, ils permettent de limiter la mise sous antibiothérapie probabiliste à large spectre d'un nombre important de patients et de diminuer ainsi la pression de sélection par des antibiotiques comme les carbapénèmes. Il est en effet difficile d'évaluer le risque de PAVM à Entérobactérie productrice de BLSE (E-BLSE) et bien que le fait d'être porteur d'E-BLSE soit considéré comme le principal facteur de risque associé à une PAVM à E-BLSE, seuls 5 à 20 % des porteurs développeront une PAVM à E-BLSE [49].

Une seule publication menée au Koweït chez 49 patients atteints de pneumopathies sévères ou de PAVM et hospitalisés en médecine ou en réanimation a évalué l'impact de tels tests sur la mise en route d'une antibiothérapie. Les auteurs ont montré que, chez 33 (67,3 %) patients, la PCR avait permis de modifier l'antibiothérapie initiale entre cinq et six heures après la réalisation du prélèvement [50]. Lors de notre évaluation du panel Unyvero® HPN chez les patients de réanimation atteints de pneumopathie sévère ou de PAVM, nous avons repris l'ensemble des dossiers cliniques et simulé avec une équipe de réanimateurs seniors quels changements d'antibiotiques auraient pu être faits au vu des résultats de la PCR multiplexe. L'analyse de 56 dossiers montrait que dans 71 % des cas une modification de l'antibiothérapie pouvait être réalisée dès la réception des résultats, il s'agissait dans 24 % des cas d'une adéquation ou d'une amélioration du traitement et dans 40 % des cas d'une désescalade ; cependant, dans 7 % des cas les résultats de la PCR auraient conduit à une antibiothérapie inadéquate ou moins adaptée (*données personnelles, ECCMID 2019*).

Si ces PCR multiplexes syndromiques sont des outils prometteurs qui peuvent aider au choix quotidien des antibiothérapies, ces outils doivent être maniés avec précaution, et leurs limites (sensibilité, spécificité, contours du panel) doivent être connues des réanimateurs ou faire l'objet de discussions clinicobiologiques lors de la remise des résultats. Par ailleurs, ils présentent un coût élevé (150–200 euros/test) qui ne permet pas leur utilisation de façon systématique et impose une réflexion et une discussion avec les microbiologistes avant leur mise en route. Enfin, ces outils, ne recherchant pas de façon exhaustive toutes les bactéries responsables de pneumopathie ni leurs gènes de résistance, ne sont pas substituables aujourd'hui aux techniques conventionnelles de diagnostic. Les résultats présentés sont parmi les premiers publiés sur les panels pneumonies, et il est nécessaire d'avoir d'autres études pour évaluer leurs performances et comprendre les discordances et d'avoir des études médico-économiques afin de mesurer leur impact en vie réelle sur le soin des patients.

Panels « méningites et méningoencéphalites »

Les méningites et les encéphalites représentent un ensemble d'infections au pronostic redoutable en termes de mortalité et de séquelles graves. Ainsi, la mortalité résiduelle encore aujourd'hui associée aux méningites se situe entre 20 et 30 % pour *Streptococcus pneumoniae* et entre 5 et 10 % pour *Neisseria meningitidis* et *Haemophilus influenzae*. De nombreuses séquelles sont aussi retrouvées à long terme : séquelles neuropsychologiques (environ 30 % des patients), déficits neurologiques focaux (5 à 30 % en fonction des pathogènes) ou hypoacousie (5 à 22 % en fonction des pathogènes) [51–53]. De la même façon, les encéphalites infectieuses sont grevées d'une mortalité comprise entre 9 et 12 % et de persistance de séquelles graves à trois ans chez 40 % des patients [54]. Les défis posés par l'ensemble de ces entités cliniques sont multiples. D'abord, l'hétérogénéité des symptômes observés avec des formes parfois peu spécifiques impose des définitions cliniques larges pour ne pas manquer de diagnostic [55,56]. Ensuite, le nombre très important d'agents pathogènes possiblement responsables, la difficulté de recherches exhaustives en raison du faible volume de liquide cébrospinal (LCS) disponible et de tableaux particuliers comme les encéphalites postinfectieuses expliquent que pour la moitié des encéphalites infectieuses l'agent étiologique n'est jamais retrouvé [57]. Ces difficultés sont encore accentuées par un recours à des antibiothérapies probabilistes parfois démarrées avant la ponction lombaire, ce qui est indispensable dans certaines situations comme la suspicion d'un purpura fulminans ou lorsque l'imagerie cérébrale avant la ponction lombaire est nécessaire [56]. Les techniques biologiques usuelles ne sont

pas réalisables dans des délais courts, à l'exception des marqueurs biochimiques et de la coloration de Gram qui reste peu sensible. Les traitements anti-infectieux probabilistes doivent donc être démarrés de façon la plus précoce possible et adaptée au contexte pour permettre de couvrir si nécessaire des pathogènes rares comme *Listeria monocytogenes* ou *Cryptococcus neoformans*. Dans ce contexte, les panels de PCR multiplexe représentent à la fois une innovation prometteuse en termes de spectre de cibles couvrant les pathogènes les plus fréquents, de délais de rendu des résultats en quelques heures et de prise d'essai minimale, laissant plus de volume de LCS disponible pour les analyses de seconde ligne, mais également dangereuse quant à l'interprétation de leurs résultats. En effet, les panels ne pourront jamais être exhaustifs de l'ensemble des agents pathogènes possibles, il existe un risque de faux-positifs, et la disponibilité des résultats, très précoce, diminue le recul à un moment où les décisions thérapeutiques prises ne laissent pas droit à l'erreur. Il n'existe qu'un seul panel commercialisé aujourd'hui en PCR multiplexe rapide, même si d'autres sont en développement actif, il s'agit du panel FilmArray® ME (BioFire®, bioMérieux). Ce panel permet la détection des principales bactéries (*Escherichia coli* K1, *S. pneumoniae*, *Streptococcus agalactiae*, *N. meningitidis*, *H. influenzae*), des principaux virus (HSV-1 et 2, VZV, entérovirus, paréchovirus, CMV et HHV-6) et de *C. neoformans/gattii*. Ses performances ont été évaluées à plusieurs reprises de façon rétrospective [58–61] ou prospective [62,63]. La première étude large a été menée sur 1 560 LCS aux États-Unis [63]. Les résultats ont été comparés avec les techniques de référence usuelles et des PCR monoplexes. Les discordances ont été analysées par séquençage et répétition des tests moléculaires, en fonction des volumes de LCS disponibles, et avec une revue en aveugle des dossiers médicaux par un comité d'adjudication. La concordance du panel avec le diagnostic retenu était de 84,4 % en cas de PCR multiplexe positive et de plus de 99,9 % en cas de PCR multiplexe négative. La concordance nettement plus faible dans le cas des PCR multiplexes positives s'explique par la mise en évidence de 22 pathogènes additionnels (11 virus, 9 bactéries et 2 cryptocoques) non confirmés par les tests comparateurs ni après adjudication. La bonne concordance observée pour les PCR multiplexe négative traduit la bonne sensibilité de la technique : 95 % pour les virus (90/95 avec deux entérovirus et trois HHV-6 en faible quantité non détectés), 100 % pour les bactéries (8/8 sans *L. monocytogenes* ou *N. meningitidis* observés sur la période d'étude), 100 % pour *C. neoformans/gattii* (1/1) [60]. Dans une étude prospective menée sur le même principe au sein des hôpitaux universitaires Paris Nord Val de Seine sur 674 échantillons reçus pendant un an, des résultats très similaires ont été mis en évidence avec une sensibilité de 91 % pour les virus (30/33), de 100 % pour les bactéries (2/2 dont un méningocoque), mais le seul cryptocoque

sur la période d'étude mis en évidence par culture n'a pas été retrouvé par la PCR multiplexe ni par examen direct (encre de Chine) ni par la recherche d'antigène, le patient ayant une fongémie à cryptocoque sans signe méningé ou de localisation associée. La PCR multiplexe a également identifié quatre virus non retrouvés par les méthodes usuelles (trois ont été retenus cliniquement comme étant en cause dans le syndrome), quatre bactéries (dont une seule, un *S. agalactiae*, était associée à une méningite purulente) et un cryptocoque (non retenu) [64]. Ces deux études menées en vie réelle et utilisant la PCR multiplexe même en absence de pléiocytose montrent des taux de positivité globaux de 8,7 et 9,6 %. Devant la faible prévalence des pathogènes dans les LCS, une autre étude de performance associant plusieurs centres parisiens a permis aussi de confirmer les bonnes sensibilités du test, à l'exception de *L. monocytogenes* pour laquelle aucun échantillon clinique n'était disponible [65]. Malgré les bonnes performances globales, il convient de bien garder en tête certaines limites. Ainsi, des faux-positifs, non confirmés par les techniques comparatrices ou les comités d'adjudication, existent et qui, bien que très rares, elles peuvent grever la valeur prédictive positive du test en raison de la rareté des vrais pathogènes [63]. Ces faux-positifs ont été rencontrés pour l'ensemble des cibles, incluant l'HSV-1, les différentes bactéries ou le cryptocoque, mais sont particulièrement limitants pour le CMV et l'HHV-6 que l'on peut rencontrer dans le LCR sans qu'ils soient responsables d'encéphalite et pour lesquels la quantification virale, impossible dans les PCR multiplexes rapides aujourd'hui disponibles, est indispensable [64,66]. Enfin, plusieurs cas faussement négatifs ont été décrits pour l'HSV-1 qui peut parfois être présent en quantité très faible [67]. Il est donc important de rappeler qu'une ponction lombaire de contrôle est recommandée en cas de forte suspicion clinique et qu'une PCR monoplexe peut aussi être utilisée pour confirmer la négativité de la PCR multiplexe en attendant un meilleur recul. En conclusion, avant toute modification des traitements probabilistes, il convient donc de garder un œil critique sur :

- les résultats positifs qui doivent être interprétés de façon collégiale et avec l'ensemble des données clinicobiologiques ;
- la possibilité de faux-négatif, comme toute technique biologique, ou d'autres pathogènes non couverts par le panel.

Impact

Les études aujourd'hui disponibles sont, nous l'avons vu, avant tout focalisées sur les performances analytiques. Il n'existe que très peu de données sur l'impact de ces tests même si plusieurs études sont en cours. Les bénéfices attendus sont d'abord l'épargne du LCS permettant de réaliser plus d'analyses complémentaires dans les tableaux compliqués, le

délaï court de rendu pouvant aider à éliminer certains diagnostics ou décider d'un traitement par corticoïde. Le panel large permet aussi de mettre en évidence des entérovirus non recherchés habituellement chez l'adulte mais qui est pourtant le premier agent détecté [63,64]. Enfin, au niveau du laboratoire de virologie, ces tests permettent de remplacer et combiner plusieurs autres technologies, ils ne dispensent cependant pas des examens directs ou des cultures bactériennes ou fongiques. Au niveau des unités cliniques, une première étude menée chez l'enfant semble mettre en évidence un coût/bénéfice des panels méningés lié aux choix de l'antibiothérapie ou au retour à domicile des sujets chez qui des entérovirus ont été mis en évidence [68], mais les précautions à prendre aujourd'hui dans l'interprétation de ces tests imposent encore du recul et d'autres études larges. Une utilisation émergente de ce test est fondée sur une amélioration de la probabilité prétest en n'utilisant ce panel qu'en cas de pléiocytose. Cette approche permet de diminuer le nombre de faux-positifs par le ciblage des LCS et permet d'atteindre des taux de positivité bien supérieurs. Il convient cependant de ne pas l'appliquer aux très jeunes enfants, aux patients neutropéniques ou immunodéprimés, ainsi qu'aux fortes suspicions d'encéphalites virales qui peuvent se présenter sans pléiocytose associée pour 19 et 14 % d'entre elles respectivement aux seuils de dix et cinq leucocytes [69].

Discussion—réflexions

L'arrivée de ces nouveaux tests de diagnostic rapide constitue une véritable révolution dans le diagnostic des maladies infectieuses. Cependant, leur mise en place au quotidien se heurte encore à plusieurs difficultés comme leur coût élevé ou le côté disruptif lié au rendu rapide de résultat sans qu'aucune recommandation n'y soit associée. Aujourd'hui, il est absolument nécessaire de mettre en place une expertise partagée entre les différents spécialistes des disciplines microbiologiques et les cliniciens devant la complexité de l'interprétation des résultats pour permettre une intégration optimale de ces tests dans les prises de décisions médicales.

Le coût actuel de ces tests syndromiques, entre 80 et 200 euros, est tel qu'il n'est pas envisageable à ce jour qu'ils soient utilisés pour tout et pour tous. Il est donc nécessaire de mener une réflexion sur la place qu'ils doivent prendre dans la pratique courante, pour quels patients, quelles pathologies, à quel moment et pour quels impacts et décisions de prise en charge. Les protocoles de pratiques cliniques n'ont pas encore intégré ces tests, et il faudra que microbiologistes et réanimateurs élaborent ensemble des stratégies pour positionner leur utilisation. De même, les sociétés savantes devront se pencher sur ces nouvelles méthodes diagnostiques et émettre des recommandations. Il est également indispensable de mettre en place des études médicoéconomi-

ques pour confirmer et quantifier l'impact sur le soin des patients en termes de diminution de consommation d'antibiotiques, de durée des isolements, de durée de ventilation mécanique, de durée de séjour en réanimation, voire de mortalité. L'impact en termes de santé publique doit également être pris en compte. Seules ces données nous permettront de justifier et pérenniser l'utilisation de ces tests par les laboratoires.

Ces tests syndromiques nécessitent également une expertise globale qui est, pour le moment, encore partagée entre les trois disciplines microbiologiques (bactériologie, virologie et mycoparasitologie). Ils imposent une meilleure coordination de ces laboratoires pour que chaque partie des résultats soit interprétée et validée par des équipes expertes dans leur domaine et à même d'accompagner les résultats de conseils aux cliniciens. Cette validation partagée entre nos trois disciplines constitue parfois un défi devant l'éclatement des laboratoires spécialisés, les lourdeurs des systèmes informatiques et les exigences d'accréditation auxquels les laboratoires sont soumis. Cependant, elle ne doit pas générer de délais supplémentaires pour le rendu des résultats et ainsi faire perdre le bénéfice de ces tests.

Enfin, un point majeur aujourd'hui est l'interprétation par les cliniciens des résultats rendus par ces tests syndromiques. Celle-ci doit tenir compte des limites des tests, en termes d'exhaustivité des panels et de performances, et nécessite des interactions étroites entre microbiologistes et réanimateurs. En effet, l'absence de mise en garde sur les limites de ces tests peut conduire à des mises en route ou arrêts inappropriés de traitement chez des patients graves et secondairement à l'anxiété du clinicien pouvant aboutir à une perte de confiance et à un rejet de ces tests. Le dialogue clinicobiologique doit trouver toute sa place dans cette dernière étape.

À l'avenir, la simplification des techniques pourra peut-être permettre d'utiliser ces kits au lit du patient afin d'accélérer encore le rendu au clinicien. L'amélioration des délais de rendu est en effet essentielle pour avoir un effet maximal sur les bénéfices annoncés de ces tests. Il est effectivement probable que malgré les contraintes évoquées, les tests syndromiques se généraliseront de plus en plus et pourront être réalisés dans un contexte de biologie délocalisée. Cela exigera des stratégies de mise en œuvre réfléchies et un contrôle des bonnes pratiques techniques et de prescription, associant les professionnels des services de soins et des laboratoires.

Liens d'intérêts : Laurence Armand-Lefèvre déclare une participation non rémunérée à un atelier en interne pour les laboratoires bioMérieux. Benoit Visseaux déclare avoir été invité à des congrès par le laboratoire Qiagen et avoir participé à des symposiums scientifiques pour les laboratoires bioMérieux.

Références

- Mayr FB, Yende S, Angus DC, (2014) Epidemiology of severe sepsis. *Virulence* 5: 4–11. doi:10.4161/viru.27372
- Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, Annane D, Gerlach H, Opal SM, Sevransky JE, Sprung CL, Douglas IS, Jaeschke R, Osborn TM, Nunnally ME, Townsend SR, Reinhart K, Kleinpell RM, Angus DC, Deutschman CS, Machado FR, Rubenfeld GD, Webb SA, Beale RJ, Vincent JL, Moreno R; Surviving Sepsis Campaign Guidelines Committee including the Pediatric Subgroup, (2013) Surviving sepsis campaign. *Crit Care Med* 41: 580–637. doi:10.1097/CCM.0b013e31827e83af
- Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, Kumar A, Sevransky JE, Sprung CL, Nunnally ME, Rochwerg B, Rubenfeld GD, Angus DC, Annane D, Beale RJ, Bellinghan GJ, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith C, De Backer DP, French CJ, Fujishima S, Gerlach H, Hidalgo JL, Hollenberg SM, Jones AE, Karnad DR, Kleinpell RM, Koh Y, Lisboa TC, Machado FR, Marini JJ, Marshall JC, Mazuski JE, McIntyre LA, McLean AS, Mehta S, Moreno RP, Myburgh J, Navalesi P, Nishida O, Osborn TM, Perner A, Plunkett CM, Ranieri M, Schorr CA, Seckel MA, Seymour CW, Shieh L, Shukri KA, Simpson SQ, Singer M, Thompson BT, Townsend SR, Van der Poll T, Vincent JL, Wiersinga WJ, Zimmerman JL, Dellinger RP, (2017) Surviving sepsis campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med* 43: 304–377. doi:10.1007/s00134-017-4683-6
- Stevenson M, Pandor A, Martyn-St James M, Rafia R, Uttley L, Stevens J, Sanderson J, Wong R, Perkins GD, McMullan R, Dark P, (2016) Sepsis: the LightCycler SeptiFast Test MGRADE®, SepsisTest™ and IRIDICA BAC BSI assay for rapidly identifying bloodstream bacteria and fungi - a systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 20: 1–246. doi:10.3310/hta20460
- Cambau E, Durand-Zaleski I, Bretagne S, Buisson CB, Cordonnier C, Duval X, Herwegh S, Pottecher J, Courcol R, Bastuji-Garin S; EVAMICA study team, (2017) Performance and economic evaluation of the molecular detection of pathogens for patients with severe infections: the EVAMICA open-label, cluster-randomised, interventional crossover trial. *Intensive Care Med* 43: 1613–1625. doi:10.1007/s00134-017-4766-4
- Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R, (2017) Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clin Microbiol Rev* 31. pii: e00024-17. doi: 10.1128/CMR.00024-17
- Burrack-Lange SC, Personne Y, Huber M, Winkler E, Weile J, Knabbe C, Görg J, Rohde H, (2018) Multicenter assessment of the rapid Unyvero® Blood Culture molecular assay. *J Med Microbiol* 67: 1294–1301. doi:10.1099/jmm.0.000804
- Huang TD, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y, (2019) Evaluation of the ePlex® Blood Culture Identification Panels for Detection of Pathogens in Bloodstream Infections. *J Clin Microbiol* 57: e01597–e01618. doi:10.1128/JCM.01597-18
- Salimnia H, Fairfax MR, Lephart PR, Schreckenberger P, DesJarlais SM, Johnson JK, Robinson G, Carroll KC, Greer A, Morgan M, Chan R, Loeffelholz M, Valencia-Shelton F, Jenkins S, Schuetz AN, Daly JA, Barney T, Hemmert A, Kanack KJ, (2016) Evaluation of the FilmArray® Blood Culture Identification Panel: results of a multicenter controlled trial. *J Clin Microbiol* 54: 687–698. doi:10.1128/JCM.01679-15
- Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, Shah ND, Mandrekar JN, Patel R, (2015) Randomized trial of rapid multiplex polymerase chain reaction–based blood culture identification and susceptibility testing. *Clin Infect Dis* 61: 1071–1080. doi:10.1093/cid/civ447
- Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL, (2017) The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 64: 15–23. doi:10.1093/cid/ciw649
- Simon L, Ughetto E, Gaudart A, Degand N, Lotte R, Ruimy R, (2019) Direct identification of 80 percent of bacteria from blood culture bottles by matrix-assisted laser desorption ionization–time of flight mass spectrometry using a 10-minute extraction protocol. *J Clin Microbiol* 57: e01278–18. doi:10.1128/JCM.01278-18
- Morgenthaler NG, Kostrzewa M, (2015) Rapid Identification of Pathogens in Positive Blood Culture of Patients with Sepsis: Review and Meta-Analysis of the Performance of the Sepsityper Kit. *Int J Microbiol* 2015: 827416. doi: 10.1155/2015/827416
- Compain F, Bensekhri H, Rostane H, Mainardi JL, Lavollay M, (2015) β LACTA test for rapid detection of Enterobacteriaceae resistant to third-generation cephalosporins from positive blood cultures using briefly incubated solid medium cultures. *J Med Microbiol* 64: 1256–1259. doi:10.1099/jmm.0.000157
- Buchan BW, Allen S, Burnham CAD, TeKippe EM, Davis T, Levi M, Mayne D, Pancholi P, Relich RF, Thomson R, Ledebor NA, (2015) Comparison of the next-generation Xpert MRSA/SA BC assay and the GeneOhm StaphSR assay to routine culture for identification of *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Resistant *S. aureus* in positive-blood-culture Broths. *J Clin Microbiol* 53: 804–809. doi:10.1128/JCM.03108-14
- Kong H, Tong L, Zhang W, Fu Y, Li X, (2014) Combined use of the BinaxNOW *Staphylococcus aureus* test with the Clearview PBP2a assay for the early detection of methicillin-resistant *S. aureus* from positive blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis* 78: 226–228. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.11.018
- Carrat F, Flahault A, Boussard E, Farran N, Dangoumau L, Valeron AJ, (1998) Surveillance of influenza-like illness in France. The example of the 1995/1996 epidemic. *J Epidemiol Community Health* 52: 32S–38S
- Costagliola D, Flahault A, Galinec D, Garnerin P, Menares J, Valeron AJ, (1991) A routine tool for detection and assessment of epidemics of influenza-like syndromes in France. *Am J Public Health* 81: 97–99
- Hammond SP, Gagne LS, Stock SR, Marty FM, Gelman RS, Marasco WA, Poritz MA, Baden LR, (2012) Respiratory virus detection in immunocompromised patients with FilmArray® respiratory panel compared to conventional methods. *J Clin Microbiol* 50: 3216–3221. doi:10.1128/JCM.00538-12
- Babady NE, Mead P, Stiles J, Brennan C, Li H, Shuptar S, Stratton CW, Tang YW, Kamboj M, (2012) Comparison of the Lumindex xTAG RVP Fast assay and the Idaho Technology FilmArray® RP assay for detection of respiratory viruses in pediatric patients at a cancer hospital. *J Clin Microbiol* 50: 2282–2288. doi:10.1128/JCM.06186-11
- Kim HK, Oh SH, Yun KA, Sung H, Kim MN, (2013) Comparison of Anyplex II RV16 with the xTAG respiratory viral panel and Seeplex RV15 for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 51: 1137–1141. doi:10.1128/JCM.02958-12
- Nolte FS, Marshall DJ, Rasberry C, Schievelbein S, Banks GG, Storch GA, Arens MQ, Buller RS, Prudent JR, (2007) MultiCode-PLx system for multiplexed detection of seventeen respiratory viruses. *J Clin Microbiol* 45: 2779–2786. doi:10.1128/JCM.00669-07
- van Elden LJ, van Kraaij MG, Nijhuis M, Hendriksen KA, Dekker AW, Rozenberg-Arska M, van Loon AM, (2002) Polymerase chain reaction is more sensitive than viral culture and antigen testing for the detection of respiratory viruses in adults with hematological cancer and pneumonia. *Clin Infect Dis* 34: 177–183. doi:10.1086/338238

24. Babady NE, (2013) The FilmArray[®] respiratory panel: an automated, broadly multiplexed molecular test for the rapid and accurate detection of respiratory pathogens. *Expert Rev Mol Diagn* 13: 779–788. doi:10.1586/14737159.2013.848794
25. Pillet S, Lardeux M, Dina J, Grattard F, Verhoeven P, Le Goff J, Vabret A, Pozzetto B, (2013) Comparative evaluation of six commercialized multiplex PCR kits for the diagnosis of respiratory infections. *PLoS ONE* 8: e72174. doi:10.1371/journal.pone.0072174
26. Call SA, Vollenweider MA, Hornung CA, Simel DL, McKinney WP, (2005) Does this patient have influenza? *JAMA* 293: 987–997. doi:10.1001/jama.293.8.987
27. Visseaux B, Burdet C, Voiriot G, Lescure FX, Chougar T, Brugière O, Crestani B, Casalino E, Charpentier C, Descamps D, Timsit JF, Yazdanpanah Y, Houhou-Fidouh N, (2017) Prevalence of respiratory viruses among adults, by season, age, respiratory tract region and type of medical unit in Paris, France, from 2011 to 2016. *PloS One* 12: e0180888. doi:10.1371/journal.pone.0180888
28. Bénézit F, Loubet P, Jouneau S, Pronier C, Allain JS, Launay O, P Tattevin, (2017) The burden of non-influenza respiratory viruses in adult patients admitted for influenza-like illness: a three-year prospective multicentric study. *ECCMID*: OS1015
29. Das D, Le Floch H, Houhou N, Epelboin L, Hausfater P, Khalil A, Ray P, Duval X, Claessens YE, Lepout C; ESCAPED Study Group, (2015) Viruses detected by systematic multiplex polymerase chain reaction in adults with suspected community-acquired pneumonia attending emergency departments in France. *Clin Microbiol Infect* 21: 608.e1–608.e8. doi:10.1016/j.cmi.2015.02.014
30. Loubet P, Voiriot G, Houhou-Fidouh N, Neuville M, Bouadma L, Lescure FX, Descamps D, Timsit JF, Yazdanpanah Y, Visseaux B, (2017) Impact of respiratory viruses in hospital-acquired pneumonia in the intensive care unit: A single-center retrospective study. *J Clin Virol* 91: 52–57. doi:10.1016/j.jcv.2017.04.001
31. van Bente I, Koopman L, Niesters B, Hop W, van Middelkoop B, de Waal L, van Drunen K, Osterhaus A, Neijens H, Fokkens W, (2003) Predominance of rhinovirus in the nose of symptomatic and asymptomatic infants. *Pediatr Allergy Immunol* 14: 363–370
32. Jansen RR, Wieringa J, Koekkoek SM, Visser CE, Pakjrt D, Molenkamp R, de Jong MD, Schinkel J, (2011) Frequent detection of respiratory viruses without symptoms: toward defining clinically relevant cutoff values. *J Clin Microbiol* 49: 2631–2636. doi:10.1128/JCM.02094-10
33. Jartti T, Jartti L, Peltola V, Waris M, Ruuskanen O, (2008) Identification of respiratory viruses in asymptomatic subjects: asymptomatic respiratory viral infections. *Pediatr Infect Dis J* 27: 1103–1107. doi:10.1097/INF.0b013e31817e695d
34. Jain S, Self WH, Wunderink RG, Fakhran S, Balk R, Bramley AM, Reed C, Grijalva CG, Anderson EJ, Courtney DM, Chappell JD, Qi C, Hart EM, Carroll F, Trabue C, Donnelly HK, Williams DJ, Zhu Y, Arnold SR, Ampofo K, Waterer GW, Levine M, Lindstrom S, Winchell JM, Katz JM, Erdman D, Schneider E, Hicks LA, McCullers JA, Pavia AT, Edwards KM, Finelli L; CDC EPIC Study Team, (2015) Community-acquired Pneumonia requiring hospitalization among U.S. adults. *N Engl J Med* 373: 415–427. doi:10.1056/NEJMoa1500245
35. Esbenschade JC, Edwards KM, Esbenschade AJ, Rodriguez VE, Talbot HK, Joseph MF, Nwosu SK, Chappell JD, Gern JE, Williams JV, Talbot TR, (2013) Respiratory virus shedding in a cohort of on-duty healthcare workers undergoing prospective surveillance. *Infect Control Hosp Epidemiol* 34: 373–378. doi:10.1086/669857
36. Hassoun A, Huff MD, Weisman D, Chahal K, Asis E, Stalons D, Grigorenko E, Green J, Malone LL, Clemmons S, Lu S, (2015) Seasonal variation of respiratory pathogen colonization in asymptomatic health care professionals: A single-center, cross-sectional, 2-season observational study. *Am J Infect Control* 43: 865–870. doi:10.1016/j.ajic.2015.04.195
37. Choi SH, Hong SB, Ko GB, Lee Y, Park HJ, Park SY, Moon SM, Cho OH, Park KH, Chong YP, Kim SH, Huh JW, Sung H, Do KH, Lee SO, Kim MN, Jeong JY, Lim CM, Kim YS, Woo JH, Koh Y, (2012) Viral infection in patients with severe pneumonia requiring intensive care unit admission. *Am J Respir Crit Care Med* 186: 325–332. doi:10.1164/rccm.201112-2240OC
38. Voiriot G, Visseaux B, Cohen J, Nguyen LB, Neuville M, Morbieu C, Burdet C, Radjou A, Lescure FX, Smong R, Armand-Lefèvre L, Mourvillier B, Yazdanpanah Y, Soubirou JF, Ruckly S, Houhou-Fidouh N, Timsit JF, (2016) Viral-bacterial coinfection affects the presentation and alters the prognosis of severe community-acquired pneumonia. *Crit Care* 20: 375. doi:10.1186/s13054-016-1517-9
39. Rogers BB, Shankar P, Jerris RC, Kotzbauer D, Anderson EJ, Watson JR, O'Brien LA, Uwindatwa F, McNamara K, Bost JE, (2014) Impact of a rapid respiratory panel test on patient outcomes. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine* 139: 636–641
40. Shiley KT, Lautenbach E, Lee I, (2010) The use of antimicrobial agents after diagnosis of viral respiratory tract infections in hospitalized adults: antibiotics or anxiolytics? *Infect Control Hosp Epidemiol* 31: 1177–1183. doi:10.1086/656596
41. Rappo U, Schuetz AN, Jenkins SG, Calfee DP, Walsh TJ, Wells MT, Hollenberg JP, Glesby MJ, (2016) Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients. *J Clin Microbiol* 54: 2096–2103. doi:10.1128/JCM.00549-16
42. Brendish NJ, Malachira AK, Armstrong L, Houghton R, Aitken S, Nyimbili E, Ewings S, Lillie PJ, Clark TW, (2017) 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. *Lancet Respir Med* 5: 401–411. doi:10.1016/S2213-2600(17)30120-0
43. Brendish NJ, Malachira AK, Beard KR, Ewings S, Clark TW, (2018) Impact of turnaround time on outcome with point-of-care testing for respiratory viruses: a post hoc analysis from a randomised controlled trial. *Eur Respir J* 52 pii: 1800555. doi: 10.1183/13993003.00555-2018
44. Celis R, Torres A, Gatell JM, Almela M, Rodríguez-Roisin R, Agustí-Vidal A, (1988) Nosocomial pneumonia. A multivariate analysis of risk and prognosis. *Chest* 93: 318–324
45. American Thoracic Society; Infectious Diseases Society of America, (2005) Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia. *Am J Respir Crit Care Med* 171: 388–416. doi:10.1164/rccm.200405-644ST
46. Papan C, Meyer-Buehn M, Laniado G, Nicolai T, Griese M, Huebner J, (2018) Assessment of the multiplex PCR-based assay Unyvero[®] pneumonia application for detection of bacterial pathogens and antibiotic resistance genes in children and neonates. *Infection* 46: 189–196. doi:10.1007/s15010-017-1088-y
47. Ozongwu C, Personne Y, Platt G, Jeanes C, Aydin S, Kozato N, Gant V, O'Grady J, Enne VI, (2017) The Unyvero[®] P55 'sample-in, answer-out' pneumonia assay: a performance evaluation. *Biomol Detect Quantif* 13: 1–6. doi:10.1016/j.bdq.2017.06.001
48. Yugueros-Marcos J, Barraud O, Iannello A, Ploy MC, Ginocchio C, Rogatcheva M, Alberti-Segui C, Pachot A, Moucadel V, François B; VALIBI study group, (2018) New molecular semi-quantification tool provides reliable microbiological evidence for pulmonary infection. *Intensive Care Med* 44: 2302–2304. doi:10.1007/s00134-018-5417-0
49. Pilmis B, Zahar JR, (2018) Ventilator-associated pneumonia related to ESBL-producing gram negative bacilli. *Ann Transl Med* 6: 424. doi:10.21037/21765

50. Jamal W, Roomi EA, AbdulAziz LR, Rotimi VO, (2014) Evaluation of curetis Unyvero[®], a multiplex PCR-based testing system, for rapid detection of bacteria and antibiotic resistance and impact of the assay on management of severe nosocomial Pneumonia. *J Clin Microbiol* 52: 2487–2492. doi:10.1128/JCM.00325-14
51. Lucas MJ, Brouwer MC, van de Beek D, (2016) Neurological sequelae of bacterial meningitis. *J Infect* 73: 18–27. doi:10.1016/j.jinf.2016.04.009
52. Hoogman M, van de Beek D, Weisfelt M, de Gans J, Schmand B, (2007) Cognitive outcome in adults after bacterial meningitis. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 78:1092–1096. doi:10.1136/jnnp.2006.110023
53. McGill F, Heyderman RS, Panagiotou S, Tunkel AR, Solomon T, (2016) Acute bacterial meningitis in adults. *Lancet* 388: 3036–3047. doi:10.1016/S0140-6736(16)30654-7
54. Boucher A, Herrmann JL, Morand P, Buzélé R, Crabol Y, Stahl JP, Mailles A, (2017) Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. *Med Mal Infect* 47: 221–235. doi:10.1016/j.medmal.2017.02.003
55. Stahl JP, Azouvi P, Bruneel F, De Broucker T, Duval X, Fantin B, Girard N, Herrmann JL, Honnorat J, Lecuit M, Mailles A, Martinez-Almoyna L, Morand P, Piroth L, Tattevin P; Reviewing group, (2017) Guidelines on the management of infectious encephalitis in adults. *Med Mal Infect* 47: 179–194. doi:10.1016/j.medmal.2017.01.005
56. Société de pathologie infectieuse de langue française, CMIT, Apnet, SFM, SFMU, SFN, SFORL, SFP, SNFMI, SRLF, (2009) Prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires (à l'exclusion du nouveau-né). Texte court. *Med Mal Infect* 39: 175–186. doi:10.1016/j.medmal.2008.12.001
57. Mailles A, Stahl JP, (2009) Infectious Encephalitis in France in 2007: a National Prospective Study. *Clin Infect Dis* 49:1838–1847. doi:10.1086/648419
58. Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ, (2018) Evaluation of a commercial multiplex molecular panel for diagnosis of infectious meningitis and encephalitis. *J Clin Microbiol* 56: e01927–e02017. doi:10.1128/JCM.01927-17
59. Blaschke AJ, Holmberg KM, Daly JA, Leber AL, Dien Bard J, Korgenski EK, Bourzac KM, Kanack KJ, (2018) Retrospective evaluation of infants aged 1 to 60 days with residual cerebrospinal fluid (CSF) tested using the FilmArray[®] Meningitis/Encephalitis (ME) panel. *J Clin Microbiol* 56: pii: e00277-18. doi:10.1128/JCM.00277-18
60. Hanson KE, Slechts ES, Killpack JA, Heyrend C, Lunt T, Daly JA, Hemmert AC, Blaschke AJ, (2016) Preclinical Assessment of a Fully Automated Multiplex PCR Panel for Detection of Central Nervous System Pathogens. *J Clin Microbiol* 54: 785–787. doi:10.1128/JCM.02850-15
61. Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, Lo E, Nabeta H, Kiggundu R, Akampurira A, Musubire A, Williams DA, Meya DB, Boulware DR; ASTRO-CM Team, (2016) Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 84: 268–273. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2015.11.017
62. Tarai B, Das P, (2019) FilmArray[®] meningitis/encephalitis (ME) panel, a rapid molecular platform for diagnosis of CNS infections in a tertiary care hospital in North India: one-and-half-year review. *Neurol Sci* 40: 81–88. doi:10.1007/s10072-018-3584-y
63. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, Cullison J, Daly J, Holt S, Lephart P, Salimnia H, Schreckenberger PC, DesJarlais S, Reed SL, Chapin KC, LeBlanc L, Johnson JK, Soliven NL, Carroll KC, Miller JA, Dien Bard J, Mestas J, Bankowski M, Enomoto T, Hemmert AC, Bourzac KM, (2016) Multicenter evaluation of BioFire[®] FilmArray[®] meningitis/encephalitis panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 54: 2251–2261. doi:10.1128/JCM.00730-16
64. Visseaux B, Timsit J, Casalino E, Storto A, Ichou H, Armand-Lefebvre L, Houze S, Van-Gysel D, Basmaci R, Descamps D, Yazdanpanah Y, Duval X, Fidouh N, (2018) Rapid multiplex PCR FilmArray[®] ME panel: a monocentric prospective performance study. *ECCMID*: P0845
65. Boussioux C, Lallemand M, Le Monnier A, Alanio A, Houhou N, Simon F, Berçot B, Legoff J, (2016) Évaluation du panel BioFire[®]/FilmArray[®] méningite/encéphalite pour la détection dans les liquides cérébrospinaux des étiologies infectieuses les plus fréquentes. *RICAI*
66. Green DA, Pereira M, Miko B, Radmard S, Whittier S, Thakur K, (2018) Clinical significance of human Herpesvirus 6 positivity on the FilmArray[®] Meningitis/Encephalitis Panel. *Clin Infect Dis*, 67: 1125–1128. doi:10.1093/cid/ciy288
67. Graf EH, Farquharson MV, Cárdenas AM, (2017) Comparative evaluation of the FilmArray[®] meningitis/encephalitis molecular panel in a pediatric population. *Diagn Microbiol Infect Dis* 87: 92–94. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2016.09.022
68. Duff S, Hasbun R, Ginocchio CC, Balada-Llasat JM, Zimmer L, Bozette SA, (2018) Economic analysis of rapid multiplex polymerase chain reaction testing for meningitis/encephalitis in pediatric patients. *Future Microbiol* 13: 617–629. doi:10.2217/fmb-2017-0238
69. Visseaux B, Ichou H, Timsit JF, Casalino E, Le Hingrat Q, Perrier M, Visseaux B, Ichou H, Timsit JF, Casalino E, Le Hingrat Q, Perrier M, Yazdanpanah Y, Descamps D, Fidouh-Houhou N, (2018) Pléiocytose et PCR syndromiques méningées : quid des infections virales ? *RICAI*