

Approche syndromique révolutionnaire !

*Moins de 70 minutes pour
le diagnostic étiologique
de méningite / encéphalite.*

 FilmArray®



Corata - Rouen
20 septembre 2018

Cécile Meex
Microbiologie clinique





Syndrome



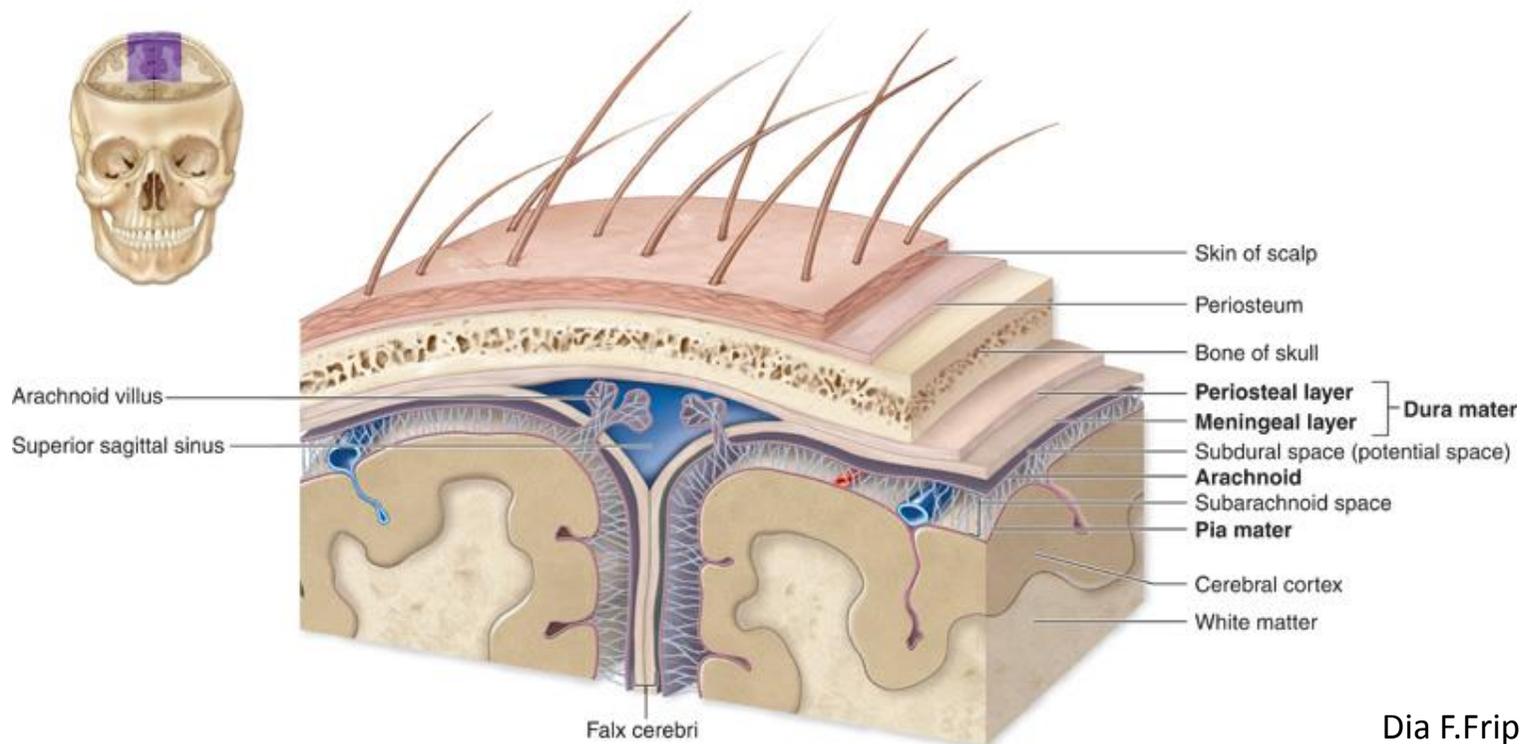
- . Ensemble de signes, de symptômes, d'apparence parfois disparate mais formant une entité reconnaissable, qui permettent d'orienter le diagnostic.
- . retrouvés dans:
 - ” L’anamnèse
 - . Poser les questions
 - . Écouter les réponses (!)
 - ” L’examen clinique

→ ***Faire des hypothèses
diagnostic***

Méningite

- “ Inflammation des méninges
 - . zone contenant le LCR
- “ Identifiée par augmentation des GB dans le LCR

Copyright © The McGraw-Hill Companies, Inc. Permission required for reproduction or display.



Méningite: symptômes

“ **Habituellement:**

- “ Fièvre $\geq 80\%$
- “ Céphalées $\geq 85\%$
- “ Méningisme $\geq 80\%$
- “ Altération de l'état de conscience $\geq 75\%$
- “ Vomissements $\sim 35\%$
- “ Convulsions $\sim 30\%$
- “ Signes neurologiques focaux 10-35%
- “ Œdème papillaire (FO) $< 5\%$

95% × 2

→ **Diagnostic différentiel = encéphalite:**

stt troubles comportement, épilepsie, paresthésies, ... par atteinte diffuse du cortex, peu de signes méningés.

Méningite: agents étiologiques

Méningite communautaire: épidémiologie bactérienne en fonction de l'âge

Nouveau né	Enfant de 3 mois à 2 ans	Enfant de 2 à 15 ans Jeune adulte	Adulte âgé
<ul style="list-style-type: none"> " Streptocoque du groupe B " <i>Escherichia coli</i> " <i>Listeria monocytogenes</i> 	<ul style="list-style-type: none"> " <i>Streptococcus pneumoniae</i> " <i>Neisseria meningitidis</i> " (<i>Haemophilus influenzae</i> type b) 	<ul style="list-style-type: none"> " <i>Neisseria meningitidis</i> " <i>Streptococcus pneumoniae</i> 	<ul style="list-style-type: none"> " <i>Streptococcus pneumoniae</i> " <i>Listeria monocytogenes</i> " <i>Neisseria meningitidis</i>

Méningite post chirurgie, trauma...

Staphylocoques
Propionibacterium acnes
Pseudomonas aeruginosa

HIV/SIDA

Treponema pallidum
Cryptococcus neoformans
Mycobacterium tuberculosis

Méningo-encéphalite

” L’infection touche le LCR, les leptoméninges et le parenchyme cérébral. Altération *précoce* de l’état de conscience et signes neurologiques focaux

. **Encéphalite**: essentiellement virale

” Herpesvirus

” Arbovirus (West Nile, St Louis, encephalite japonaise, encéphalite à tique,...),

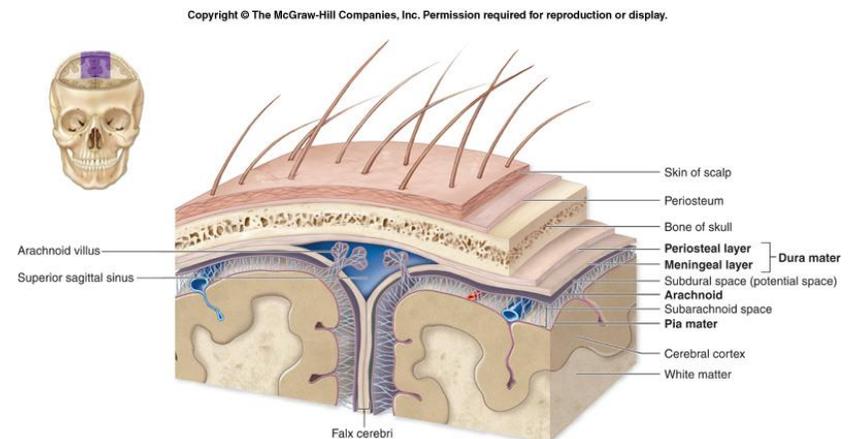
” enterovirus

” oreillons

” rage....

→ VOYAGE?

Pas d'étiologie dans 32-75%



**DIAGNOSTIC DES
MENINGITES/ENCEPHALITES
AU LABORATOIRE**

Examen indispensable : LCR



“ **Toujours avant** la Ponction Lominaire:

- . Biologie sanguine: hémostase et plaquettes

“ Parfois faire AVANT

- . un **scanner cérébral**

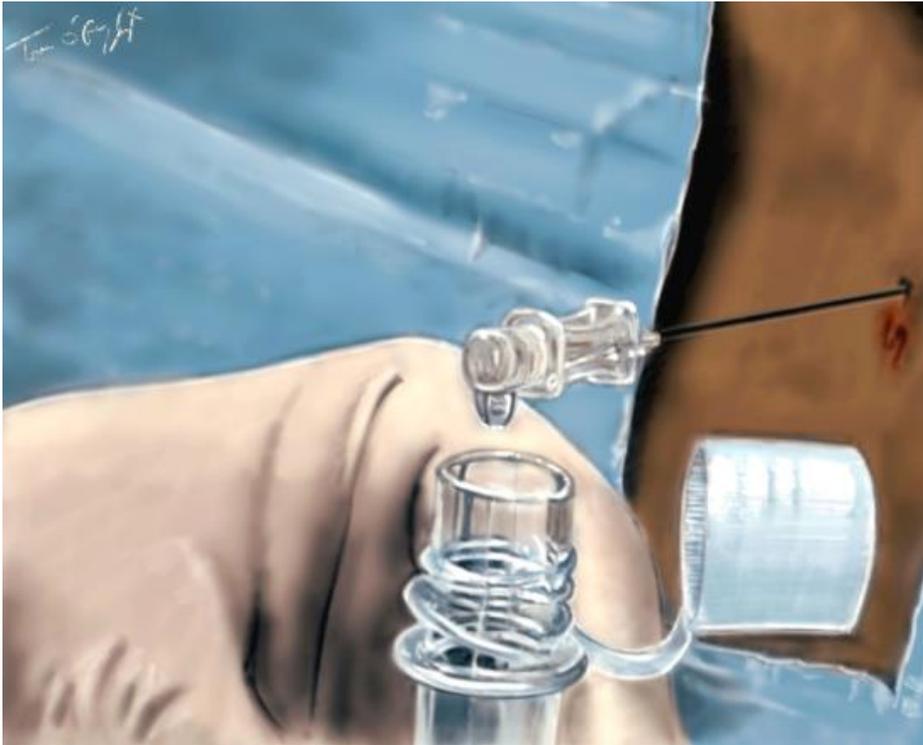
(signes de focalisation neurologique, crises épileptiques, troubles de la conscience, ..)

“ A éviter avant PL sauf si urgence clinique

- . **une antibiothérapie probabiliste**

(purpura fulminans, retard de prise en charge, engagement cérébral, instabilité hémodynamique...)

Valeur normale du LCR



- ” Eau de roche
- ” Stérile
- ” Protéines <0,4 g/L
- ” Glucose: <0,5 g/L ou < 60% de la glycémie
- ” Ions: Na+:147 mM / l, K+ : 2,9 mM / l, Cl-: 113mM / l, Ca⁺⁺: 1,1 mM / l.
- ” <5 éléments /mm³
(ou 10-30 chez le nouveau-né)

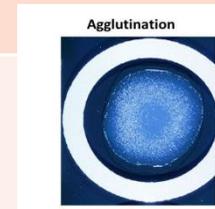
Éléments d'orientation biologique

	Virale	Bactérienne (Pneumo, méningo, E. coli, GBS)	Tuberculose Listeria
Aspect LCR	Clair	Trouble <i>(le plus souvent)</i>	Clair
Leucocytes/mm³	Qq dizaines ou centaines	>1000	Qq dizaines ou centaines
Formule LCR	Lymphocytes++	Polynucléaires (sauf si décapitée)	Lymphocytes++
Glycorachie	Normale	Abaissée	Abaissée
Protéïnorachie	Normale ou peu élevée	Élevée	Peu élevée
CRP	Normale ou peu élevée	Élevée	Variable

Prise en charge classique des LCR au CHU Liège

24H/24

	Méthodes	Délai moyen réponse
	Cytologie / Biochimie	1 à 2 h
	Examen direct (GRAM)	1 à 2 h
	Culture	10-24h
	Antigène cryptocoque	1 à 2 h
	Antigènes (tests rapides pneumo-méningo sur LCR)	Idem microscopie
	PCR Enterovirus	2h (GeneXpert)



Prise en charge classique des LCR au CHU Liège

	Type de PCR	Délai moyen de réponse à partir du jour de prélèvement
Jours ouvrables	PCR réalisées au CHU	
	HSV, VZV, CMV, méningocoque, pneumocoque, (JC/BK)	24h-72h
	PCR sous-traitées	
	Listéria, Haemophilus	48h-4j
	Autres tests (sérologie, biochimie spécialisée...)	



Le rêve des techniciens!!!



FilmArray®



Panel méningite/encéphalite

1 test. 14 cibles.
Résultats en 1 heure environ

Virus	Bactéries	Levure
<ul style="list-style-type: none">● Cytomégalo virus (CMV)● Entérovirus● Virus herpès simplex 1 (HSV-1)● Virus herpès simplex 2 (HSV-2)● Herpès virus humain 6 (HHV-6)● Parécho virus humain● Virus varicelle-zona (VZV)	<ul style="list-style-type: none">● <i>Escherichia coli</i> K1● <i>Haemophilus influenzae</i>● <i>Listeria monocytogenes</i>● <i>Neisseria meningitidis</i>● <i>Streptococcus agalactiae</i>● <i>Streptococcus pneumoniae</i>	<ul style="list-style-type: none">● <i>Cryptococcus neoformans / gattii</i>



FilmArray® (BioFire/bioMérieux)

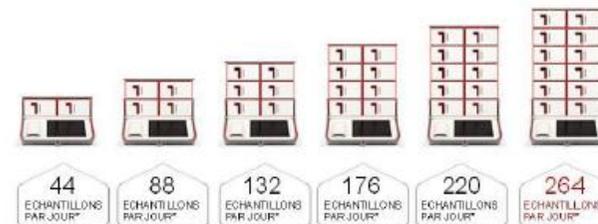
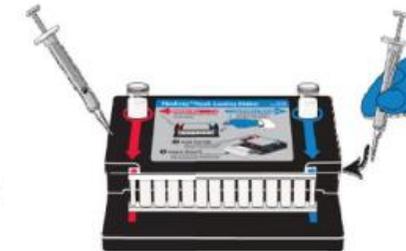
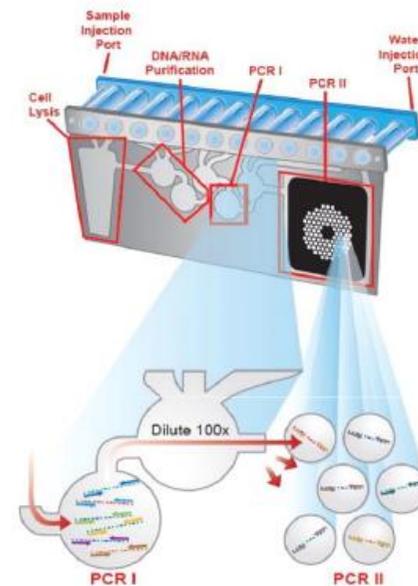
Caractéristiques

- Système unitaire incluant extraction + PCR nichée (courbes de fusion)
- Totalement automatisé, **qualitatif**
- 2 modèles d'instruments
 - FilmArray 2.0: de 1 à 8 instruments unitaires
 - Torch: instrument modulaire de 2 à 12 modules

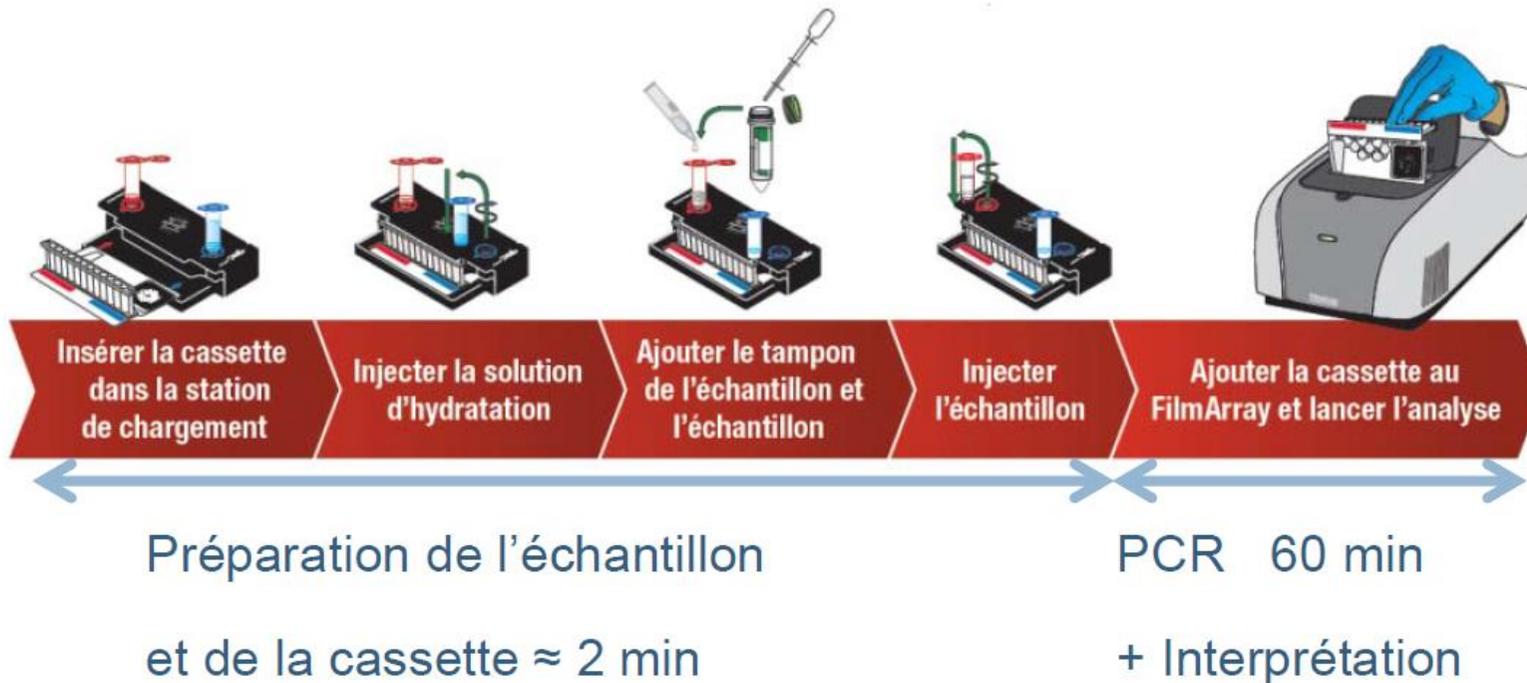
Panels syndromiques commercialisés IVD/FDA

- Respiratoire « voies hautes » : 3 versions
- Méningite/Méningoencéphalite
- Hémocultures
- Gastro intestinal

The FilmArray Pouch



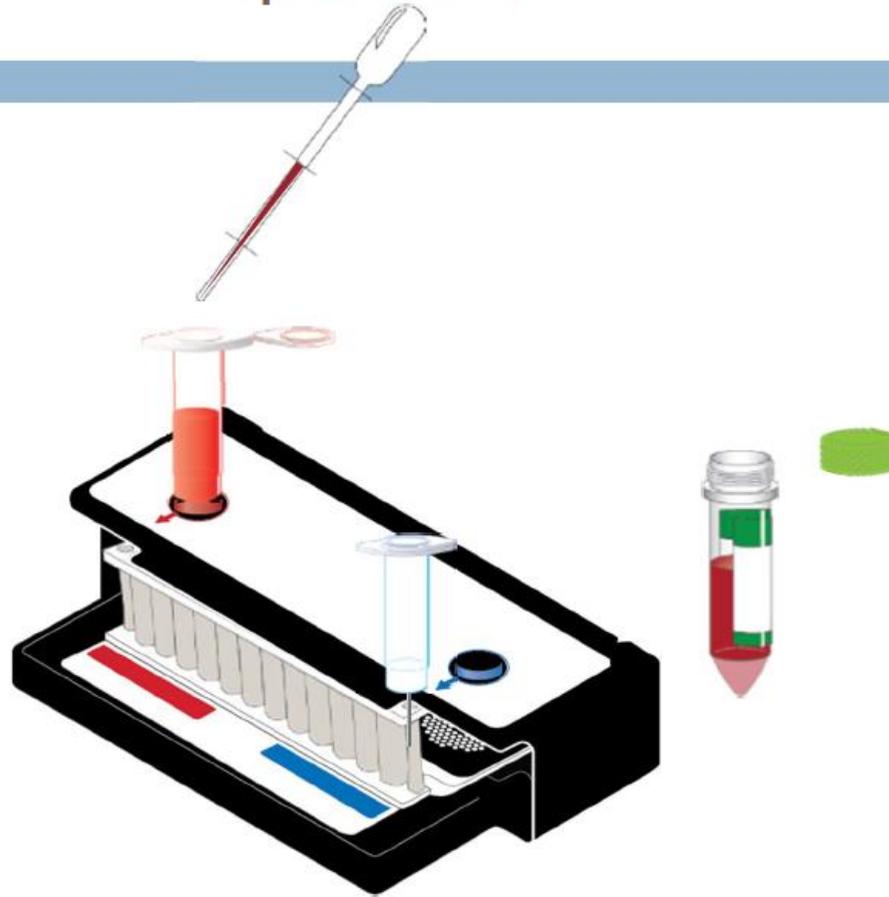
Principe de la technique

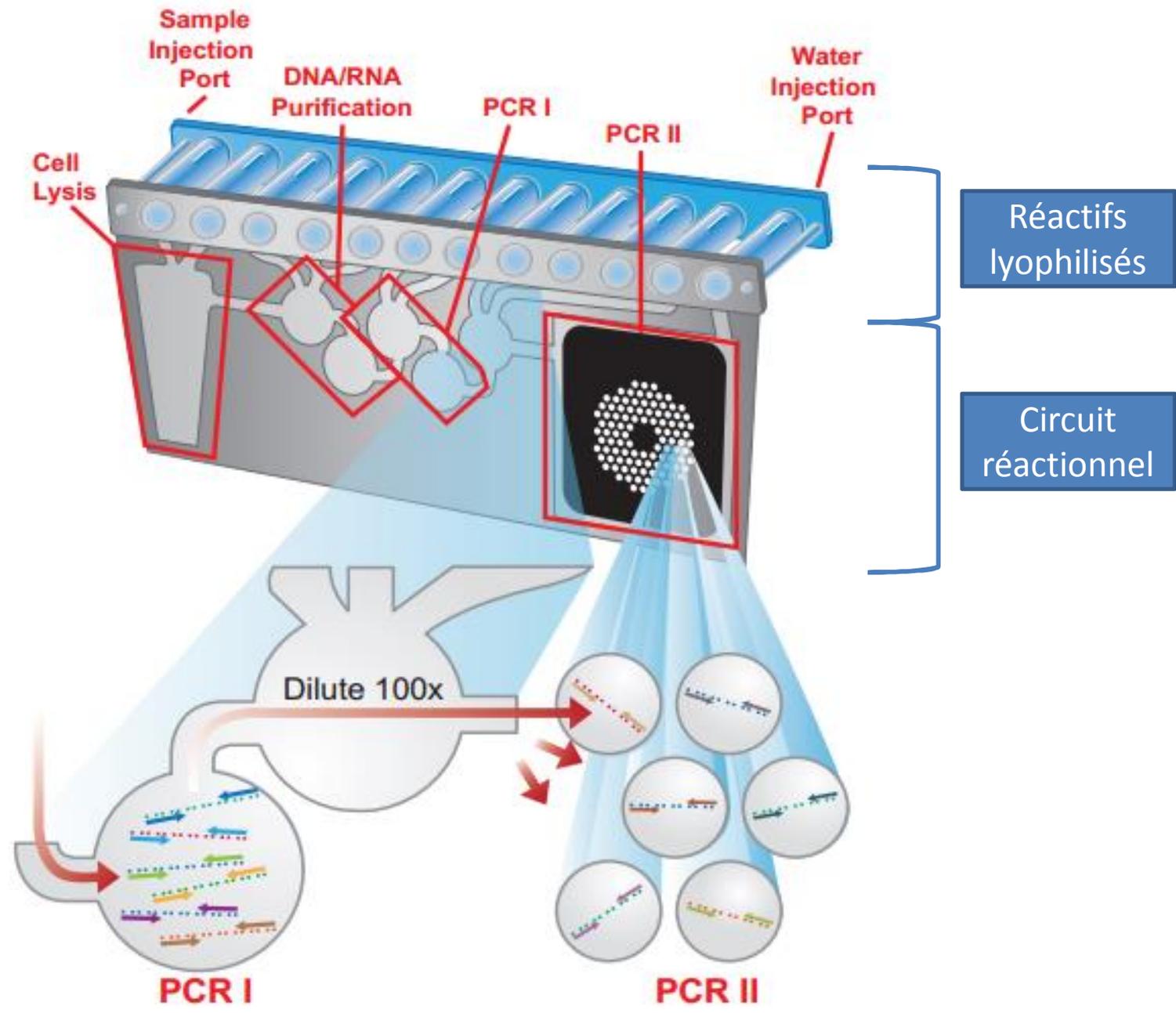


Préparation

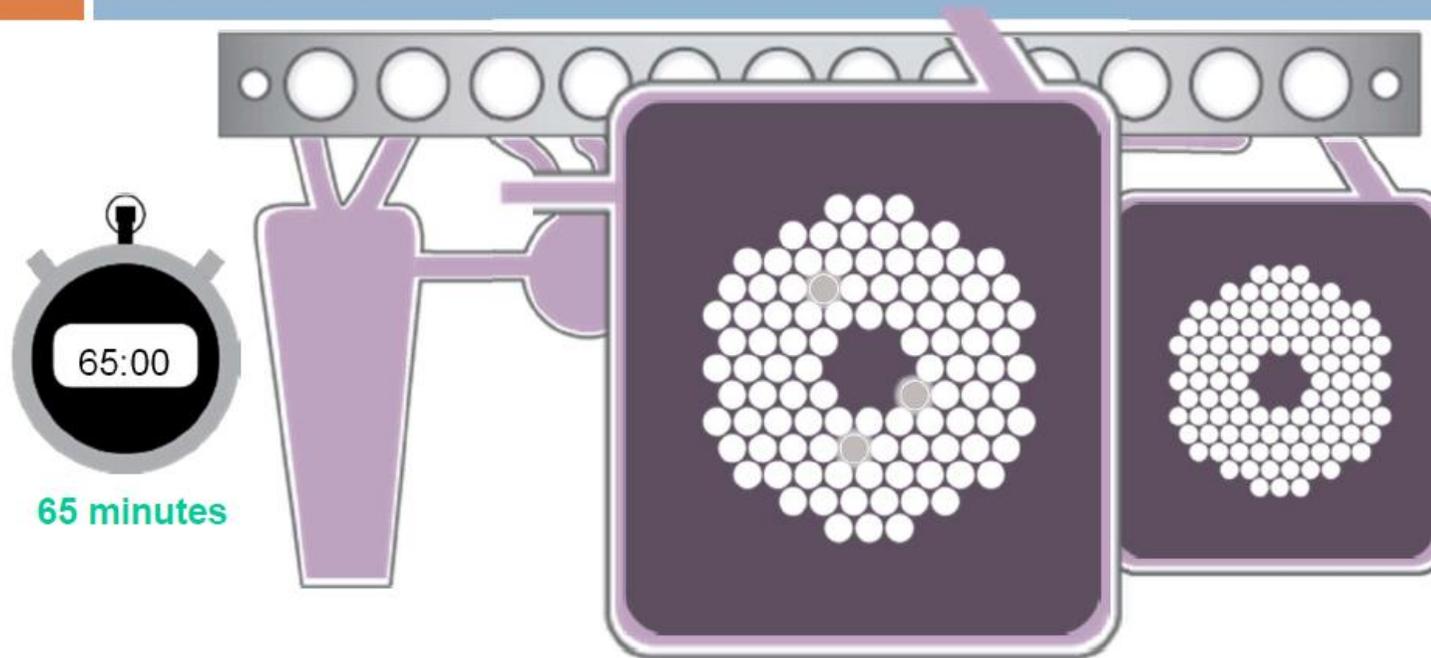


Temps de manipulation:
2 minutes





Lyse, extraction, amplification, détection

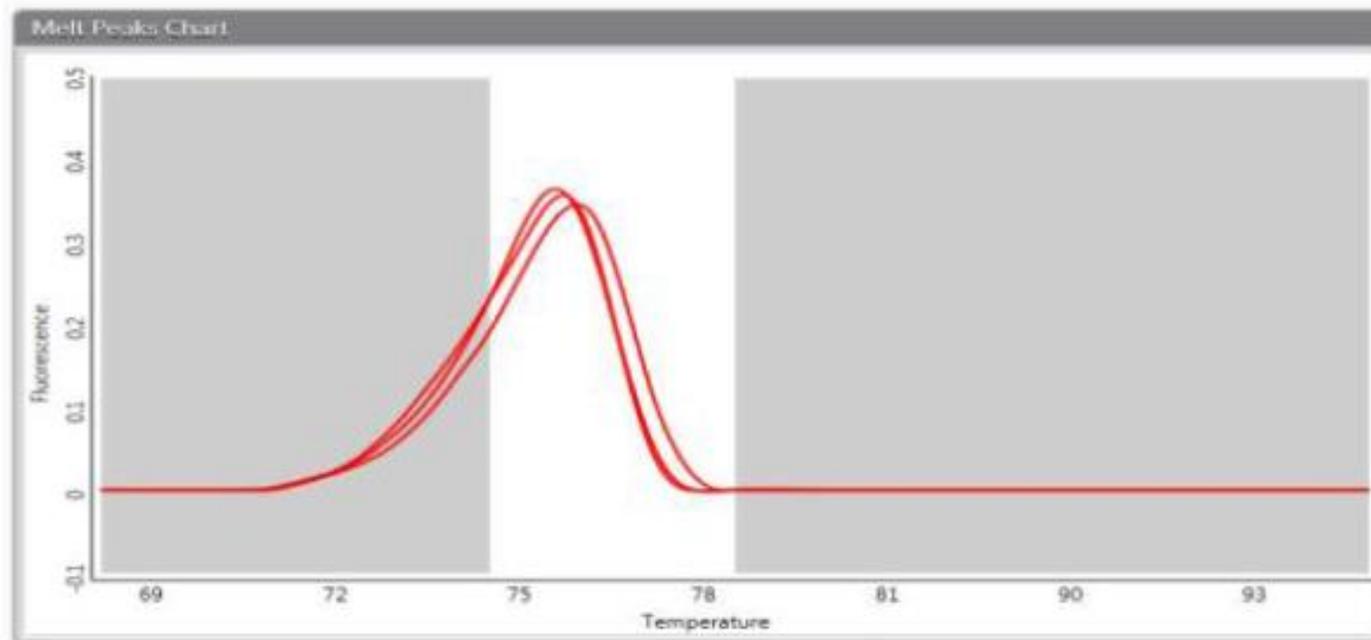


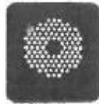
Chaque puits contient un couple d'amorces pour la deuxième PCR permettant l'amplification spécifique de l'ADN cible. Un agent intercalant fluorescent permet la détection de l'ADN double-brin amplifié.

Interprétation

” 3 critères:

- . Au moins 2 des 3 courbes de fusion positives
- . Point de fusion dans la plage spécifique du test
- . Point de fusion d’au moins 2 des 3 courbes similaires à +/- 1°C





FilmArray
Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD



www.BioFireDx.com

Run Summary

Sample ID: 13-171206-5238

Run Date: 06 Dec 2017
 9:31 PM

Detected: Enterovirus

Controls: Passed

Result Summary

Bacteria

Not Detected *Escherichia coli* K1
 Not Detected *Haemophilus influenzae*
 Not Detected *Listeria monocytogenes*
 Not Detected *Neisseria meningitidis*
 Not Detected *Streptococcus agalactiae*
 Not Detected *Streptococcus pneumoniae*

Viruses

Not Detected Cytomegalovirus
 ✓ Detected Enterovirus
 Not Detected Herpes simplex virus 1
 Not Detected Herpes simplex virus 2
 Not Detected Human herpesvirus 6
 Not Detected Human parechovirus
 Not Detected Varicella zoster virus

Yeast

Not Detected *Cryptococcus neoformans/gattii*

Run Details

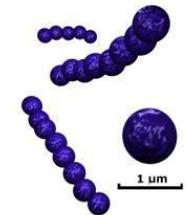
Pouch: ME Panel v1.4
Run Status: Completed
Serial No.: 10175879
Lot No.: 578217

Protocol: CSF v3.0
Operator: assistant assistant (assistant)
Instrument: 2FA02104

Streptocoque du groupe B

= *Streptococcus agalactiae* = GBS

- Bactérie commensale du tractus gastro-intestinal/génital des adultes
- Colonisation asymptomatique de 10 à 40% de la population adulte
- Responsable d'infections chez l'adulte: personnes âgées, avec maladies sous-jacentes...
- Associé à des infections périnatales, affectant la mère et le nouveau-né



Streptococcus agalactiae
Cocci Gram +

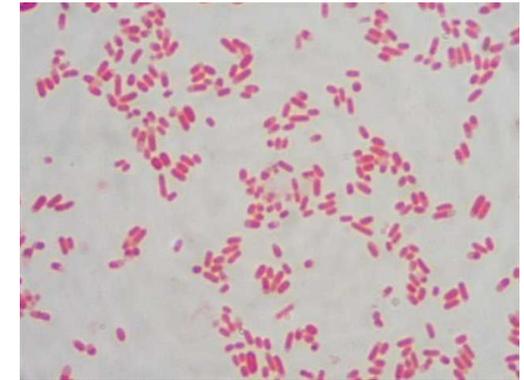
	Infection néonatale précoce	Infection néonatale tardive
Age	0-6 jours (12h)	1 semaine-3 mois
Transmission	Verticale	Horizontale
Présentation clinique	Détresse respiratoire → pneumonie Sepsis Méningite 5-15%	Fièvre Bactériémie Méningite 25-70%



Stratégies de prévention des infections néonatales :

- ❖ Actuellement recommandé: ABprophylaxie intrapartum
- ❖ Sur base d'un dépistage vagino-rectal anténatal

Escherichia coli



Bacilles Gram -

- “ Entérobactérie
 - “ Habitat: intestin de l’homme et des animaux
 - “ Pathogénicité: nombreuses maladies de gravité variable chez l’homme (infection urinaire, dysenterie bacillaire, ...).
-
- “ Escherichia coli K1
 - . K1 = polysaccharide capsulaire → capsule protégeant la bactérie du système immunitaire
 - . Méningites chez le prématuré et le nouveau-né.
 - “ Transmission verticale
 - . Infections opportunistes chez l’adulte (post trauma ou chirurgie)

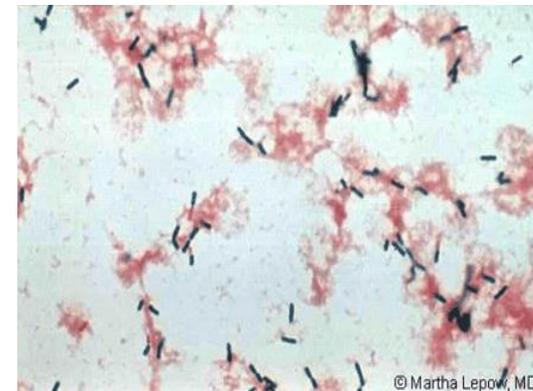
Listeria monocytogenes

- “ Bactérie saprophyte à Gram + largement répandue dans la nature:
 - . Dans l’environnement (sols, eaux...)
 - . Dans les locaux d’habitation et les locaux d’élevage animalier
 - . Chez l’animal et chez l’homme: portage dans le tube digestif

- “ Bactérie très résistante:
 - . capable de se multiplier entre 1 et 45°C

- “ Contamination humaine presque toujours d’origine alimentaire
 - . Lait cru et fromages au lait cru
 - . Charcuteries
 - . Viandes et poissons fumés
 - . Aliments crus d’origine animale ou végétale

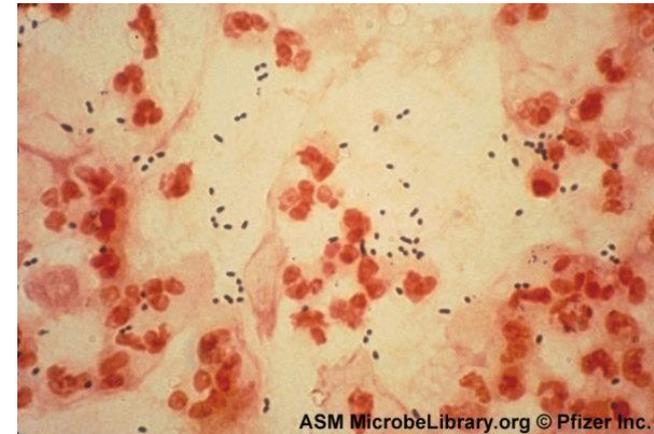
- “ Catégories de personnes à risque:
 - . Femmes enceintes
 - . Nouveaux-nés (contaminés par leur mère)
 - . Individus présentant une immunité défaillante
 - . Personnes âgées



Petit bacille Gram+ (0,5 à 1,2 μ m), extrémités arrondies
Isolé, en courtes chaînettes, en V, en L, parfois en amas ou palissade
Intra ou extra-cellulaire

Streptococcus pneumoniae

- ” Bactérie commensale des voies aériennes supérieures
 - ” Capsule polysaccharidique : facteur de virulence
 - . 90 sérotypes
 - ” Pouvoir pathogène:
 - . Pneumonie communautaire
 - . Infections ORL
 - . Méningite
 - ” Vaccin polyvalent
 - . nouveau-né,
 - . immunodéprimés
 - . >65 ans
- réduction des infections invasives et pneumonies de 50 à 80%



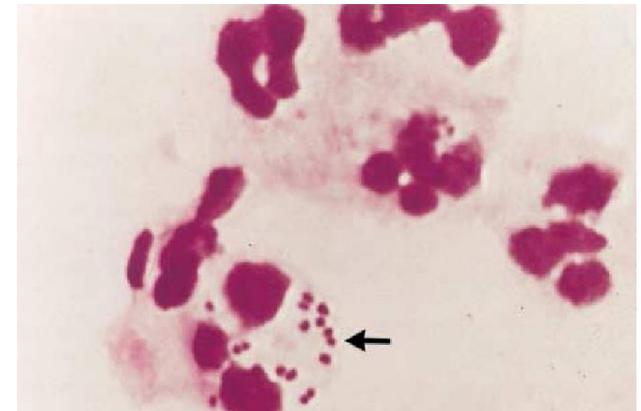
Diplocoques Gram +
Capsule visible

Neisseria meningitidis

- “ Cocci à Gram négatif
- “ Réservoir spécifiquement humain: portage nasopharyngé
- “ Plusieurs sérogroupes: A, B, C, W...
- “ Pouvoir pathogène:
 - . Méningite
 - . Purpura fulminans
- “ Vaccin
 - . Méningo C
 - . Méningo B



Fig. 10.59 Acute meningococcaemia. Large ecchymoses of variable size and with an irregular edge.

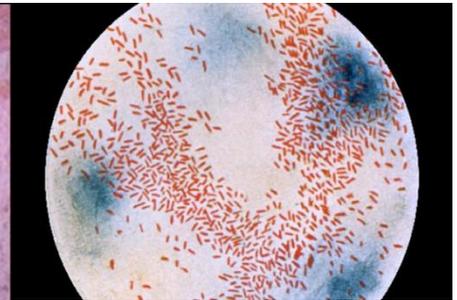


Diplocoques Gram -
En grains de café



Haemophilus influenzae

- “ Appartient à la flore normale des voies respiratoires et de la cavité buccale de l’homme.
- “ 2 groupes:
 - . Souches encapsulées: 6 sérotypes (a à f)
 - . Souches non typables
- “ Pouvoir pathogène:
 - . Infections respiratoires
 - . Infections ORL
 - . Méningites (enfant de 6 mois à 3 ans): type b
- “ Vaccin *H.influenzae* type B



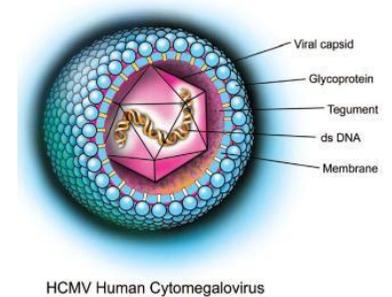
Petit bacilles Gram -

Cryptococcus neoformans

- “ Levure (champignon) encapsulée présente dans le sol et les fientes d’oiseaux
- “ Contamination par inhalation
- “ Pathogène opportuniste chez patient immunodéprimé (SIDA)
- “ Diagnostic rapide sur LCR:
 - . Encre de chine
 - . Test antigénique

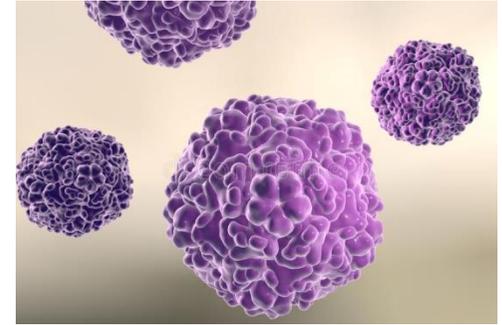


Cytomégalovirus



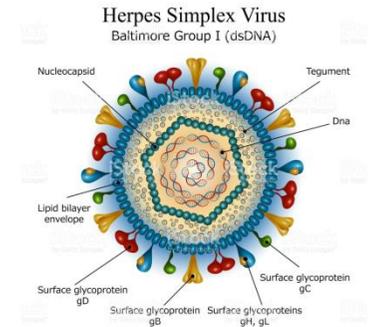
- “ Virus à ADN à double brin de la famille des *Herpesviridae*
- “ Séroprévalence élevée
- “ Pouvoir pathogène:
 - . Infection généralement asymptomatique chez les individus sains
 - . Transmission maternelle : infection congénitale
 - . pathogène opportuniste chez les individus immunodéprimés

Enterovirus



- “ petit virus à ARN de la famille des *Picornaviridae*
- “ infections asymptomatiques < bénignes (respiratoire, GI) < maladies graves du SNC
- “ Epidémiologie
 - . Enfants
 - . Période d'été
- “ cause la plus couramment identifiée d'encéphalite/méningite infectieuse

Herpes simplex 1 et 2



- “ Virus à ADN de la famille des *Herpesviridae*
- “ Ulcérations:
 - . HSV1: enfance → lésions orales
 - . HSV2: activité sexuelle → lésions génitales
- “ Latence dans les cellules nerveuses
- “ Réactivation:
 - . Bouton de fièvre, Herpès génital...
- “ Complications
 - . méningite (HSV2 > HSV1), encéphalite (HSV1 > HSV2)

Encéphalite à HSV = urgence diagnostique!
Traitement par Zovirax

Herpes 6 virus

- “ Virus à ADN de la famille des *Herpesviridae*
- “ Roséole chez l’enfant
- “ Latence dans les tissus du cerveau
 - . Signification clinique d’une PCR positive?
- “ Réactivation possible: immunodéprimé >>> immunocompétent

Commentaire:

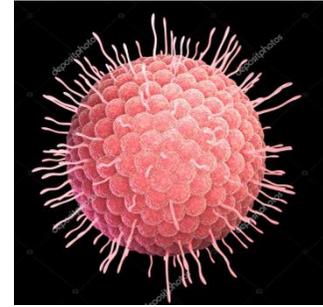
« POSITIF pour Human herpesvirus 6.

Par ailleurs, la détection du virus ne permet pas la distinction entre infection primaire, réactivation secondaire et virus à l'état latent. A confronter aux données cliniques et biologiques. »

Parechovirus

- “ famille des *Picornaviridae*
- “ Transmission orofécale et respiratoire
- “ Symptômes :
 - . maladies respiratoires ou gastro-intestinales bénignes
 - . HPeV-3 : maladies graves telles que la septicémie, l'encéphalite, la méningite et l'hépatite chez les enfants de moins de 3 mois

Varicelle



- “ virus à ADN à double brin de la famille des *Herpesviridae*
- “ Enfance: varicelle
 - Latence dans les ganglions sensitifs du système nerveux
- “ Réactivation: zona
- “ Méningite/encéphalite : complications de la varicelle et du zona

**VALIDATION DU
PANEL BIOFIRE M/E**

Objectifs de la validation

- “ **Vérifier les performances** du test annoncées par le fabricant
 - “ S’assurer que ces performances rencontrent les **besoins cliniques**
 - “ **Accréditer** les paramètres HSV, VZV et ENTV
- **Implémenter la technique dans la routine du laboratoire en 7/7J - 24/24H**
en remplacement ou complément de nos PCR classiques

Protocole

“ Référentiel:

Guide Technique
d'Accréditation des
Méthodes de Biologie
Clinique (COFRAC)



COMITÉ
FRANÇAIS
D'ACCREDI-
TATION

“ Panel Biofire M/E :

test qualitatif de portée
A (marqué **CE-IVD**) →
vérification de méthode



BIO  FIRE®
A BIOMÉRIEUX COMPANY

Vérification de méthode CE-IVD

“ Vérification sur site

- . Exactitude
- . Sensibilité analytique (LOD)
- . Reproductibilité
- . Comparaison avec les méthodes actuellement en place dans le laboratoire
- . Comparaison avec des méthodes de référence par le biais de CQE



“ Données de littérature

- . Spécificité analytique
- . Spécificité et sensibilité diagnostiques
- . Contamination

Paramètres validés

- “ Sélection de microorganismes couvrant l’entièreté du panel, à l’exception de
 - . **HHV6:**
 - “ Institut REGA indisponible au moment de la validation
 - “ Signification clinique de la positivité indéterminée
 - . **Parechovirus**
 - “ CNR (UZ Leuven) ne possède pas de culture pour ce virus
 - “ Paramètre jusqu’à présent jamais demandé par les cliniciens

Sensibilité analytique (LOD)

- “ **Vérification de la limite de détection annoncée** par le fabricant pour les ≠ microorganismes
- “ **Comparaison** avec la limite de détection de la PCR simplex si réalisée au laboratoire

- “ **Performances attendues:**
 - . LOD proches de celles annoncées et de nos méthodes de références
 - . LOD acceptable si
 - “ Inférieure à celle annoncée ou de référence
 - “ Supérieure à celle annoncée ou de référence de maximum $1 \log_{10}$

LOD: Bactéries et levure

Souches	Panel: LOD annoncée	PCR simplex réalisée au laboratoire	PCR simplex: LOD mesurée	Panel: LOD mesurée	
<i>Escherichia coli</i> K1	1000 CFU/ml	/	NA	25 CFU/ml	OK
<i>Haemophilus influenzae</i>	1000 CFU/ml	/	NA	250 CFU/ml	OK
<i>Listeria monocytogenes</i>	1000 CFU/ml	/	NA	250 CFU/ml	OK
<i>Neisseria meningitidis</i>	100 CFU/ml	PCR maison	10 CFU/ml	50 CFU/ml	OK
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1000 CFU/ml	/	NA	250 CFU/ml	OK
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	100 cellules/ml	PCR maison	100 CFU/ml	1000 CFU/ml	OK = log ₁₀
<i>Cryptococcus neoformans</i>	100 CFU/ml	/	NA	25 CFU/ml	OK

→ OK

LOD: Virus

Souches	Panel: LOD annoncée	PCR simplex réalisée au laboratoire	PCR simplex: LOD mesurée	Panel: LOD mesurée	
CMV	4300 copies/ml	Diagenode	Dilution 2 (≈ 176 copies/ml)	Dilution 2 (≈ 176 copies/ml)	OK
CoxsackieB5	5-50 DICT50/mL	GeneXpert	Dilution 2 (dilution 10^6 X)	Dilution 2 (dilution 10^6 X)	OK
Echovirus 11	5-50 DICT50/mL		Dilution 2 (dilution 10^6 X)	Dilution 2 (dilution 10^6 X)	OK
HSV-1	1000 CFU/ml	PCR maison	Dilution 4 (dilution 10^3 X)	Dilution 4 (dilution 10^3 X)	OK
HSV-2	100 CFU/ml			Dilution 5 (dilution 10^4 X)	OK
VZV	1220 copies/ml	Diagenode	50 copies/ml	50 copies/ml	OK

→ OK

Comparaison de méthodes

” Période 08/2016 à 11/2017:

Panels réalisés et contrôlés par méthodes de référence (PCR ou culture)

. **Tous les échantillons: 157**

” Panels négatifs: 132

” **Panels positifs: 25**

. Détections simples: 25

. Codétections: 0

” Panels non interprétables: 0

Comparaison de méthodes

” Performances bactéries et levure

Paramètres	Positifs Panel/Méthode réf.	Sensibilité	Spécificité
<i>Escherichia coli</i> K1	2/1	100%	99.4%
<i>Haemophilus influenzae</i>	0/0	NA	NA
<i>Listeria monocytogenes</i>	0/0	NA	NA
<i>Neisseria meningitidis</i>	1/1	100%	100%
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0/0	NA	NA
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6/5	100%	99.3%
<i>Cryptococcus neoformans</i>	1/1	100%	100%

Comparaison de méthodes

” Performances virus

Paramètres	Positifs Panel/Méthode réf.	Sensibilité	Spécificité
CMV	0/1	0%	100%
Enterovirus	7/8	87.5%	100%
HSV1 + HSV2	4/4 (dont 1 faux+ et 1 faux -)	75%	99.3%
HHV6	0/NA	NA	NA
Human Parechovirus	0/NA	NA	NA
VZV	4/2	100%	98.7%

Contrôles de qualité externes

“ Enterovirus : QCMD 2016, challenge 2

		Résultats attendus	Résultats PCR GenXpert	Résultats panel M/E FilmArray
EVRNAC2- 01	13-160823-0070	Négatif	Négatif	Négatif
EVRNAC2- 02	13-160823-0071	Positif	Positif	Positif
EVRNAC2- 03	13-160823-0072	Positif	Positif	Positif
EVRNAC2- 04	13-160823-0073	Positif	Positif	Positif
EVRNAC2- 05	13-160823-0074	Positif	Positif	Positif



“ Varicelle: QCMD 2016, challenge 2

	N° GLIMS	Résultats attendus	Résultats PCR Diagenode	Résultats panel M/E FilmArray
VZVDNA16C2- 01	13-160823-0082	Positif	Positif	Positif
VZVDNA16C2- 02	13-160823-0083	Positif	Positif	Positif
VZVDNA16C2- 03	13-160823-0084	Positif	Positif	Positif
VZVDNA16C2- 04	13-160823-0085	Positif	Positif	Positif
VZVDNA16C2- 05	13-160823-0086	Positif	Positif	Positif



Contrôles de qualité externes

” Herpes simplex: QCMD 2016, challenge 2

		Résultats attendus	Résultats PCR ABI7500	Résultats panel M/E FilmArray
HSVDNA2- 01	13-160823-0075	Positif (HSV1)	Positif	Négatif
HSVDNA2- 02	13-160823-0076	Positif (HSV2)	Positif	Positif (HSV2)
HSVDNA2- 03	13-160823-0077	Positif (HSV1)	Positif	Positif (HSV1)
HSVDNA2- 04	13-160823-0078	Négatif	Négatif	Négatif
HSVDNA2- 05	13-160823-0079	Positif (HSV2)	Positif	Positif (HSV2)

→ **Echantillon « Core » HSVDNA2-01 non détecté.**

” Echantillon détecté par 90.5% des participants

” Echantillon non détecté par les 6 utilisateurs FilmArray



Validation: Conclusions

- “ **Performances vérifiées autorisent l’utilisation en routine du test.**
 - . Sensibilité non optimale surtout problématique avec HSV1
 - “ Réaliser la **PCR HSV maison en contrôle de tout panel demandé.**
 - . Spécificité non optimale:
 - “ Vérifier tout paramètre positif en cas de non concordance avec la clinique.

- “ **Audit externe les 25 et 26/10/2017** 
 - . **Accréditation accordée**
 - “ Pour les paramètres HSV, VZV et ENTV présents sur le panel
 - “ Avec contrôle de HSV par PCR maison.

IMPLÉMENTATION EN ROUTINE DU PANEL BIOFIRE M/E



Implémentation en routine

- “ **Implémentation à partir de novembre 2017**
 - . Plus de contrôle des paramètres testés
 - ” Sauf HSV: contrôle les jours ouvrables par PCR maison
 - . HHV6 et Parechovirus non rendus car non validés

- “ **Réalisation du test en 7/7J 24/24H**
 - . Formation des technologues assurant les gardes de week-end
 - . Formation des assistants en biologie clinique (gardes de nuit et week-ends)

Implémentation en routine

“ Critères de réalisation du panel:

- . Demande spécifique du prescripteur: prescription informatisée, sous-traitance
- . Prescription de ≥ 2 PCR présentes sur le panel: remplacement par le panel

“ Facturation

- . Facturation des 3 codes INAMI (article 24bis) des PCR HSV, VZV et ENTV = 3 X 66.04 euros



Expérience depuis 11/2017

“ Tous les échantillons: 299

“ Panels négatifs: 272

“ **Panels positifs: 27 (9%)**

. ***S.agalactiae*: 1**

- » Enfant 12 ans, post mortem
- » Culture et PCR contrôle négatives

. ***S.pneumoniae*: 2** (sous-traitance)

. **Enterovirus: 15**

. **CMV: 1**

. **HSV: 1 (HSV2) + 1 (HSV1-HSV2)**

. **VZV: 2**

. **HHV6: 4**

- » 3 cas non relevant
- » 1 cas relevant contrôlé à Erasme:
 - “ Positif dans le LCR
 - “ Charge virale sanguine positive +++

“ Pas de résultats non interprétables

Faux positif

Contrôles de qualité externes

” QCMD 2017 Central Nervous System I EQA Pilot Study :

N° QC	Résultats attendus	Panel	PCR HSV	Résultats rendus
QCMD 01	Parechovirus	Parechovirus	Négatif	Parechovirus
QCMD 02	Enterovirus	Enterovirus	Négatif	Enterovirus
QCMD 03	HSV1	Négatif	Pos (Ct=34.22)	HSV
QCMD 04	Parechovirus	Parechovirus	Négatif	Parechovirus
QCMD 05	JC virus	Négatif	Négatif	Négatif
QCMD 06	VZV	VZV	Négatif	VZV HSV
QCMD 07	HSV1	Négatif	Pos (Ct=32.06)	
QCMD 08	HSV2	HSV2	Pos (Ct=31.29)	HSV2
QCMD 09	VZV	VZV	Négatif	VZV
QCMD 10	Négatif	Négatif	Négatif	Négatif

→ OK

Validation de l'algorithme incluant le contrôle de HSV.

Contrôles de qualité externes

” QCMD 2017 Central Nervous System II EQA Pilot Study (CNSII17):

N° QC	Résultats attendus	Résultats rendus (Panel)
QCMD 01	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
QCMD 02	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>
QCMD 03	<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
QCMD 04	Négatif	Négatif
QCMD 05	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
QCMD 06	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
QCMD 07	<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>
QCMD 08	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> K1

→ OK

Point de vue laboratoire

CONCLUSIONS

Conclusions



” Biofire M/E panel pour le diagnostic des méningites/encéphalites:

- + Test rapide (70 minutes)
- + Large panel de pathogènes agents de M/E
- + Test facile à réaliser: implémentable en 24/24H 7/7J
- + Gain de temps technicien
- + Robustesse du test: peu/pas d'inhibition
- + Coût réduit pour le patient

Conclusions



- “ Biofire M/E panel pour le diagnostic des méningites/encéphalites:
- Sensibilité non optimale, surtout pour HSV1
 - Spécificité correcte mais de faux + existent → prévoir le contrôle des résultats positifs non concordants avec la clinique.
 - Non détection des agents de M/E non présents sur le panel: *P.acnes*, staphylocoques coagulase négative, Polyomavirus JC...

Intérêt clinique

- ” Résultat dans les 70 minutes après réception du LCR
- ” En complément à l’examen microscopique de Gram, mais:
 - ” Plus sensible
 - ” Positif même si traitement instauré avant la PL
 - ” Détection des virus

→ Diagnostic précis ou d’exclusion.

A interpréter en connaissant les limitations du test



!! Dialogue laboratoire-clinicien !!

Exemples de cas cliniques : Dr Frédéric Frippiat

SERRE
Rechute

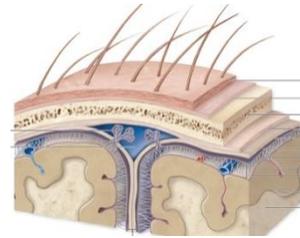


Illustration: Don Smith

L'antibioguide du CHU

CHU de Liège - 2011



← **Assistant de première année, première garde aux urgences, 03h15 du matin.**

Cas clinique N°1:

” **3/11/2017:**

- . Homme de 40 ans sans antécédents notoires.
- . Altération de l'état général et syndrome grippal depuis ce matin. Diarrhée depuis cet après-midi.
- . Vers 22h, retrouvé confus, signes de diarrhée ++ dans l'habitation → médecin traitant → ambulance → transfert vers hôpital.
- . Arrivée vers 00h00 à NDB.



Dia F.Frippiat

” Patient agité, obnubilé, pas à la commande.
Pupilles isocores, isoréactives, pas de raideur
de nuque.

LES PRINCIPAUX SIGNES CLINIQUES A L'ADMISSION SONT :

- Paramètres généraux :

	Couché	Debout
PAS (mmHg)	95	
PAD (mmHg)	45	
FC (b/min.)	140	

Température : 39.6 °C
Saturation O ² : 99 %

” Patient agité, obnubilé, pas à la commande.
Pupilles isocores, isoréactives, pas de raideur de nuque.

LES PRINCIPAUX SIGNES CLINIQUES A L'ADMISSION SONT :

- Paramètres généraux :

	Couché	Debout
PAS (mmHg)	95	
PAD (mmHg)	45	
FC (b/min.)	140	

Température : 39.6 °C
Saturation O ² : 99 %

” Pétéchies apparaissant sur le torse et les MS,
un peu sur les MI.

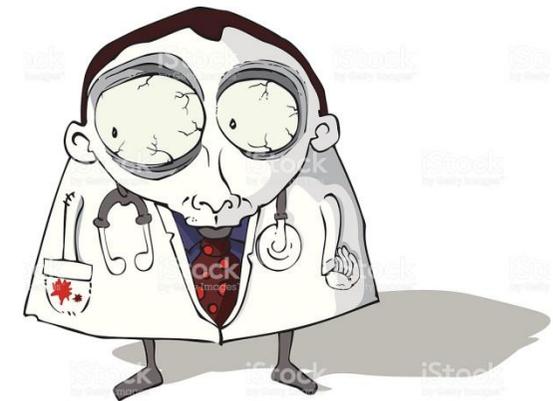
” Patient agité, obnubilé, pas à la commande.
Pupilles isocores, isoréactives, pas de raideur
de nuque.

LES PRINCIPAUX SIGNES CLINIQUES A L'ADMISSION SONT :

- Paramètres généraux :

	Couché	Debout
PAS (mmHg)	95	
PAD (mmHg)	45	
FC (b/min.)	140	

Température : 39.6 °C
Saturation O ² : 99 %



” Pétéchies apparaissant sur le torse et les MS,
un peu sur les MI.

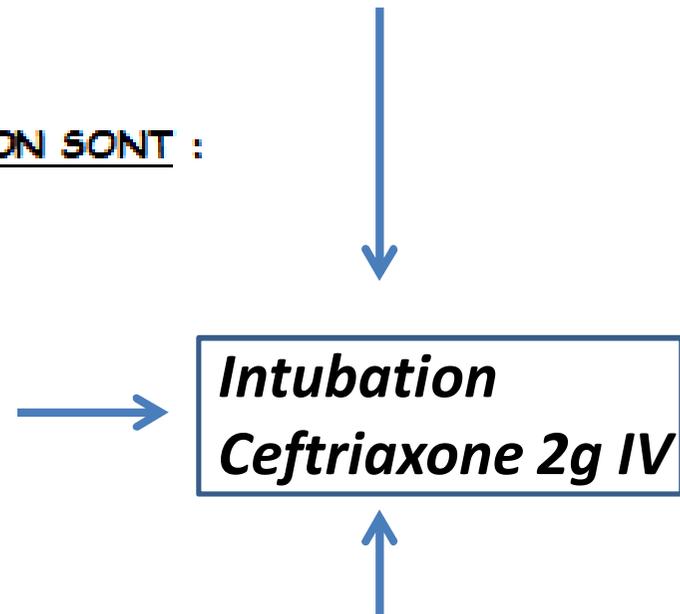
“ Patient agité, obnubilé, pas à la commande.
Pupilles isocores, isoréactives, pas de raideur de nuque.

LES PRINCIPAUX SIGNES CLINIQUES A L'ADMISSION SONT :

- Paramètres généraux :

	Couché	Debout
PAS (mmHg)	95	
PAD (mmHg)	45	
FC (b/min.)	140	

Température : 39.6 °C
Saturation O ² : 99 %



“ Pétéchies apparaissant sur le torse et les MS,
un peu sur les MI.

” **Biologie:**

- . PLT: 97,000/mm³
- . Urée: 51 mg/dl
- . Créatinine: 2,05 mg/dl
- . GFR 36 ml/min
- . CRP: 72,7 mg/l

” 2 paires d’hémocultures sont prélevées.

” CT scan cérébral: normal

” PL: 03h40

Descriptif	+/-	Valeur	Unité	Normes
Réception des éch. au dispatching		03/11/2017 04:07:38		
LIQUIDE CEPHALO-RACHIDIEN				
ANALYSES HEMATOLOGIQUES				
Examen macroscopique		transparent - incolore		
Globules rouges	+	16	/mm ³	0 - 5
Globules blancs	+	15	/mm ³	0 - 5
FORMULE LEUCOCYTAIRE				
Neutrophiles		99.0	%	
Lymphocytes		1.0	%	
ANALYSES CHIMIQUES				
LDH		31	U/L	
Protéines totales LCR		387	mq/L	150 - 450
Glucose	+	95	mq/dL	45 - 75
Lactate	++	424	mq/L	100 - 220
PROTEINES-FRACTIONS				
Préalbumine		2.8	%	1.5 - 5.5
Albumine		57.9	%	54.5 - 72.5
Alpha-1-globulines		4.9	%	3.0 - 6.0
Alpha-2-globulines	+	8.9	%	3.5 - 8.0
Bêta-1-globulines	+	14.0	%	7.0 - 13.5
Tau-globulines		5.3	%	3.5 - 7.5
Gamma-globulines		6.2	%	5.0 - 12.0
DONNEES CLINIQUES:				

+/- 4h30- 5h:
Choc septique
hypoTA réfractaire → inotropes



Transfert USI CHU → CVVH

PANEL MENINGITE/ENCEPHALITE (FilmArray)

BACTERIES

Escherichia coli K1	Non détecté
Haemophilus influenzae	Non détecté
Listeria monocytogenes	Non détecté
Neisseria meningitidis	POSITIF
Streptococcus agalactiae	Non détecté
Streptococcus pneumoniae	Non détecté

VIRUS

Cytomegalovirus	Non détecté
Enterovirus	Non détecté
Herpes simplex virus 1 et 2	Non détecté
Varicella-zoster virus	Non détecté

LEVURES

Cryptococcus neoformans/gattii	Non détecté
--------------------------------	-------------

Evolution:

- ” **8/11**: extubation
- ” **9/11**: stop CVVH
- ” **11/11**: stop HD
- ” **13/11**: stop ceftriaxone
- ” Nécrose sèche des extrémités des membres inférieurs très douloureuses entreprenant la totalité des orteils, la face plantaire des avant-pieds et les deux talons.
- ” **18/12**: retour à domicile.
- ” **15/1/2018**: ré-hospitalisation
- ” **18/1**: amputation trans-métatarsienne bilatérale + curetage des 2 talons.
- ” Bilan en cours: ostéite talon?

“ **Points positifs:**

- . Le patient a survécu
- . Diagnostic posé grâce au panel.
- . Culture négative probablement car PL post-ATBthérapie.

“ **Points positifs:**

- . Le patient a survécu
- . Diagnostic posé grâce au panel.
- . Culture négative probablement car PL post-ATBthérapie.

“ **Points négatifs:**

- . Délai: 2-4h (?) admission-start ATB.
- . Absence de corticoïdes administrés avec ATB.

Cas clinique N°2:

- “ Vendredi 29/12/2017,
- “ 15h30,
- “ Service des Maladies Infectieuses (-1C),
- “ CHU Sart Tilman,
- “ Tour de salle.



” Homme de 76 ans.

. Antécédents:

” VIH + depuis 2001; trithérapie; CV < 20 copies; CD4+ 820/mm³ (14/11/2017)

” Cardiomyopathie dilatée (fraction éjection 40%)

” AVC.

” OAP.

” IRC.

” BPCO II

” Zona thoracique en mai 2017

17 médicaments différents...

“ **Arrivé fin de matinée dans l’hôpital « X » pour:**

- . Confusion, désorientation spatio-temporelle.
- . Fièvre >38°C. ***Apparus la nuit***
- . Frissons/claquement des dents ++++
- . Dyspnée depuis +sieurs jours sans toux ni expectorations.
- . Déclin cognitif depuis +sieurs semaines/mois.

” **Biologie:**

- . Creatinine 2,62 mg/dl
- . Urée 115 mg/dl
- . GFR 24 ml/min (habituellement +/- 35)
- . GB: 10.000 (PNN 80%)
- . CRP 280 mg/L (lendemain 352)
- . PCT: 1,34

” **Ctscan cérébral: (-)**

” **IRM cérébrale: (-)**

” **EEG: globalement ralenti; pas d'anomalie précise.**

” **RxThx: pas de franc foyer.**

” **Biologie:**

- . Créatinine 2,62 mg/dl
- . Urée 115 mg/dl
- . GFR 24 ml/min (habituellement +/- 35)
- . GB: 10.000 (PNN 80%)
- . CRP 280 mg/L (lendemain 352)
- . PCT: 1,34

PL:

Prot: 1,18 g/L

Glyco: 106 mg/dl

GR: 7/mm³

GB: 8/mm³

” **Ctscan cérébral:** (-)

” **IRM cérébrale:** (-)

” **EEG:** globalement ralenti; pas d'anomalie précise.

” **RxThx:** pas de franc foyer.



“ Arrivé au -1C à 16h45:

- . Sous ceftriaxone IV + ampicilline IV + aciclovir IV
- . Examen clinique:
 - “ TA: 14/7
 - “ Pouls: 78/min RR
 - “ FR: 24/min
 - “ T°: 38,1°C
 - “ Sat: 89% sous 3L O2
 - “ Neuro: OK sauf désorientation spatio-temporelle.
 - “ Crépitements inspiratoires aux 2 bases G>D.



“ **Arrivé au -1C à 16h45:**

. Sous ceftriaxone IV + ampicilline IV + aciclovir IV

. Examen clinique:

“ TA: 14/7

“ Pouls: 78/min RR

“ FR: 24/min

“ T°: 38,1°C

“ Sat: 89% sous 3L O2

“ Neuro: OK sauf désorientation spatio-temporelle.

“ Crépitements inspiratoires aux 2 bases G>D.

17h15: PCR multiplex (-) pour tout:

HSV

VZV

CMV

Listeria

Pneumocoque

E coli K1

Méningocoque

Haemophilus influenzae,...

” 17h16:

- . Stop ampicilline IV; stop aciclovir IV
- . Retenons le diagnostic de pneumonie compliquée
 - ” Réduction de ceftriaxone à 2g/24h
 - ” Adjonction de clarithromycine 500 mg/12h
 - ” Évaluation par USI car scores de gravité élevés
 - . CURB 65: 3/5 → risque décès 14,5%
 - . Fine: 146; classe V → risque de décès 29,2%
 - ” Arrêt transitoire de Neurontin® et Lyrica®

Evolution:

- ” Rapide amélioration clinique et biologique en 48h.
- ” Sevrage en O2
- ” Bilan bactériologique (-)
- ” Ctscan thorax: pneumonie G.
- ” Stop ATB à J5.
- ” J7:
 - . GFR: 31 ml/min
 - . CRP: 12,3 mg/L

“ **Points positifs:**

- . Le panel est rapide.
- . Aide au diagnostic (ici d'exclusion).
- . Aide pour réorienter le diagnostic.

“ **Points négatifs:**

- . Délai: 4-8h (?) admission-start ATB.
- . Absence de corticoïdes administrés avec ATB.

Conclusions:

- “ Le Panel méningite est une aide précieuse au diagnostic et au traitement des méningites et des encéphalites.
- “ Il doit être disponible 24/7 et permet une adaptation thérapeutique précoce:
 - . Intérêt pour le patient
 - . Intérêt pour la société: en principe moins d'antibiotiques
- “ Il est un complément à l'approche clinique qui doit rester rigoureuse.
- “ Il renforce le lien clinicien/laboratoire.