



Apport de l'approche syndromique en pratique courante dans la prise en charge des diarrhées aiguës communautaires en pédiatrie

Evaluation du panel FilmArray[®]Gastro-Intestinal

Dr D. DESCAMPS
Chef de service Microbiologie, CH Béthune

CHG Béthune (GHT de l'Artois)



- **621 lits et places**
- **~36 000 passages / an aux urgences**
- **Service de Pédiatrie :**
 - 2490 entrées directes ,
 - 6507 JH
 - 1845 consultations d'urgence
- **Laboratoire multidisciplinaire:**
 - *Activité totale : 32 001 965 B*
 - *Microbiologie –hygiène : 6 412 410 B*



Evaluation du Panel FilmArray® Gastro-Intestinal: Méthodologie

- **Etude Prospective, Monocentrique**
- **Période étude : 01/12/2017 au 30/03/2018**
- **Inclusions de tous les examens de selles prescrits par le service pédiatrie (Consultations d'urgence, hospitalisation)**
- **182 échantillons de selles analysés**

Evaluation du Panel FilmArray® Gastro-Intestinal: Méthodologie

Cartographie des **FLUX**:
prise en charge des
selles au niveau du
laboratoire

**PHASE 1 (01/12/17 au
15/01/18): Etude de
PERFORMANCES:**
Panel GI versus
techniques
conventionnelles

**PHASE 2 (01/03/18 au
30/03/18) : Etude
interventionnelle**
Analyse de l'**IMPACT
CLINIQUE** sur la prise en
charge des GEA en
pédiatrie

Inclusions: informations démographiques

		PHASE 1 n = 91	PHASE 2 N = 86
Age	≤ 1 mois	2 (2,2%)	2 (2,3%)
	1 – 23 mois	53 (58,2%)	45 (52,3%)
	2 – 4 ans	23 (25,3%)	25 (29,1%)
	5 – 11 ans	12 (13,2%)	12 (14,0%)
	12 – 17 ans	1 (1,1%)	2 (2,3%)
Sexe	Masculin ♂	42 (46,2%)	54 (62,8%)
	Féminin ♀	49 (53,8%)	32 (37,2%)
Service demandeur	Hospitalisation	85 (93,4%)	83 (96,5%)
	Consultation	6 (6,6%)	3 (3,5%)

Prise en charge des selles : cartographie

Analyse de FLUX
de la prise en charge
actuelle des selles
pédiatriques

**3 jours d'observations et de mesures
sur site**

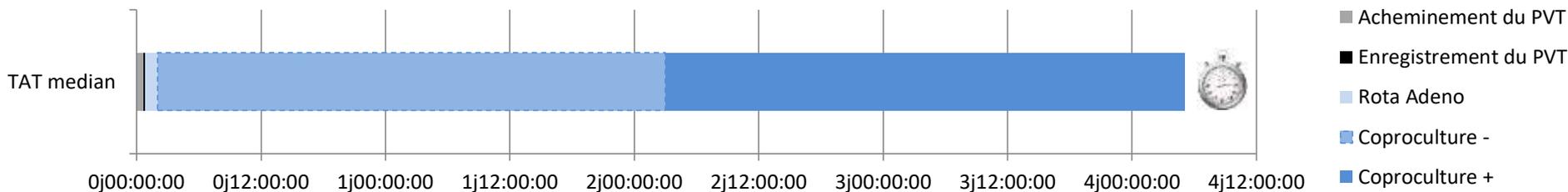
**Analyse des documents descriptifs des
modes opératoires**

**Analyse statistique de production
(extraction SIL):**

**_Sur 8 mois (du 01/01/2017 au 31/08/2017)
-530 selles venant du service de pédiatrie**

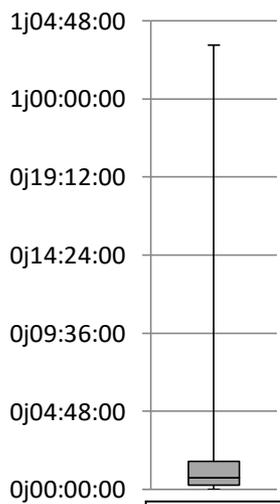
Prise en charge des selles pédiatriques: délais médians des différentes étapes

Analyse statistique 530 patients



Pédiatrie -> Réception Labo:

43m30s



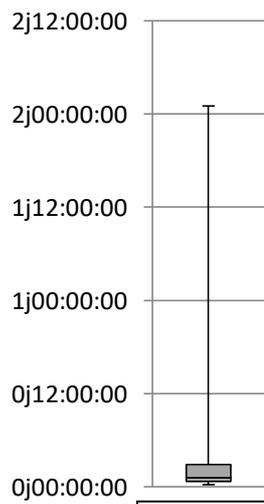
Réception -> Enregistrement

7m06s



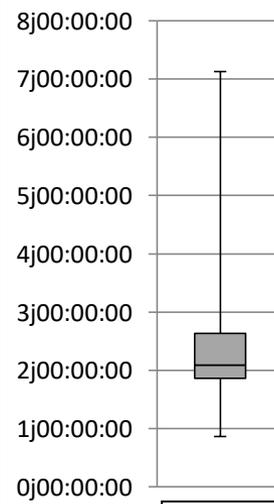
Résultats Rota/Adeno après enregistrement

1h10m20s



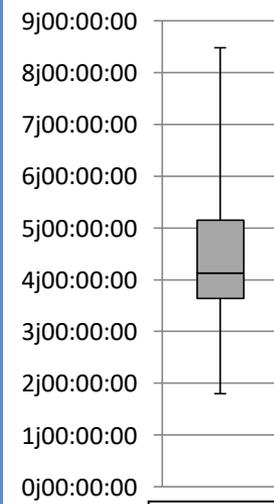
Résultats Copro - après enregistrement

2j02h09m14s

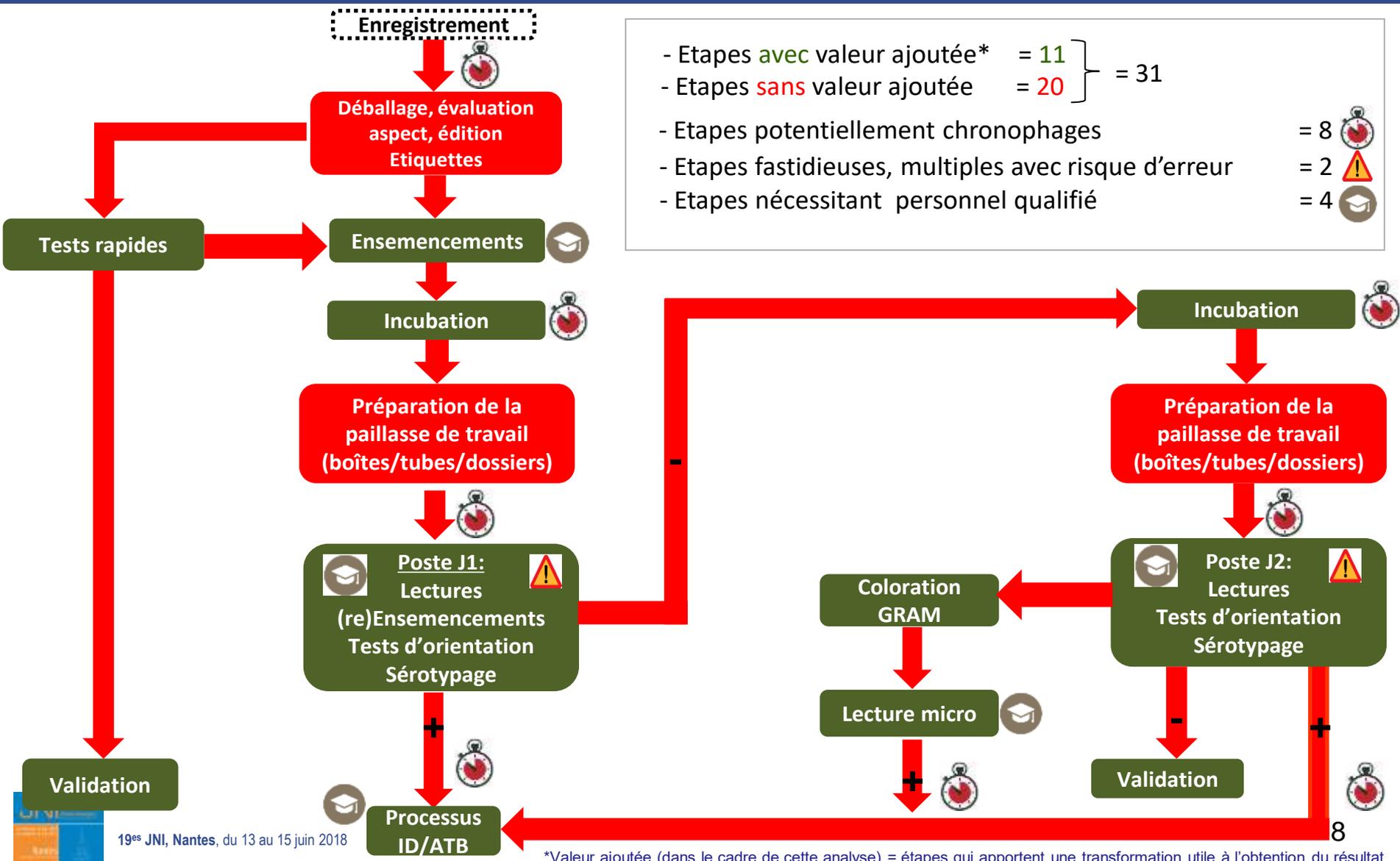


Résultats Copro + après enregistrement

4j03h01m40s



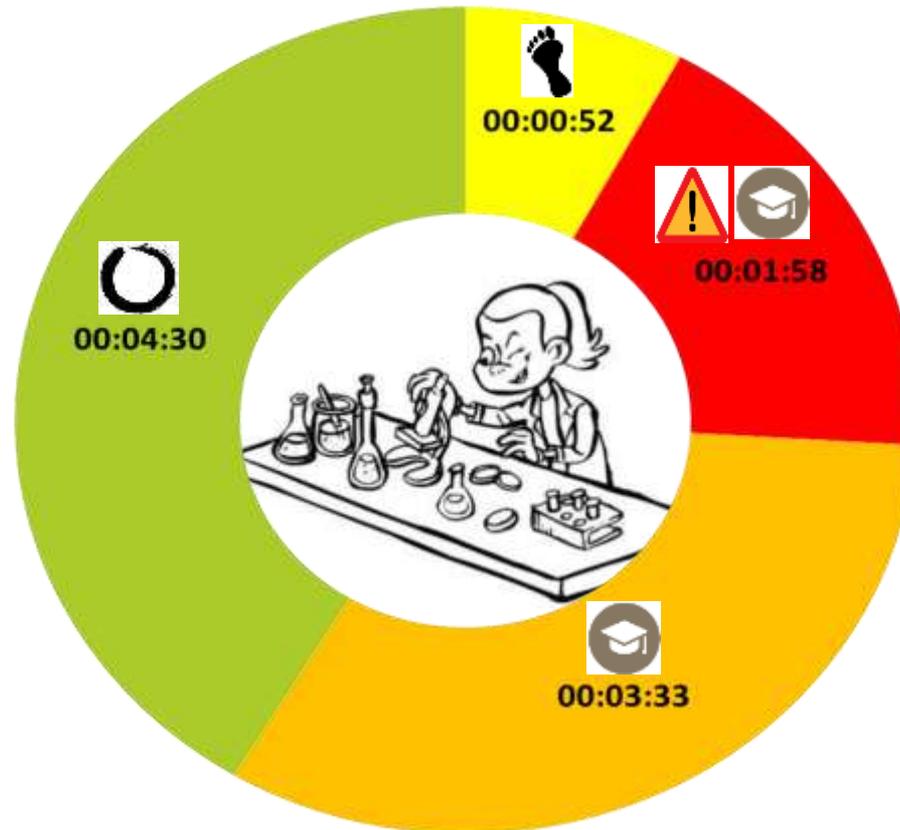
Cartographie du flux de travail actuel en pièce technique



- Etapes avec valeur ajoutée* = 11
- Etapes sans valeur ajoutée = 20 } = 31
- Etapes potentiellement chronophages = 8
- Etapes fastidieuses, multiples avec risque d'erreur = 2
- Etapes nécessitant personnel qualifié = 4

Recherche d'une technologie plus rapide, plus sensible mais aussi... plus simple

■ Temps technicien moyen pour le traitement d'1 selle = **10 min 52 s**



Processus:

Valeur ajoutée :

TT: 0,64%

Incubation: 88,28%

Amélioration de la prise
en charge des selles

→ Saut technologique



: technique sans difficulté particulière



: étapes multiples et fastidieuses avec risque d'erreur



: déplacement



: étapes nécessitant personnel qualifié

Phase 1: Etude de PERFORMANCES

- **Analyse comparative des résultats :Techniques conventionnelles versus Technique FilmArray®**
- **93 échantillons de selles analysés**
- **Moyenne d'âge des enfants: 2,4 ans (22 jours - 13 ans) (75%<3ans)**
 - 68 demandes de coprocultures « standard »
 - 92 demandes de recherche de virus entéropathogènes (2 demandes de norovirus)
 - 1 demande de parasitologie des selles

Analyse de la performance du Panel Fimarray® GI / techniques conventionnelles

Techniques conventionnelles

- Selon prescription
 - Recherche virologique:
 - Rotavirus/Adenovirus
 - Norovirus
 - Tests Immunochromatographiques
 - Coproculture standard
 - Parasitologie des selles : analyse par microscopie (Concentration)
- Processus complexe



FilmArray® GI



- 1 test. 22 pathogènes. Résultats en 1h
 - 13 Bactéries, 5 virus, 4 parasites

Bactéries

Campylobacter (jejuni, coli et upsaliensis)
Clostridium difficile
Plesiomonas shigelloides
Salmonella
Yersinia enterocolitica
Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus et cholerae)
Vibrio cholerae

E. coli diarrhéogène/ Shigella :
E. coli entéroaggrégative (EAEC)
E. coli entérotoxigène (EPEC)
E. coli entérotoxigénique (ETEC) lt/st
E. coli producteurs de Shigatoxines (STEC) stx1/stx2
E. coli O157
Shigella/E. coli entéroinvasive (EIEC)

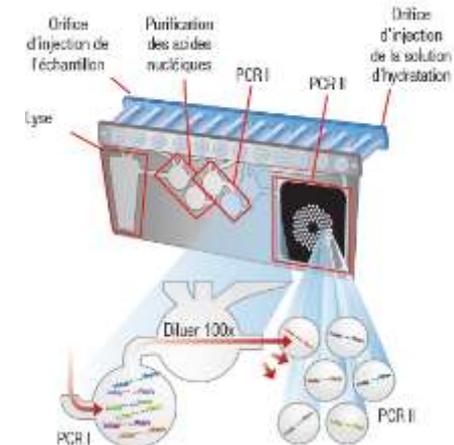
Virus

Adénovirus F 40/41
 Astrovirus
 Norovirus GI/GII
 Rotavirus A
 Sapovirus (I, II, IV et V)

Parasites

Cryptosporidium
Cyclospora cayetanensis
Entamoeba histolytica
Giardia lamblia

- Directement à partir des selles (200 µl)
- 1 seule étape
- PCR nichée en microfluidique



Détection des pathogènes 1

Méthodes conventionnelles (selon prescription médicale) *versus* FILMARRAY

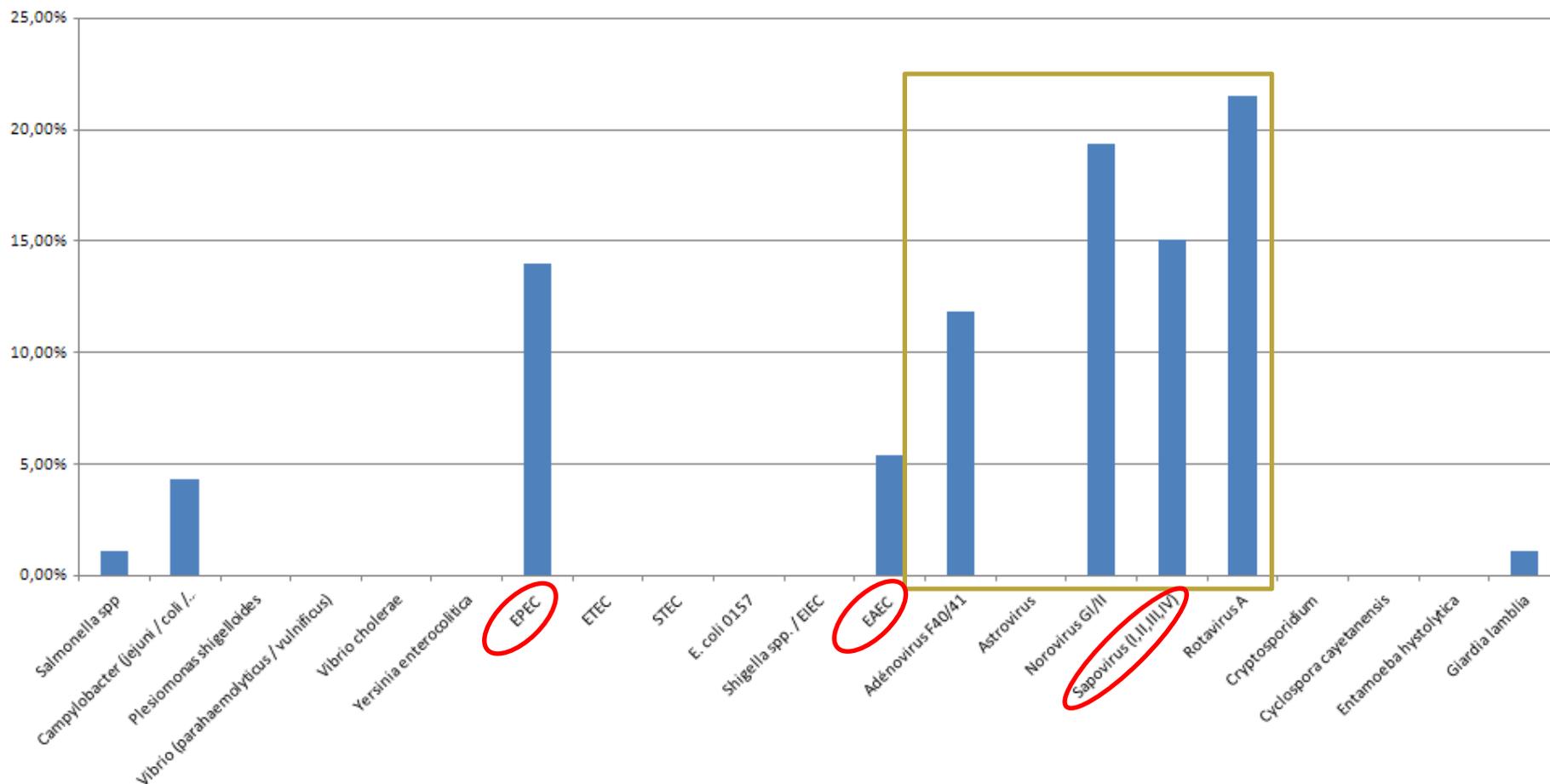
Pathogène	Méthodes conventionnelles		FILMARRAY	
	Pathogènes testés selon prescription médicale		1test = panel de 22 pathogènes	
Bactéries				
Sur 93 selles reçues	68 prescriptions en coproculture		93 analyses sur 93 selles reçues	
	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)
<i>Campylobacter (C. jejuni/C. coli/ C. upsaliensis)</i>	2	2,9	4	4,3
<i>Clostridium difficile</i> toxines A/B	Non-prescrit		14	15
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	NT		0	0
<i>Salmonella</i>	1	1,5	1	1
<i>Vibrio (parahaemolyticus/ vulnificus/cholerae)</i>	NT		0	0
<i>Vibrio cholerae</i>	NT		0	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	0	0	0
E. coli/Shigella diarrhégenique				
EAEC	1	1,4	5	5,3
EPEC			13	13,9
EPEC <i>It/st</i>			0	0
STEC <i>stx1/stx2</i>			0	0
<i>E. coli</i> O157			0	0
EIEC			0	0
TOTAL BACTERIES			4	5,9%

Détection des pathogènes 2

Méthodes conventionnelles (selon prescription médicale) *versus* FILMARRAY

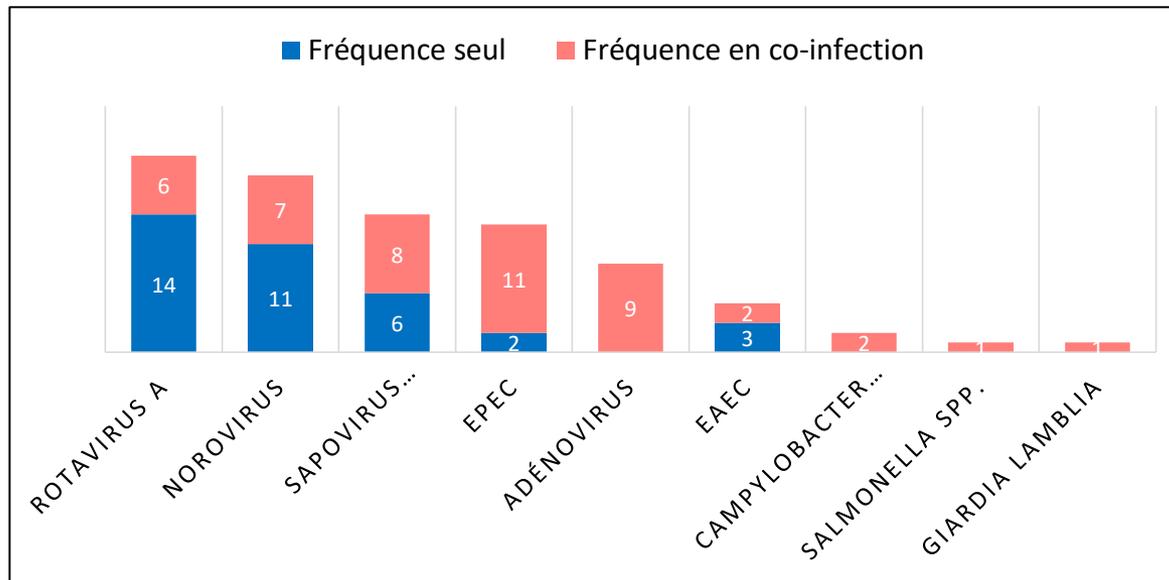
Pathogène	Méthodes conventionnelles		FILMARRAY	
	Pathogènes testés selon prescription médicale		1test = panel de 22 pathogènes	
Virus				
Sur 93 selles reçues	92 prescriptions pour Rota et Adeno et 2 prescriptions Norovirus		93 analyses sur 93 selles reçues	
	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)
Adénovirus F 40/41	3	3,2	11	11,8
Astrovirus	NT		0	0
Norovirus GI/GII	0	0	18	19,3
Rotavirus A	16	17,3	20	21,5
Sapovirus (Génogroupes I, II, IV, et V)	NT		14	15
TOTAL VIRUS	19	20,6	53	57
Parasites				
Sur 93 selles reçues	1 prescription pour la parasitologie		93 analyses sur 93 selles reçues	
<i>Cryptosporidium</i>			0	0
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	0	0	0	0
<i>Entamoeba histolytica</i>			0	0
<i>Giardia lamblia</i>			1	1
TOTAL PARASITES	0	0	1	1,1

Phase 1 (01/12/17 au 15/01/18): Pathogènes détectés par FilmArray



Pathogènes pos en FA, non recherchés par nos techniques conventionnelles

Détection des co-infections avec panel FilmArray® GI



Total (n=93)	
Positifs	62 (66,67%)
Coinfections	21 (22,5%)

33,8%



Coinfections (n=21)	
Nombre pathogènes	Nombre Coinf.
2	19 /62 (30,6 %)
3	1/62 (1,6 %)
4	1/62 (1,6 %)

Coinfections (n=21)	
Association de:	Nombre
Virus	7/21 (33,3 %)
Virus + bactéries	13/21 (61,9 %) (2 <i>Campylobacter</i> , 9 EPEC , 2 EAEC)
Bactéries	1/21 (7,7 %) (<i>Salmonella</i> , EPEC)

Analyse de performance: résumé

Taux de positivité	Techniques conventionnelles		FilmArray
	Bactéries	5,9%	24,7%
	Virus	20,6%	57,0%
	Parasites	0,00%	1,1%
	Global	24,7%	66,7%*

*hors Cdiff

- **Tous les pathogènes détectés en méthodes conventionnelles ont été détectés par FilmArray.**
- **Taux de co-infections:**
 - 0 en techniques conventionnelles
 - 22,5 % (21/93) en FilmArray®

Analyse des discordants FilmArray® / tech. conventionnelles et confirmation des pathogènes non-recherchés

- **36 échantillons vérifiés en techniques moléculaires indépendantes (PCR, séquençage)**
 - Selles conservées à -80° C (pendant 3-4 mois)
 - Aliquots en milieu de transport (Fecalswab®) à +4° C (pendant 3-4 mois)
- **7 paramètres retestés**
 - **Discordances**
 - Avec test IC : Norovirus (3) Rotavirus (3) Adénovirus (8)
 - Avec culture : Campylobacter (2)
 - **Confirmation** (paramètres non recherchés par techniques du laboratoire): Sapovirus (14) EAEC (5) EPEC (12)

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: discordance peut être expliquée par une dégradation de l'ARN suite au long stockage de l'échantillon (hors FT) et parfois la faible CV proche de la LoD de l'essai de comparaison

Phase 2 : Evaluation de l'impact clinique

- Période d'un mois: 01/03/18 au 30/03/18
- Remplacement des Techniques conventionnelles par le panel FilmArray GI
- 89 échantillons de selles analysés
- Moyenne d'âge des enfants: 2,6 ans (10 jours - 15ans)
(71,9% <3ans)
- Evaluation de l'impact clinique via un questionnaire mis en place dans le service de pédiatrie pour tout examen de selles prescrit

Evaluation de l'impact clinique: Questionnaire

2

Etiquette patient

Questionnaire d'évaluation de l'impact clinique du test syndromique gastro-intestinal

(Merci de remplir ce questionnaire pour chaque patient ayant bénéficié d'une analyse des selles par FilmArray)

Quel(s) signe(s) clinique(s) présentait le patient ?

Selles liquides Nausées / vomissements Douleurs abdominales
Hyperthermie Autre :

Le patient a-t-il bénéficié d'examen(s) para-clinique(s) avant réalisation du test syndromique ?

OUI NON

Si oui : NFS CRP PCT Imagerie :

Résultat du test syndromique : Positif Négatif

Avez-vous obtenu le résultat du test syndromique avant la sortie du patient ? OUI NON

Le pathogène détecté était-il suspecté vis-à-vis de la symptomatologie ? OUI NON

Le test syndromique a-t-il eu un impact sur votre diagnostic ?

A permis d'établir un diagnostic de certitude Modification du diagnostic Pas d'impact

Le test syndromique vous a-t-il permis d'exclure un diagnostic de gastro-entérite infectieuse ou d'exclure une étiologie infectieuse aux symptômes digestifs ?

OUI NON

Le test syndromique a-t-il eu un impact sur l'orientation de votre patient ?

OUI NON aucun impact

Si oui : Hospitalisation (si patient de consultation) Transfert dans un autre service
Transfert autre hôpital Sortie du patient

Le test syndromique a-t-il eu un impact sur l'isolement / la mise en place de précautions ?

OUI NON

Pas de changement Levée isolement / précautions Mise en isolement / précautions
Ne sait pas

Le test syndromique a-t-il eu un impact sur un traitement anti-infectieux ?

Instauration ATB Arrêt ATB Pas d'impact

Diriez-vous que le test syndromique a modifié votre prise en charge globale ?

OUI : NON

Phase 2 : Détection des pathogènes avec panel FilmArray® GI

89 selles reçues	89 analyses FilmArray	
Bactéries		
Pathogène	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)
<i>Campylobacter (C. jejuni/C. coli/C. upsaliensis)</i>	3	3,3
<i>Clostridium difficile</i> toxines A/B	12	13,4
<i>Plesiomonas shigelloides</i>	0	0
<i>Salmonella</i>	2	2,2
<i>Vibrio (parahaemolyticus/vulnificus/cholerae)</i>	0	0
<i>Vibrio cholerae</i>	0	0
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0	0
<i>E. coli/Shigella</i> diarrhégenique		
EAEC	4**	4,4
EPEC	2**	2,2
ETEC <i>It/st</i>	0	0
STEC <i>stx1/stx2</i>	1**	1,1
<i>E. coli</i> O157	0	0
EIEC	0	0
TOTAL BACTERIES	12	13,4*

Virus		
	Nombre de positifs	Taux de positivité (%)
Adénovirus F 40/41	8	8,9
Astrovirus	3	3,3
Norovirus GI/GII	8	8,9
Rotavirus A	68	76,4
Sapovirus (Génogroupes I, II, IV, et V)	1	1,1
TOTAL VIRUS	77	86,5
Parasites		
<i>Cryptosporidium</i>	0	0
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	0	0
<i>Entamoeba histolytica</i>	0	0
<i>Giardia lamblia</i>	1	1,1
TOTAL PARASITES	1	1,1

- Taux d'échantillons positifs: **88,7 % (79/89)**
- Taux de co-infections: **23,6 % (21/89)**
- Période d'épidémie de GEA → Large majorité de rotavirus (**76,40%** des échantillons)

*NB : Taux de positivité hors CDIF positifs. Détection chez des enfants < 2ans

** Confirmés par PCR indépendante + séquençage

Amélioration du diagnostic: Phase 1 + 2

Taux de positivité	GI FilmArray	Phase1	Phase2
	Bactéries	24,7%	13,4%
	Virus	57,0%	86,5%*
	Parasites	1,08%	1,1%
	Global	66,7%	88,7%

Taux de co-infections sur les échantillons positifs	GI FilmArray Phase1	GI FilmArray Phase2
	33,8%	26,5 %

Délai de rendu des résultats

- **Méthodes conventionnelles**

- **Bactériologie:**

- Médiane = **59h58**
(moyenne = 61h00)

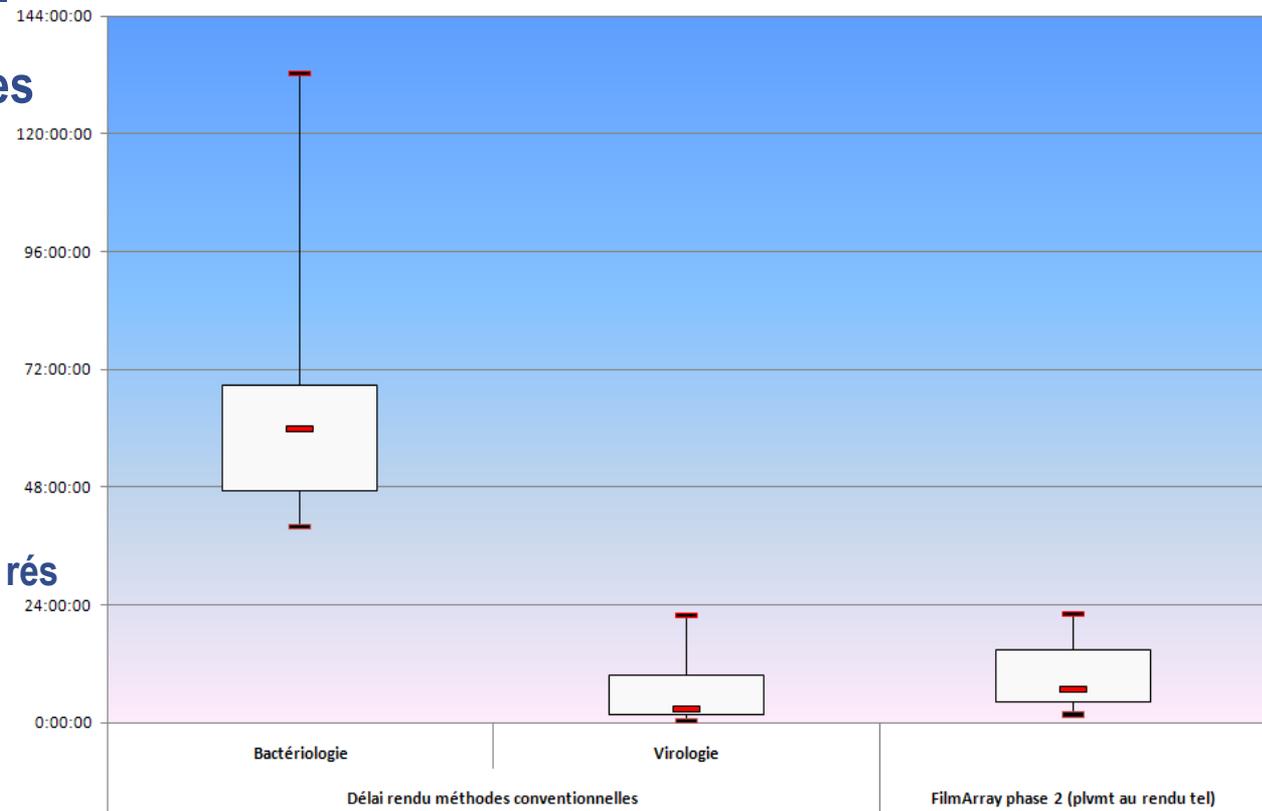
- **Virologie :**

- Médiane = **2h40**
(moyenne = 5h13)

- **FilmArray: du pvmt au rendu rés**

- Médiane = 6h45**

- (moyenne = 9h04)



- **Enfants sortis de l'hôpital avec résultats complets**

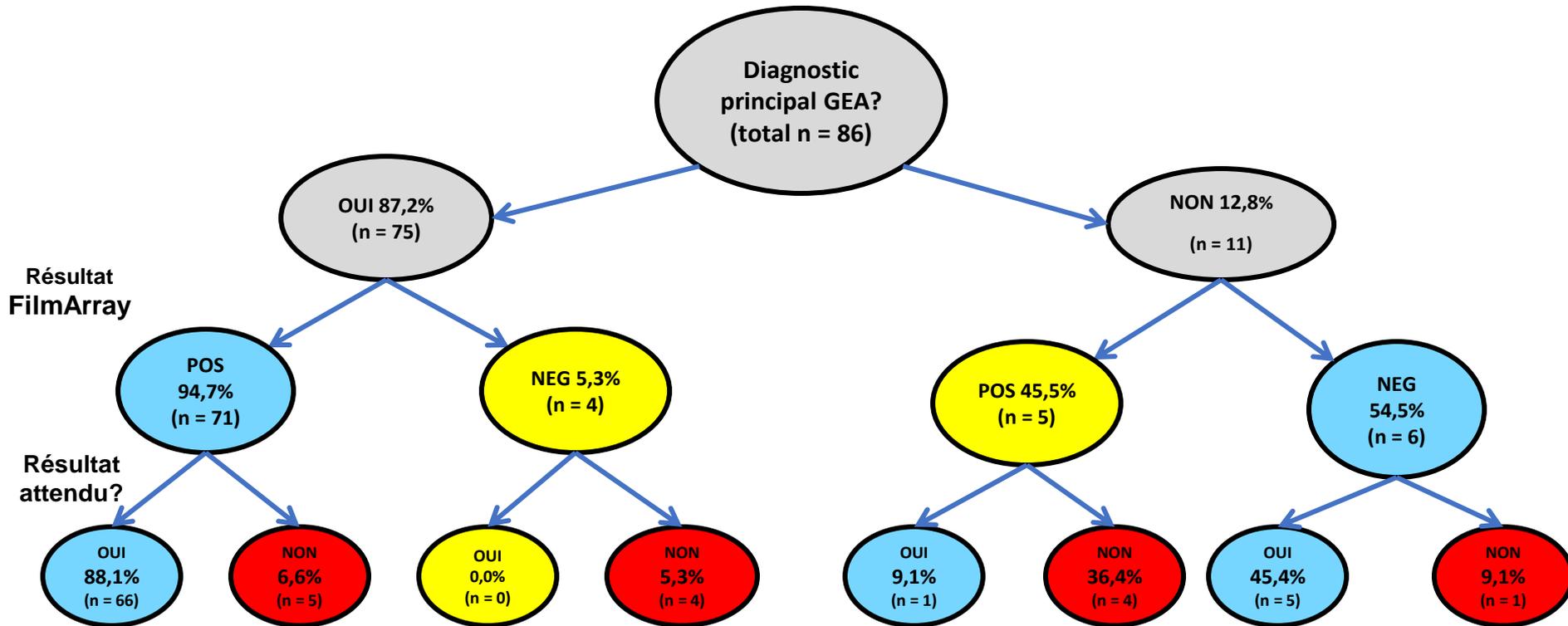
- Méthodes conventionnelles : **43,6 %**

- FilmArray: **91,6 %**

Impact sur le diagnostic clinique

- **Diagnostic de certitude : 78,6%** (70/89 cas) (69 FA +)
- **Exclusion du diagnostic infectieux: 7.8%** (7 /89 cas) (7 FA -)
- **Modification du diagnostic : 4,4%** (4/89 cas) (4 FA +) (1 campylobacter, 2 rotavirus , (1 rotavirus+EAEC))
- **Pas d'impact : 8,9%** (8/89 cas)

Prescriptions / contexte clinique et résultats FA



Résultats non attendus : 16.2% (14/86 cas)

- Pathogènes non suspectés comme *Campylobacter spp.* ou *Giardia*
- Résultat négatif chez un patient suspect de GEA
- Résultat positif chez un patient non suspecté de GEA

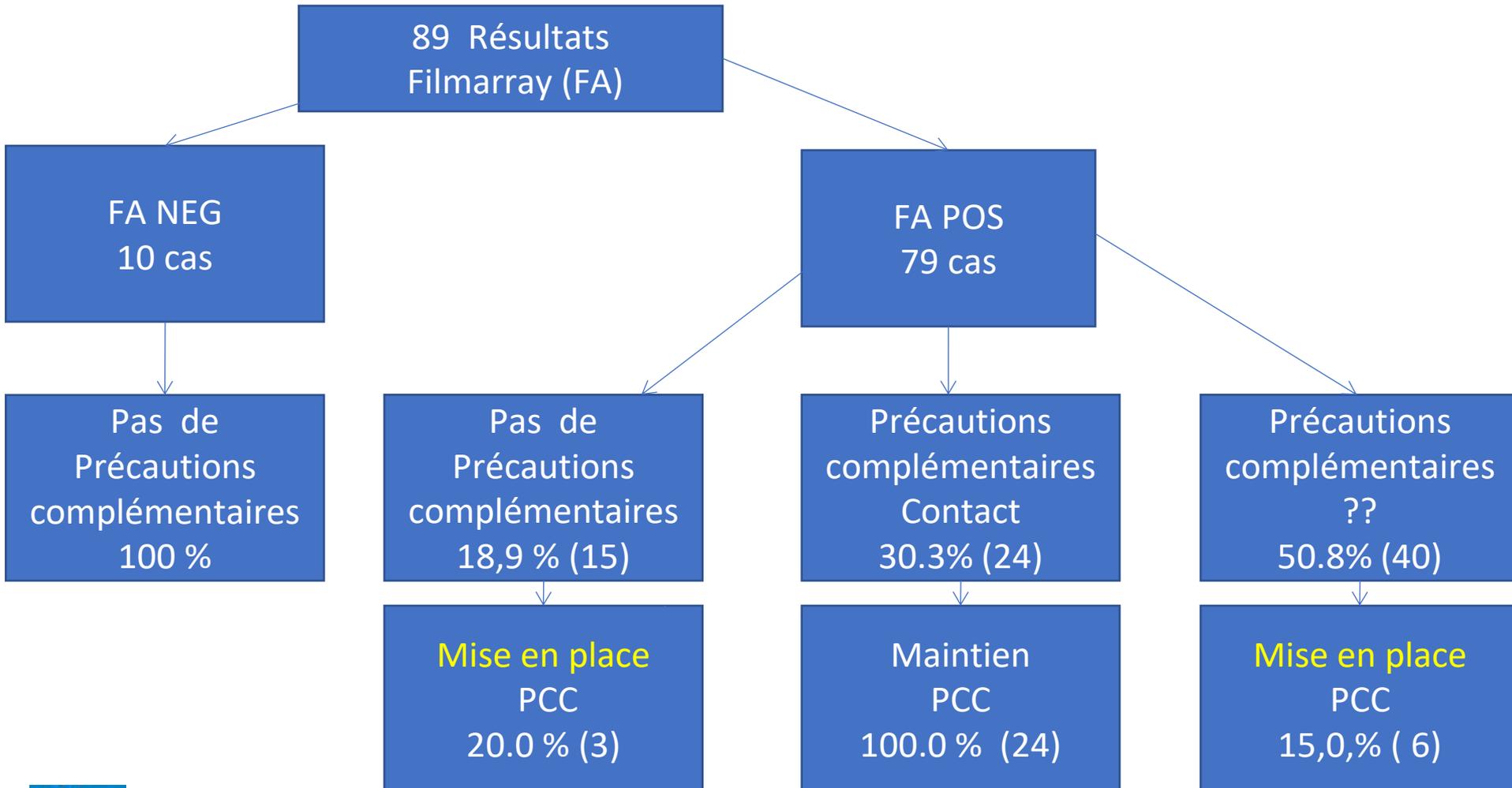
Instauration de traitement anti-infectieux

- 4,6% des patients



- 2 *Campylobacter*
 - 1 *Giardia*
 - 1 *E.coli* enteroaggrégatif (EAEC)
-
- **Totalité des *E.coli* diarrhégeniques détectés durant la phase 2 étaient associés à un virus**
 - Pas de traitement instauré (sauf 1 cas) visant ces *E.coli* (EPEC, EAEC et STEC)

Précautions complémentaires d'hygiène



Discussion /Conclusion

- **Performance du panel GI Filmarray ® par rapport aux techniques conventionnelles** (Spina CMI 2015) (Stockmann CMI 2014)
 - ↑ Tx de positivité (Buss JCM 2014 ,Rand DMID 2015)
 - ↑ Tx de co-infections (fréquentes <5 ans) (Spina CMI 2015)
- **Détection de pathogènes**
 - non suspectés (Sapovirus,Astrovirus, EPEC,EAEC)
 - non recherchés systématiquement en pratique courante (Norovirus +++, Giardia)
- **Pathogènes les plus fréquents (hors CD)**
 - Rotavirus>Norovirus>Adenovirus>Sapovirus>EPEC>EAEC

Discussion /Conclusion

- « **Saut technologique** » (Stockmann 2016)
 - Simplification du process :1 seule étape versus 31 en méthode conventionnelle
 - Diversité de pathogènes détectés en 1 seule analyse (Sensibilité (>90%) et Spécificité (>97%)), (Khare JCM 2014))
 - Panel adapté au diagnostic de GEA en pédiatrie (hors recherche de *Clostridium difficile* toxinogène chez enfants <2-3 ans)
 - Rapidité du test (1 h00)
- **Impact clinique**
 - ↓ Délai de rendu (FA : 6h45 MC: 59h58) (Murphy EJCMID 2016)
 - Proportion d'enfants sortant avec un résultat définitif nettement améliorée (> 90%)
 - Traitement anti- infectieux ciblé
 - Adaptation des précautions complémentaires contact (norovirus détectés en phase 1 sans recherche prescrite)

Discussion /Conclusion

- **Technique génotypique qualitative :**
 - Pas d'information sur la viabilité du pathogène .
 - Possible détection d'une excrétion post-infection (Norovirus, Salmonelle) ou de portage asymptomatique (Cryptosporidium ,Giardia) (Buss JCM 2015)
- ***E.coli* diarrhégéniques (EPEC,EAEC)**
 - Coinfection le + souvent
 - Fréquents chez les enfants <5 ans (Foster DMID 2015)
 - Signification clinique?

Perspectives

- Approche syndromique : outil diagnostic performant
- Pertinence de prescription
- 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
- **Me Martina Hnatova** (Chef de marché FilmArray[®], bioMérieux)
- **Mr Cédric Delaire** (consultant bioMérieux certifié Lean)
- **Equipe RetD Grenoble** (bioMérieux): Isabelle Sothier, Pauline Pinel, Coralie Mousset, Stéphane Magro (analyse discordants)

