

Intérêt de la recherche de virus respiratoires par PCR multiplex dans les pneumopathies communautaires de l'adulte vu aux urgences

Protocole PACSCAN

N Houhou, D Das, P Hausfater, C Ficko, M Benjoar, YE Claessens, C Leport
et le groupe d'étude PACSCAN

JNI - 10 juin 2014

Introduction et objectifs

Introduction

- Diagnostic pneumopathies communautaires (PAC) de l'adulte : essentiellement clinique et radiologie
- Enjeu prise en charge hospitalière : SAU
- Rôle exact et intérêt de recherche des virus dans PAC : mal connu
- Protocole Pacscan: Impact du scanner dans diagnostic de PAC au SAU

Objectifs étude chez patient suspect PAC au SAU :

- Fréquence positivité PCR multiplex prélèvement nasal
- Identification virus circulants
- Corrélation entre présence virus et diagnostic de PAC

Méthodes

- Sous-étude Protocole PACSCAN
- Centres : 4 SAU CHU parisiens (Bichat, Cochin, Pitié, Tenon)
- SAU, pts suspicion clinique PAC non grave :
≥ 1 S systémique et 1 S infection respiratoire basse
- Validation CVE Dg PAC : infectiologue, pneumologue, radiologue indépendants , aveugles/résultat PCR
données cliniques, scan, biologiques ,et évolution J 28
classification Dg PAC : certaine, probable, possible, exclue
- Prélèvements nasaux et pharyngés systématiques
- Recherche virus par PCR multiplex : RespiFinder-19 assay (Pathofinder®, Maastricht, Netherlands)

Methods

Multiplex PCR : RespiFinder 19

As sensitive as monoplex Real Time PCR

Diagnosis within 6 hours

Steps

Pre-amplification

Probe hybridization

Probe ligation

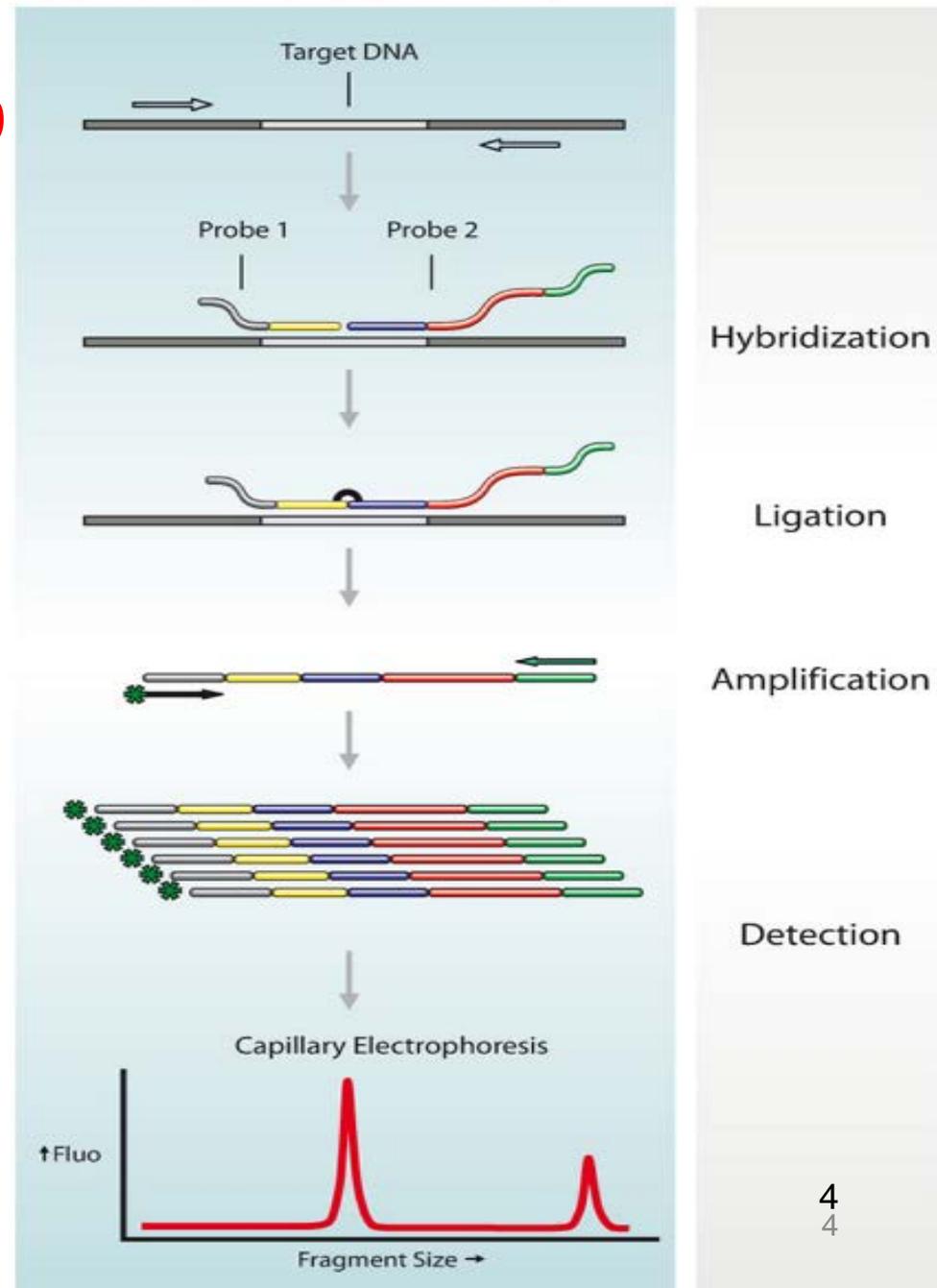
Probe amplification

Analysis

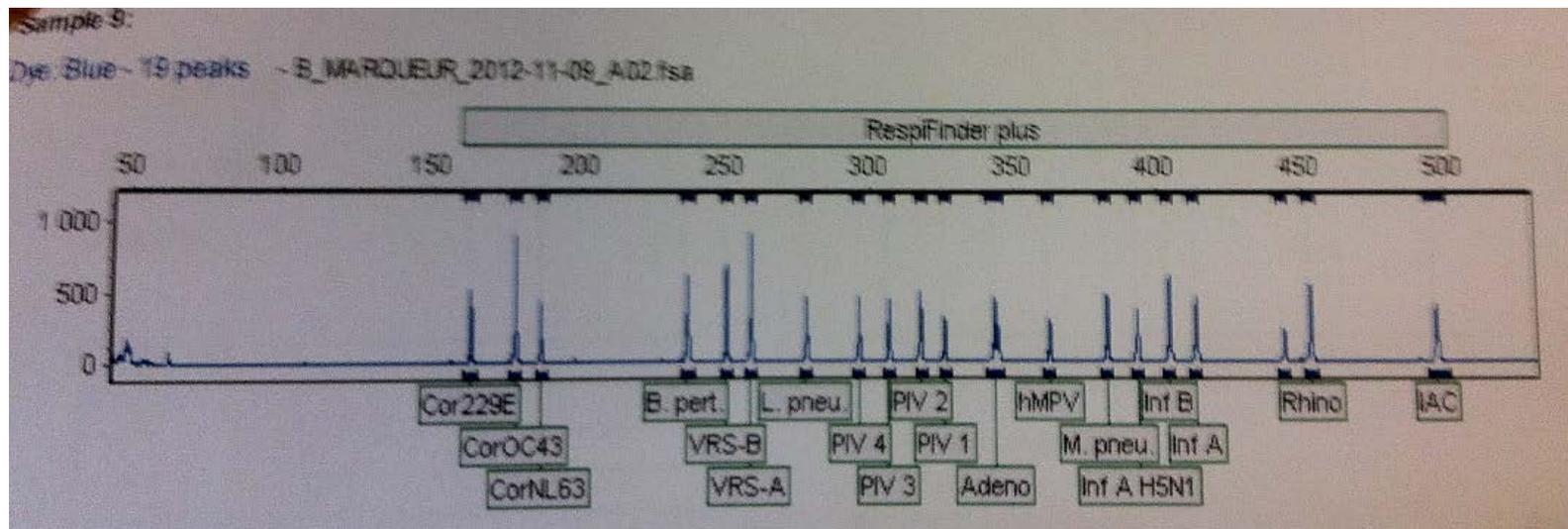
Capillary electrophoresis

<http://www.pathofinder.com>

JNI - 10 juin 2014



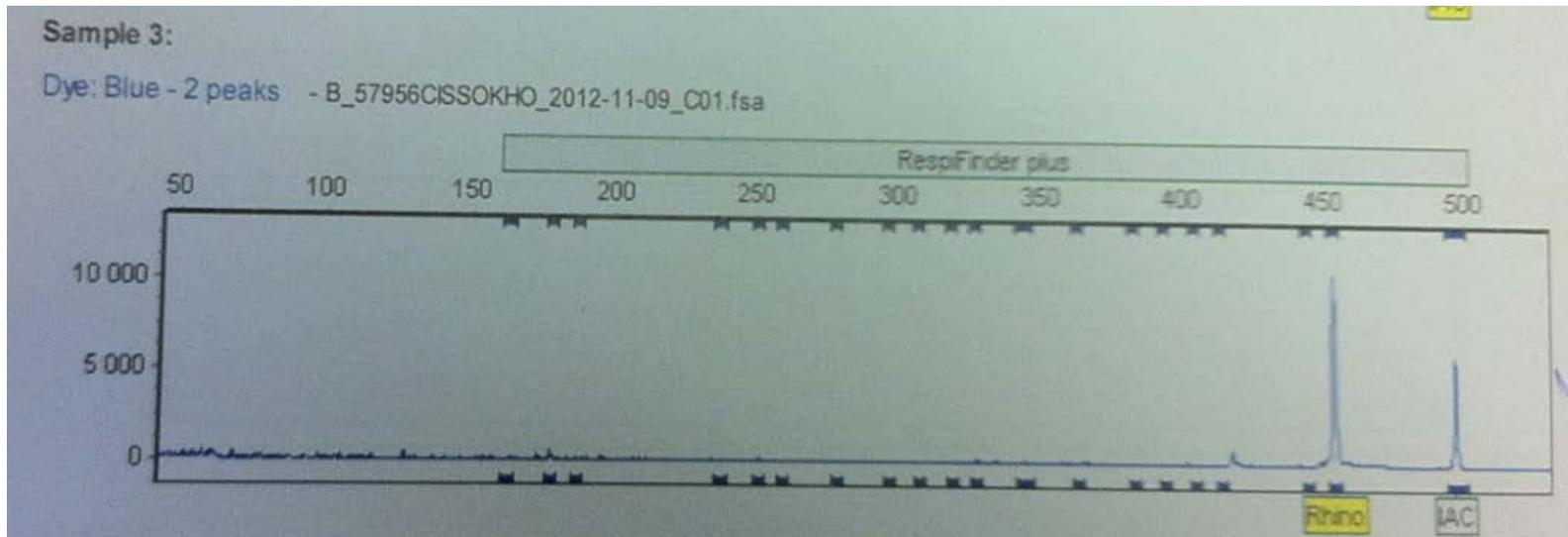
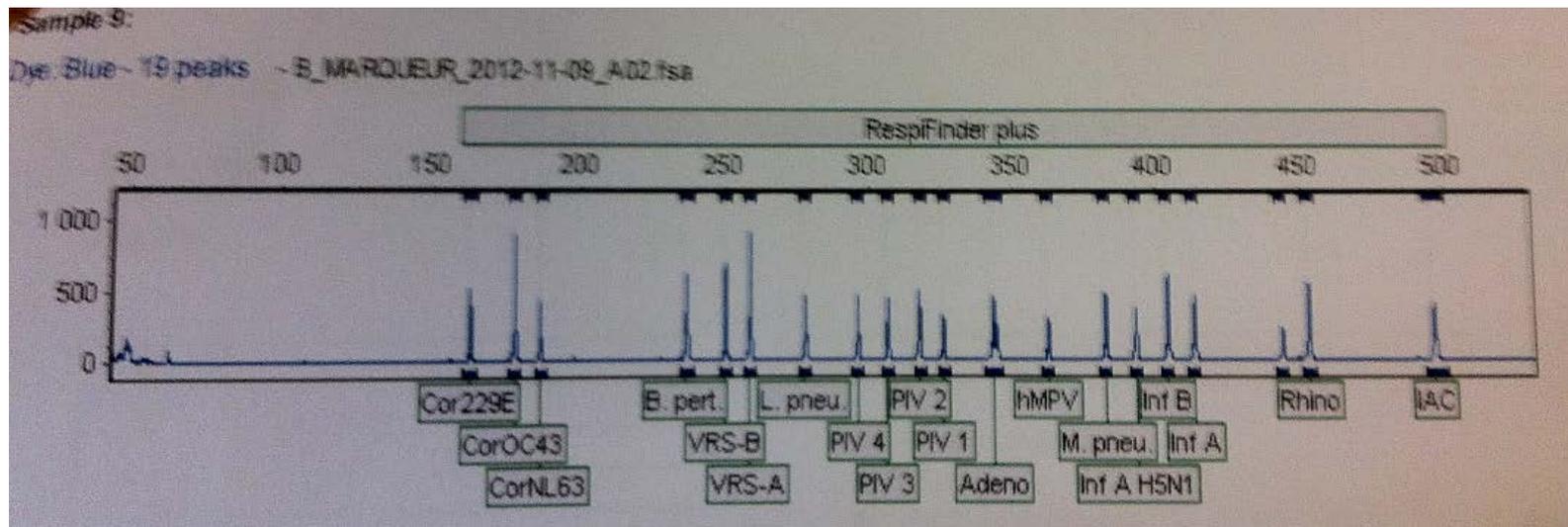
- 15 virus (Grippe A /B, H1N1, VRS A,B, Parainfluenzae (1 à 4), AdénoV, 3 CoronaV, MetapneumoV, RhinoV)
- 4 bactéries (*Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, *Legionella pneumophila*, *Bordetella pertussis*)



PCR suivie d'une lecture sur un séquenceur
Les pics correspondent à une taille d'amplicons

Résultats

RespiFinder® SMART 22



PCR suivie d'une lecture sur un séquenceur
Les pics correspondent à une taille d'amplicons

Analyses statistiques

- Données cliniques
- Comorbidités
- Marqueurs biologiques et inflammatoires
- Score Fine
- Classification CVE

Tests statistiques:

- le test de Student t ou *test d'analyse de variance*
- le test de Mann-Whitney U ou Kruskal-Wallis
- chi-squared ou test de Fisher.

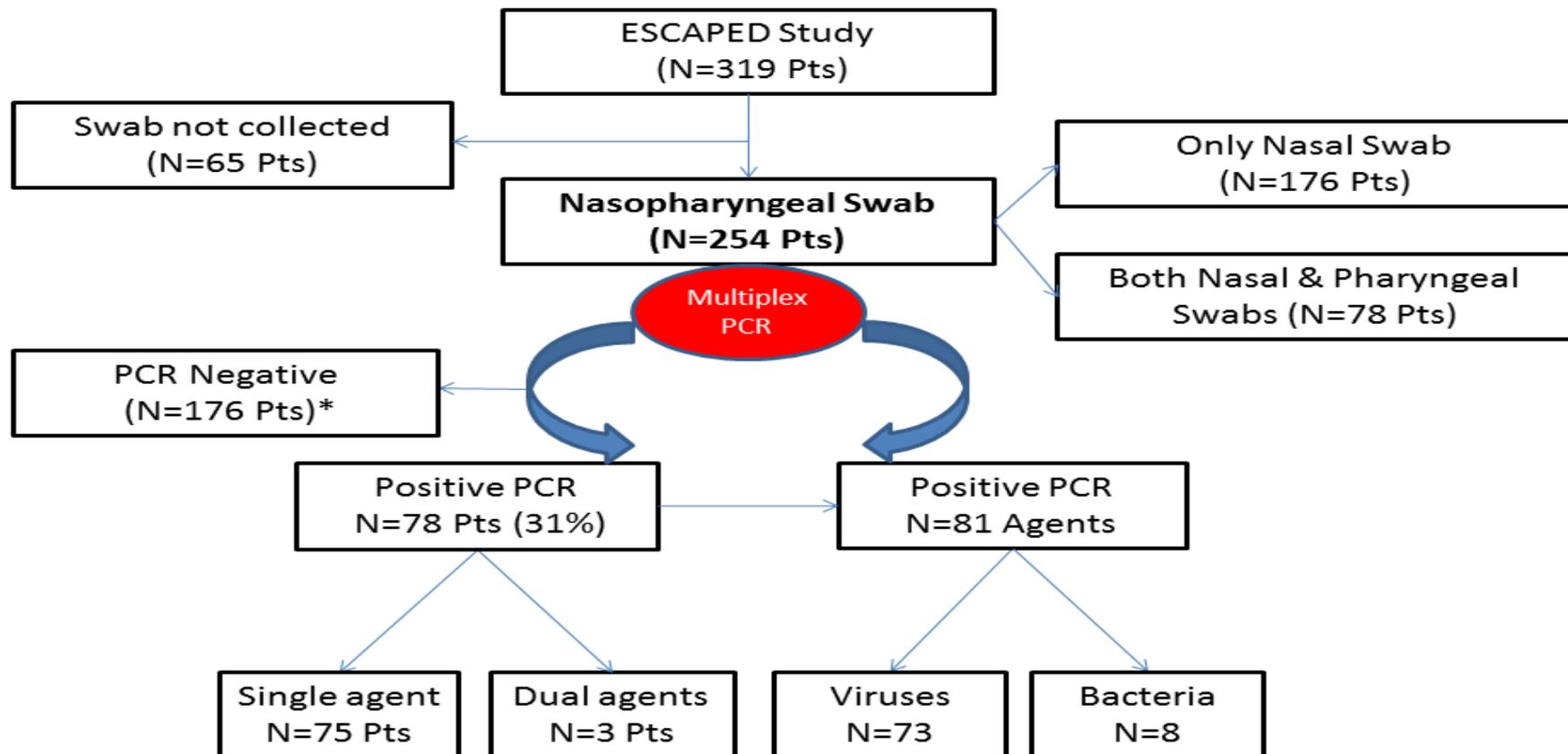
Résultats

- Caractéristiques des patients à l'inclusion

	PCR Study Group (254 Patients) No. (%)	PCR Positive (78 Patients) No. (%)	PCR Negative (176 Patients) No. (%)	<i>P</i> value (PCR Pos vs. PCR Neg)
Demographic Characteristics				
Female	130 (51)	37 (47)	93 (53)	0.43
Age, y, mean ± SD	65 ± 19	60 ± 21	66 ± 18	0.06
Coexisting Conditions				
At least 1 comorbidity	114 (45)	32 (41)	82 (47)	0.41
Neoplastic Disease	28 (11)	03 (04)	25 (14)	0.02
Congestive Cardiac Disease	28 (11)	08 (10)	20 (11)	1
Chronic Lung Disease	71 (28)	21 (27)	50 (28)	0.88
FINE Classification*				
Class I	38 (15)	17 (22)	21 (12)	
Class II	73 (29)	22 (28)	51 (29)	
Class III	56 (22)	21 (27)	35 (20)	0.06
Class IV	68 (27)	15 (19)	53 (30)	
Class V	19 (7)	03 (04)	16 (09)	

Résultats

- Détection des agents infectieux par PCR multiplex dans les prélèvements naso-pharyngés



Pt, Patient; *Includes uninterpretable PCR (N=1 Pt)

Résultats

Type	78 pts with pos. PCR, No. (%)
Single agent	75 (96)
Influenza A/B	27 (35)
Rhinovirus	20 (26)
Respiratory syncytial virus A/B	7 (9)
Coronavirus 229E/NL63/OC43	7 (9)
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6 (8)
Parainfluenza virus 3/4	4 (5)
Human metapneumo virus (hMPV)	3 (4)
Adenovirus	1 (1)
Multiple agents	3 (4)
Coronavirus 229E - <i>M. pneumoniae</i>	1 (1)
Coronavirus OC43 - hMPV	1 (1)
Rhinovirus - <i>M. pneumoniae</i>	1 (1)

Résultats

- Nov. 2011- déc. 2012,
78/254 (31%) pts SAU suspicion de PAC :
≥ 1 agent infectieux détecté par PCR multiplex,
dont 73 pts (29%) avec virus, 8 pts (3%) avec *M. pneumoniae*
- Bactériologie de routine (hémoc, urines..) : bactérie 31/190 (16%) pts
- Virus les plus fréquemment identifiés :
 - Virus de la grippe 35% pts PCR pos.
 - Rhinovirus 26% pts PCR pos.

Résultats

- Sous étude PCR, CVE , % pts avec PAC classée :
49% certaine, 7% probable, 11% possible, 33% exclue
- Détection des agents infectieux PCR selon Dg CVE de PAC

Dg CVE PAC	Pts avec PCR, No. (%)		
	Positive	Negative	Total
Certaine	44 (56 %)*	81 (46 %)	125
Probable	4 (5 %)	14 (8%)	18
Possible	9 (11 %)	19 (11%)	28
Exclue	21 (27 %)	62 (35 %)	83
Total	78	176	254

Résultats

Type	Patients with positive PCR N=78/254 No. (%)	Patients with positive PCR and	
		Definite, Probable, or Possible CAP, N=57	Excluded CAP, N=21
Single agent	75 (96)		
Influenza A/B	27 (35)	18	9^a
RhinoV	20 (26)	10	10^b
Respiratory syncytial V A/B	7 (9)	6	1
Coronavirus 229E/NL63/OC43	7 (9)	6	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	6 (8)	6	-
Parainfluenza virus 3/4	4 (5)	4	-
Human metapneumoV (hMPV)	3 (4)	3	-
AdenoV	1 (1)	1	-
Multiple agents	3 (4)		
Coronavirus 229E - <i>M. pneumoniae</i>	1 (1)	1	-
Coronavirus OC43 - hMPV	1 (1)	1	-
Rhinovirus - hMPV	1 (1)	1	-

a: P value : 0.42; b: P value : 0.01

Résultats intégrés - Sous étude PCR

- Score FINE IV - V chez 23% (n=18) pts avec PCR positive, plus faible que pts PCR négative, 39 % (n= 69) (p=0.01)

➡ PAC principalement virales, moins graves que autres PAC

- PCR selon classification CVE :

- ✓ Probabilité rhinovirus plus élevée chez pts PAC exclue (que chez pts 3 autres classes combinées) :

10/21 (48 %) vs. 10/57 (18 %) , [P=0.01]

➡ Portage asymptomatique ou infect. respiratoire VAS à rhinoV ?

- ✓ Probabilité virus grippe non différente :

➡ Virus grippe pas agent principalement de PAC

Discussion - Conclusion

- Virus détectés (niveau nasal) dans un tiers PAC adulte
- Etudes supplémentaires nécessaires pour évaluer :
portage asymptomatique de certains virus (rhinovirus)
et rôle dans les infections respiratoires basses
- Limites étude :
Bactériologie systématique, PCR *S. pneumoniae*
Rôles respectifs virus, bactéries et co-infections PAC adulte

A ce stade, analyse conjuguée clinique, radiologique et virologique paraît nécessaire pour :

- ✓ soit confirmer le rôle d'un virus dans la PAC
- ✓ soit suggérer une infection VAS ou un portage

- **Comité scientifique:**
- investigateurs principaux: Y.E. Claessens, X. Duval, M.F. Carette, C. Mayaud, C. Leport.
- *Autres membres:* E. Bouvard, M.P. Debray, N. Houhou, S. Tubiana.

Comité de validation des événements: M. Benjoar, F.X. Blanc, A.L Brun, L. Epelboin, C. Ficko, A. Khalil, H. Le Floch, J.M. Naccache, B. Rammaert.

- **Investigateurs cliniques:** A. Aubry, J.C. Allo, S. Andre, C. Andreotti, N. Baarir, M. Bendahou, L. Benlafia, J. Bernard, A. Berthoumieu, M.E. Billefont, J. Bokobza, E. Burggraff, P. Canavaggio, E. Casalino, S. Castro, C. Choquet, H. Clément, L. Colosi, A. Dabreteau, S. Damelincourt, S. Dautheville, M.P. Debray, M. Delay, S. Delerme, L. Depierre, F. Djamouri, F. Dumas, M.R.S. Fadel, A. Feydey, Y. Freund, L. Garcia, H. Goulet, P. Hausfater, E. Ilic-Habensus, M.O. Josse, J. Kansao, Y. Kieffer, F. Lecomte, K. Lemkarane, B. Madonna-Py, O. Meyniard, L. Mzabi, D. Pariente, J. Pernet, F. Perruche, J.M. Piquet, R. Ranerison, P. Ray, F. Renai, E. Rouff, D. Saget, K. Saïdi, G. Sauvin, E. Trabattoni, N. Trimech.
- **Monitoring, management et analyses statistiques:** C. Auger,