



HAL
open science

Le diagnostic syndromique des méningites et méningoencéphalites infectieuses : exemple du panel BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis

Laura Balestra

► To cite this version:

Laura Balestra. Le diagnostic syndromique des méningites et méningoencéphalites infectieuses : exemple du panel BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis. Sciences pharmaceutiques. 2019. dumas-02429183

HAL Id: dumas-02429183

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02429183>

Submitted on 23 Jan 2020

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>



UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES
UFR DE PHARMACIE DE GRENOBLE

Année : 2019

LE DIAGNOSTIC SYNDROMIQUE DES MENINGITES ET MENINGO-
ENCEPHALITES INFECTIEUSES : EXEMPLE DU PANEL BIOFIRE® FILMARRAY®
MENINGITIS/ ENCEPHALITIS

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN PHARMACIE
DIPLOME D'ÉTAT

Laura BALESTRA

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le : 20/12/2019

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

M. Jean BRETON

Membres :

Mme Cécile GARNAUD (Directrice de thèse)

M. Julien LUPPO

M. Yvan CASPAR

Mme Maria-Fernanda RUIZ

L'UFR de Pharmacie de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Doyen de la Faculté : **M. le Pr. Michel SEVE**

Vice-doyen et Directrice des Etudes :
Mme Christine DEMEILLIERS

Année 2019 - 2020

ENSEIGNANTS – CHERCHEURS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
PU-PH	ALLENET	BENOIT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, ThEMAS
PU	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MAST	BARDET	JEAN-DIDIER	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, ThEMAS
MCF	BATANDIER	CECILE	LBFA – INSERM U1055
PU-PH	BEDOUCHE	PIERRICK	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, ThEMAS
MCF	BELAIDI-CORSAT	ELISE	HP2, Inserm U1042
MAST	BELLET	BEATRICE	-
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS
PU	BOUMENDJEL	AHCENE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	IAB – CRI INSERM U823
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	BRIANCON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042
PU	BURMEISTER	WIM	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCU-PH	BUSSER	BENOIT	Institute for Advanced Biosciences, UGA / Inserm U 1209 / CNRS 5309
Professeur Emerite	CALOP	JEAN	
MCF	CAVAILLES	PIERRE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCU-PH	CHANOINE	SEBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCU -PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheREx
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-
PU	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emérite	DELETRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON
MCF	DEMEILLIERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
PU-PH	FAURE	PATRICE	HP2 – INSERM U1042

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042
PRCE	FITE	ANDREE	-
MCU-PH	GARNAUD	CECILE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PRAG	GAUCHARD	PIERRE-ALEXIS	-
MCU-PH	GERMI	RAPHAELE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale
MCF	GEZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF Emerite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	GODIN-RIBUOT	DIANE	HP2 – INSERM U1042
Professeure Emérite	GRILLOT	RENEE	-
MCF Emérite	GROSSET	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	GUIEU	VALERIE	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	HENNEBIQUE	AURELIE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
MCF	HININGER-FAVIER	ISABELLE	LBFA – INSERM U1055
MCF	KHALEF	NAWEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
MCF	KOTZKI	SYLVAIN	HP2 – UMR S1042
MCF	KRIVOBOK	SERGE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-
AHU	MAZET	ROSELINE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	MELO DI LIMA	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553
AHU	MINOVES	MELANIE	HP2 – INSERM U1042
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS
AHU	PLUCHART	HELENE	TIMC-IMAG – UMR 5525 CNRS, TheMAS
MCF	RACHIDI	WALID	LCIB – UMR E3 CEA
MCF	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042
PAST	RIEU	ISABELLE	-
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	
PU-PH	SEVE	MICHEL	LBFA – INSERM U1055
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS
MCF	VANHAVERBEKE	CECILE	DPM – UMR 5063 CNRS
PU	WOUESSIDJEWE	DENIS	DPM – UMR 5063 CNRS

AHU : Assistant Hospitalo-Universitaire
 ATER : Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherches
 BCI : Biologie du Cancer et de l'Infection
 CHU : Centre Hospitalier Universitaire
 CIB : Centre d'Innovation en Biologie
 CRI : Centre de Recherche INSERM
 CNRS : Centre National de Recherche Scientifique
 DCE : Doctorants Contractuels Enseignement
 DPM : Département de Pharmacochimie Moléculaire
 HP2 : Hypoxie Physiopathologie Respiratoire et Cardiovasculaire
 IAB : Institute for Advanced Biosciences
 IBS : Institut de Biologie Structurale
 LAPM : Laboratoire Adaptation et Pathogenèse des Microorganismes
 LBFA : Laboratoire Bioénergétique Fondamentale et Appliquée
 LCBM : Laboratoire Chimie et Biologie des Métaux
 LCIB : Laboratoire de Chimie Inorganique et Biologie
 LECA : Laboratoire d'Ecologie Alpine
 LPSS : Laboratoire Parcours Santé Systémique
 LR : Laboratoire des Radio pharmaceutiques
 MAST : Maitre de Conférences Associé à Temps Partiel
 MCF : Maitre de Conférences des Universités
 MCU-PH : Maitre de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
 PAST : Professeur Associé à Temps Partiel
 PRAG : Professeur Agrégé
 PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement

REMERCIEMENTS

En ce jour symbolique qui vient clôturer mon cursus universitaire et scolaire, je remercie chaleureusement l'ensemble des membres du jury ainsi que toutes les personnes présentes aujourd'hui à ma soutenance de thèse d'exercice en pharmacie.

En premier lieu, je tiens à remercier Madame le Docteur **Cécile Garnaud**, ma Directrice de Thèse, pour avoir pris le temps et l'intérêt d'encadrer ma thèse de pharmacie. Merci infiniment d'avoir accepté ce défi qu'imposait la distance et pour la patience que vous avez eue à corriger mon manuscrit avec l'excellence qui vous caractérise. Merci également pour vos enseignements depuis ma seconde année, qui ont éveillé en moi un vif intérêt pour l'infectiologie.

Monsieur le Docteur **Jean Breton**, merci pour l'honneur que vous me faites de présider ma thèse. Je ne pouvais imaginer meilleur choix pour ce sujet. Merci pour vos enseignements lors de mon cursus industrie, qui restent parmi mes préférés et ont influencé mes choix de carrière.

Messieurs les Docteurs **Yvan Caspar** et **Julien Lupo**, membres du jury, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury et d'apporter votre expérience au sein du laboratoire de biologie médicale.

Madame **Maria-Fernanda Ruiz**, membre du jury, merci d'avoir accepté de faire partie de mon jury, mais aussi pour tes conseils, ta bienveillance et ton enthousiasme.

Et enfin, merci à toi **Juliana Gutierrez**, pour ta disponibilité, tes conseils et ta relecture attentive.

DEDICACES

À ma mère et ma grand-mère, qui ont toujours cru en moi et m'ont apporté leur soutien sous de nombreuses formes pour me permettre de suivre ces études et de m'y épanouir. Merci de ne pas avoir douté de ma détermination et pour votre confiance aveugle. Je vous dédie ce travail.

À mon frère, Julien, merci pour ta curiosité sur les sujets médicaux. Merci pour ton soutien inconditionnel derrière chacune de mes décisions personnelles et professionnelles. Cette relation que nous avons, basée sur la sincérité, l'humour et les confidences sans jugement, je la chéris chaque jour.

À mon père pour m'avoir transmis cet amour de la montagne et des voyages. Même si cela se retourne contre toi...

À ma sœur, Solène, pour avoir été mon modèle étant plus jeune et m'ayant poussée vers les sciences.

À ma famille, Sébastien, Pierrot, Lorette, Romain, Annie, parce que rentrer à la maison me réchauffe toujours autant le cœur. Et que la maison c'est là où vous vous trouvez, surtout maintenant qu'elle est habitée des rires du petit Noé.

À Jérôme, dont l'absence résonne dans ma vie depuis ce jour de septembre 2017. Notre cordée a perdu son plus précieux membre. Je ne t'oublierai jamais.

À mes amies de l'AMBG, Marion, Camille, Marlène, Mathilde, Morgane, qui m'ont tant apporté durant ces belles années. Merci pour votre amitié, elle a un goût d'éternité. Je ne trouve les mots pour vous dire à quel point vous comptez pour moi et ne saurai vous remercier assez pour tout ce que vous m'avez apporté. J'espère être digne de votre amitié.

À Armelle, pour ton intelligence, ton élégance et ton humour. Toi seule sait combiner ces qualités.

À Manon, ma douce amie en qui j'ai toujours pu trouver apaisement, conseils et bons petits plats.

À ZAC, pour nos moments complices et notre amour partagé de la montagne.

À mes copains d'associatif, nos projets m'ont tant appris sur le plan humain et professionnel. Merci d'avoir supporté mes joies, mes anxiétés, mes idées et mon exigence. Tout particulièrement Lionel, Marlène, Mathieu et Clément, mes président(e)s, de m'avoir fait confiance, j'espère vous avoir rendus fier(e)s.

À l'AEPG 2014-2015, aux plus anciens et aux plus jeunes. C'est à cause de vous que tout a commencé, pour mon plus grand plaisir.

À l'ARPH 2016, on prend les mêmes, on en ajoute d'autres, et on fait plus grand. On l'a fait.

À (la tentative de) l'ANEPPF. L'avantage c'est qu'on ne s'est jamais pris la tête durant ce mandat.

À Laurent, je pense tout de même que c'est mieux que tu n'aies pas redoublé 3 autres années pour être dans la même promotion que moi. Je t'attends à Singapour (si tu n'as pas peur des 90% d'humidité).

À Lucas, pour ton exemplarité, ta bonne humeur, ton sourire, tes anecdotes internationales et ton humour.

À Jérémie, merci d'être toujours là, même si je ne mange plus de viande et que je passe ma thèse avant toi.

À Robin, tu es de Montgenèvre, je suis de Serre Chevalier, rien ne nous prédestinait à être amis. Et pourtant, 11 ans que cela dure, une amitié incassable !

À mes copains de pharmacie de France, merci à la vie, aux AG ou à la Fête de vous avoir mis sur mon chemin.

À Romain, notre relation si chaotique, attachante et unique. Et parce que tu es le troisième de la cordée.

À tous mes collègues et amis de bioMérieux et BioFire Diagnostics. La passion qui nous anime est unique et je suis fière de travailler pour une entreprise ayant toujours le patient et la santé publique comme obsession.

Au CROUS, pour la bourse tous les 5 du mois.

Et enfin, à tous les enseignants de l'école Carlhian Rippert, du collège des Garcins, du lycée climatique d'altitude, de l'université Grenoble Alpes et de l'EM Lyon, qui m'ont transmis leur savoir et leur passion durant 2 décennies, et ont guidé mes choix.

J'en oublie et je vous prie d'avoir la bienveillance de me pardonner, si vous lisez ces quelques pages.

TABLE DES MATIERES

Remerciements.....	5
Dédicaces.....	7
Liste des abréviations	15
Table des figures.....	18
Table des tableaux.....	18
Introduction.....	20
1. Méningites et méningo-encéphalites infectieuses	22
1.1. Définitions.....	22
1.2. Clinique.....	23
1.2.1. Syndrome méningé.....	23
1.2.2. Syndrome encéphalitique	24
1.2.3. Syndrome infectieux.....	25
1.2.4. Signes cliniques de gravité	25
1.2.5. Particularités sémiologiques chez le nourrisson et le sujet âgé	26
1.3. Imagerie.....	26
1.4. Agents étiologiques	27
1.4.1. Bactéries	27
1.4.1.1. <i>Neisseria meningitidis</i>	28
1.4.1.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	29
1.4.1.3. <i>Listeria monocytogenes</i>	30
1.4.1.4. <i>Streptococcus agalactiae</i>	30
1.4.1.5. <i>Haemophilus influenzae</i>	30
1.4.1.6. <i>Escherichia coli</i> K1.....	31

1.4.1.7.	Autres bactéries.....	31
1.4.2.	Virus.....	31
1.4.2.1.	Entérovirus	32
1.4.2.2.	Herpès simplex virus	32
1.4.2.3.	Virus varicelle-zona	33
1.4.2.4.	Autres virus.....	34
1.4.3.	Champignons.....	34
1.4.3.1.	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	35
1.4.3.2.	<i>Candida</i>	35
1.4.4.	Autres champignons	36
1.4.5.	Parasites.....	36
1.5.	<i>Diagnostic biologique</i>	36
1.5.1.	La ponction lombaire et le LCS	36
1.5.2.	Diagnostic biologique des méningites bactériennes.....	38
1.5.2.1.	Observation macroscopique du LCS.....	38
1.5.2.2.	Examen cytologique du LCS	39
1.5.2.3.	Examens biochimiques.....	40
1.5.2.4.	Examen bactériologique du LCR.....	42
1.5.2.5.	Recherche d'antigènes solubles.....	43
1.5.2.6.	Biologie moléculaire.....	44
1.5.2.7.	Autres examens bactériologiques.....	45
1.5.3.	Diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites virales.....	46
1.5.3.1.	Biologie moléculaire : PCR spécifiques	46
1.5.3.2.	Sérologie.....	47
1.5.4.	Diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites fongiques	47
1.5.4.1.	Analyses cytologiques du LCS	48
1.5.4.2.	Examen direct du LCS	48
1.5.4.3.	Culture.....	49

1.5.4.4.	Détection d'antigènes spécifiques et sérologie	50
1.5.4.5.	Biologie moléculaire.....	51
1.5.5.	Place de la PCR dans le diagnostic des méningites et ME	52
1.6.	<i>Prise en charge thérapeutique des méningites et ME infectieuses</i>	53
1.6.1.	Traitements antibiotiques.....	53
1.6.2.	Traitements antiviraux.....	56
1.6.3.	Traitements antifongiques	57
1.6.4.	Mesures générales et traitement symptomatique	57
1.7.	<i>Évolution et pronostic des méningites et méningo-encéphalites</i>	58
1.8.	<i>La prévention des méningo-encéphalites</i>	60
2.	Le diagnostic syndromique	63
2.1.	<i>Kits commercialisés</i>	63
2.2.	<i>Intérêts du diagnostic syndromique</i>	65
2.3.	<i>Limites du diagnostic syndromique</i>	66
2.4.	<i>Diagnostic in vitro</i>	68
2.5.	<i>La technologie BioFire® FilmArray®</i>	69
2.6.	<i>Les panels BioFire®</i>	78
3.	Exemple du panel BioFire® méningitis/encephalitis : place dans la stratégie diagnostique	82
3.1.	<i>Le panel BioFire® Meningitis-Encephalitis</i>	82
3.2.	<i>Autres panels disponibles pour le diagnostic syndromique des méningites et méningo- encéphalites</i>	82
3.2.1.	Panels Seegene.....	83
3.2.2.	Fast-Track Diagnostics.....	84
3.2.3.	Master Diagnostica	85
3.2.4.	Qiagen.....	86

3.3.	<i>Évaluation du panel BioFire® ME</i>	88
3.3.1.	Performances analytiques.....	88
3.3.2.	Évaluation clinique du panel BioFire® ME.....	93
3.3.2.1.	Réduction du TAT	93
3.3.2.2.	Augmentation de la fréquence de détection des agents pathogènes.....	94
3.3.2.3.	Influence du traitement anti-infectieux sur les performances du panel BioFire® ME	94
3.3.2.4.	Réduction de la durée d'hospitalisation	95
3.3.2.5.	Adaptation des traitements anti-infectieux.....	95
3.3.2.6.	Données médico-économiques	96
3.3.2.7.	Impact sur la mortalité	98
3.3.3.	Les limites du panel BioFire® ME.....	98
3.3.3.1.	Études pré-commercialisation peu semblables à la pratique	98
3.3.3.2.	Faux-positifs.....	99
3.3.3.3.	Faux-négatifs.....	100
3.3.3.4.	Interprétation des résultats.....	100
3.3.3.4.1.	Détection de HHV-6 et CMV.....	100
3.3.3.4.2.	Détection de <i>C. neoformans/gattii</i>	101
3.3.3.5.	Composition du panel	103
3.3.3.6.	Coût du panel.....	104
3.3.3.7.	Détection qualitative.....	105
3.4.	<i>Place du panel BioFire® ME dans la stratégie diagnostique de la méningite et la méningo-encéphalite</i>	105
	Conclusion	109
	Bibliographie	110
	Annexe	110

LISTE DES ABREVIATIONS

AINS	Anti-inflammatoire non stéroïdien
ALAT	Alanine aminotransférases
ASAT	Aspartate aminotransférases
BHE	Barrière Hémato-Encéphalique
BK	Bacille de Koch
C3G	Céphalosporine de 3 ^{ème} Génération
CDC	Center For Disease Control
CIVD	Coagulation Intra-Vasculaire Disséminée
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CMV	Cytomegalovirus
CNR	Centre National de Référence
CPK	Créatine PhosphoKinase
CrAg	Antigène Cryptocoque
CRP	Protéine C réactive
EB	Élément blanc
EBV	Epstein Barr virus
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EV	Enterovirus
FDA	Food and Drug Administration
FP	Faux Positif
GBS	Streptocoque du groupe B
HAS	Haute Autorité de Santé
HHV	Human Herpes Virus
Hib	<i>Haemophilus influenzae b</i>

HPeV	Human Parechovirus
HSV	Herpes Simplex Virus
IgG	Immunoglobuline G
IgM	Immunoglobuline M
IIM	Infection Invasive à Méningocoque
IRIS	Syndrome Inflammatoire de Reconstitution Immune (ou Immunitaire)
IVD	<i>In vitro</i> Diagnostics / Diagnostic <i>in vitro</i>
LCS	Liquide Cérébrospinal
LFA	Lateral Flow Immunoassay / test rapide immunochromatographique
ME	Méningo-encéphalite
NICE	National Institute for Health and Care Excellence
ORL	Oto-Rhino-Laryngologie
PCR	Polymerase Chain Reaction
PL	Ponction Lombar
PnC	Pneumocoque
PNN	Polynucléaire Neutrophile
PSDP	Pneumocoque de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline
RT-PCR	Real Time PCR
SIDA	Syndrome d'Immunodéficience Acquise
SNC	Système Nerveux Central
SOC	Standard of Care
SPILF	Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française
TA	Testing All

TAT	Turn-Around time/ temps d'obtention des résultats
TDM	Tomodensitométrie
T _f	Température de fusion
TT	Target Testing/ Test ciblé
UFC	Unité Formant Colonie
VIH	Virus de l'Immunodéficience Humaine
VPN	Valeur Prédictive Négative
VPP	Valeur Prédictive Positive
VZV	Varicella Zoster virus

TABLE DES FIGURES

Figure 1. Les méninges _____	22
Figure 2. Étiologies bactériennes des méningites en fonction de l'âge, en France, en 2017 _____	28
Figure 3. Aspect macroscopique du LCS après ponction lombaire _____	39
Figure 4. Arbre décisionnel après ponction lombaire _____	45
Figure 5. <i>Cryptococcus neoformans</i> , levure encapsulée (examen direct à l'encre de Chine) _____	49
Figure 6 Étapes du parcours de santé _____	69
Figure 7. Principe de la PCR nichée _____	70
Figure 8. FilmArray® Torch® et FilmArray® 2.0 _____	71
Figure 9. FilmArray® Torch de 2 modules à 12 modules _____	72
Figure 10. Préparation de la cassette dans la loading station _____	73
Figure 11. Cassette FilmArray® et ses différents compartiments _____	73
Figure 12. Représentation schématique des différentes étapes réalisées au sein de la cassette FilmArray® _____	75
Figure 13. Exemple de cycles thermiques au cours d'une PCR _____	76
Figure 14. Courbes de fusion de deux cibles différentes 1 et 2 _____	77
Figure 15. Plateforme All-in-One de Seegene _____	84

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1. Nombres de cas et fréquences relatives des différentes bactéries à l'origine des méningites selon le groupe d'âge _____	28
Tableau 2. Composition en ions et protéines du plasma et du LCS _____	37
Tableau 3. Examens biologiques habituellement réalisés pour le diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites _____	38
Tableau 4. Examen cytologique et biochimique du LCS et orientation diagnostique _____	41
Tableau 5. Autres examens bactériologiques dans le diagnostic des méningites _____	46
Tableau 6. Recommandations pour l'antibiothérapie de 1 ^{ère} intention des méningites bactérienne _____	54
Tableau 7. Recommandations pour l'antibiothérapie des méningites bactériennes documentées _____	55

<i>Tableau 8. Recommandation des traitements de première intention en cas d'allergie sévère aux bêta-lactamines</i>	56
<i>Tableau 9. Séquelles secondaires à une méningite ou une méningo-encéphalite bactériennes.</i>	59
<i>Tableau 10. Recommandations vaccinales en France, selon la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2019.</i>	61
<i>Tableau 11. Kits syndromiques commercialisés en Europe et aux États-Unis (Décembre 2019)</i>	64
<i>Tableau 12. Composition des compartiments de la cassette FilmArray®</i>	74
<i>Tableau 13. Principales étapes de l'analyse par un instrument FilmArray®</i>	77
<i>Tableau 14. Les menus des panels BioFire®</i>	79
<i>Tableau 15. Comparaison des offres de panels avec approche syndromique pour le diagnostic des méningites et ME</i>	87
<i>Tableau 16. Résumé des performances des différentes cibles du panel BioFire® ME et étude de discordance, lors d'une étude prospective réalisée par BioFire Diagnostics en 2014</i>	90
<i>Tableau 17. Co-détections par BioFire® ME</i>	91
<i>Tableau 18. Sensibilité et spécificité du panel BioFire® ME</i>	92
<i>Tableau 19. Le BioFire® ME montre une réduction du TAT</i>	93
<i>Tableau 20. Modification de la durée d'hospitalisation après utilisation du BioFire® ME</i>	95
<i>Tableau 21. Prise en charge thérapeutique après utilisation du panel BioFire® ME</i>	95
<i>Tableau 22. Résultats de l'étude par Duff et al. (2018) sur population pédiatrique</i>	97
<i>Tableau 23. Résultats de l'étude par Duff et al.(2019) sur population adulte</i>	97
<i>Tableau 24. Résultats de l'analyse de discordance des FP avec BioFire® ME</i>	99
<i>Tableau 25 : Critères d'utilisation du panel BioFire® ME dans le diagnostic des méningites et ME</i>	106

INTRODUCTION

Les méningites et méningo-encéphalites (ME) infectieuses sont des pathologies graves, d'évolution rapide et souvent associées à des taux de mortalité élevés. Leur pronostic est toutefois variable selon l'étiologie : le taux de mortalité peut avoisiner 100% en l'absence de traitement pour certaines étiologies bactériennes, alors que certaines méningites et ME d'origine virale sont spontanément résolutive en l'absence de traitement.(1,2) Le temps d'instauration d'un traitement anti-infectieux adapté, en particulier d'une antibiothérapie, est critique dans la prise en charge des méningites et ME. Il est donc important pour un clinicien de savoir reconnaître les premiers signes cliniques composant le syndrome méningé afin de débiter rapidement une thérapie anti-infectieuse probabiliste, le cas échéant. Il est également important de disposer d'un diagnostic étiologique rapide. Or, la plupart des méthodes diagnostiques actuellement utilisées en routine dans les laboratoires de microbiologie, dont la culture et la PCR, ne permettent l'identification formelle du pathogène en cause qu'après plusieurs heures à jours. De nouvelles méthodes diagnostiques ont été développées récemment grâce à l'avènement des PCR multiplex : ces techniques syndromiques permettent la recherche et l'identification très rapide (environ 1 heure) des principaux agents pathogènes impliqués dans les méningites et ME à partir d'un échantillon de liquide cébrospinal (LCS), et d'orienter la prise en charge du patient dans les plus brefs délais.

Dans la première partie de ce travail sont présentées les principales étiologies et caractéristiques cliniques des méningites et méningo-encéphalites infectieuses, ainsi que leurs méthodes diagnostiques actuelles. La deuxième partie est dédiée

au diagnostic syndromique des méningites et ME infectieuses et à sa place dans la stratégie diagnostique, à partir de l'exemple du panel BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis (bioMérieux).

1. MENINGITES ET MENINGO-ENCEPHALITES INFECTIEUSES

1.1. Définitions

La méningite et la méningo-encéphalite (ME) sont des infections du système nerveux central.

La **méningite** est une inflammation des méninges, qui sont les 3 membranes enveloppant l'encéphale et la moelle épinière : la dure-mère, l'arachnoïde et la pie-mère (Figure 1).

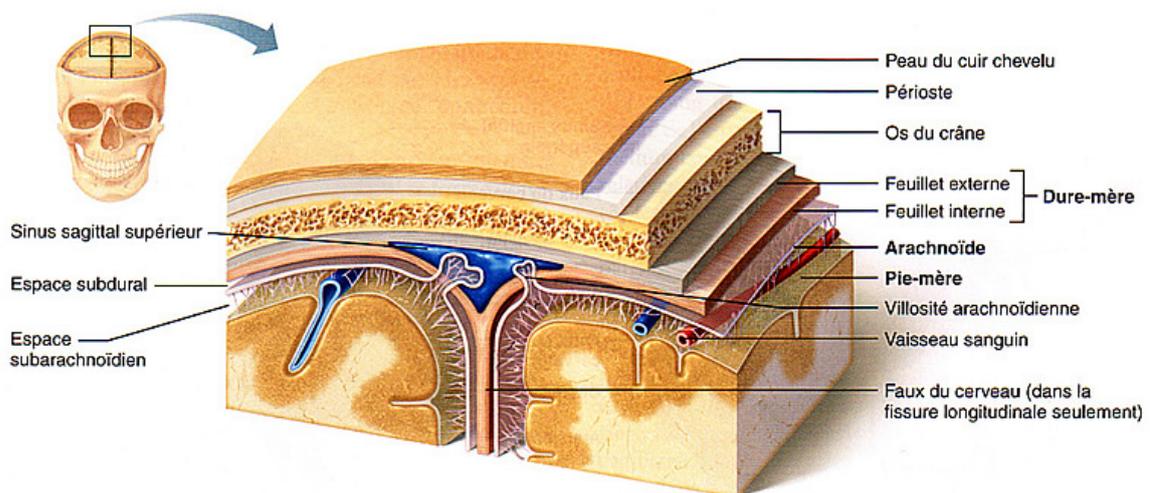


Figure 1. Les méninges (3)

La dure-mère, également nommée pachyméninge, est un feuillet conjonctif épais, résistant, blanc et inextensible, qui enveloppe intégralement le cerveau et la moelle épinière. Ce tissu fibreux est bordé par un endothélium. L'arachnoïde est un feuillet avasculaire qui tapisse la face interne de la dure-mère. Entre la dure-mère et l'arachnoïde se trouve l'espace sous-dural qui contient les veines cérébrales qui rejoignent le sinus veineux. La pie-mère est un feuillet très mince qui adhère totalement à la surface du cerveau. Elle est divisée en 2 couches : l'intima pia et la couche épipiale. L'espace sous-arachnoïdien, compris entre la pie-mère (qui suit la

morphologie du système nerveux central (SNC)) et l'arachnoïde (qui suit la surface interne du crâne), contient le liquide cébrospinal (LCS) anciennement dénommé liquide céphalo-rachidien (LCR). Parmi ses rôles, le LCS agit comme barrière contre les infections : il est stérile en raison de la très faible perméabilité de la barrière hémato-encéphalique (BHE).

L'encéphalite est, elle, une inflammation du parenchyme cérébral, due à un envahissement direct, sans atteinte méningée (d'origine virale le plus souvent). La réaction inflammatoire qui survient peut être responsable de nécrose, d'ischémie et d'hypertension intracrânienne à l'origine de séquelles voire d'un décès.(1)(4)

Une **méningo-encéphalite** est une méningite associée à une atteinte du parenchyme cérébral.

La majorité des méningites et des méningo-encéphalites sont d'origine infectieuse, le plus souvent bactérienne ou virale, mais d'autres étiologies sont possibles : cancer métastatique, maladies auto-immunes (sarcoïdose, lupus érythémateux disséminé, polyarthrite rhumatoïde, ...), médicaments anti-inflammatoires ou immunomodulateurs (azathioprine, cyclosporine, cytosine arabinoside, AINS, immunoglobulines, ...),... Dans ce travail, nous ne nous intéresserons qu'aux méningites et méningo-encéphalites d'origine infectieuse.

1.2. Clinique

1.2.1. Syndrome méningé

La symptomatologie des méningites peut varier, en particulier en gravité et en acuité. Cependant, tous les types de méningites sont associés à une triade de

symptômes - céphalées, vomissements, raideur de la nuque appelée **syndrome méningé** (la présentation clinique peut toutefois varier chez les nourrissons et certains patients âgés ou sévèrement immunodéprimés, voir plus loin).(5)

- **Céphalées**

Elles sont constantes, précoces, intenses et diffuses, et continues avec des exacerbations. Elles sont notamment amplifiées en cas de mouvements de la tête, par exemple lors de l'examen physique du patient, d'exposition à la lumière (photophobie) ou au bruit (phonophobie). Ces céphalées sont peu sensibles aux antalgiques habituels (paracétamol, AINS)

- **Vomissements**

Ils sont inconstants mais en général précoces. Ils surviennent spontanément, en jet et sans effort. Ils peuvent être favorisés par les changements de position.

- **Raideur nucale ou méningée**

Elle résulte d'une contracture musculaire, réaction de défense secondaire à l'inflammation des méninges.

1.2.2. Syndrome encéphalitique

Il peut être présent de manière isolée lors d'une encéphalite ou, le plus souvent, est associé au syndrome méningé (méningo-encéphalite). Il peut comporter :

- Des troubles de la conscience (sommolence, syndrome confusionnel à coma profond).
- Des troubles comportementaux.
- Des signes de focalisation : déficit moteur, paralysie d'un ou plusieurs nerfs crâniens, aphasie, mouvements anormaux (tremblements, myoclonies).

- Des crises d'épilepsie partielles ou généralisées. Peuvent aller jusqu'à un état de mal épileptique convulsif ou le coma.
- Des troubles neurovégétatifs : anomalies de la fréquence cardiaque, de la pression artérielle et de la température.

1.2.3. Syndrome infectieux

En cas de méningite ou ME d'origine infectieuse, les syndromes méningés +/- encéphalitiques sont souvent associés à une fièvre, d'intensité variable selon l'agent pathogène impliqué.

Un ou plusieurs foyers infectieux périphériques doivent également être recherchés : pneumopathie, foyer ORL (otite, sinusite, mastoïdite, rhinopharyngite, angine), infection urinaire, infection digestive (diarrhées), atteinte cutanée, atteinte cardiaque (endocardite, myocardite), ... Un *purpura fulminans* associé, caractérisé par la présence de taches hémorragiques cutanées non effaçables à la vitropression, doit également être recherché, en raison de son pronostic sévère. Il résulte de l'extravasation des globules rouges suite à une augmentation de la perméabilité des capillaires cutanés, et traduit un sepsis avec troubles de la coagulation. Il oriente principalement vers une étiologie bactérienne, dont méningocoque et pneumocoque.(6)

1.2.4. Signes cliniques de gravité

Les signes cliniques de gravité des méningites et méningo-encéphalites sont un *purpura fulminans* extensif, des troubles graves de la vigilance avec un score de Glasgow ≤ 8 , des troubles respiratoires, des troubles végétatifs, des signes d'hypertension intracrânienne ou un choc septique.

Tout signe de gravité doit entraîner une hospitalisation en service de réanimation.(7)

1.2.5. Particularités sémiologiques chez le nourrisson et le sujet âgé

Une méningite ou une ME doivent être évoquées devant un enfant fébrile avec un syndrome méningé (céphalées, vomissements en jet, raideur de nuque, photophobie). Mais plus le patient est jeune, moins la symptomatologie de la méningite et de la ME est spécifique. Chez le nourrisson, la raideur de nuque peut être absente, remplacée par une hypotonie axiale. De même, un refus alimentaire peut être observé au lieu de vomissements en jet. La présence de manifestations neurologiques associées à de la fièvre, comme une somnolence excessive, une désorientation, un délire aigu ou des convulsions, de même qu'une tension artérielle anormale (signe d'atteinte du tronc cérébral) ou un bombement de la fontanelle, doivent également faire suspecter une ME et mener à des explorations supplémentaires.

Chez le sujet âgé, les signes cliniques évocateurs d'une méningite ou ME peuvent être plus frustes et sont inconstants, ce qui rend le diagnostic plus difficile. On retrouve habituellement une altération de l'état général, des céphalées, de la fièvre et une raideur de nuque, associés à un syndrome confusionnel aspécifique ou des troubles de la conscience.(8,9)

1.3. Imagerie

L'imagerie cérébrale n'est pas indispensable pour le diagnostic d'une méningite infectieuse, sauf en cas de méningite récidivante(7) ou d'évolution non favorable

après 48-72 heures de traitement.(10) Une imagerie peut toutefois être réalisée afin de rechercher une éventuelle contre-indication à la ponction lombaire (PL) en cas de signes de focalisation neurologique (risque d'engagement cérébral), de score de Glasgow ≤ 11 ou de crises convulsives récentes ou en cours.(10)

Selon la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF), le recours au scanner (tomodensitométrie (TDM)) avant la PL est une pratique encore trop fréquente en France, et peut entraîner un retard à l'administration du traitement anti-infectieux, ou une négativité des cultures ou d'autres examens biologiques si le traitement anti-infectieux est initié avant la TDM et la PL.(10)

1.4. Agents étiologiques

1.4.1. Bactéries

En France, six espèces sont responsables de la plupart des méningites bactériennes : *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *L. monocytogenes*, *S. agalactiae*, *H. influenzae* et *E. coli* K1 . La fréquence de ces différentes espèces varie en fonction de l'âge (Tableau 1 et Figure 2).

S. pneumoniae et *N. meningitidis* sont également les espèces les plus fréquemment responsables de méningites bactériennes au niveau mondial, impliquées dans respectivement 25,1-41,2% et 9,1-36,2% des cas.(11)

Tableau 1. Nombres de cas et fréquences relatives des différentes bactéries à l'origine des méningites selon le groupe d'âge, (données du réseau EPIBAC, France 2017)(12)

	Nouveaux-nés (<2 mois)	Enfants (2 mois-14 ans)	Adultes (15-64 ans)	Sujet âgés (>65 ans)	Incidence (/100 000 habitants)
<i>S. pneumoniae</i>	17 (17%)	126(43%)	316 (56%)	198 (62%)	0,69
<i>N. meningitidis</i>	13 (13%)	123(42%)	158(28%)	32 (10%)	0,26
<i>L. monocytogenes</i>	0	3 (1%)	22 (4%)	107 (19%)	0,1
<i>S. agalactiae</i>	68 (67%)	14 (5%)	22 (4%)	17 (3%)	0,1
<i>H. influenzae</i>	3 (3%)	26 (9%)	44 (8%)	34 (6%)	0,09
<i>E. coli</i> K1	**1	**	**	**	**

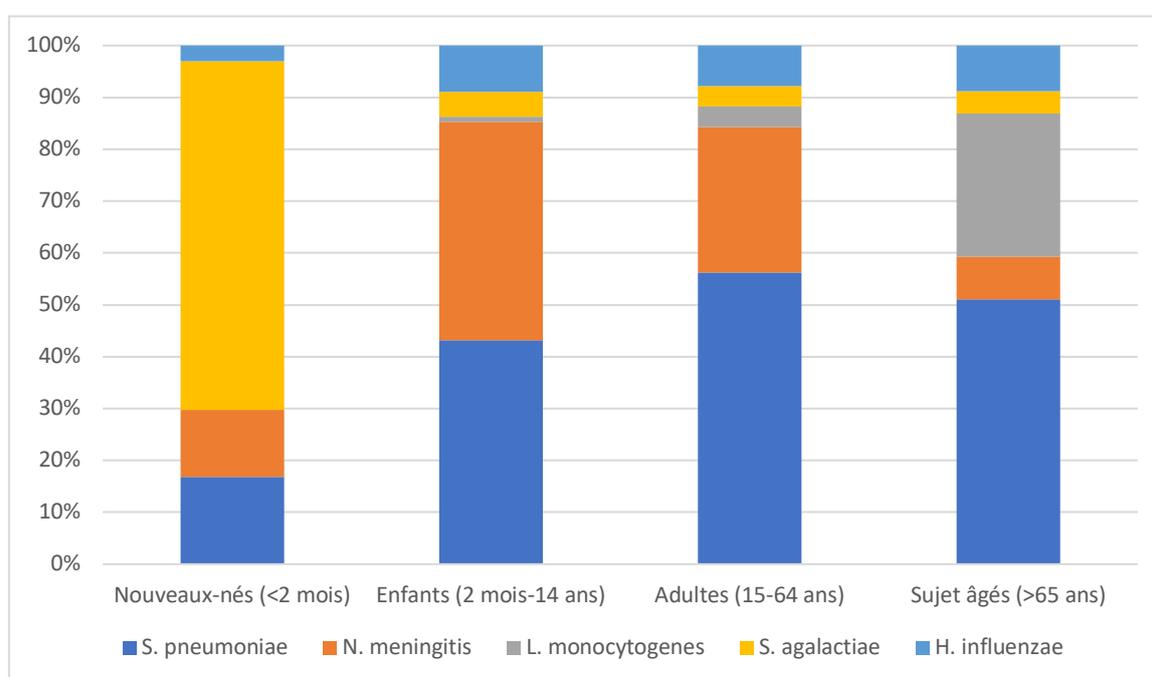


Figure 2. Étiologies bactériennes des méningites en fonction de l'âge, en France, en 2017 (Source : Réseau Epibac)(12)

1.4.1.1. *Neisseria meningitidis*

Neisseria meningitidis ou méningocoque est un diplocoque à Gram négatif strictement humain, fragile et commensal du nasopharynx.(1)

¹ Pas de données

Il existe 13 sérogroupes différents de *N. meningitidis*, dont 6 sont responsables d'infections invasives à méningocoque (IIM) à potentiel épidémique, incluant les méningites : groupes A, B, C, W-135, X et Y.

Les méningites à méningocoque sont plus courantes chez les nourrissons, les enfants et les adultes jeunes, que chez le sujet âgé. La localisation méningée résulte du franchissement de la barrière hémato-gène puis de la BHE depuis le nasopharynx, par le méningocoque.(1)

Les IIM sont des maladies à déclaration obligatoire en France. En 2016, selon l'InVS, parmi les méningocoques responsables d'infections invasives, les sérogroupes B (51%) et C (26%) étaient prédominants, et les sérogroupes Y (12%) et W135 (8%) plus rares. La prévalence des sérogroupes A et X en France est anecdotique.

1.4.1.2. *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae ou pneumocoque est un diplocoque à Gram positif encapsulé, qui colonise les voies aériennes supérieures. Il s'agit de l'agent pathogène le plus fréquemment isolé dans les pneumonies communautaires.

S. pneumoniae est caractérisé par la présence d'une capsule polysidique, qui permet de classer les pneumocoques en 91 sérotypes, et est un facteur de virulence du pneumocoque à l'origine d'une réaction inflammatoire intense.(13) La méningite à pneumocoque résulte de l'extension d'un foyer infectieux de proximité (otite, sinusite) ou d'une bactériémie.(1) Il s'agit de l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée dans les méningites chez les sujets >15 ans.

1.4.1.3. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes, agent responsable de la listériose, est un bacille à Gram positif ubiquitaire. La bactérie d'origine digestive atteint le système nerveux central par voie hématogène.(1) La méningite due à *L. monocytogenes* est responsable de 0,5 à 5,8 % des cas de méningites bactériennes dans le monde.(11) Les populations à risque de développer une listériose invasive sont les patients immunodéprimés, les femmes enceintes, les fœtus, les nouveau-nés, et les personnes âgées.(14,15) En France, l'incidence des infections à *L. monocytogenes* en 2017 était de 0,1/100 000 et reste constante depuis 2000.(12)

1.4.1.4. *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae (streptocoque du groupe B (SGB) ou *group B Streptococcus* (GBS)) est une cause fréquente de méningite chez les nouveau-nés, en particulier les prématurés. La méningite à SGB coïncide souvent avec une septicémie néonatale.(16) Chez les patients adultes, les méningites à SGB sont associées au vieillissement ou à de graves maladies sous-jacentes.

1.4.1.5. *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae est un coccobacille à Gram négatif isolé exclusivement chez l'homme. Les souches de *H. influenzae* sont divisées en deux groupes basés sur la présence ou l'absence d'une capsule de polysaccharide. *H. influenzae* de type b (Hib), du groupe X, peut être responsable de méningites et représente 0,2 à 15,5 % des cas de méningites bactériennes dans le monde entier.(11) En France, l'incidence des méningites à *H. influenzae* en 2017 était de 0,09/100 000 habitants.

Ces méningites surviennent presque exclusivement chez les enfants de moins de 5 ans.(12)

1.4.1.6. *Escherichia coli* K1

Escherichia coli est une entérobactérie (bacille gram négatif) fréquemment isolée en pathologie humaine. Le sérotype K1 d'*Escherichia coli* est responsable d'infections sévères, en particulier chez les prématurés et les nouveau-nés. Les méningites à *E. coli* K1 chez l'adulte sont rares (1% des cas de méningites) et généralement d'origine nosocomiale.(17)

1.4.1.7. Autres bactéries

Plus rarement, d'autres espèces peuvent être responsables de méningites et méningo-encéphalites, parmi lesquelles :(5)

- *Borrelia burgdorferi* (agent responsable de la Maladie de Lyme)
- *Treponema pallidum* (agent responsable de la Syphilis)
- *Leptospira* spp. (agent responsable de la leptospirose)
- *Brucella* spp. (agent responsable de la brucellose)
- *Pseudomonas aeruginosa*
- Et certaines bactéries intracellulaires : *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia* spp., *Legionella* spp., *Coxiella burnetii*, *Rickettsia* spp..

1.4.2. Virus

Les méningites virales résultent habituellement d'une dissémination hématogène et du passage de la BHE d'un virus, à partir d'un foyer infectieux périphérique, le plus souvent respiratoire ou digestif.(1, 18) Les méningites dues au virus herpès simplex

type 2 (HSV-2) ou au virus varicelle-zona (VZV) peuvent également résulter de la réactivation d'une infection latente.

Les méningo-encéphalites d'origine virale sont plus fréquentes que les ME d'origine bactérienne chez l'enfant et le jeune adulte, et inversement chez le sujet âgé. Elles sont généralement associées à un bon pronostic. Il est cependant difficile d'avoir des données épidémiologiques précises car les méningites virales ne sont pas des maladies à déclaration obligatoire.

1.4.2.1. Entérovirus

Les **entérovirus** (EV) sont des petits virus à ARN de la famille des Picornaviridae. Ces virus touchent particulièrement les enfants de moins de 15 ans. Les entérovirus ont un tropisme pour le tractus digestif et le système nerveux. Les infections à entérovirus se transmettent par voie oro-fécale et parfois respiratoire. Elles se transmettent rapidement au sein des collectivités, et plus particulièrement en conditions précaires. Les EV sont la première cause de méningite virale, isolés dans 90% des cas (lorsque l'agent étiologique est identifié).(1) D'après les données du Centre National de Référence (CNR) des entérovirus et paréchévirus, 2419 cas de méningites à EV ont été observés en France en 2017. On observe une saisonnalité, avec une augmentation des nombres de cas de méningites par entérovirus en été.(19)

1.4.2.2. Herpès simplex virus

Les virus **Herpès simplex de types 1 et 2** (HSV-1 et HSV-2) sont des virus à ADN de la famille des Herpesviridae, connus pour provoquer des lésions cutanéomuqueuses. Ils représentent l'une des étiologies les plus courantes d'encéphalite

virale, et sont une cause significative de méningo-encéphalite. Le virus HSV-1 pénètre dans le SNC par voie nerveuse, suite à une primo-infection ou une réactivation du virus. Le virus HSV-2 atteint le SNC après réactivation du virus (méningite de Mollaret).

Dans le monde, la séroprévalence du HSV-1 est supérieure à celle du HSV-2 (~67 % vs. 11 % de la population âgée de moins de 50 ans).(20)

Des études au Royaume-Uni et aux États-Unis ont montré qu'environ 3 % des LCS prélevés en cas de suspicion de méningite et ME étaient positifs à HSV.(21)(22)

Les virus HSV sont la cause la plus fréquente (25% des cas) de méningo-encéphalites à LCS clair (bien que pour la moitié d'entre elles, l'agent étiologique n'est pas identifié).(1) La méningo-encéphalite herpétique est une pathologie au pronostic sévère. La clinique associe un syndrome infectieux, un syndrome méningé et un syndrome encéphalitique (des crises épileptiques olfactives indiquent l'implication du lobe temporal (impression de mauvaises odeurs : œuf pourris, viande brûlée)).(23)

1.4.2.3. Virus varicelle-zona

Le **virus varicelle-zona** (VZV) est un virus à ADN à double brin, également de la famille des Herpesviridae. Il est responsable de la varicelle, infection survenant généralement au cours de l'enfance (primo-infection). Le VZV persiste ensuite sous forme latente dans les neurones et les cellules gliales et peut se réactiver à distance, à l'origine de zona. On estime que l'incidence globale moyenne du zona est de 4,0 à 4,5 pour 1 000 individus et par an.(24) Encéphalite et méningite à VZV sont des complications de la varicelle et du zona. Dans une étude, le VZV était le

troisième virus le plus détecté chez les patients présentant des signes d'encéphalite ou méningite, avec une prévalence de 1,9 %.(22)

1.4.2.4. Autres virus

De nombreux autres virus peuvent être responsables de méningites ou de méningo-encéphalites, parmi lesquels (5,25) :

- Herpèsvirus humain de type 6 (HHV-6)
- Paréchovirus humain (HPeV)
- Cytomégalovirus (CMV)
- Virus Epstein-Barr (EBV)
- Poliovirus
- Myxovirus et paramyxovirus : virus de la rougeole, *Myxovirus parotidis* (oreillons), virus *influenza*
- arbovirus : virus de l'encéphalite à tiques (TBEV), West Nile Virus, virus de la fièvre de la vallée du rift, virus de l'encéphalite japonaise
- Adénovirus
- Rage
- HSV-6, HSV-7
- VIH

1.4.3. Champignons

Les principaux champignons responsables de méningites et méningo-encéphalites sont des levures des genres *Cryptococcus* et *Candida* et des champignons filamenteux : *Aspergillus* spp.. Les méningites fongiques sont rares et surviennent

surtout sur terrain immunodéprimé (patients infectés par le VIH, hémopathies, nouveau-nés,...).

1.4.3.1. *Cryptococcus neoformans/gattii*

Cryptococcus neoformans et ***Cryptococcus gattii*** sont des champignons saprophytes de l'environnement présents notamment dans le sol et les fientes d'oiseaux. Ces levures, caractérisées par la présence d'une capsule polysaccharidique, sont des pathogènes opportunistes responsables d'infections fongiques invasives, et notamment de méningo-encéphalites. *C. neoformans* est l'espèce la plus fréquente et regroupe 2 variétés (sérotypes) : *C. neoformans* var. *neoformans* (la plus fréquente en Europe, sérotype D) et *C. neoformans* var. *grubii* (cosmopolite, sérotype A). *C. gattii* (sérotypes B et C) est plus fréquemment isolé dans les régions subtropicales et peut également être responsable de cryptococcose chez des individus immunocompétents.

1.4.3.2. *Candida*

Les micromycètes du genre ***Candida*** sont des levures commensales de la peau et/ou des muqueuses (orales, digestives et/ou vaginales en fonction des espèces). Parmi les espèces du genre *Candida*, *C. albicans* est l'espèce la plus fréquemment isolée en pathologie humaine et dans les méningites à *Candida*.(26) Les méningites à *Candida* sont la conséquence d'une candidémie, particulièrement chez les nouveau-nés et prématurés, d'un traumatisme crânien ou d'interventions neurochirurgicales.

1.4.4. Autres champignons

D'autres agents pathogènes peuvent être responsables de méningites ou ME fongiques, plus rares : *Aspergillus* spp., zygomycètes, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioïdes* spp,

1.4.5. Parasites

Plusieurs parasites peuvent donner des atteintes neurologiques, à l'exemple de *Plasmodium falciparum*, *Toxoplasma gondii*, *Taenia solium* ou encore *Trypanosoma brucei*. Toutefois, toutes ces atteintes ne sont pas des méningites ou ME, et s'il s'agit réellement de méningites ou ME parasitaires, elles sont souvent associées à d'autres lésions cérébrales.

1.5. Diagnostic biologique

Le diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites repose sur l'analyse du liquide cébrospinal (LCS).

1.5.1. La ponction lombaire et le LCS

Le LCS est un liquide stérile, clair, incolore ("eau de roche"), de pH moyen égal à 7,32 et possédant une densité proche de celle de l'eau (1,005). Il est acellulaire (<5 éléments blancs/mm³). Sa composition diffère de celle du plasma en raison de la présence de la BHE (Tableau 2).

Tableau 2. Composition en ions et protéines du plasma et du LCS (valeurs moyennes)

	Plasma	LCS
Na ⁺	150 mmol/L	147mmol/L
K ⁺	4,6 mmol/L	2,8 mmol/L
Ca ⁺⁺	1,8 mmol/L	1,1 mmol/L
Cl ⁻	115 mmol/L	130 mmol/L
HCO ₃ ⁻	26 mmol/L	22 mmol/L
pH	7,40	7,32
pCO ₂	45 mmHg	50 mmHg
Protéines	8 g/100mL	0,02 g/100mL

La principale méthode de prélèvement du LCS est la ponction lombaire. La PL se fait dans la région lombaire basse (au-dessous de L1), entre l'extrémité de la première (L1) et celle de la dure-mère (S2). Elle est réalisée en condition d'asepsie stricte, et avant tout traitement anti-infectieux (sauf exceptions). Elle est contre-indiquée en cas :

- d'anomalies de l'hémostase (spontanée ou induite par des anticoagulants) ou de thrombopénie sévère
- De signes d'engagement cérébral, cliniques (mydriase unilatérale, hoquet, mouvements d'enroulement, troubles ventilatoires), ou radiologiques
- Et d'instabilité hémodynamique;

Idéalement, doivent être prélevés au cours de la PL plusieurs tubes contenant au total 2 et 5 mL de LCS. Ces tubes doivent ensuite être acheminés le plus rapidement possible au laboratoire (en moins de 30 minutes), la méningite bactérienne étant une urgence diagnostique et thérapeutique.(27,28)

Le LCS peut également être recueilli à partir de système de dérivations.

Tableau 3. Examens biologiques habituellement réalisés pour le diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites

	Examen	Méningite bactérienne	Méningite fongique	Méningo-encéphalite à LCS clair
LCS	Observation macroscopique	✓	✓	✓
	Cytologie : numération et formule (polynucléaires neutrophiles, lymphocytes)	✓	✓	✓
	Analyse biochimique	✓	✓	✓
	Examen bactériologique et mycologique : examen direct et culture, antibio/antifongigramme	✓	✓	
LCS, sérum, autre, ...	Recherche d'antigènes solubles	✓	✓	
LCS, sérum, autre, ...	Détection moléculaire : PCR	✓	(✓)	✓
Hémocultures		(✓)	✓	✓
Biopsies cutanées		(✓)	(✓)	
Sérologies				✓

1.5.2. Diagnostic biologique des méningites bactériennes

Le Tableau 3 résume les principaux examens biologiques à pratiquer lors d'une suspicion de méningite ou méningo-encéphalite infectieuse.

1.5.2.1. Observation macroscopique du LCS

L'observation macroscopique du LCS est un élément d'orientation simple pour le diagnostic des méningites ou ME infectieuses. Comme vu précédemment, en conditions normales, le LCS est limpide, d'aspect "eau-de-roche". Un LCS trouble

est toujours pathologique, attestant de la présence de leucocytes (souvent >200-300 leucocytes/mm³), et doit faire évoquer en premier lieu une méningite bactérienne.(1,28) Une étiologie infectieuse, y compris bactérienne, ne doit pas être exclue en présence d'un LCS clair, car il peut s'agir d'une méningite à un stade précoce ou "décapitée" (PL réalisée après administration d'anti-infectieux), ou d'une méningite ou ME à liquide clair. Le LCS peut également être xanthochromique, hématiche ou hémorragique, traduisant la présence d'une hémorragie méningée (active ou ancienne) ou une PL traumatique (Figure 3)

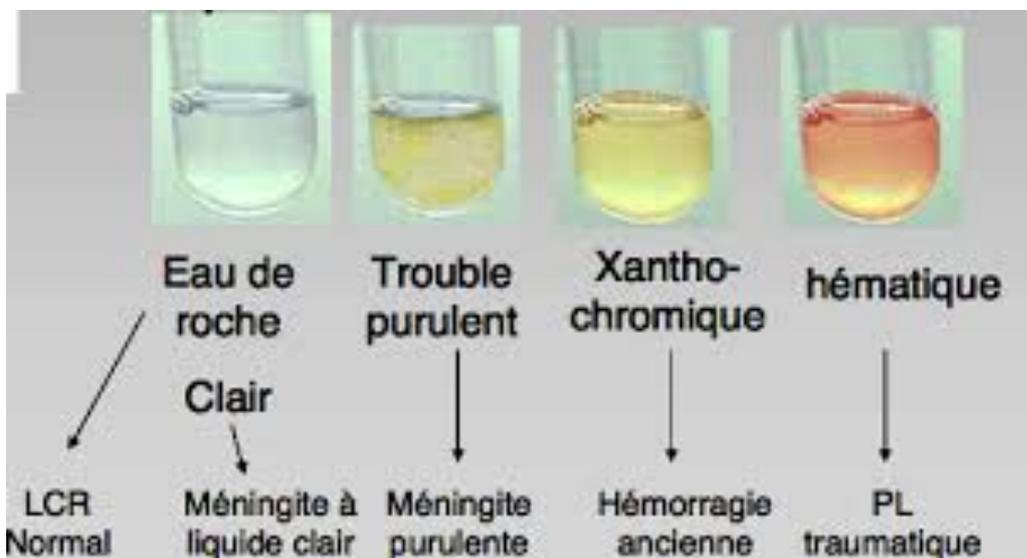


Figure 3. Aspect macroscopique du LCS après ponction lombaire (Cours L3 Bichat - 2013)

1.5.2.2. Examen cytologique du LCS

La numération des éléments cellulaires est réalisée sur une cellule de comptage (Malassez ou équivalent), à partir du LCS non centrifugé. Sont habituellement dénombrés les leucocytes et les hématies. La numération des hématies permet d'identifier une ponction traumatique ou une hémorragie méningée.

En conditions normales, le LCS contient <5 leucocytes/mm³.(1,28) En cas de méningite à liquide clair, la quantité de leucocytes retrouvée dans le LCS est

généralement de 5-100/mm³ , jusqu'à 100-1000/mm³; en cas de méningite purulente (ex: méningite bactérienne), on retrouve habituellement >20 éléments blancs/mm³, et souvent >1000/mm³.(1) Enfin, en cas de méningo-encéphalite, le nombre d'éléments blancs/mm³ retrouvés dans le LCS est variable : de 10-2000 EB/mm³.(29)

La formule leucocytaire (distinction polynucléaires neutrophiles (PNN) et lymphocytes) est idéalement réalisée après centrifugation et coloration de May-Gründwald-Giemsa. En conditions normales (<5 EB/mm³), le LCS contient 60-70% de lymphocytes et 30-50% de monocytes, sans PNN ni hématies. Une formule leucocytaire avec >50% de PNN évoque une méningite bactérienne, et une formule avec >50% de lymphocytes une méningite à liquide clair ou une méningo-encéphalite (Tableau 4).(1,27,29)

1.5.2.3. Examens biochimiques

- Examen biochimique du LCS (Tableau 4):
 - Glycorachie : elle doit être interprétée en fonction de la glycémie. En conditions normales, la glycorachie est supérieure à 2-3 fois la glycémie. En présence d'une étiologie bactérienne, on retrouve souvent une hypoglycorachie, ≤40% de la glycémie. En cas d'étiologie virale, on observe habituellement une normoglycorachie.(1)
 - Protéïnorachie : en conditions normales, elle est inférieure à 0,40g/L. Une hyperprotéïnorachie (>1g/L) évoque une origine bactérienne.(1,29)
 - Lactatorachie : sa valeur normale est <3,2mmol/L. Une valeur supérieure est évocatrice d'une méningite bactérienne.

- Procalcitonine : ce marqueur polypeptidique permet de distinguer de manière précoce une étiologie bactérienne d'une étiologie virale, chez l'enfant et l'adulte. Les seuils retenus sont variables : la SPILF propose un seuil à 0,5 ng/mL, (au-dessus duquel une étiologie bactérienne peut être retenue).(1,10)

Tableau 4. Examen cytologique et biochimique du LCS et orientation diagnostique (1)

	LCS normal	Méningite purulente	Méningite à liquide clair
Aspect macroscopique	Clair (eau de roche)	Trouble en général	Clair
Leucocytes Total et formule	<5/mm ³ Lymphocytes 60-70% Monocytes 30-50% Ni PNN ni hématies	>20/mm ³ > 1000/mm ³ PNN>50%	5 à 100/mm ³ en général Parfois 100-1000/mm ³ Lymphocytes>50%
Glycorachie	>2-3 x glycémie	≤40% glycémie	>2-3 x glycémie (viral) <0,4 glycémie (<i>Listeria</i> ou <i>BK</i>)
Protéïnorachie	<0,40 g/L	En général >1 g/L	<1g/l si virus 1-2 g/L si bactérie
Lactatorachie	<3,2 mmol/L	>3,2 mmol/L	<3,2 mmol/L
Étiologie		-Méningite bactérienne -30% des méningites virales au début (EV++)	-Normoglycorachie= virale a priori. -Hypoglycorachie= <i>listeria</i> , <i>BK</i> -10% des méningites au début Le plus fréquent.

Les résultats des examens biochimiques et cytologiques du LCS sont disponibles rapidement, en quelques heures, et permettent donc une orientation précoce vers telle ou telle étiologie. Cependant, leur interprétation est parfois délicate, et doit également tenir compte des éléments suivants :

- Les anomalies décrites ci-dessus peuvent être absentes chez les nouveau-nés.(30)

- Environ 10% des méningites bactériennes ont un LCS initial avec prédominance lymphocytaire.(31) La formule leucocytaire d'une méningite bactérienne peut être panachée, voire lymphocytaire, si une antibiothérapie probabiliste est administrée avant la PL.
- Un LCS "normal" est retrouvé dans environ 10% des méningites à méningocoque.(32)
- La formule des LCS des méningites à entérovirus peut retrouver une prédominance de polynucléaires, contrairement aux autres méningites virales.

1.5.2.4. Examen bactériologique du LCR

Cette étape est systématique et indispensable pour confirmer le diagnostic.

Un examen direct après coloration de Gram est réalisé sur le LCS centrifugé. Il permet d'orienter rapidement le diagnostic, vers une étiologie bactérienne voire même la bactérie responsable. Par exemple, des diplocoques Gram négatif orientent vers un méningocoque, des cocci Gram positif vers un pneumocoque (ou streptocoque du groupe B chez le nourrisson jusqu'à trois mois), des bacilles Gram négatif polymorphes orientent vers *Haemophilus* et des bacilles Gram positif vers *Listeria*.(27) La sensibilité de l'examen direct est corrélée à la concentration, au type de bactéries présentes dans l'échantillon, à la rapidité d'acheminement du prélèvement au laboratoire et à l'expérience du professionnel en charge de l'examen.(1,2,10) Elle varie par exemple de 25% pour une charge bactérienne $<10^3$ UFC/mL, à 60% lorsque la charge bactérienne est comprise entre 10^3 - 10^5 UFC/mL et jusqu'à 97% pour une charge bactérienne $>10^5$ UFC/mL, en l'absence de traitement antibiotique antérieur.(27,33) Des levures et champignons filamenteux

peuvent également être mis en évidence lors de l'examen direct du LCS par coloration de Gram ou avec des colorations spécifiques. En revanche, l'examen direct du LCS est négatif en cas d'étiologie virale.

En cas de positivité de l'examen direct, la SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française) recommande d'effectuer un antibiogramme directement à partir du prélèvement restant s'il est en quantité suffisante.(10)

Le LCS est égalementensemencé, après centrifugation ou non, sur milieux riches, non sélectifs, en général gélose au sang et gélose chocolat et milieu Schaedler.(34) Ces différents milieux sont incubés pendant 5 jours (minimum 48 heures) à 37°C avec 5-10% de CO₂ en aérobie, et lus quotidiennement. La sensibilité de la culture varie de 67% à 88% : elle est diminuée (62-70%) en cas d'admission d'antibiotiques avant la ponction lombaire.(35,36)

En cas de culture positive, la bactérie isolée est identifiée, puis un antibiogramme est réalisé afin d'adapter l'antibiothérapie.

1.5.2.5. Recherche d'antigènes solubles

En cas de forte suspicion de méningite bactérienne et d'examen direct négatif, une recherche d'antigènes pneumococciques (polysaccharide C) dans le LCS par test immunochromatographique est recommandée.(1,10) Ce test permet un diagnostic rapide (quelques minutes) d'infection à pneumocoque, avec une bonne spécificité, 100%, et une bonne sensibilité, 95-100%.(37)

1.5.2.6. Biologie moléculaire

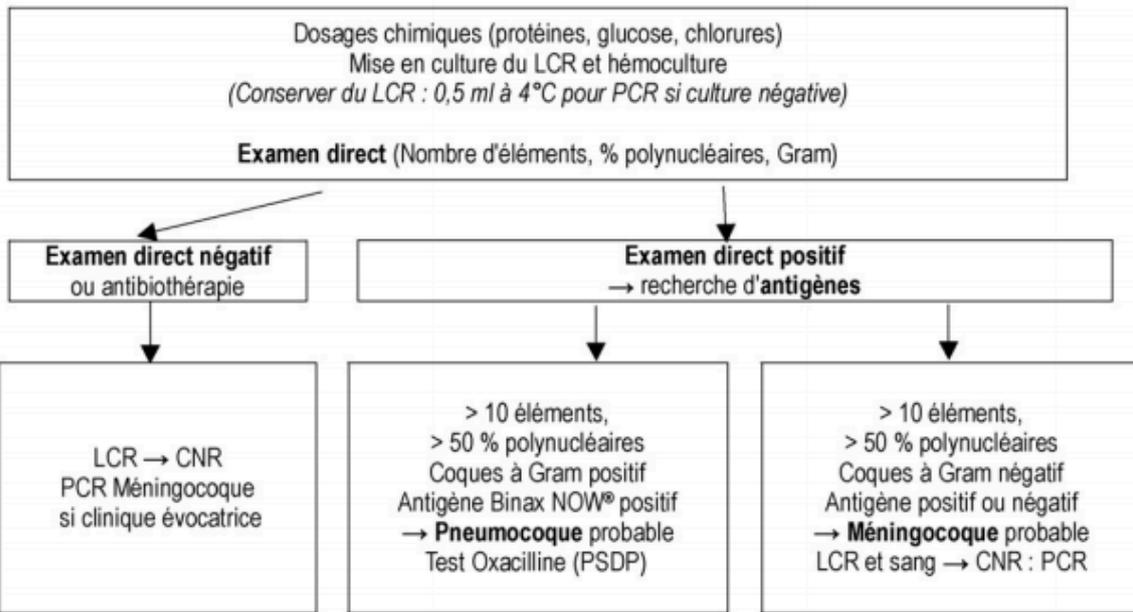
Des techniques de biologie moléculaire doivent être mises en œuvre lorsqu'une méningite bactérienne est fortement suspectée, et d'autant plus si l'examen direct est négatif ou que l'examen direct est positif mais la culture négative.

Elles peuvent être de deux types : des PCR ciblées sur un agent bactérien donné (exemples : PCR méningocoque et PCR pneumocoque), ou la détection non spécifique d'ADN bactérien (PCR universelle). D'après le référentiel de microbiologie médicale 2018, en cas de culture négative la recherche de *N. meningitidis* et de *S. pneumoniae* par biologie moléculaire est indispensable en cas de suspicion de méningite bactérienne.

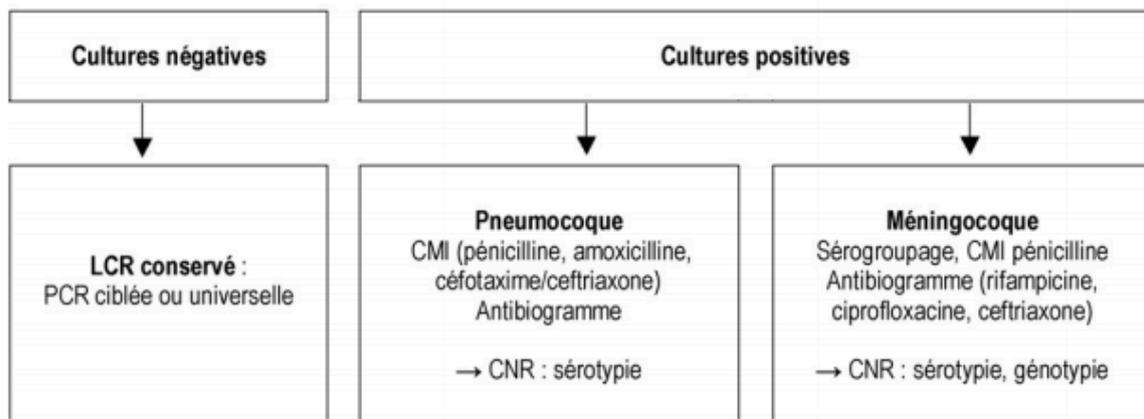
Pour les autres espèces bactériennes impliquées dans les méningites et ME, des techniques de biologie moléculaire spécifiques existent, mais la culture reste aujourd'hui la principale méthode diagnostique.

La Figure 4 est un arbre décisionnel des examens à réaliser après une ponction lombaire et pour les étiologies *S. pneumoniae* et *N. meningitidis*.

1^{er} JOUR : LCR (3 tubes, 0,5-1 ml)



2^e JOUR : CULTURES



3^e JOUR : PL DE CONTRÔLE si aggravation clinique ou PSDP

Figure 4. Arbre décisionnel après ponction lombaire pour le diagnostic des méningites bactériennes à pneumocoque ou méningocoque (agents étiologiques les plus fréquents). (Source : CNR : Centre national de référence.) PSDP : pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline.

1.5.2.7. Autres examens bactériologiques

D'autres examens bactériologiques peuvent être pratiqués en cas de suspicion de méningite bactérienne, en fonction des différents points d'appel cliniques. Néanmoins, dans tous les cas, des hémocultures doivent être prélevées. En cas de

purpura fulminans associé, le prélèvement des lésions est également préconisé afin de maximiser les chances d'isoler l'agent étiologique (Tableau 5).

Tableau 5. Autres examens bactériologiques dans le diagnostic des méningites

Examen	But	Remarque
Hémocultures	Détection d'une charge bactérienne	Positives dans 50-75% des cas(10)
Biopsies cutanées	Si lésions cutanées de purpura afin d'isoler en culture (<i>N. meningitidis</i>)	Permet d'isoler en culture le pathogène dans 60-80% des cas(10)

1.5.3. Diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites virales

Le diagnostic biologique des méningites et ME d'origine virale repose sur les éléments suivants :

- Observation macroscopique de l'aspect du LCS*
- Analyse cytologique du LCS : numération et formule leucocytaire*
- Analyse biochimique du LCS*
- Biologie moléculaire : PCR spécifiques
- Sérologies

Les examens indiqués avec une * sont communs avec ceux réalisés pour le diagnostic des méningites bactériennes : se référer plus haut.

Le diagnostic biologique des méningo-encéphalites virales est difficile : une étiologie est retrouvée dans seulement la moitié des cas de méningites à liquide clair.(38)

1.5.3.1. Biologie moléculaire : PCR spécifiques

La PCR est la technique de référence pour le diagnostic des méningites et ME virales à partir du LCS.

La SPILF recommande l'utilisation de la PCR ciblée en première ligne et sans délai pour rechercher les virus HSV, VZV et entérovirus en cas de suspicion radio-clinique d'encéphalite.(10)

D'autres virus peuvent être recherchés simultanément ou en 2^{nde} intention en fonction du contexte clinique et épidémiologique.

Selon le contexte et le laboratoire peuvent être mises en œuvre des PCR ciblées sur un virus donné, ou des PCR multiplex permettant la détection simultanée de plusieurs virus.(39)

Pour certains virus pouvant être détectés à l'état latent, comme le virus Epstein-Barr (EBV), un résultat de PCR positif dans le LCS doit être confronté au résultat de la sérologie afin d'éliminer la détection d'un virus latent.(40)

1.5.3.2. Sérologie

En cas de suspicion de méningite et ME d'origine virale, des sérologies peuvent être réalisées en complément des techniques de biologie moléculaire : elles consistent en la recherche d'anticorps spécifiques dirigés contre un virus donné, dans le sang voire le LCS. Elles sont surtout contributives chez les patients immunocompétents.

1.5.4. Diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites fongiques

Le diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites d'origine fongique repose sur les examens suivants :

- Observation macroscopique de l'aspect du LCS*
- Analyses cytologiques du LCS : numération et formule leucocytaire*
- Analyses biochimiques du LCS*
- Examen direct du LCS : coloration à l'encre de Chine
- Culture sur milieux spécifiques
- Détection d'antigènes spécifiques
- Biologie moléculaire

*Les examens indiqués avec une * sont communs avec ceux réalisés pour le diagnostic des méningites bactériennes : se référer plus haut.*

1.5.4.1. Analyses cytologiques du LCS

En cas de cryptococcose neuro-méningée, l'examen du LCS montre en général un liquide clair, avec une formule mixte ou lymphocytaire (10-100 EB/mm³), une hypoglycorachie et une hyperprotéïnorachie. Chez l'individu VIH+, le LCS peut cependant être normal.(41,42)

Dans le cas d'une infection neuroméningée à *Candida*, l'examen du LCS montre habituellement une pléiocytose avec une majorité de PNN et de monocytes, une élévation de la protéïnorachie et une faible glycorachie.

1.5.4.2. Examen direct du LCS

Un examen direct par coloration à l'encre de Chine doit être réalisé systématiquement en cas d'examen mycologique du LCS.(43) Cette technique simple et rapide permet la visualisation de levures entourées d'une capsule, de 5-20µm de diamètre, caractéristiques de *Cryptococcus* spp (Figure 5). Sa sensibilité est variable ; 30-50% pour les patients non-VIH et jusqu'à 80% pour les patient

VIH.(44) Des lymphocytes, cellules tissulaires, hématies ou d'autres levures présentes dans le LCS peuvent être confondus avec les cryptocoques, à l'origine de faux-positifs.(44)



Figure 5. *Cryptococcus neoformans*, levure encapsulée (examen direct à l'encre de Chine)(42)

Bien que non spécifique, l'examen direct par coloration de Gram peut permettre la mise en évidence d'éléments fongiques, comme des levures ou des filaments mycéliens. Ces éléments apparaissent « Gram positif ». Toutefois, cet examen a une sensibilité très modérée et des colorations spécifiques sont recommandées en cas de suspicion de méningite ou ME fongique.(45)

1.5.4.3. Culture

La culture sur milieux spécifiques est indispensable pour le diagnostic des méningites et ME fongiques. Elle permet l'isolement de la souche, à partir duquel sont réalisées l'identification et l'antifongogramme. Pour le diagnostic des cryptococcoses neuro-méningées, la sensibilité de la culture est relativement élevée, et varie de 82,4% à 94,2% selon le volume de LCSensemencé.(41–43,46,47)

Le LCS est mis en culture sur milieu de Sabouraud, avec et sans Actidione® (cycloheximide) et additionné d'antibiotiques, à 35-37°C, pendant minimum 10 jours. La croissance des levures prend généralement entre 3 et 5 jours. Des faux négatifs de la culture peuvent être observés en cas de traitement antifongique préalable ou si la charge fongique est trop faible dans le LCS (bien que ceci puisse être contré par l'augmentation du volume de LCS mis en culture ou l'ensemencement du culot de centrifugation).(41,43,47,48)

En parallèle de la culture du LCS, des hémocultures doivent être réalisées, bien que leur sensibilité soit faible (50-75%).(45,49)

1.5.4.4. Détection d'antigènes spécifiques et sérologie

La détection des antigènes cryptococcaux (CrAg) dans le LCS, le sérum ou le plasma est un outil de diagnostic essentiel de la cryptococcose neuro-méningée. Cette détection d'antigènes peut être réalisée par agglutination au latex, par dosage immuno-enzymatique (enzyme immunoassay), ou par immunochromatographie (*point-of care CrAg lateral flow assay* (LFA)).(46) Le test immunochromatographique tend à être le plus utilisé aujourd'hui en raison de sa sensibilité élevée, de la rapidité d'obtention des résultats (10 minutes), d'un faible coût et du faible niveau d'expertise requis par le technicien.(41,43,46,50) En cas de résultat positif, un titrage des CrAg est nécessaire, en particulier dans le LCS où il présente un intérêt pronostique pour le suivi de l'efficacité thérapeutique.

D'autres marqueurs (détection d'antigènes ou d'anticorps) sont disponibles pour le diagnostic des méningites et méningo-encéphalites fongiques hors *Cryptococcus* :

beta-glucanes, galactomannanes, antigènes mannanes et anticorps anti-mannanes.

Les beta-glucanes sont des constituants polysaccharidiques présents dans la paroi fongique de la plupart des espèces fongiques pathogènes, dont *Candida* mais excepté *Cryptococcus*. Ces beta-glucanes peuvent être détectés dans le sang en cas d'infection fongique invasive. La sensibilité de ce test est de 75% et la spécificité de 87%, toutes infections fongiques invasives confondues.(51)

Le mannane est une molécule libérée par les levures du genre *Candida* pendant leur croissance, qui peut être détectée par test immuno-enzymatique ELISA dans le sérum ou plus rarement dans le LCS en cas de candidose invasive.(49) Il est également possible de rechercher les anticorps anti-mannanes dans le sérum, par méthode ELISA. La détection de ces anticorps est un témoin plus tardif (après la clairance des mannanes) de la présence de *Candida*. Son interprétation est cependant délicate car *Candida* est également présent chez l'homme à l'état commensal.(49) Il est recommandé de réaliser des dosages d'antigène mannane et d'anticorps anti-mannane de manière répétée.(49)

En cas de suspicion de méningite ou ME due à *Aspergillus* peut être réalisé un dosage d'antigènes galactomannanes ou antigènes aspergillaires dans le LCS et le sérum.

1.5.4.5. Biologie moléculaire

Il existe des PCR spécifiques pour *Candida* spp, *Aspergillus* spp. ou bien des PCR dites panfongiques (amorces consensus chez tous les champignons). La biologie moléculaire n'est pas la meilleure méthode pour détecter *Cryptococcus* spp, ce point est abordé plus loin.

1.5.5. Place de la PCR dans le diagnostic des méningites et ME

Pour le diagnostic des méningites et ME d'origine virale, les techniques de PCR ou RT-PCR ont remplacé depuis plusieurs années la culture du LCS ou la recherche d'antigènes viraux, et se sont imposées comme *gold-standard*.

En revanche, pour les autres étiologies infectieuses, la place de la PCR dans le schéma diagnostique de la méningite et des ME est encore réduite. Le NICE (National Institute for Health Care Excellence, Grande Bretagne) et le collège anglais des urgentistes sont les seuls à avoir placé la PCR dans un algorithme de prise en charge de la méningite. En France, la Haute Autorité de Santé reconnaît l'intérêt de la place de l'amplification génique sur le LCS pour la recherche du méningocoque et du pneumocoque en cas de suspicion de méningite bactérienne. Cependant, il n'y a pas encore de consensus quant à sa place exacte dans la stratégie diagnostique : utilisation systématique ou selon les résultats de l'examen direct, ou de la culture ? Plus sensible que la culture, la PCR présente un intérêt majeur en cas d'administration antérieure d'antibiotiques. L'intérêt de la PCR sur sang ou biopsie cutanée purpurique n'est pas clairement démontré à ce jour pour le diagnostic d'une méningite bactérienne.(2) Ces conclusions sont également applicables aux autres bactéries responsables de méningites ou ME : *H. influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*...

Les PCR les plus utilisées aujourd'hui en diagnostic sont des PCR spécifiques d'un agent pathogène donné ou des PCR multiplex. Depuis peu, des techniques syndromiques, permettant la détection simultanée de la plupart des pathogènes habituellement en cause lors d'une suspicion de méningite, méningo-encéphalite ou encéphalite, sont disponibles. Ce travail s'intéressera par la suite au diagnostic

syndromique, et plus particulièrement au kit commercial BioFire® Meningitis/Encephalitis, et à leur place dans la prise en charge des méningites et méningo-encéphalites.

1.6. Prise en charge thérapeutique des méningites et ME infectieuses

1.6.1. Traitements antibiotiques

En cas de suspicion de méningite ou ME d'origine infectieuse ou bactérienne, la mise en place d'un traitement antibiotique empirique doit être faite le plus rapidement possible, si possible après la PL et le prélèvement des hémocultures, sauf en cas de *purpura fulminans* pré-hospitalier où le traitement est administré sans délai (Tableau 6). Un retard dans l'administration de l'antibiothérapie augmente les risques de mortalité et de séquelles. Par exemple, une étude a retrouvé une mortalité de 7,9% pour les patients pour lesquels un traitement antibiotique était initié aux urgences (délai d'initiation moyen : 1,08 heures \pm 13 min), et de 29% lorsque le traitement était initié lors de l'hospitalisation (6 \pm 9 heures)(52). Une autre étude a montré que le risque de décès était multiplié par 8,4 fois lorsque le traitement était administré après 6h d'admission aux urgences.(53)

En raison de la localisation méningée de l'infection et de la présence de barrières dont la BHE, l'antibiotique utilisé doit avoir une bonne diffusion. La gravité de la pathologie justifie l'utilisation de la voie intra-veineuse. Si présomption de méningite à *S. pneumoniae* ou à *N. meningitidis*, le choix se porte sur une C3G (Céphalosporine de 3^{ème} génération) : la céfotaxime ou la ceftriaxone. Une association de médicaments ne fait actuellement pas l'objet d'un consensus pour ces deux étiologies.(1,54) Si la suspicion porte sur *Listeria monocytogenes*, bactérie résistante aux C3G, un traitement par amoxicilline associée avec la gentamicine

doit être initié.(10) Le traitement antibiotique sera ré-évalué après obtention des résultats de l'antibiogramme (Tableau 7). Des résistances à ces antibiotiques utilisés en première intention ont été décrites, mais restent rares.

Tableau 6. Recommandations pour l'antibiothérapie de 1^{ère} intention des méningites bactérienne hors nouveau-né (SPILF, 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapie Anti-Infectieuse, 2008)

Si examen direct positif				
Suspicion pneumocoque	Suspicion méningocoque	Suspicion listériose	Suspicion <i>H. influenzae</i>	Suspicion <i>E. coli</i>
Céfotaxime 300 mg/kg/j ² ou Ceftriaxone 100 mg/kg/j ³	Céfotaxime 200 mg/kg/j ⁵ ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j ⁶	Amoxicilline 200mg/kg/j ⁴ + Gentamicine 3-5 mg/kg/j ⁵ x7jours	Céfotaxime 200 mg/kg/j ⁵ ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j ⁶	Céfotaxime 200 mg/kg/j ⁵ ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j ⁶
Chez nourrisson est enfant : ajout vancomycine				Ajout aminoside (gentamicine) pour 48h chez nourrisson<3 mois
Si examen direct négatif				
Sans argument ⁶ en faveur d'une listériose		Avec argument ⁹ en faveur d'une listériose		
Céfotaxime 300 mg/kg/j Ou Ceftriaxone 100 mg/kg/j		Céfotaxime 300 mg/kg/j Ou Ceftriaxone 100 mg/kg/j + amoxicilline 200 mg/kg/j + gentamicine 3-5 mg/kg/j		
Ajout aminoside (gentamicine) pour 48h chez nourrisson<3 mois 3-5mg/kg/j				

² Soit en 4 perfusions soit en administration continue avec dose de charge de 50 mg/kg/j

³ En 1 ou 2 perfusions

⁴ Soit en 4 perfusions, soit en administration continue

⁵ En 1 perfusion unique journalière

⁶ Arguments : terrain, apparition progressive des symptômes, atteinte des paires crâniennes et/ou syndrome cérébelleux

Tableau 7. Recommandations pour l'antibiothérapie des méningites bactériennes documentées (SPILF, 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapie Anti-Infectieuse, 2008)

<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
<u>CMI amox < 0,1mg/L</u> Amoxicilline 200 mg/kg/j ⁷ <u>CMI amox ≥ 0,1mg/L</u> Céfotaxime 300 mg/kg/j ¹⁰ ou Ceftriaxone 100 mg/kg/j ⁸	<u>CMI amox < 0,1mg/L :</u> Amoxicilline ou maintient C3G <u>CMI amox ≥ 0,1mg/L:</u> Céfotaxime 200 mg/kg/j ¹⁰ ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j ¹¹	Maintien Amoxicilline 200mg/kg/j + Gentamicine 3-5 mg/kg/j ⁹
10 à 14 jours	4 à 7 jours	21 jours
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
Céfotaxime 200 mg/kg/j ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j	Maintien Céfotaxime 200 mg/kg/j ou Ceftriaxone 75 mg/kg/j Ajout aminoside (gentamicine) pour 48h chez nourrisson < 3 mois	Amoxicilline 200mg/kg/j
7 jours	21 jours	14-21 jours

En cas d'allergie sévère aux β-lactamines, contre-indiquant l'utilisation de céfotaxime ou ceftriaxone, des traitement alternatifs sont proposés (Tableau 8).

⁷ En 4 à 6 perfusions ou en continue

⁸ En 1 ou 2 perfusions

⁹ 1 perfusion IV sur 30 minutes pendant les 7 premiers jours

Tableau 8. Recommandation des traitements de première intention en cas d'allergie sévère aux bêta-lactamines (SPILF, 17^{ème} Conférence de Consensus en Thérapie Anti-Infectieuse, 2008)

Examen direct/PCR positifs	Antibiotique
Suspicion pneumocoque	Vancomycine + Rifampicine Alternative : méropénème
Suspicion méningocoque	Ciprofloxacine ou Rifampicine
Suspicion listériose	Triméthoprim-sulfaméthoxazole
Suspicion H. influenzae	Ciprofloxacine
Examen direct/PCR négatifs	Antibiotique
Sans argument pour listériose	Vancomycine + Rifampicine
Avec arguments pour listériose	Vancomycine + Rifampicine + Triméthoprim-sulfaméthoxazole

1.6.2. Traitements antiviraux

Devant une suspicion de méningo-encéphalite herpétique ou à VZV, un traitement antiviral par aciclovir en intraveineux est initié sans délai après la PL.(1) Lorsque l'étiologie est inconnue, le traitement initial inclut de l'aciclovir à 10 mg/kg/8h et de l'amoxicilline à 200 mg/kg/jour avec réévaluation à 48 heures.(55)

Une fois l'infection documentée, il convient d'adapter le traitement comme suit :

- HSV : Aciclovir à 10 mg/kg/8h continué, amoxicilline arrêtée.
- VZV : Aciclovir augmenté à 15 mg/kg/8h, amoxicilline arrêtée.
- Entérovirus : arrêt de l'aciclovir et de l'amoxicilline.
- Bactérie : se reporter à la partie 1.6.1.

La durée de traitement recommandée est de 14 jours pour un sujet immunocompétent et de 21 jours pour un sujet immunodéprimé.(55)

Les méningites à entérovirus présentent généralement une évolution favorable en quelques jours et ne nécessite pas de traitement antiviral.

1.6.3. Traitements antifongiques

Le traitement de la cryptococcose neuroméningée fait appel à l'association amphotéricine B deoxycholate à 0,7 à 1 mg/kg/j ou amphotericine B liposomale à 5 mg/kg/j par voie IV et 5 fluorocytosine 100 mg/kg/j pendant 1 semaine, suivi du fluconazole à forte dose (1200 mg/j) pendant 7 jours.(56) Ce traitement d'induction est suivi par un traitement de consolidation par le fluconazole 800 mg/j pendant au moins 2 mois, *per os*. Une prophylaxie secondaire par fluconazole 200 mg/j est ensuite proposée jusqu'à restauration de l'immunité (chez les patients VIH+), en général 2-3 mois.(43)

Le traitement des méningites ou ME à *Candida* spp fait lui appel à l'amphotéricine B liposomale, associée ou non à la 5-fluorocytosine. Ce traitement est administré par voie intraveineuse, pour une durée de 6 à 12 semaines voire plus.

1.6.4. Mesures générales et traitement symptomatique

La suspicion d'une méningite est une urgence médicale qui justifie le placement du patient en isolement, en attendant les résultats du diagnostic microbiologique. Une fois les résultats obtenus, le patient est maintenu en isolement type « gouttelettes » en cas de méningite à méningocoque ou à *Haemophilus influenzae*. En revanche, la méningite à pneumocoque ne nécessite pas d'isolement.(1,13) L'isolement n'est plus utile après 24h de traitement par C3G, car il n'y a plus de portage pharyngé.(57) En cas de méningo-encéphalite et de méningite bactérienne, une hospitalisation en service de soins intensifs est en général la règle. Les critères absolus d'admissions dans un service de soins intensifs sont les suivants : *purpura*, score de Glasgow <9, signes neurologiques focaux, signes de souffrance du tronc cérébral, convulsions

et instabilité hémodynamique.(58) Une prise en charge en ambulatoire avec retour à domicile est possible si l'infection est due à un entérovirus ou au virus HSV-2.(59) Le traitement symptomatique des méningites infectieuses comprend habituellement le maintien de l'équilibre hydro-électrolytique, des antipyrétiques, des antalgiques, des antiémétiques voire des antiépileptiques (diazépam) si crise.(1)

À propos de l'administration d'une corticothérapie, la SPILF recommande l'injection de dexaméthasone immédiatement ou de façon concomitante à la première injection d'antibiotiques. Cette recommandation s'applique à une suspicion de méningite à pneumocoque ou méningocoque chez l'adulte et à une suspicion de méningite à *H. influenzae* chez l'enfant et le nourrisson (3-12 mois). La corticothérapie est également recommandée lorsque la mise en route de l'antibiothérapie est retardée, que le LCS est trouble, que l'examen direct est négatif mais que d'autres analyses sont en faveur d'une méningite bactérienne. La dose de dexaméthasone injectée chez l'adulte est de 10mg et de 0,15mg/kg chez l'enfant, elle est répétée toutes les 6 heures pendant 4 jours.(10)

Il n'existe pas de données montrant un effet positif sur les patients en cas d'étiologie virale.(60)

1.7. Évolution et pronostic des méningites et méningo-encéphalites

Les méningites bactériennes sont pratiquement toujours fatales en l'absence de traitement, et malgré un traitement antibiotique adapté, leur mortalité reste élevée (environ 20% toutes étiologies confondues).(1,2) Le taux de mortalité, avec traitement approprié, est de 30% pour une méningite à *S. pneumoniae* chez l'adulte

et de 10% chez l'enfant, et de 5 à 20% pour *N. meningitidis* selon qu'il y ait ou non un *purpura fulminans* associé. En France, cela représente une dizaine de décès par an par le pneumocoque et 70 par le méningocoque (Epibac, Santé publique France 2017). Le taux de mortalité des méningites à *Listeria* est de 30%.^(1,13,29,61) *E. coli* K1 est responsable des méningites chez le prématuré et le nouveau-né, avec un taux de mortalité de 13 % et 25 %, respectivement.⁽⁶²⁾ La mortalité est supérieure en cas de convulsions (41% vs 16%).⁽⁶³⁾

Le délai d'initiation de l'antibiothérapie est le facteur le plus déterminant d'une évolution fatale à 3 mois. La mortalité est significativement augmentée si l'administration de la première dose intervient plus de 3h après l'admission à l'hôpital.⁽⁹⁾

Des séquelles après traitement sont observées dans environ 30% des cas de méningites bactériennes (1), toutes étiologies confondues, mais plus fréquemment avec *S. pneumoniae* (10-32%) et *N. meningitidis* (5-32%).^{(2)¹⁰}. Les séquelles les plus fréquemment rencontrées sont listées dans le Tableau 9.

Tableau 9. Séquelles secondaires à une méningite ou une méningo-encéphalite bactériennes et leur fréquence chez les adultes et les enfants.

	Enfants ⁽⁶⁴⁾ ⁽⁶⁵⁾	Adultes
Perte d'audition	7, 12, 34%	22-54% ^(66,67)
Convulsions	13%	17% ⁽⁹⁾
Déficits moteurs	12%	
Défaillances cognitives	9%	
Hydrocéphalie	7%	
Perte de la vision	6%	

La plupart des méningites virales présentent un pronostic favorable, avec même une évolution spontanément favorable pour certaines (méningites à entérovirus).

¹⁰ Schwartz N Engl J Med 2006, Lucas MJ J Infection 2016, Hoogman M JNNP 2007

En revanche, la méningo-encéphalite herpétique est une pathologie grave, avec un taux de mortalité de 80% sans traitement, et 10% avec traitement. On observe l'apparition de séquelles dans 40% des cas. Elles sont le plus souvent cognitives, comportementales, crises d'épilepsie.(1)

Le pronostic de la cryptococcose neuro-méningée est sévère, même sous traitement antifongique, avec une mortalité proche de 60% chez les patients VIH positifs.(68,69) Cette infection est responsable de 15% des décès chez les patients VIH positifs.(70)

1.8. La prévention des méningo-encéphalites

La vaccination :

Certaines étiologies bactériennes et virales peuvent être prévenues par la vaccination.

Concernant la prévention des infections à méningocoque, il existe un vaccin méningococcique C conjugué, un vaccin tétravalent conjugué ACYW135 et un vaccin contre le sérogroupe B. Un vaccin pneumococcique conjugué 13-valent est disponible pour la prévention des infections à pneumocoque. Enfin, la vaccination avec la valence Hib permet la prévention des méningites à *H. influenzae*.(71)
(Tableau 10)

Concernant les principales étiologies virales des méningites et ME, il existe des vaccins contre la varicelle et le zona, la rougeole et les oreillons.

Tableau 10. Recommandations vaccinales en France, selon la Haute Autorité de Santé (HAS) en 2019.

Vaccin	Recommandation par la HAS
Haemophilus influenzae b (Hib)	Obligatoire chez l'enfant
Pneumocoque (PnC)	Obligatoire chez l'enfant
Méningocoque C (Vaccin conjugué)	Obligatoire chez l'enfant. Recommandée pour les personnes contact.
Méningocoque B	Recommandé chez les personnes immunodéprimées, travaillant en laboratoire sur des souches de méningocoque et pour les sujets contacts ou dans une situation épidémique ou hyperendémique)
Méningocoque ACYW	Recommandé chez les personnes immunodéprimées, travaillant en laboratoire sur des souches de méningocoque, pour les personnes contact.
Varicelle	Recommandée chez les adolescents de 12-18 ans, les femmes en âge de procréer sans antécédent clinique de varicelle, toute personne sans antécédent clinique de varicelle et dont la sérologie est négative, en contact avec des personnes immunodéprimées et les enfants candidats receveurs d'une greffe d'organe solide sans antécédent de varicelle et dont la sérologie est négative. En milieu professionnel, vaccination recommandée pour les personnes sans antécédent de varicelle et dont la sérologie est négative (milieu de la petite enfance et médical)
Zona	Recommandée chez les adultes âgés de 65 à 74 ans révolus.
Rougeole, Oreillons	Associé à la vaccination contre la rubéole. Obligatoire chez l'enfant.

Prophylaxie :

Le méningocoque étant contagieux, il convient de traiter de manière prophylactique les personnes « contact » d'un sujet présentant une IIM par de la rifampicine ou, en cas de contre-indication, de la ceftriaxone ou du céfotaxime. Le traitement prophylactique doit être administré dans les 24 à 48 heures suivant le comptage. Un sujet contact est une personne ayant été exposée aux sécrétions rhinopharyngées du patient, au cours des 10 jours précédant son hospitalisation. Cette antibioprophylaxie est complétée par une vaccination de l'entourage proche du

patient (famille, amis, personnes sous le même toit, voisin de classe etc...) lorsque la souche est de type C, A, Y ou W135. Ceci est défini par l'instruction DGS/RI1/DUS n° 2014-301 du 24 octobre 2014.

La méningite à pneumocoque ne nécessite pas d'antibioprophylaxie.(1,13)

L'isolement des patients en cas de suspicion de méningite bactérienne est traité dans la section 57 et participe également aux mesures de prophylaxie afin de limiter la dissémination des agents pathogènes.

2. LE DIAGNOSTIC SYNDROMIQUE

Le diagnostic syndromique est une nouvelle approche pour le diagnostic biologique des maladies infectieuses, qui consiste à rechercher de manière conjointe et simultanée les principaux microorganismes soupçonnés devant un syndrome clinique donné, par exemple un sepsis, une diarrhée ou des signes neurologiques (Tableau 11). Selon les techniques, plusieurs types d'agents pathogènes peuvent être recherchés simultanément : virus, bactérie, micromycète et/ou parasite. Certaines techniques incluent également la détection conjointe de marqueurs de résistance aux agents infectieux.

Les techniques de diagnostic syndromique reposent très majoritairement sur la biologie moléculaire : extraction, amplification et détection des acides nucléiques (ADN et/ou ARN) par PCR (*Polymerase Chain Reaction*) ou RT-PCR (*Real-Time PCR*). Elles présentent donc une sensibilité élevée pour la plupart des agents pathogènes détectés. La technologie T2 Diagnostics est également une méthode de diagnostic syndromique, mais utilise la résonance magnétique pour l'identification des pathogènes sur sang total et ne sera pas détaillée dans ce travail.

2.1. Kits commercialisés

A ce jour, des kits de diagnostic syndromique commerciaux existent pour les syndromes suivants : infections respiratoires supérieur et inférieur, infections gastro-intestinales, méningites et méningo-encéphalites, infections (uro-génitales) sexuellement transmissibles, sepsis, infections du tractus urinaire, infections intra-abdominales et fièvre du nourrisson (Tableau 11).

Tableau 11. Kits syndromiques commercialisés en Europe et aux États-Unis (Décembre 2019)

Syndrome	Kits commercialisés ¹¹
Respiratoire supérieur	BioFire RP ^{°*} , RP2 [*] , RP2 <i>plus</i> [°] BD Max ^{°*} Fast-Track RP [°] Luminex Verigene RP Flex ^{°*} Luminex xTAG RVP Fast [°] Seegene Allplex RP [°] QIAstat-Dx Respiratory Panel v2 ^{°*} Genmark ePlex Respiratory Panel ^{°*}
Respiratoire inférieur	Curetis Unyvero (HPN) [*] BioFire Pneumonia Panel [*] , Pneumonia Panel plus [°]
Sepsis	Accelerate PhenoTest BC kit ^{°*} Curetis Unyvero (BCU) ^{*°} Luminex Verigene BC ^{°*} Master Diagnostica Sepsis Seegene Magcplex Sepsis BioFire [®] BCID ^{°*} Genmark ePlex BCID panels [°] : Gram-Positive, Gram-Negative, Fungal Organisms.
Gastro-intestinal	BD Max ^{*°} Fast-Track GI [°] Luminex Verigene GI EP ^{°*} Luminex xTAG GPP ^{°*} Seegene Allplex GI [°] QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel v2 [°] BioFire GI ^{°*}
Méningite, encéphalite	Fast-Track ME [°] Master Diagnostica CNS Seegene Allplex [°] BioFire [®] ME ^{°*}
Infections sexuellement transmissibles (uro-génitales)	Fast-Track STI [°] Seegene Allplex/Seeplex ^{°*}
Fièvre du nourrisson	Fast-Track Fever, Rash, Childhood infection [°]
Infection intra-abdominales	Curetis Unyvero (IAI) ^{*°}
Infection implants et tissus mous	Curetis Unyvero (ITI) [*]
Infections du tractus urinaire	Curetis Unyvero (UTI) [°]
Fièvres tropicales	Fast-Track Tropical Fevers [°]

HPN : Hospitalized Pneumonia Panel, IAI: Intra-abdominal Infection, BCU/BC: Blood Culture, ITI: Implant & Tissue Infections, GPP: Gastrointestinal Pathogen Panel

¹¹ *= Kits commercialisés aux États-Unis (FDA approved)

[°]= Kits commercialisés en Europe[°](CE-marked)

Parmi les différentes technologies de diagnostic syndromique citées ci-dessus, seules quatre sont des approches syndromiques entièrement automatisées du prélèvement au résultat, de type *Sample-to-Answer*: QIAstat-Dx, Luminex, Genmark et BioFire.

2.2. Intérêts du diagnostic syndromique

De nos jours, le diagnostic biologique des maladies infectieuses est guidé par la symptomatologie, par les antécédents, l'anamnèse, des facteurs sociaux et environnementaux, ou encore l'origine ethnique du patient : il est souvent limité en 1^{ère} intention à la recherche ciblée des seuls agents pathogènes les plus fréquents.(72) Le diagnostic syndromique présente plusieurs avantages par rapport à cette approche diagnostique ciblée. Il permet de rechercher à la fois les agents infectieux les plus fréquents, mais également des agents pathogènes plus rares ou non suspectés, ce qui réduit les biais dans la recherche étiologique. Il permet aussi de diagnostiquer d'éventuelles co-infections, qui n'auraient pas été mises en évidence par une approche ciblée ou auraient nécessiter un temps d'analyse voire une quantité d'échantillon supérieurs.

La recherche simultanée de plusieurs micro-organismes à partir d'une même prise d'essai permet de limiter la quantité d'échantillon nécessaire: cela est particulièrement intéressant dans le cadre de prélèvements précieux comme le LCS, et confère également un bénéfice pour le patient.

Un autre avantage du diagnostic syndromique est la réduction du délai entre le prélèvement et le résultat (ou *TAT*; *TurnAround Time*) : la plupart des kits

syndromiques commerciaux permettent d'obtenir des résultats en 1 à 2 heures à partir du prélèvement. La rapidité d'obtention des résultats permet au clinicien d'adapter la prise en charge du patient au plus vite. Il a, entre-autre, le potentiel de réduire l'exposition inutile des patients aux anti-infectieux, permettant de prévenir l'émergence ou la diffusion d'organismes résistants voire multi-résistants.(73–75) L'utilisation d'une approche syndromique permet également d'identifier certains pathogènes non systématiquement ciblés en routine, apportant des données épidémiologiques supplémentaires. Dans certains pays, le gouvernement souhaite utiliser les résultats des tests syndromiques réalisés pour enrichir les données épidémiologiques (exemple : BioFire® Syndromic Trends en Colombie).

Enfin, la plupart des panels syndromiques commerciaux disponibles actuellement fonctionnent avec des automates très simples d'utilisation (Luminex Verigene, BD Max, QIAstat-Dx, BioFire FilmArray® 1.5, 2.0 et Torch), y compris par un personnel non spécialiste. Ces automates peuvent donc être aisément utilisés en période de permanence des soins, ce qui permet également d'optimiser la prise en charge des patients.

2.3. Limites du diagnostic syndromique

Le diagnostic syndromique présente plusieurs limites.

Tout d'abord, l'interprétation des résultats des tests de diagnostic syndromique peut poser quelques difficultés. À ce jour, les techniques commercialisées sont des techniques uniquement qualitatives et ne permettent donc pas, pour des agents non pathogènes stricts, de faire la distinction entre colonisation (présent en faible quantité) et infection (organisme présent en quantité importante). Des techniques

semi-quantitatives commencent à être commercialisées (BioFire® Pneumonia *plus* Panel pour 15 bactéries parmi 34 cibles). De plus, la plupart des techniques de diagnostic syndromique reposant sur la biologie moléculaire, des acides nucléiques de microorganismes « morts » peuvent être détectés : un résultat positif ne permet donc pas d'assurer que l'agent identifié est responsable du syndrome. Enfin, l'interprétation de la détection d'un gène de résistance à un agent anti-infectieux, pour les techniques qui le proposent, est également délicate : en effet, celle-ci ne serait pas toujours prédictive, ou l'unique prédicteur, de la réponse au traitement. Certains travaux rappellent en effet que, bien qu'étant un bon indicateur, le génotype d'une bactérie ne doit pas être l'unique prédicteur de sa résistance.(76–79)

L'interprétation des résultats des tests syndromiques, qui peut paraître de prime abord très simple, est donc en réalité plus complexe, et nécessite une expertise biologique. De plus, comme pour tout autre examen de biologie médicale, les résultats des tests syndromiques doivent être confrontés aux données cliniques afin d'adapter la prise en charge : intervention médicale rapide, hospitalisation, mise en place de mesures préventives liées à sa dissémination, la mise en place d'un traitement spécifique, ...

L'amélioration attendue de la prise en charge du patient par l'utilisation des tests de diagnostic syndromique n'est effective que si les résultats sont communiqués dans un moindre délai au clinicien et que la technologie est utilisée dans des conditions optimales : échantillons envoyés au plus vite au laboratoire, notification au prescripteur des résultats sans délai, etc...

Le coût des techniques de diagnostic syndromique est également important, et supérieur aux méthodes conventionnelles. Toutefois, des études médico-économiques ont montré que l'utilisation de ces tests permettait une diminution du coût global de prise en charge d'un patient (hospitalisation, traitement, diagnostic confondus).(80,81)

Pour finir, la composition des panels de ces tests, et leur pertinence, peuvent être discutées, notamment en fonction de l'épidémiologie locale.

Ces différents avantages et inconvénients du diagnostic syndromique seront détaillés plus longuement par la suite avec l'exemple du panel BioFire® ME.

2.4. Diagnostic *in vitro*

La définition réglementaire du dispositif médical de diagnostic *in vitro* est la suivante (Directive européenne 98/79/CE) :

« Les produits, réactifs, matériaux, instruments et systèmes, leurs composants et accessoires, ainsi que les récipients pour échantillons, destinés spécifiquement à être utilisés *in vitro*, seuls ou en combinaison, dans l'examen d'échantillons provenant du corps humain, afin de fournir une information concernant un état physiologique ou pathologique, avéré ou potentiel, ou une anomalie congénitale, pour contrôler des mesures thérapeutiques, ou pour déterminer la sécurité d'un prélèvement d'éléments du corps humain ou sa compatibilité avec des receveurs potentiels. » Ces produits sont soumis à réglementation et doivent obtenir le marquage CE-IVD en Europe.

En France, les examens de biologie médicale sont réalisés au sein des laboratoires de biologie médicale privés et hospitaliers, des établissements français du sang, des cabinets médicaux et des centres de recherche anticancéreux. Le diagnostic

syndromique trouve sa place dans les hôpitaux ayant un grand volume d'échantillons à tester comme les Centres Hospitaliers Universitaires, et dans les hôpitaux qui avaient jusqu'ici recours à des laboratoires extérieurs pour réaliser certaines analyses spécialisées. Au cours du parcours de santé du patient (Figure 6), le diagnostic syndromique intervient pendant les étapes de diagnostic et de prise en charge grâce à l'identification ou non d'un pathogène et de ses marqueurs de résistance, le cas échéant.



Figure 6 Étapes du parcours de santé

2.5. La technologie BioFire® FilmArray®

Cette technologie fut développée par BioFire® en 1989, anciennement nommé Idaho Technology, aux Etats-Unis.

La technologie BioFire® FilmArray® repose sur le principe de la PCR multiplex nichée (*nested multiplex PCR*, nmPCR). La nmPCR utilise deux étapes de PCR (Figure 7). Au cours de la première PCR (PCR I), plusieurs couples d'amorces « externes » sont utilisés pour amplifier simultanément les séquences cibles des agents pathogènes éventuellement présents dans l'échantillon : il s'agit d'une PCR multiplex. La seconde PCR (PCR II) est une PCR singleplex, effectuée à partir des produits d'amplification de la PCR I. Des couples d'amorces « internes » sont utilisés pour amplifier des séquences « nichées » à l'intérieur des séquences obtenues après la PCR I (Figure 7).

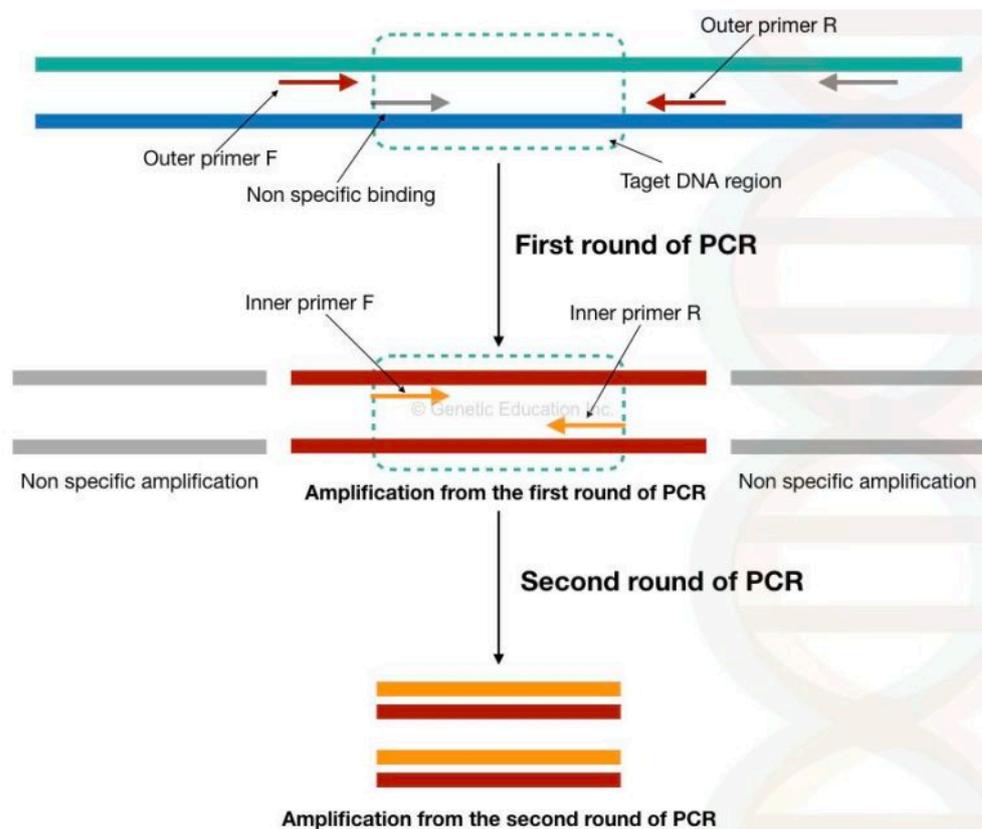


Figure 7. Principe de la PCR nichée : l'amplicon formé par la première PCR sert de base à la seconde PCR(82)

La technologie BioFire® FilmArray® est une technologie entièrement automatisée : l'échantillon est déposé dans une cassette ou *pouch*, qui est ensuite chargée dans un automate FilmArray® au sein duquel sont réalisées toutes les étapes analytiques jusqu'au résultat (voir plus loin).

Différents automates FilmArray® ont été développés : FilmArray® 1.0 et FilmArray® 1.5, qui ne sont plus commercialisés, FilmArray® 2.0 et FilmArray® Torch.



Figure 8. FilmArray® Torch avec 12 modules (gauche), FilmArray® 2.0 avec 2 instruments (droite) (Source : BioFire Diagnostics Sales Brochure 2019)

L'automate FilmArray® 2.0 permet l'analyse d'un seul échantillon à la fois, et est piloté par un logiciel sur un poste informatique indépendant. Jusqu'à 8 instruments FilmArray® 2.0 peuvent être connectés au même poste informatique, permettant dans cette situation l'analyse de 175 échantillons maximum par jour. L'automate FilmArray® Torch est le plus récent : il possède une configuration variable comprenant de 2 à 12 modules d'analyse, une capacité d'analyse élevée (jusqu'à 264 échantillons par jour), et un encombrement réduit (45x73x12 à 90cm) (Figure 8 et Figure 9). Dans certains pays à revenus faibles et intermédiaires, une version à 1 module du FilmArray® Torch est commercialisée. L'automate FilmArray® Torch est équipé d'un écran tactile et d'un scanner à code-barres qui permet la gestion directe de l'instrument depuis son interface (lancement du cycle, consultation des résultats), sans recours à un poste informatique indépendant. L'automate est accompagné d'une station de chargement (*loading station*) pour faciliter la préparation de la cassette grâce à un code couleur (Figure 10).



Figure 9. Les configurations de FilmArray® Torch de 2 modules à 12 modules permettent de moduler la capacité d'analyse de 44 à 264 échantillons par jour.(Source : BioFire Diagnostics Sales Brochure 2019)

Protocole/principe de la technique :

A. Préparation de la cassette échantillon (pouch)

Cette étape est réalisée au niveau de la station de chargement de l'automate. La *loading station* comprend 2 compartiments avec un code couleur rouge et bleu. Trois millilitres d'une solution d'hydratation sont injectés dans le compartiment bleu, puis l'échantillon patient (200 ou 300 μ L selon le panel) est ajouté dans le compartiment rouge. La solution d'hydratation se répartit dans les puits 2 à 11 de la cassette, et l'échantillon dans le puits 1 (Figure 11). La cassette est ensuite chargée dans l'automate FilmArray®, et l'analyse démarrée. Il est recommandé de réaliser cette étape de préparation de la cassette sous atmosphère contrôlée adaptée à la manipulation des échantillons infectieux pour éviter la dissémination des agents pathogènes potentiellement présents dans l'échantillon.

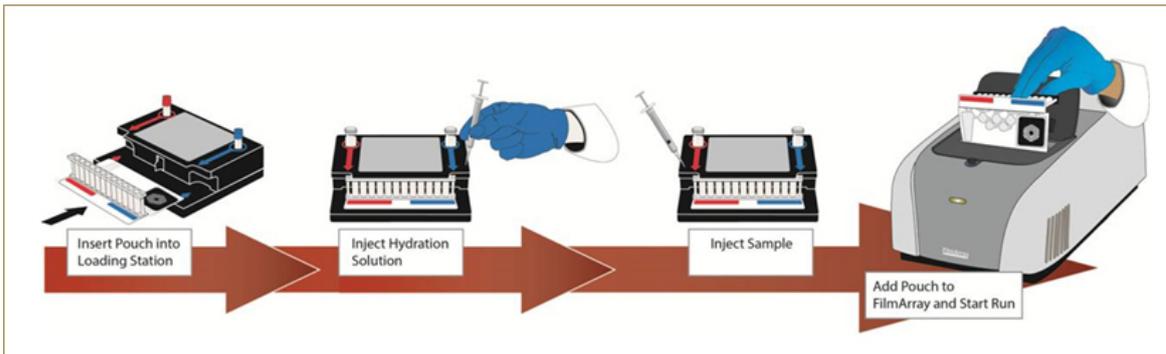


Figure 10. Préparation de la cassette dans la loading station (Source : BioFire Diagnostics Sales Brochure 2019)

B. Analyse



Figure 11. Cassette FilmArray® et ses différents compartiments(83)

Tableau 12. Composition des compartiments de la cassette FilmArray (1 à 12 et H et I) et des 7 différentes chambres (A à G)

CHAMBRES	ÉTAPES	PUITS	CONTENUS
A	Lyse	1	Contrôle
B	Purification	2, 3, 4, 5	Tampons de lavage
C	Débris et billes	6	Solution d'éluion
D	RT et PCR I	7	Solution à RT et <i>master mix</i> PCR I ¹²
E		8	Tampon de dilution TE ¹³
F	Dilution et <i>master mix</i>	9, 10	<i>Master mix</i> PCR phase 2 (contenant LCGreen Plus+)
G	Array ou Matrice à puits (n=102) : PCR II	11	Vide
H	Échantillon	12	Réservoir pour débordement du mix de la PCR II
I	Solution d'hydratation		

L'analyse se déroule en 4 étapes :

- 1. Extraction et purification des acides nucléiques** – Dans un 1^{er} temps, l'échantillon est lysé mécaniquement par agitation (broyage par billes en céramique) dans le compartiment A pendant 60 secondes. Les acides nucléiques (ARN et ADN) libérés sont ensuite capturés par des billes magnétiques de la chambre C, puis lavés 3 fois avec les solutions des puits 3, 4 et 5 dans la chambre B. La chambre A sert alors de conteneur à déchets. Les acides nucléiques sont élués avec la solution 6 à travers les chambres D et E. Cette étape dure environ 10 minutes et émet un sifflement aigu.
- 2. Transcription inverse et PCR multiplex PCR I** – La solution d'acides nucléiques purifiés est mélangée au *master mix* (puits 7) dans la chambre D puis ont lieu la transcription inverse, et la PCR I. Étant donné que deux agents

¹² Contient Taq polymérase, les dNTPs, le MgCl₂ et le tampon de réaction à des concentrations optimales pour la PCR.

¹³ Tampon TE (Tris-EDTA) composé de Tris et d'EDTA afin de solubiliser l'ADN et l'ARN tout en les protégeant de la dégradation.

identifiés par le panel ME sont des virus à ARN (Enterovirus et Parechovirus), une étape de transcription inverse (*Reverse Transcription RT*) est nécessaire afin de convertir l'ARN en ADNc avant l'amplification. La première PCR est constituée de 26 cycles et la solution est déplacée entre les chambres D et E. La solution obtenue est alors diluée avec une solution tampon et le *master mix* de la PCR II (puits 8 à 10).

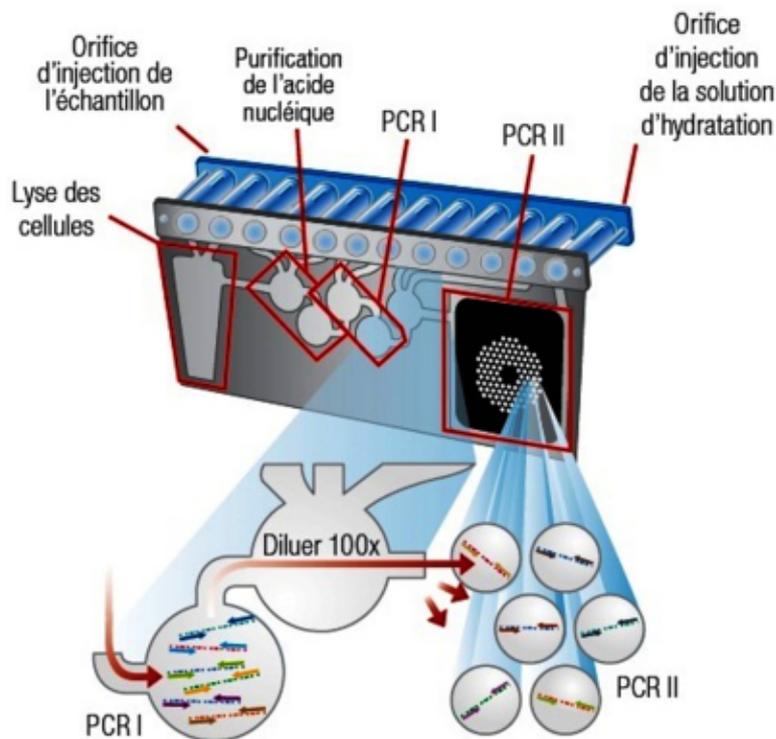


Figure 12. Représentation schématique des différentes étapes réalisées au sein de la cassette FilmArray®(83)

3. **PCR II** : PCR nichée – Cette étape a lieu dans les 102 puits du compartiment G et comprend 30 cycles. Pour chaque cible du panel, trois réactions sont réalisées en parallèle dans 3 puits différents contenant la même paire d'amorces spécifiques. Les autres puits servent à l'amplification des contrôles internes. La détection des cibles amplifiées est basée sur l'utilisation de l'agent fluorescent LCGreen® Plus+, intercalant de l'ADN.

Au cours d'un cycle normal de PCR, la température est montée à 94°C pour dénaturer les brins d'ADN, puis elle est descendue à 60°C pour permettre l'appariement des amorces aux simples brins d'ADN. Ensuite, un plateau à 72°C permet l'élongation par la polymérase. La technologie FilmArray® réalise l'étape d'élongation pendant la montée en température entre l'appariement et la dénaturation (entre 60 et 94°C) sans interrompre la montée en température (phase de plateau à 72°C sur la Figure 13) : ce qui explique la rapidité de la méthode.

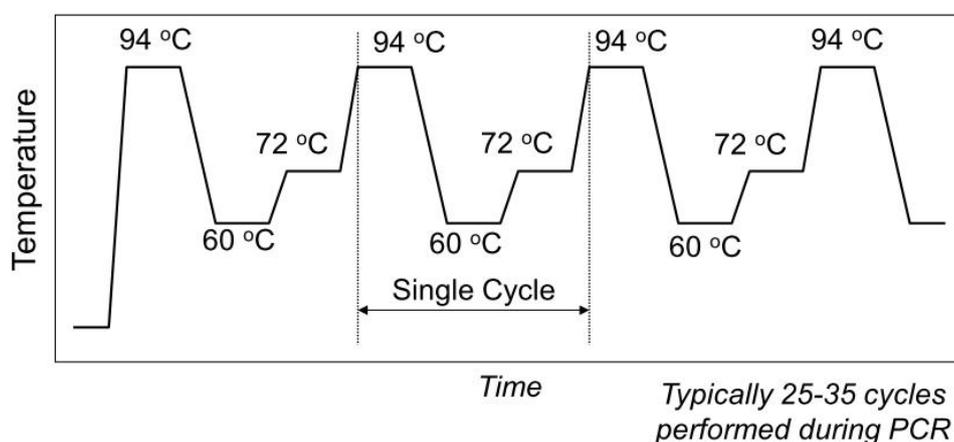


Figure 13. Exemple de cycles thermiques au cours d'une PCR (84)

4. **Analyse de fusion de l'ADN** – Après la PCR II, la température est progressivement augmentée (de 63°C à 95°C par 0,5°C/sec) afin de dénaturer les brins d'ADN et la fluorescence de chaque puits est mesurée pour obtenir une courbe de fusion (Figure 14). Lors de la dénaturation, le LCGreen® est libéré et la fluorescence diminue. Le logiciel FilmArray® interprète automatiquement les données issues de chacun des puits, dont les puits contrôles, en se basant sur la forme de la courbe de fusion et la température de fusion (déterminée au pic de la courbe). Cette température de fusion ou *melting temperature* (T_m) est

constante et spécifique d'une cible : les produits de PCR détectés peuvent donc être identifiés comme étant des copies de cette cible grâce à leur T_m . Une même cible peut être détectée dans un ou plusieurs puits. Dans ce dernier cas, les résultats des différents puits sont combinés. Cette méthode de détection et le recoupement des analyses des courbes de fusion de plusieurs puits en font une technique très sensible et spécifique.

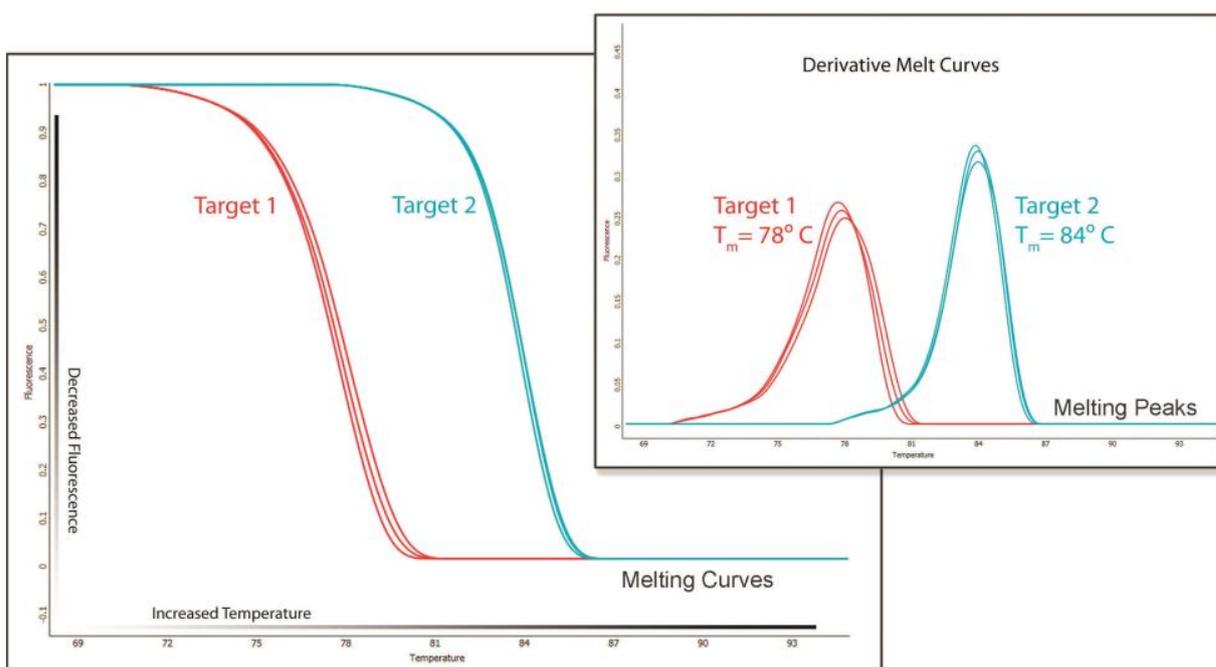


Figure 14. Courbes de fusion de deux cibles différentes 1 et 2. La T_f de la cible 1 est de 78°C et la T_f de la cible 2 est de 84°C .(85)

Tableau 13. Principales étapes de l'analyse par un instrument FilmArray®

Étape	Température	Détails
Purification	-	10 minutes
RT	54°C	3 premières minutes
PCR I	94°C - 60°C	26 cycles de 94°C x3 secondes puis 60°C x19 secondes
PCR II « nichée »	90°C	Master mix des compartiments 9 et 10
	75°C	Array
	94°C - 63°C	30 cycles de 94°C x4 secondes puis 63°C x19 secondes
Analyse	63°C	Maintien pendant 5 secondes
	68°C → 95°C	Augmentation linéaire de $0,5^\circ\text{C}/\text{seconde}$

2.6. Les panels BioFire®

L'offre de BioFire® comporte 8 panels destinés au diagnostic étiologique de 5 syndromes :

- BioFire® Respiratory Panel (RP), Respiratory Panel 2 (RP2) et Respiratory Panel 2 *plus* (RP2*plus*), Respiratory Panel EZ (uniquement aux États-Unis)
- BioFire® Blood Culture Identification (BCID)
- BioFire® Gastrointestinal (GI)
- BioFire® Meningitis/Encephalitis (ME)
- BioFire® Pneumonia Panel (PN) et Pneumonia Panel *plus* (PN*plus*)

Les cibles de ces différents panels sont détaillées dans le Tableau 14.

Tableau 14. Les menus des panels BioFire®

	Respiratory	BCID	Gastrointestinal	Meningitis/ Encephalitis	Pneumonia
Pathogènes	VIRUS Adenovirus Coronavirus HKU1 Coronavirus NL63 Coronavirus 229E Coronavirus OC43 Human Metapneumovirus Human Rhinovirus/Enterovirus Influenza A Influenza A/H1 Influenza A/H3 Influenza A/H1-2009 Influenza B Parainfluenza Virus 1 Parainfluenza Virus 2 Parainfluenza Virus 3 Parainfluenza Virus 4 Respiratory Syncytial Virus MERS-Coronavirus (RP2plus)	GRAM-POSITIVE Enterococcus <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> <i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i> <i>Streptococcus</i> <i>pyogenes</i> GRAM-NEGATIVE <i>Acinetobacter</i> <i>baumannii</i> <i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> complex <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia marcescens</i>	BACTERIES <i>Campylobacter (jejuni,</i> <i>coli, et upsaliensis)</i> <i>Clostridium difficile (toxin</i> A/B) <i>Plesiomonas</i> <i>shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio</i> (parahaemolyticus, vulnificus, et cholerae) <i>Vibrio cholerae</i> Enteroaggregative E. coli (EAEC) Enteropathogenic E. coli (EPEC) Enterotoxigenic E. coli (ETEC) lt/st Shiga-like toxin- producing E. coli (STEC) stx1/stx2 E. coli O157 Shigella/Enteroinvasive E. coli (EIEC)	BACTERIES <i>Escherichia coli K1</i> <i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i> <i>Listeria</i> <i>monocytogenes</i> <i>Neisseria</i> <i>meningitidis</i> <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> <i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i>	BACTERIES (Semi-quantitative) <i>Acinetobacter</i> <i>calcoaceticus-baumannii</i> complex <i>Enterobacter cloacae</i> complex <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> group <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pseudomonas</i> <i>aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> <i>agalactiae</i> <i>Streptococcus</i> <i>pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> (Qualitatives) <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma</i> <i>pneumoniae</i>

	BACTERIES <i>Bordetella parapertussis</i> (RP2 et RP2plus) <i>Bordetella pertussis</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	LEVURES <i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i>	PARASITES <i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>	VIRUS Cytomegalovirus (CMV) Enterovirus (EV) Herpes simplex virus 1 (HSV-1) Herpes simplex virus 2 (HSV-2) Human herpesvirus 6 (HHV-6) Human parechovirus (HPeV) Varicella zoster virus (VZV)	VIRUS Adenovirus Coronavirus Human Metapneumovirus Human Rhinovirus/Enterovirus Influenza A Influenza B Parainfluenza Virus Respiratory Syncytial Virus MERS-CoV (PNplus)
			VIRUS Adenovirus F40/41 Astrovirus Norovirus GI/GII Rotavirus A Sapovirus (I, II, IV, and V)	LEVURES <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	
Nombre de cibles ou pathogènes	20 à 22 pathogènes 14 pour RP EZ	27 cibles	22 pathogènes	14 pathogènes	33 à 34 cibles
Temps d'analyse	45 min (RP2 et RP2plus), 1h (RP)	1h	1h	1h	1h

Le panel BioFire® Pneumonia *plus* a reçu le marquage CE fin 2018. Pour la première fois, BioFire a intégré une détection semi-quantitative de certaines cibles afin de permettre de différencier colonisation et infection.

Une nouvelle version du panel BCID comprenant 43 cibles dont 10 gènes de résistance devrait être commercialisée fin 2020. Un panel pour les infections ostéo-articulaires (Bone and Joints Infections BJI) sera commercialisé en 2021.

3. EXEMPLE DU PANEL BIOFIRE® MENINGITIS/ENCEPHALITIS : PLACE DANS LA STRATEGIE DIAGNOSTIQUE

3.1. Le panel BioFire® Meningitis-Encephalitis

Le panel BioFire® FilmArray® Meningitis-Encephalitis¹⁴ (ME - Méningite-Encéphalite) est considéré comme une aide au diagnostic étiologique des méningites et/ou encéphalites infectieuses aiguës, utilisable sur les automates FilmArray® cités plus haut. Il a fait l'objet d'une première autorisation par la FDA en Octobre 2015 et du marquage CE en Janvier 2016.

Il permet la recherche simultanée de 14 agents infectieux responsables d'infections du système nerveux central, 6 bactéries, 7 virus et 1 levure (Tableau 14, à partir d'un échantillon de LCS (prise d'essai : 200 µL).

Le panel BioFire® ME est validé uniquement sur le LCS prélevé par ponction lombaire, et non sur le LCS prélevé à partir de dispositifs médicaux à demeure comme le LCS de dérivation. En effet, en présence d'un dispositif médical à demeure, les infections sont souvent dues à des micro-organismes issus de la flore commensale, qui ne sont pas inclus dans le panel.

Le temps technique nécessaire à la préparation de la cassette est d'environ 2 minutes, et le temps d'analyse est d'environ 1h (65 minutes).

3.2. Autres panels disponibles pour le diagnostic syndromique des méningites et méningo-encéphalites

¹⁴ Nommé BioFire® Meningitis/Encephalitis ou BioFire® ME dans le reste du document

A ce jour, le panel BioFire® ME est le seul test commercialisé pour le diagnostic syndromique des méningites et méningo-encéphalites, utilisable directement à partir d'un échantillon de LCS (*sample-to-answer*). Des panels similaires sont toutefois en cours de développement par la concurrence.

D'autres panels sont commercialisés par Seegene, Fast-Track Diagnostics et Master Diagnostica pour le diagnostic des méningites et méningo-encéphalites, mais nécessitent une étape préalable d'extraction des acides nucléiques (ADN et ARN) à partir du LCS ou du sang (Tableau 11).

3.2.1. Panels Seegene

Seegene, entreprise coréenne, commercialise 3 panels *low-plex* pour le diagnostic des méningites et méningo-encéphalites : Allplex® Virus 1, Allplex® Virus 2 et Allplex® Bacteria. Ces panels permettent la recherche de 12 cibles virales et 6 cibles bactériennes au total pour un temps d'analyse de 2,5 heures par panel, après une étape d'extraction. Ils sont destinés à une utilisation sur l'automate All-in-One, qui est composé de 3 modules (Figure 15) : STARlet IVD ou NIMBUS IVD (extraction des acides nucléiques et préparation de la PCR), CFX96 (real-time PCR) et Seegene Viewer (analyse des données).



Figure 15. Plateforme All-in-One (source : www.seegene.com)

Cinq analyses peuvent être réalisés en parallèle à partir d'un même échantillon. Cet automate est développé pour un fonctionnement en série de 48 à 96 échantillons, et n'est donc pas adapté à l'urgence. Par toutes ces caractéristiques, il ne s'agit donc pas d'un concurrent direct du panel BioFire® ME.

3.2.2. Fast-Track Diagnostics

Cette entreprise du groupe Siemens propose 4 panels *low-plex* pour le diagnostic étiologique des méningites et méningo-encéphalites : FTD Neuro9 (11 virus), FTD/FTIyo Viral Meningitis (6 virus), FTD/FTIyo Bacterial Meningitis (3 bactéries) et FTD Neonatal meningitis (3 bactéries). Il s'agit de master mix prêts à l'emploi, sous forme lyophilisée (FTIyo) ou liquide (FTD), utilisables sur différents thermocycleurs. Les tests FTD sont à conserver entre -30° et -10°C et les tests FTIyo entre 2° et 8°C. L'utilisation de ces réactifs nécessite un personnel qualifié en biologie moléculaire et une extraction préalable des acides nucléiques (30 min). Les tests

peuvent être réalisés en série avec les réactifs FTD (32 ou 64) ou unitairement avec les réactifs FTlyo. Le panel CNS de Fast-Track n'inclut pas le CMV et HHV-6, des agents qui peuvent pourtant causer des infections méningées chez les patients immunodéprimés, et le panel pour nouveau-né est le seul à comprendre *S. agalactiae*, *L. monocytogenes* et *E. coli* alors que ces agents pathogènes peuvent aussi être impliqués en pathologie chez les enfants et les adultes. Une étude de Walls et al. a montré que le panel viral avait une sensibilité limitée pour la détection des infections à EV, avec 24% de faux-négatifs.(86)

3.2.3. Master Diagnostica

Master Diagnostica, une entreprise espagnole, commercialise 2 panels pour la recherche des agents pathogènes responsables de méningites et méningo-encéphalites : Bacteria CNS Flow Chip (9 bactéries et 1 levure) et Viral CNS Flow Chip (8 virus). Le temps d'analyse est de 5 heures. Les instruments compatibles avec les produits Master Diagnostica sont HybriSpot 24 (automatisé), HybriSpot 12 (semi-automatisé) et e-BRID System, de Vitro, la marque mère de Master Diagnostica. Ces automates fonctionnent par petite série (24, 12 ou 15 échantillons) et nécessitent une étape d'extraction de l'ADN préliminaire manuelle ou automatisée (pour cette marque NucliSENS easyMag de bioMérieux est le seul instrument validé pour cette étape sur le LCS). Dans son évaluation pré-commerciale, Master Diagnostica n'a évalué les performances de ses panels que sur des échantillons artificiels et non cliniques, avec seulement 12 échantillons pour le panel bactéries et 21 pour le panel virus. En revanche, une étude post-commercialisation a montré de très bons résultats sur 268 échantillons : Sensibilité

; 95.9%, spécificité ; 99.9%.(87) L'absence de *E. coli* K1 dans le panel est cependant regrettable, et celle de *C. gattii* porte à discussion.

3.2.4. Qiagen

Un nouveau panel de type QIAstat-Dx est en cours de développement par Qiagen pour le diagnostic des méningites et encéphalites. Début Novembre, le CEO de Qiagen annonçait que le panel était désormais sous évaluation (RUO - Research Use Only). Sa commercialisation, initialement annoncée pour la deuxième moitié de 2019 est reportée à la première moitié de 2020. Sa composition (détaillée dans le Tableau 15), est sujette à modification jusqu'à son autorisation de commercialisation.

Mobidiag et Genmark développent également des panels pour le diagnostic des infections du SNC mais aucun détail sur les cibles ou la date de commercialisation ne sont communiqués.

Les principales caractéristiques de ces différents panels sont détaillées dans le tableau suivant.

Tableau 15. Comparaison des offres de panels avec approche syndromique pour le diagnostic des méningites et ME

	Commercialisés				En développement
	BioFire® ME	Seegene	Fast-Track	Master Diagnostica	QIAstat-Dx
<i>Sample-to-answer</i>	Oui	Non	Non	Non	Oui
Nombre de panels	1	3	4	2	1
Préparation	2 min	40min	40 min	40 min	2 min
Temps d'analyse	1h	2,5h	2.5-6h	5h	1h
Échantillon	LCS	Extrait d'acides nucléiques			LCS
Prise d'essai (LCS)	200 µL	1mL	1mL	1mL	?
Virus	7	12	12	8	6
Bactéries	6	5	3	9	8
Levures	1	0	0	1	3
VIRUS					
Adenovirus humain		X	X		
Cytomegalovirus (CMV)	X	X	X	X	
Virus de Epstein-Barr (EBV)		X	X	X	
Enterovirus (EV)	X	X	X	X	X
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	X	X	X	X	X
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	X	X	X	X	X
Human herpes virus 6 (HHV-6)	X	X	X		X
Human herpes virus 7 (HHV-7)		X	X		
Human parechovirus	X	X	X		X
Parvovirus B19		X	X		
Varicella Zoster virus (VZV)	X	X	X	X	X
Virus des oreillons		X			
Toscana virus				X	
Myxovirus parotidis				X	
BACTÉRIES					
<i>Escherichia coli</i> K1	X	X	X		X
<i>Haemophilus influenzae</i>	X	X	X	X	X
<i>Listeria monocytogenes</i>	X	X	X	X	X
<i>Neisseria meningitidis</i>	X	X	X	X	X

<i>Streptococcus agalactiae</i>	X	X	X	X	X
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	X	X	X	X	X
<i>Streptococcus pyogenes</i>					X
<i>Treponema pallidum</i>				X	
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>				X	
<i>Coxiella burnetii</i>				X	
<i>Borrelia burgdorferi</i>				X	
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>					X
LEVURES					
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	X			X (<i>neoformans</i>)	X
<i>Candida glabrata/krusei</i>					X
<i>Candida albicans/tropicalis/parapsilosis</i>					X
Prix/panel (USD/EUR)	130/116	40-50 /35-44	?	?	?
Références	NA	(88)	(89,90)	(87)	(91)

Le panel BioFire® est le panel commercialisé comprenant le plus de cibles, et ayant le TAT le plus rapide. Les trois autres panels présentent l'avantage d'être moins onéreux que le panel BioFire®. Cependant, leur coût est supérieur si l'on souhaite tester autant de cibles que le panel BioFire®. QIAStat-Dx sera un concurrent direct de BioFire® ME car il présentera des caractéristiques très proches de celui-ci.

3.3. Évaluation du panel BioFire® ME

3.3.1. Performances analytiques

Les performances cliniques du panel BioFire® ME ont initialement été évaluées par BioFire Diagnostics LLC lors d'une étude prospective multicentrique pré-commercialisation en 2014 aux États-Unis sur 1560 échantillons. Les performances du panel ME étaient comparées à la méthode de référence appropriée : culture pour

les cibles bactériennes ou PCR + séquençage pour les cibles virales et *C. neoformans/gattii*. À noter que la méthode choisie pour *Cryptococcus* n'est pas le gold-standard pour le diagnostic des cryptococcoses neuro-méningées.

Les résultats de cette étude sont présentés dans le Tableau 16.

Tableau 16. Résumé des performances des différentes cibles du panel BioFire® ME et étude de discordance, lors d'une étude prospective réalisée par BioFire Diagnostics en 2014 (Manuel d'instruction BioFire® FilmArray® Meningitis Encephalitis)

Organismes	Positif		Négatifs	Étude de Discordance				Performance	
	BioFire® ME	Méthode comparative		ME+/R+	ME+/R-	ME-/R+	ME-/R-	Sensibilité	Spécificité
Bactéries									
<i>Escherichia coli</i> K1	3	2	1557	0	1	0	0	100	99,9
<i>Haemophilus influenzae</i>	2	1	1558	1	0	0	0	100	99,9
<i>Listeria monocytogenes</i>	0	0	1560	NA	NA	NA	0	NA	100
<i>Neisseria meningitidis</i>	0	0	1560	NA	NA	NA	0	NA	100
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0	1558	0	1	0	0	0	99,9
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	16	4	1544	5	7	0	0	100	99,2
Virus									
Cytomegalovirus (CMV)	6	3	1554	1	2	0	0	100	99,8
Enterovirus	51	44	1507	5	2	2	0	95,7	99,5
Herpes simplex virus 1 (HSV-1)	4	2	1556	0	2	0	0	100	99,9
Herpes simplex virus 2 (HSV-2)	12	10	1548	1	1	0	0	100	99,9
Human herpes virus 6 (HHV-6)	22	21	1532	1	5	0	1	85,7	99,7
Human parechovirus	12	9	1548	3	0	0	0	100	99,8
Varicella zoster virus (VZV)	7	4	1553	2	1	0	0	100	99,8
Levures									
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	5	1	1555	2	2	0	0	100	99,7
TOTAL	141	101	1560	21	22	5	1		

ME : BioFire® ME, R : méthode de référence

Un résultat BioFire® ME (positif ou négatif) était considéré comme vrai positif (VP) ou vrai négatif (VN) seulement si confirmé par un résultat identique avec la méthode de comparaison. En cas de discordance, le résultat était considéré comme faux positif (FP) ou faux négatif (FN). Le taux de réussite du test était de 98,9% (1560/1577). Onze échecs étaient dus à des tests incomplets et 6 à des échec des contrôles. Au total, sur les 1560 échantillons, 43 résultats positifs et 6 résultats négatifs ont été retrouvés avec le panel BioFire® ME. Après analyse, 21 échantillons furent confirmés VN ou VP, et 22 FN ou FP : on note donc un nombre élevé de discordances. Ceci est développé dans les parties 3.3.3.2 et 3.3.3.3.

Cinq co-infections, soit 0,3% des échantillons totaux et 3,7% des échantillons positifs, ont été détectées par le panel BioFire® ME : toutes n'ont pas été mises en évidence par les techniques de référence utilisées (Tableau 17).

Tableau 17. Co-détections par BioFire® ME

Échantillon	Pathogènes	Non-déteecté par méthode de référence
1	CMV + <i>S. pneumoniae</i>	CMV
2	EV + HPeV	EV
3	HSV-1 + HHV-6	HSV-1
4	HSV-2 + <i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i>
5	<i>S. pneumoniae</i> + VZV	<i>S. pneumoniae</i> + VZV

Pour compléter cette première étude, et à cause de la faible prévalence de certains agents pathogènes inclus dans le panel BioFire® ME (*Cryptococcus*, CMV, *E. coli*, *H. influenzae*, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HPeV, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* et VZV), une évaluation rétrospective sur 235 échantillons positifs a été réalisée.

Les données sur *H. influenzae* étant toujours insuffisantes, une troisième évaluation à partir de 25 échantillons artificiels (enrichis à 2 fois la limite de détection) a ensuite

été réalisée. Au final, ces trois évaluations pré-commerciales ont retrouvé une sensibilité et une spécificité globales de 94,2% et 99,8%, respectivement.

Depuis sa commercialisation, les performances du panel BioFire® ME ont été évaluées dans plusieurs études, résumées dans le Tableau 18. Toutes ont retrouvées des sensibilités et spécificités élevées.

Tableau 18. Sensibilité et spécificité du panel BioFire® ME

Publication	Population de l'étude	Nb échantillons BioFire® positifs	Sensibilité	Spécificité
Hanson (2015) - USA(92)	Adultes, pédiatrie	186/342	92,9%	91,9%
Rhein (2016) – Ouganda (93)	patients 4 études VIH+	65/117	100% (<i>Cryptococcus</i>)	100% (<i>Cryptococcus</i>)
O'Brien (2018) - Australie(94)	Pédiatrie	20/55	93,8%	90,0%
Lopez-Amor (2019) – Espagne(95)	Adultes	11/12	100%	90%

Par ailleurs, quatre études ont pu mettre en évidence un apport du panel BioFire® ME (meilleure sensibilité) par rapport à la culture pour la détection de *Listeria monocytogenes*. Ceci est particulièrement intéressant pour la prise en charge, car cette bactérie est naturellement résistante aux C3G classiquement utilisées pour le traitement empirique des méningites.(96,98–100) De même, d'autres études ont montré une sensibilité accrue du panel BioFire® ME pour *H. influenzae*, *S. agalactiae*, *E. coli* et *S. pneumoniae* en comparaison avec la culture.(99,101,102)

3.3.2. Évaluation clinique du panel BioFire® ME

Parallèlement à l'évaluation des performances analytiques du panel BioFire® ME détaillées plus haut ont été étudiés les impacts de l'utilisation de ce panel pour le diagnostic des méningites et méningo-encéphalites en pratique clinique.

3.3.2.1. Réduction du TAT

Un avantage majeur de l'utilisation du panel BioFire® ME en pratique clinique est la réduction du temps pour l'obtention des résultats depuis le prélèvement du LCS (Tableau 19).

Tableau 19. Le BioFire® ME montre une réduction du TAT

Publication	Pays, nombre d'échantillons	TAT (Techniques classiques vs BioFire® ME)
Powell (103)	USA, n=138	119,6 vs 3,9 heures
Messacar (104)	USA, n=138	13,3 vs 3 heures
Blaschke (81)	USA, n=145	~24-48 vs 2,75 heures
O'Brien (94)	Australie, n=65	6,0 vs 2,0 jours
McNabb(105)	USA, n=223	2,1 heures
Lopez Amor (106)	Espagne, n=21	45,1 vs 2,9 heures
Boudet(107)	France, n=708	1,7 heure (106 minutes)

Cette réduction du TAT est retrouvée dans toutes les études, bien que les valeurs de TAT soient très hétérogènes selon les centres. Pour l'étude australienne, le TAT avec BioFire® ME reste élevé mais cela s'explique par l'organisation du système hospitalier et la séparation totale du laboratoire et des unités médicales.

Un intérêt majeur du panel BioFire® ME est qu'il peut être utilisé lors de la permanence des soins (week-end et nuit) en raison de sa facilité d'utilisation : cela peut expliquer une partie de la diminution du TAT mise en évidence dans les différentes études.

3.3.2.2. Augmentation de la fréquence de détection des agents pathogènes

En cas de suspicion de méningite ou méningo-encéphalite, et en présence de symptômes non spécifiques, les agents étiologiques classiquement recherchés en première intention sont *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, HSV-1 et 2, EV et VZV. D'autres agents pathogènes peuvent être recherchés en seconde intention, si ces premiers résultats sont négatifs, après concertation entre cliniciens et biologistes. Des études ont montré que l'utilisation du panel BioFire® ME entraînait une augmentation de la fréquence de détection des agents pathogènes habituellement non recherchés en première intention dont la prévalence avait pu être sous-estimée.

3.3.2.3. Influence du traitement anti-infectieux sur les performances du panel BioFire® ME

Il peut arriver qu'un patient avec suspicion de méningite ou ME soit placé sous thérapie probabiliste anti-infectieuse avant même la réalisation de la ponction lombaire. L'effet d'un traitement antibiotique sur les performances du test n'a pas été évalué dans les études pré-commercialisation.(108) Toutefois, des études post-commercialisation ont montré que le panel BioFire® ME avait permis un diagnostic étiologique (*E. coli*, Streptococcus du groupe B et *L. monocytogenes*) dans plusieurs cas, malgré la prise préalable d'antibiotiques.(100,102)

3.3.2.4. Réduction de la durée d'hospitalisation

Plusieurs études ont montré que la diminution du TAT liée à l'utilisation du panel BioFire® ME, et la communication rapide des résultats du test, qu'ils soient positifs ou négatifs, ont entraîné une réduction de la durée d'hospitalisation (Tableau 20).

Tableau 20. Modification de la durée d'hospitalisation après utilisation du BioFire® ME

Publication	Population	Pays	Réduction
O'Brien (94)	Pédiatrique	Australie	- 2 jours
McNabb(105)	Adulte	USA	- 1,5 jour
DiDiodato (109)	Adulte	Canada	- 1,5 jour
Posnakoglou(110)	Pédiatrique	Grèce	- 2 jours

Bien que non significative statistiquement, les travaux de Mina et al. ont montré une tendance vers la réduction de la durée d'hospitalisation lorsque le panel ME est utilisé comme outil de diagnostic (10 ± 4 jours vs. 17 ± 9 jours, $p=0,065$). (111)

3.3.2.5. Adaptation des traitements anti-infectieux

Le Tableau 21 montre les résultats des études ayant montré une diminution de la durée de traitement antibiotiques (ATB) avec l'utilisation du panel BioFire® ME comparé aux méthodes conventionnelles. Cet avantage est lié à la diminution du TAT.

Tableau 21. Prise en charge thérapeutique après utilisation du panel BioFire® ME

Publication	Durée du traitement ATB avec BioFire® ME vs méthode conventionnelle	Population
Eichinger(112)	$1,3 \pm 0,9$ vs $4,4 \pm 2,3$ jours	Pédiatrique
O'Brien(94)	2,0 vs 3,0 jours	Pédiatrique
Kim(99)	28,38 vs. 76,69 heures	37% VIH+
Mina(111)	$9,5 \pm 3,7$ vs. $15,2 \pm 5$ jours	Pédiatrique et adulte
Posnakoglou(110)	4 vs 5 jours	Pédiatrique
Powell(103)	$1,64 \pm 1,6$ vs $0,52 \pm 0$	Adulte

Une étude en Espagne a montré que l'utilisation du panel BioFire® ME entraînait une modification des traitements anti-infectieux reçus par les patients dans près de la moitié (43,8%) des cas.(95) Une autre étude a mis en évidence une réduction globale de la durée du traitement anti-infectieux, une utilisation plus fréquente d'antibiothérapie ciblée, à spectre étroit ($78 \pm 11\%$ vs. $40 \pm 9\%$, $p=0,03$) et une réduction du nombre de traitements prophylactiques initiés (4/8 (50%) vs. 1/23 (4%), $p=0.01$) lors de l'utilisation de ce panel en routine par rapport à un groupe contrôle.(111)

3.3.2.6. Données médico-économiques

DiDiodato et al. ont montré que l'utilisation du panel BioFire® ME permettrait de générer une économie potentielle de 2,319CAD (1578€) par patient.(99) McNabb et al. ont également estimé une réduction des coûts de 78,956\$/an (70 857€) soit 354\$ (316€) pour chaque panel BioFire® ME utilisé (223 au total) par rapport aux méthodes de routine.(105) Cette diminution s'explique par la réalisation des tests syndromiques directement sur site, et une diminution des examens précédemment sous-traités. Soucek et al. ont trouvé une réduction des coûts liés aux traitements anti-infectieux grâce à l'utilisation du panel BioFire® ME.(113) Enfin, Duff et al. ont réalisé en 2018 une étude par modèle économique sur population pédiatrique suspectée de méningite avec le panel BioFire® ME, dont les résultats sont présentés dans le (Tableau 22).(114) L'objectif de cette étude était de comparer les coûts entre le groupe de patients testés uniquement lorsque le LCR était anormal (hyperleucocytose) (TT – Target Testing) et le groupe testé systématiquement (TA

– Testing all) avec BioFire® ME et de les comparer au groupe standard of care (SOC) sans BioFire®.

Tableau 22. Résultats de l'étude par Duff et al. (2018) sur population pédiatrique

	SOC	TT	TA
Patients testés aux urgences	17%	75%	75%
Coût moyen/patient (USD)	21 284 \$	19 247 \$	17 804 \$
Économies par patient par rapport au SOC (USD)		-3 481 \$	-2 157 \$
Économies par patient par rapport au SOC (EUR)		-3 123 €	-1 935 €

SOC: Standard of Care, TT : Target Testing, TA : Testing All

Le principal contributeur des économies réalisées dans le groupe TA est l'identification d'entérovirus, principal pathogène détecté. Une méningite à entérovirus ne nécessite pas d'hospitalisation et a donc permis d'éviter des frais d'hospitalisation inutile. La stratégie TT n'a pas permis de détecter EV dans 15% des patients, car la cytologie du LCS était normale.(114) Une étude similaire a été réalisée par Duff et al. en 2019, sur population adulte, dont les résultats diffèrent légèrement (Tableau 23)

Tableau 23. Résultats de l'étude par Duff et al.(2019) sur population adulte

	SOC	TT	TA
Patients testés aux urgences	17%	75%	75%
Coût moyen/patient (USD)	19 214 \$	20 465 \$	17 001 \$
Économie par patient par rapport au SOC (USD)		-812 \$	-2 213 \$
Économie par patient par rapport au SOC (EUR)		-728 €	-1 986 €

SOC: Standard of Care, TT : Target Testing, TA : Testing All

Ces économies générées sont supérieures dans la population pédiatrique pour deux raisons : les traitements anti-infectieux sont plus coûteux chez les enfants et la prévalence d'EV est supérieure.(115)

En Europe, Posnakoglou et al. ont rapporté une réduction des coûts d'hospitalisation de 370€/patient (1412€ vs 1042€) avec l'utilisation de BioFire® ME.(110)

Il est à noter que ces bénéfices économiques sont réalisés à l'échelle de l'hôpital prenant en charge les patients, et que les structures ayant des entités séparées pour le laboratoire et les services de soins ne perçoivent pas ce bénéfice de la même façon (par exemple en Australie). Le laboratoire, qui supporte le coût du test, ne profite pas des économies réalisées par la diminution de la durée d'hospitalisation.

3.3.2.7. Impact sur la mortalité

Trois études qui se sont intéressées à l'impact de l'utilisation du panel BioFire® ME sur la mortalité : aucune n'a montré de différence statistiquement significative de la mortalité par rapport à celle observée avec l'utilisation des stratégies diagnostiques classiques.(95,103,111)

3.3.3. Les limites du panel BioFire® ME

3.3.3.1. Études pré-commercialisation peu semblables à la pratique

Les taux de positivité retrouvés dans l'étude pré-commercialisation menée par BioFire Diagnostics(116) sont très supérieurs à ceux habituellement observés en pratique clinique : 9% (141/1560) vs <1%.(117) Une des explications possibles à cette différence est la forte proportion d'échantillons pédiatriques (41%) dans cette étude.

3.3.3.2. Faux-positifs

L'étude pré-commerciale a retrouvé une proportion élevée de FP, 15,6% (22/141), après analyse de discordance.(116)

Tableau 24. Résultats de l'analyse de discordance des FP avec BioFire® ME (116)

Résultats BioFire® ME comparé à la méthode de référence : FP	Total	Confirmé VP	Non confirmé FP
<i>E. Coli K1</i>	1		1
<i>H. influenzae</i>	1	1	
<i>S. agalactiae</i>	1		1
<i>S. pneumoniae</i>	12	5	7
CMV	3	1	2
EV	7	5	2
HSV-1	2		2
HSV-2	2	1	1
HHV-6	4	1	3
HPeV	3	3	
VZV	3	2	1
<i>C. neoformans/gattii</i>	4	2	2
TOTAL	43	21	22

Ce nombre élevé de faux-positifs est toutefois à relativiser pour les cibles bactériennes, car la méthode de référence utilisée était la culture, méthode de sensibilité inférieure à celle de la biologie moléculaire. La méthode de référence utilisée pour les cibles virale était la PCR (PCR singleplex). Les résultats discordants pour la cible *C. neoformans/gattii* seront discutés plus loin dans Interprétation des résultats.

Plusieurs faux-positifs du panel BioFire® ME ont également été retrouvés lors des évaluations post-commercialisation du test en pratique clinique, et associés à des retards diagnostiques et erreurs de traitement.

Les causes de ces faux-positifs ne sont pas toutes identifiées à ce jour : certains cas pourraient s'expliquer par une contamination des échantillons lors des manipulations. Bien que très simple d'utilisation, cette technique doit donc être réalisée par un personnel compétent en biologie moléculaire et formé aux bonnes pratiques de manipulation.

3.3.3.3. Faux-négatifs

L'étude pré-commerciale a également mis en évidence l'existence de faux-négatifs : ceux-ci s'expliquent par l'identification par les méthodes classiques, d'agents pathogènes non inclus dans le panel BioFire® ME : 1 *Staphylococcus epidermidis*, 1 *Salmonella* sp., 2 *Propionibacterium* sp., and 1 *Nocardia* sp..(116)

Une étude post-commercialisation a également mis en évidence des cas de faux négatifs du test BioFire® ME, en particulier parmi les cibles virales (2/38 EV, 1/16 HPeV et 2/4 HSV-1).(118) Les explications avancées pour expliquer ces FN sont une très faible charge virale dans le LCS, une sensibilité sub-optimale du test BioFire® ME et une limite de détection inférieure pour le test comparatif.

3.3.3.4. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats obtenus avec le panel BioFire® est parfois délicate. C'est notamment le cas pour les cibles HHV-6, CMV et *C. neoformans/gattii*.

3.3.3.4.1. Détection de HHV-6 et CMV

Le génome du virus HHV-6 est intégré au génome humain chez 1% de la population. Ce virus peut également être présent sous forme latente dans les lymphocytes et monocytes.(119) Ainsi une détection du génome de ce virus dans

le LCS ne signe pas obligatoirement une infection.(120,121) De manière similaire, le CMV est également présent sous forme latente dans les lymphocytes pour une grande partie de la population (environ 50% dans les pays industrialisés et jusqu'à 90-100% dans les pays en voie de développement (122)), et peut donc être détecté en l'absence de réplication active du virus.

3.3.3.4.2. Détection de *C. neoformans/gattii*

L'interprétation des résultats du panel BioFire® ME pour la cible *Cryptococcus* nécessite également une grande prudence, en raison de l'existence de faux-négatifs.(123–125) Il a précédemment été montré que la biologie moléculaire n'est pas adaptée au diagnostic des cryptococcoses méningées, pour lequel la méthode de référence est la recherche d'antigènes. Les performances des PCR sont supérieures à celles de la culture et de l'examen direct à l'encre de chine, et égales à celles de la recherche d'antigènes lorsque la charge fongique dans le LCS est élevée. Mais la biologie moléculaire est faillible en cas de faible charge fongique ou de thérapie antifongique.(126–129)

Ce problème avait déjà été mis en évidence lors de l'étude pré-commercialisation du test. Sept des 8 échantillons positifs par technique immunochromatographique (détection d'antigènes) avaient été retrouvés négatifs avec le test BioFire® ME et par une autre PCR comparatrice. Cependant, chacun de ces 7 patients était sous traitement antifongique au moment de la réalisation du test BioFire® ME, et/ou avait des antécédents d'infection à *Cryptococcus*, ce qui pourrait expliquer ces résultats. Une autre hypothèse est un manque de sensibilité de la technique BioFire® (seuil de détection trop haut).

Plusieurs cas de faux-négatifs pour la cible *Cryptococcus neoformans/gattii* ont également été rapportés en post-commercialisation :

- Liesman et al.(129) ont trouvé 24/50 FN du test BioFire® comparés à la détection des CrAg. D'autres méthodes moléculaires ont échoué à détecter *C. neoformans*. Le panel ME a montré des résultats très proches à la culture et la coloration à l'encre de chine (1FN sur 20 échantillons).
- Piccirilli et al.(130) ont retrouvé un échantillon positif à l'agglutination au latex mais négatif avec ME. Ce patient immunodéprimé était sous traitement antifongique au moment du prélèvement ce qui pourrait indiquer une persistance d'antigènes plutôt qu'une nouvelle infection. Cette supposition est renforcée par les résultats négatifs en observation directe et par culture.
- Chew et al.(124) présentent 2 cas où le panel ME est négatif tandis que les CrAg sont retrouvés positifs. Dans un cas, le titrage des antigènes n'était positif qu'avant dilution (1 pour 20), suggérant une concentration très faible initiale.

En conclusion, un résultat négatif pour la cible *C. neoformans/gattii* avec le panel BioFire® ME ne permet pas d'éliminer le diagnostic de cryptococcose neuro-méningée. Une recherche d'antigènes de cryptocoque (CrAg) dans le LCS doit donc systématiquement être réalisée en complément du panel BioFire® ME. Cette recherche de CrAg est également nécessaire en cas de résultat positif pour la cible *C. neoformans/gattii* avec le panel BioFire® ME, afin d'obtenir le titre d'antigènes qui présente un intérêt pronostique et pour le suivi. À ce jour, la recherche d'antigènes cryptocoques dans le LCS reste donc le test de choix pour le diagnostic des cryptococcoses neuro-méningées, en raison de sa sensibilité élevée et de son faible

coût. Le panel BioFire® ME présente toutefois un intérêt si la cible *C. neoformans/gattii* revient positive alors que le diagnostic de cryptococcose neuro-méningée n'était pas suspecté, et donc la recherche de CrAg initialement non prescrite.

3.3.3.5. Composition du panel

La composition du panel BioFire® ME est perfectible. Tout d'abord, il n'inclut pas les agents pathogènes responsables de méningites et ME chroniques. Ce choix est volontaire de la part de BioFire Diagnostics qui a choisi de positionner son panel pour les syndromes à caractère aigu. Certains auteurs suggèrent l'ajout de *Mycobacterium tuberculosis* et d'autres espèces fongiques comme *Histoplasma*, *Aspergillus*, *Blastomyces* et *Coccidioides* pour un panel ME « Chronique ».(131) L'ajout de bactéries non cultivables responsables de méningites et ME comme *Bartonella* spp. (maladie des griffes du chat)(132) et *Treponema pallidum* serait également pertinent dans ce cas.(131)

Concernant les cibles virales, le panel est surtout adapté à l'épidémiologie de l'Europe et l'Amérique du Nord. Il aurait été intéressant d'inclure certains arbovirus dans le panel, à l'exemple du virus de l'encéphalite japonaise, du West-Nile virus ou encore du virus Toscana. Ces 3 arbovirus causent des encéphalites, des méningites et ME en Asie, Afrique Sub-Saharienne et dans le bassin méditerranéen, respectivement.(133–135)

Des réserves sont également émises sur la pertinence des cibles bactériennes présentes dans le panel. Selon certains auteurs, la désormais faible prévalence des

méningites bactériennes (secondaire au succès des campagnes de vaccination contre le pneumocoque, le méningocoque et *H. influenzae*) limite l'utilité clinique du panel.(116) Cette objection est discutable étant donné la gravité de ce type d'infection et l'avantage indiscutable d'une identification rapide ou au contraire d'un test négatif.

Enfin, il serait aussi intéressant d'ajouter au panel certains micro-organismes de la flore cutanée causant des infections en post-neurochirurgie ou infectant un dispositif à demeure - *Staphylococcus aureus*, *Cutibacterium acnes*, staphylocoques à coagulase négative (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus*), certaines bactéries gram négatives et *Candida* spp. - et de leur marqueurs de résistance associés – *mecA*, *vanA/B*, *KPC*. (120,131) Le risque de faux-positifs par contamination reste un frein à l'inclusion de ces cibles.

3.3.3.6. Coût du panel

Une des principales objections à l'utilisation du panel BioFire® ME en routine est son coût. En France son prix public est de 160 EUR avec tarif dégressif en fonction de la quantité de tests BioFire® commandés (tous tests confondus) et peut descendre à 91 EUR/panel ME. (Source : bioMérieux) À l'échelle mondiale, le prix du panel varie en fonction de la situation économique du pays. À noter que ce prix est le prix de vente direct, tout test acheté par l'intermédiaire d'un distributeur est vendu à un prix supérieur.

Ce coût est supérieur à celui des tests syndromiques concurrents, et à celui des techniques utilisées en routine jusqu'ici pour le diagnostic des méningites et méningo-encéphalites.

3.3.3.7. Détection qualitative

Enfin, le BioFire® ME est une technique uniquement qualitative : la détection d'une cible n'est donc pas systématiquement synonyme d'une infection. Les résultats du panel doivent donc toujours être interprétés en fonction de la clinique et des autres résultats biologiques du patient.

3.4. Place du panel BioFire® ME dans la stratégie diagnostique de la méningite et la méningo-encéphalite

Le panel BioFire® Meningitis/Encephalitis et le diagnostic syndromique ont montré des résultats prometteurs pour le diagnostic biologique des méningites et méningo-encéphalites infectieuses, et pourraient modifier leur stratégie diagnostique.(116,136) Toutefois, comme détaillé plus haut, le panel BioFire® ME présente certaines limites et ne peut remplacer toutes les techniques diagnostiques habituellement mises en œuvre. Il est donc important de bien définir la place de ce panel dans la stratégie diagnostique. À ce jour, compte-tenu du manque de recul, il est encore difficile de définir avec précision un algorithme fiable d'utilisation du panel.

Plusieurs équipes se sont toutefois intéressées à cette problématique.

Par exemple, l'hôpital Nebraska Medicine recommande d'utiliser le panel si suspicion d'infection du SNC, lorsque le taux de leucocytes dans le LCS est augmenté, chez les enfants <2 ans ou les patients immunodéprimés, en complément d'autres techniques (Tableau 25).

Tableau 25 : Critères d'utilisation du panel BioFire® ME dans le diagnostic des méningites et ME (Source : Nebraska Medicine www.nebraskamed.com)

Critères pour l'utilisation du panel BioFire® ME
<ul style="list-style-type: none"> - Suspicion d'infection du SNC
<ul style="list-style-type: none"> - Lymphocytes dans le LCS > 10 cellules/μL OU - Age < 2 ans OU - Immunodépression : VIH/SIDA, transplantation, chimiothérapie, thérapie immunosuppressive, immunodéficience primitive.
Tests à réaliser en plus du panel BioFire® ME
<ul style="list-style-type: none"> - Culture du LCS (bactérie et/ou levure) - Sous-typage des virus HSV après détection - CrAg - Tests spécifiques pour le West Nile Virus, maladie de Lyme, syphilis, si suspicion

Naccache et al. ont eux intégré le panel dans leur pratique clinique sans restriction, et ne réalisent pas de techniques complémentaires de confirmation. Ils recommandent de manipuler avec soin pour limiter le risque de contamination.(137) Enfin, Lumley et al. recommandent l'utilisation du panel pour le diagnostic des entérovirus chez tous les enfants, quel que soient le taux de leucocytes dans le LCS et la saison.(138)

Bien que ces schémas d'utilisation diffèrent selon les études, quelques principes d'utilisation communs en ressortent.

Premièrement, le panel ne doit être réalisé que chez des patients avec suspicion de méningite, méningo-encéphalite ou encéphalite communautaires et aigues.

Deuxièmement, il ne permet pas de s'affranchir de toutes les méthodes diagnostiques conventionnelles. La cytologie du LCS, la mesure de la glycorachie et de la protéinorachie, les examens directs (coloration de Gram +/- encre de Chine), les cultures bactériennes et fongiques et la recherche des antigènes de

Cryptococcus restent indispensables. Les cultures présentent l'intérêt d'isoler la souche en cas d'infection bactérienne ou fongique, et de déterminer ensuite sa sensibilité aux antibiotiques ou antifongiques, ce qui n'est pas possible avec le panel BioFire® ME.(120)

Selon la situation géographique, l'utilisation du panel doit également être complétée par la recherche spécifique de certains (arbo)virus fréquemment isolés dans les méningites et ME et non inclus dans le panel.

Troisièmement, l'utilisation du panel BioFire® ME dans la pratique hospitalière nécessite une bonne communication entre le laboratoire et les cliniciens. La communication des résultats doit se faire sans délai.

L'interprétation des résultats de certaines cibles pouvant poser des difficultés, l'implication d'un biologiste médical est nécessaire, en concertation avec le clinicien.

Quatrièmement l'interprétation des résultats du panel BioFire® ME doit toujours se faire en concertation avec la clinique et le contexte épidémiologique, et les résultats des techniques complémentaires et/ou de confirmation.

Certains auteurs suggèrent que la facilité d'emploi et les bonnes performances du panel BioFire® ME (136), pourrait motiver son utilisation de façon délocalisée, au plus proche du patient. Il serait bénéfique de placer un instrument au service des urgences afin de réaliser des analyses sans délai et 24/7. Toutefois les conditions de manipulation doivent être strictement respectées et l'instrument placé sous la responsabilité d'un biologiste médical.

Un plus grand nombre de données, des études prospectives pour différentes populations ainsi que des retours d'expériences, devraient permettre de mieux définir la place et l'utilisation du panel dans la stratégie diagnostique.

THÈSE SOUTENUE PAR : Laura BALESTRA

TITRE :

LE DIAGNOSTIC SYNDROMIQUE DES MENINGITES ET MENINGO-ENCEPHALITES INFECTIEUSES : EXEMPLE DU PANEL BIOFIRE® FILMARRAY® MENINGITIS/ ENCEPHALITIS

CONCLUSION :

Bien que moins fréquentes depuis la mise à disposition de certains vaccins, les méningites et méningo-encéphalites infectieuses sont des pathologies graves dont le diagnostic biologique est parfois difficile. Elles nécessitent une prise en charge en urgence, et l'administration d'un traitement anti-infectieux sans délai. Ce traitement est le plus souvent probabiliste, car la cinétique d'évolution de ces pathologies ne permet pas d'attendre les résultats du diagnostic étiologique effectué à partir du liquide cébrospinal (LCS). En effet, il faut aujourd'hui plusieurs heures à jours pour identifier l'agent pathogène en cause avec les méthodes de diagnostic microbiologique habituelles.

Le diagnostic syndromique, et plus particulièrement le panel BioFire® Meningitis/Encephalitis, a le pouvoir de modifier le paradigme de prise en charge des méningites et méningo-encéphalites. Il permet la recherche concomitante de 14 agents infectieux fréquemment impliqués dans ces pathologies à partir d'un prélèvement de LCS, en seulement 1 heure. Plusieurs études ont montré que l'utilisation de ce panel en pratique clinique permettait de diminuer le délai d'obtention des résultats, d'augmenter la fréquence de détection de certains agents pathogènes, d'optimiser les traitements anti-infectieux, et de réduire la durée d'hospitalisation et les coûts liés aux soins des patients. L'utilisation du panel BioFire® ME en pratique clinique permet donc d'améliorer la prise en charge globale du patient. L'optimisation des traitements anti-infectieux induite par l'utilisation de ce test pourrait également permettre de limiter le développement de résistance aux traitements anti-infectieux, sujet majeur de préoccupation à l'heure actuelle.

Toutefois, il existe encore des freins à l'adoption de ce nouvel outil parmi lesquels son coût et l'existence de faux-négatifs fréquents pour certaines cibles, comme *Cryptococcus neoformans/gattii*.

Le panel syndromique BioFire® Meningitis/Encephalitis ne peut remplacer à ce jour les techniques diagnostiques classiques. Des études complémentaires sont nécessaires pour mieux définir sa place, et plus globalement celle du diagnostic syndromique, dans la stratégie diagnostique des méningites et méningo-encéphalites. Le développement et la commercialisation prochaine de panels syndromiques concurrents devraient également aider à répondre à cette problématique.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 11/12/19

LE DOYEN



Pr. Michel SEVE



LE DIRECTEUR DE THESE :



Dr. Cécile GARNAUD

BIBLIOGRAPHIE

1. Pilly E, Épaulard O, Le Berre R, Tattevin P, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). Collège des universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales, Pulcini C, Rapp C. E. Pilly 2018. Maladies infectieuses et tropicales. 2017.
2. Évaluation de la recherche du méningocoque (*Neisseria meningitidis*) et du pneumocoque (*Streptococcus pneumoniae*) par amplification génique dans le diagnostic des méningites- 2016 - Haute Autorité de santé.pdf [Internet]. [cité 6 févr 2019]. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/2016-05/argu_meningites_bact_vd.pdf
3. Anatomie des Méninges [Internet]. [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: http://facmed-univ-oran.dz/ressources/fichiers_produits/fichier_produit_773.pdf
4. Bingen E, Bourrillon A, Clavaud R, Geslin P, Gicquel B, Guerin N, et al. Méningites bactériennes: stratégies de traitement et de prévention. :185.
5. Méningites, méningo-encéphalites chez l'adulte et l'enfant [Internet]. Collège des Enseignants de Neurologie. 2016 [cité 27 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.cen-neurologie.fr/deuxieme-cycle/meningites-meningo-encephalites-ladulte-lenfant>
6. Leclerc F, Noizet O, Dorkenoo A, Cremer R, Leteurtre S, Sadik A, et al. Treatment of meningococcal purpura fulminans. Arch Pediatr. sept 2001;8 Suppl 4:677s-88s.
7. 96_poly_meningites.pdf [Internet]. [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item96-1_LRE/96_poly_meningites.pdf
8. Trivalle C. Septicémies, endocardites et méningites chez les sujets âgés. :6.
9. Amélioration du dépistage des méningites bactériennes chez les personnes âgées en médecine générale -MUNGUR Aksay Kumar - 2013 - Thèse Docteur en Pharmacie [Internet]. [cité 28 avr 2019]. Disponible sur: [110](http://www.bichat-</div><div data-bbox=)

larib.com/publications.documents/4119_THESE.pdf

10. Guery B, Bru J-P, Piroth L, Strady C, Schmit J-L. SOCIETE DE PATHOLOGIE INFECTIEUSE DE LANGUE FRANÇAISE (SPILF) Président : Jean-Paul Stahl Maladies infectieuses et tropicales. CHU de Grenoble – BP 217, 38043 Grenoble Cedex Tél : 04 76 76 52 91 - Fax : 04 76 76 55 69. :65.

11. Oordt-Speets AM, Bolijn R, van Hoorn RC, Bhavsar A, Kyaw MH. Global etiology of bacterial meningitis: A systematic review and meta-analysis. PLoS One [Internet]. 11 juin 2018 [cité 27 janv 2019];13(6). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5995389/>

12. Bulletin du réseau de surveillance des infections invasives bactériennes / Infections invasives d'origine bactérienne - Réseau EPIBAC / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 27 janv 2019]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/fr./Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Infections-invasives-d-origine-bacterienne-Reseau-EPIBAC/Bulletin-du-reseau-de-surveillance-des-infections-invasives-bacteriennes>

13. Janoir C, Varon E. Infections à pneumocoques. /data/traites/mc/08-56442/ [Internet]. 26 juin 2014 [cité 5 févr 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/905227>

14. La maladie - Recommandations CNR Listériose [Internet]. Institut Pasteur. 2016 [cité 5 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/sante-publique/CNR/les-cnr/listeria/la-maladie-recommandations>

15. Wing EJ, Gregory SH. *Listeria monocytogenes*: Clinical and Experimental Update. J Infect Dis. 15 févr 2002;185(Supplement_1):S18-24.

16. Andersen J, Christensen R, Hertel J. Clinical features and epidemiology of septicaemia and meningitis in neonates due to *Streptococcus agalactiae* in Copenhagen

county, Denmark: a 10 year survey from 1992 to 2001. *Acta Pædiatrica*. 1 oct 2004;93(10):1334-9.

17. Kohlmann R, Nefedev A, Kaase M, Gatermann SG. Community-acquired adult *Escherichia coli* meningitis leading to diagnosis of unrecognized retropharyngeal abscess and cervical spondylodiscitis: a case report. *BMC Infect Dis* [Internet]. 12 déc 2015 [cité 5 févr 2019];15. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4676899/>

18. Méningites aiguës - F Bruneel, M. Wolff [Internet]. [cité 17 mars 2019]. Disponible sur: http://psychologie-m-fouchey.psyblogs.net/public/neuropsychologieMarlene/pathologies%20neurologiques/fichiers%20joints/Meningites_aigues.pdf

19. Point sur les infections à entérovirus au 20 juin 2018 / Points de situation / Poliomyélite / Maladies à prévention vaccinale / Maladies infectieuses / Dossiers thématiques / Accueil [Internet]. [cité 27 janv 2019]. Disponible sur: <http://invs.santepubliquefrance.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-prevention-vaccinale/Poliomyelite/Points-de-situation/Point-sur-les-infections-a-enterovirus-au-20-juin-2018>

20. Herpes simplex virus [Internet]. [cité 4 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>

21. Read SJ, Kurtz JB. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J Clin Microbiol*. mai 1999;37(5):1352-5.

22. Dupuis M, Hull R, Wang H, Nattanmai S, Glasheen B, Fusco H, et al. Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J Med Virol*. déc 2011;83(12):2172-81.

23. Raschilas F, Wolff M, Delatour F, Chaffaut C, De Broucker T, Chevret S, et al.

Outcome of and Prognostic Factors for Herpes Simplex Encephalitis in Adult Patients: Results of a Multicenter Study. *Clin Infect Dis.* 1 août 2002;35(3):254-60.

24. Yawn BP, Gilden D. The global epidemiology of herpes zoster. *Neurology.* 3 sept 2013;81(10):928-30.

25. Encéphalites - Faculté de médecine de Toulouse [Internet]. [cité 27 janv 2019]. Disponible sur: http://www.medecine.ups-tlse.fr/DCEM2/MODULE7/Item96-1_LRE/indexI1.htm

26. Sánchez-Portocarrero J, Pérez-Cecilia E, Corral O, Romero-Vivas J, Picazo JJ. The central nervous system and infection by *Candida* species. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juill 2000;37(3):169-79.

27. Vu Thien H. Apport des examens microbiologiques au diagnostic des méningites bactériennes aiguës. *Médecine et Maladies Infectieuses.* 1 juill 2009;39(7):462-7.

28. Diagnostic des méningites au laboratoire [Internet]. microbiologiemedicale.fr. [cité 11 avr 2019]. Disponible sur: <https://microbiologiemedicale.fr/diagnostic-meningites-analyse-cephalo-rachidien-lcr/>

29. Duval X, Mourvillier B, Hoen B. Méningites bactériennes communautaires de l'adulte à l'exception des méningites tuberculeuses. /data/traites/mc/08-49480/ [Internet]. 30 déc 2014 [cité 6 févr 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/948741>

30. Georget-Bouquinet E, Bingen E, Aujard Y, Levy C, Cohen R, Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observatoire National des Méningites Bactériennes de l'Enfant. [Group B streptococcal meningitis'clinical, biological and evolutive features in children]. *Arch Pediatr.* déc 2008;15 Suppl 3:S126-132.

31. Coll MT, Uriz MS, Pineda V, Fontanals D, Bella F, Nava JM, et al. Meningococcal meningitis with « normal » cerebrospinal fluid. *J Infect.* nov 1994;29(3):289-94.

32. Karandanis D, Shulman JA. Recent survey of infectious meningitis in adults: review of laboratory findings in bacterial, tuberculous, and aseptic meningitis. *South Med J.* avr 1976;69(4):449-57.
33. Scolea LJJ, Dryja D. Quantitation of bacteria in cerebrospinal fluid and blood of children with meningitis and its diagnostic significance. *Journal of Clinical Microbiology.* 1 févr 1984;19(2):187-90.
34. Techniques de Laboratoire pour le Diagnostic des Méningites à *Neisseria Meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* - WHO [Internet]. [cité 6 févr 2019]. Disponible sur: <https://www.who.int/csr/resources/publications/meningitis/whocdscsredc997F.pdf?ua=1>
35. Bohr V, Rasmussen N, Hansen B, Kjersem H, Jessen O, Johnsen N, et al. 875 cases of bacterial meningitis: diagnostic procedures and the impact of preadmission antibiotic therapy. Part III of a three-part series. *J Infect.* nov 1983;7(3):193-202.
36. Nigrovic LE, Malley R, Macias CG, Kanegaye JT, Moro-Sutherland DM, Schremmer RD, et al. Effect of antibiotic pretreatment on cerebrospinal fluid profiles of children with bacterial meningitis. *Pediatrics.* oct 2008;122(4):726-30.
37. Samra Z, Shmueli H, Nahum E, Paghis D, Ben-Ari J. Use of the NOW *Streptococcus pneumoniae* urinary antigen test in cerebrospinal fluid for rapid diagnosis of pneumococcal meningitis. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 1 avr 2003;45(4):237-40.
38. Bloch KC, Glaser CA. Encephalitis Surveillance through the Emerging Infections Program, 1997–2010. *Emerg Infect Dis.* sept 2015;21(9):1562-7.
39. Wolff M, Sonnevile R. Méningo-Encéphalites de l'Adulte Non-Immunodéprimé. :19.
40. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, Sejvar JJ, Marra CM, Roos KL, et al. The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society

of America. Clin Infect Dis. 1 août 2008;47(3):303-27.

41. Cryptococcose - Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL)- 2014 [Internet]. [cité 6 févr 2019]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/cryptococcose/site/html/cours.pdf>
42. Cryptococcose - Unf3s [Internet]. [cité 21 avr 2019]. Disponible sur: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/cryptococcose/site/html/4.html>
43. Abassi M, Boulware DR, Rhein J. Cryptococcal Meningitis: Diagnosis and Management Update. Curr Trop Med Rep. 1 juin 2015;2(2):90-9.
44. Maziarz EK, Perfect JR. Cryptococcosis. Infectious disease clinics of North America. mars 2016;30(1):179.
45. Netgen. Le diagnostic des infections fongiques invasives [Internet]. Revue Médicale Suisse. [cité 21 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2005/RMS-13/30260>
46. Information NC for B, Pike USNL of M 8600 R, MD B, Usa 20894. Guidelines for The Diagnosis, Prevention and Management of Cryptococcal Disease in HIV-Infected Adults, Adolescents and Children: Supplement to the 2016 Consolidated Guidelines on the Use of Antiretroviral Drugs for Treating and Preventing HIV Infection. [Internet]. World Health Organization; 2018 [cité 21 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK531442/>
47. Boulware DR, Rolfes MA, Rajasingham R, von Hohenberg M, Qin Z, Taseera K, et al. Multisite Validation of Cryptococcal Antigen Lateral Flow Assay and Quantification by Laser Thermal Contrast. Emerg Infect Dis. janv 2014;20(1):45-53.
48. Diagnostic au laboratoire des mycoses profondes - ScienceDirect [Internet]. [cité 21 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0338989804900753>

49. Frédéric N. Actualisation des actes de biologie médicale relatifs au diagnostic des candidoses invasives - Haute Autorité de Santé. 2017;123.
50. Badiie P, Hashemizadeh Z. Opportunistic invasive fungal infections: diagnosis & clinical management. *Indian J Med Res.* févr 2014;139(2):195-204.
51. Hou T-Y, Wang S-H, Liang S-X, Jiang W-X, Luo D-D, Huang D-H. The Screening Performance of Serum 1,3-Beta-D-Glucan in Patients with Invasive Fungal Diseases: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLOS ONE.* 6 juill 2015;10(7):e0131602.
52. Miner JR, Heegaard W, Mapes A, Biros M. Presentation, time to antibiotics, and mortality of patients with bacterial meningitis at an urban county medical center. *The Journal of Emergency Medicine.* 1 nov 2001;21(4):387-92.
53. Proulx N, Fréchette D, Toye B, Chan J, Kravcik S. Delays in the administration of antibiotics are associated with mortality from adult acute bacterial meningitis. *QJM.* 1 avr 2005;98(4):291-8.
54. Guery B, Bru J-P, Piroth L, Strady C, Schmit J-L. SOCIETE DE PATHOLOGIE INFECTIEUSE DE LANGUE FRANÇAISE (SPILF) Président : Jean-Paul Stahl Maladies infectieuses et tropicales. CHU de Grenoble – BP 217, 38043 Grenoble Cedex Tél : 04 76 76 52 91 - Fax : 04 76 76 55 69. :65.
55. Stahl JP, Azouvi P, Bruneel F, De Broucker T, Duval X, Fantin B, et al. Guidelines on the management of infectious encephalitis in adults. *Médecine et Maladies Infectieuses.* mai 2017;47(3):179-94.
56. Molloy SF, Kanyama C, Heyderman RS, Loyse A, Kouanfack C, Chanda D, et al. Antifungal Combinations for Treatment of Cryptococcal Meningitis in Africa. *New England Journal of Medicine.* 15 mars 2018;378(11):1004-17.
57. Antibiothérapies des Méningites Bactérienne - DU Thérapies Anti-Infectieuses - Grenoble Février 2019 [Internet]. [cité 28 avr 2019]. Disponible sur:

<http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/formation/du/grenoble/meningites-jarata-bardet-du-grenoble-2018-19.pdf>

58. Netgen. Méningites bactériennes communautaires aiguës chez l'adulte [Internet]. Revue Médicale Suisse. [cité 28 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2009/RMS-220/Meningites-bacteriennes-communautaires-aigues-chez-l-adulte>
59. Netgen. Syndrome méningé fébrile au service des urgences: prise en charge [Internet]. Revue Médicale Suisse. [cité 28 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2016/RMS-N-526/Syndrome-meninge-febrile-au-service-des-urgences-prise-en-charge#fig2>
60. Netgen. Quelle place pour les stéroïdes dans le traitement des maladies infectieuses ? [Internet]. Revue Médicale Suisse. [cité 6 déc 2019]. Disponible sur: <https://www.revmed.ch/RMS/2013/RMS-383/Quelle-place-pour-les-steroides-dans-le-traitement-des-maladies-infectieuses>
61. Taha M-K. Infections à méningocoques. /data/traites/mc/08-58119/ [Internet]. 1 août 2012 [cité 6 févr 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/734745>
62. Gaschignard J, Levy C, Romain O, Cohen R, Bingen E, Aujard Y, et al. Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. 1 mars 2011;30(3):212-7.
63. Zoons E, Weisfelt M, de Gans J, Spanjaard L, Koelman JHTM, Reitsma JB, et al. Seizures in adults with bacterial meningitis. *Neurology*. 27 mai 2008;70(22 Pt 2):2109-15.
64. Edmond K, Dieye Y, Griffiths UK, Fleming J, Ba O, Diallo N, et al. Prospective cohort study of disabling sequelae and quality of life in children with bacterial meningitis in urban Senegal. *Pediatr Infect Dis J*. nov 2010;29(11):1023-9.
65. Jadavji T, Biggar WD, Gold R, Prober CG. Sequelae of acute bacterial meningitis in

children treated for seven days. *Pediatrics*. juill 1986;78(1):21-5.

66. Heckenberg SGB, Brouwer MC, van der Ende A, Hensen EF, van de Beek D. Hearing loss in adults surviving pneumococcal meningitis is associated with otitis and pneumococcal serotype. *Clinical Microbiology and Infection*. sept 2012;18(9):849-55.

67. Worsøe L, Cayé-Thomasen P, Thomas Brandt C, Thomsen J, Østergaard C. Factors Associated with the Occurrence of Hearing Loss after Pneumococcal Meningitis. *Clin Infect Dis*. 15 oct 2010;51(8):917-24.

68. Oumar AA, Dao S, Poudiougou B. Aspects épidémiologique, clinique et pronostique de la cryptococcose neuroméningée en milieu hospitalier de Bamako, Mali. *Rev Med Brux*. 2008;4.

69. Dollo I, Marih L, Fane ME, Es-sebbani M, Sodqi M, Lahsen AO, et al. Étude rétrospective de la cryptococcose neuroméningée chez les patients infectés par le VIH dans le service des maladies infectieuses du CHU de Casablanca, Maroc. /data/revues/11565233/v26i4/S1156523316301299/ [Internet]. 5 déc 2016 [cité 28 avr 2019]; Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/en/article/1097321>

70. Rajasingham R, Smith RM, Park BJ, Jarvis JN, Govender NP, Chiller TM, et al. Global burden of disease of HIV-associated cryptococcal meningitis: an updated analysis. *Lancet Infect Dis*. 2017;17(8):873-81.

71. calendrier_vaccinations_2018.pdf [Internet]. [cité 10 févr 2019]. Disponible sur: https://solidarites-sante.gouv.fr/IMG/pdf/calendrier_vaccinations_2018.pdf

72. Kinnear J, Jackson R. Constructing diagnostic likelihood: clinical decisions using subjective versus statistical probability. *Postgrad Med J*. juill 2017;93(1101):425-9.

73. Messacar K, Hurst AL, Child J, Campbell K, Palmer C, Hamilton S, et al. Clinical Impact and Provider Acceptability of Real-Time Antimicrobial Stewardship Decision Support for Rapid Diagnostics in Children With Positive Blood Culture Results. *J Pediatric*

Infect Dis Soc. 1 sept 2017;6(3):267-74.

74. Abbott AN, Fang FC. Clinical Impact of Multiplex Syndromic Panels in the Diagnosis of Bloodstream, Gastrointestinal, Respiratory, and Central Nervous System Infections. *Clinical Microbiology Newsletter*. 1 sept 2017;39(17):133-42.

75. Rappo U, Schuetz AN, Jenkins SG, Calfee DP, Walsh TJ, Wells MT, et al. Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 août 2016;54(8):2096-103.

76. Evans SR, Hujer AM, Jiang H, Hujer KM, Hall T, Marzan C, et al. Rapid Molecular Diagnostics, Antibiotic Treatment Decisions, and Developing Approaches to Inform Empiric Therapy: PRIMERS I and II. *Clinical Infectious Diseases*. 15 janv 2016;62(2):181-9.

77. Su M, Satola SW, Read TD. Genome-Based Prediction of Bacterial Antibiotic Resistance. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 mars 2019;57(3):e01405-18.

78. Spafford K, MacVane S, Humphries R. Evaluation of Empiric β -Lactam Susceptibility Prediction among Enterobacteriaceae by Molecular β -Lactamase Gene Testing. Ledebor NA, éditeur. *Journal of Clinical Microbiology* [Internet]. 24 juill 2019 [cité 30 oct 2019];57(10). Disponible sur: <http://jcm.asm.org/lookup/doi/10.1128/JCM.00674-19>

79. Knopp M, Gudmundsdottir JS, Nilsson T, König F, Warsi O, Rajer F, et al. Emergence of Peptides That Confer Antibiotic Resistance. Wright GD, éditeur. *mBio* [Internet]. 4 juin 2019 [cité 30 oct 2019];10(3). Disponible sur: <http://mbio.asm.org/lookup/doi/10.1128/mBio.00837-19>

80. Schreckenberger PC, McAdam AJ. Point-Counterpoint: Large Multiplex PCR Panels Should Be First-Line Tests for Detection of Respiratory and Intestinal Pathogens. *J Clin Microbiol*. oct 2015;53(10):3110-5.

81. Caliendo AM, Gilbert DN, Ginocchio CC, Hanson KE, May L, Quinn TC, et al. Better tests, better care: improved diagnostics for infectious diseases. *Clin Infect Dis*. déc 2013;57 Suppl 3:S139-170.
82. What is nested PCR? [Internet]. Genetic Education. 2019 [cité 22 janv 2020]. Disponible sur: <https://geneticeducation.co.in/what-is-nested-pcr/>
83. Poritz MA, Blaschke AJ, Byington CL, Meyers L, Nilsson K, Jones DE, et al. FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection: development and application to respiratory tract infection. *PLoS ONE*. 2011;6(10):e26047.
84. Advanced Topics in Forensic DNA Typing: Methodology [Internet]. Elsevier; 2012 [cité 22 janv 2020]. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20110041893>
85. Walls T, McSweeney A, Anderson T, Jennings LC. Multiplex-PCR for the detection of viruses in the CSF of infants and young children: Detection of Viruses in the CSF of Infants. *Journal of Medical Virology*. mars 2017;89(3):559-61.
86. Pérez-Ruiz M, Pedrosa-Corral I, Sanbonmatsu-Gámez S, Gómez-Camarasa C, Navarro-Marí JM. Analytical validation of viral CNS Flow Chip kit for detection of acute meningitis and encephalitis. *Journal of Virological Methods*. 1 sept 2018;259:54-9.
87. Shin SY, Kwon KC, Park JW, Kim JM, Shin SY, Koo SH. Evaluation of the Seeplex® Meningitis ACE Detection kit for the detection of 12 common bacterial and viral pathogens of acute meningitis. *Ann Lab Med*. janv 2012;32(1):44-9.
88. Holmes CW, Koo SSF, Osman H, Wilson S, Xerry J, Gallimore CI, et al. Predominance of enterovirus B and echovirus 30 as cause of viral meningitis in a UK population. *Journal of Clinical Virology*. 1 août 2016;81:90-3.
89. Akkaya O, Guvenc HI, Yuksekkaya S, Opus A, Guzelant A, Kaya M, et al. Real-time PCR Detection of the Most Common Bacteria and Viruses Causing Meningitis. *Clin*

Lab. avr 2017;63(4):827-32.

90. Peñarrubia L, Sala E, Pueyo G, Marquez Y, Fontdecaba F, Rey M, et al. P1549 Specificity analysis of the new QIAstat-Dx meningitis/encephalitis panel focused on the most prevalent central nervous system pathogens. :1.

91. Hanson KE, Slechta ES, Killpack JA, Heyrend C, Lunt T, Daly JA, et al. Preclinical Assessment of a Fully Automated Multiplex PCR Panel for Detection of Central Nervous System Pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 mars 2016;54(3):785-7.

92. Rhein J, Bahr NC, Hemmert AC, Cloud JL, Bellamkonda S, Oswald C, et al. Diagnostic performance of a multiplex PCR assay for meningitis in an HIV-infected population in Uganda. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 mars 2016;84(3):268-73.

93. O'Brien MP, Francis JR, Marr IM, Baird RW. Impact of Cerebrospinal Fluid Multiplex Assay on Diagnosis and Outcomes of Central Nervous System Infections in Children: A Before and After Cohort Study. *The Pediatric Infectious Disease Journal*. sept 2018;37(9):868.

94. López-Amor L, Escudero D, Fernández J, Martín-Iglesias L, Viña L, Fernández-Suárez J, et al. Diagnóstico de meningitis/encefalitis en UCI con sistema de PCR múltiple. ¿Es tiempo de cambio? *Rev Esp Quimioter*. 2019;32(3):246-53.

95. Anand V, Holmen J, Neely M, Pannaraj PS, Dien Bard J. The Brief Case: Neonatal Meningitis Caused by *Listeria monocytogenes* Diagnosed by Multiplex Molecular Panel. *J Clin Microbiol*. déc 2016;54(12):2846-9.

96. Tiri B, Priante G, Saraca LM, Martella LA, Cappanera S, Francisci D. *Listeria monocytogenes* Brain Abscess: Controversial Issues for the Treatment—Two Cases and Literature Review. *Case Rep Infect Dis* [Internet]. 24 juill 2018 [cité 30 avr 2019];2018. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6081550/>

97. Richards RJ, Simon MS, Phillips CD, Lief L, Jenkins SG, Satlin MS. Rapid detection of *Listeria monocytogenes* rhombencephalitis in an immunocompetent patient by multiplexed PCR. *BMJ Case Rep.* 8 nov 2018;2018.
98. Kim TH, Minejima E, Spellberg B, Shulman I, Holtom P, Kang T, et al. Evaluation of the FilmArray Meningitis/Encephalitis Molecular Panel in a Tertiary Care Public County Hospital. *Open Forum Infect Dis.* 4 oct 2017;4(Suppl 1):S596.
99. Tiri B, Priante G, Saraca LM, Martella LA, Cappanera S, Francisci D. *Listeria monocytogenes* Brain Abscess: Controversial Issues for the Treatment—Two Cases and Literature Review. *Case Reports in Infectious Diseases.* 24 juill 2018;2018:1-9.
100. Dien Bard J, Naccache SN, Bender JM. Use of a Molecular Panel To Aid in Diagnosis of Culture-Negative Meningitis. McAdam AJ, éditeur. *Journal of Clinical Microbiology.* déc 2016;54(12):3069-70.
101. Arora HS, Asmar BI, Salimnia H, Agarwal P, Chawla S, Abdel-Haq N. Enhanced Identification of Group B Streptococcus and Escherichia Coli in Young Infants with Meningitis Using the Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis Panel [Internet]. 2017 [cité 3 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.ingentaconnect.com/content/wk/inf/2017/00000036/00000007/art00020>
102. Powell K, Revolinski S, Gibble A, Daniels A, Wainaina JN, Huang A. A Single-center, Quasi-experimental Study to Evaluate the Impact of a Multiplex Polymerase Chain Reaction System Combined with Antimicrobial Stewardship Intervention on Time to Targeted Therapy in Patients with Suspected Central Nervous System Infection. *Open Forum Infect Dis.* 1 oct 2017;4(suppl_1):S8-S8.
103. Messacar K, Breazeale G, Robinson CC, Dominguez SR. Potential clinical impact of the film array meningitis encephalitis panel in children with suspected central nervous system infections. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease.* 1 sept

2016;86(1):118-20.

104. McNabb KM. Implementation of a Rapid Molecular Meningitis Panel. :1.
105. López LHL, Reischl AT, Gröndahl B, Kidszun A, Kowalzik F, Sochaczewski CO von, et al. The BioFireFilmArray enables point of care diagnostic in neonatal parechovirus meningitis. *Infectious Diseases*. 2 sept 2017;49(9):705-7.
106. Boudet A, Pantel A, Carles M-J, Boclé H, Charachon S, Enault C, et al. A review of a 13-month period of FilmArray Meningitis/Encephalitis panel implementation as a first-line diagnosis tool at a university hospital. *Lessells RJ, éditeur. PLOS ONE*. 24 oct 2019;14(10):e0223887.
107. FilmArray Meningitis Encephalitis (ME) Manuel d'instruction.
108. DiDiodato G, Bradbury N. Cerebrospinal Fluid Analysis With the BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Molecular Panel Reduces Length of Hospital Stay in Patients With Suspected Central Nervous System Infections. *Open Forum Infect Dis [Internet]*. 1 avr 2019 [cité 30 avr 2019];6(4). Disponible sur: <https://academic.oup.com/ofid/article/6/4/ofz119/5369721>
109. Posnakoglou L, Atmatzidou E, Syriopoulos T, Siahaniidou T, Syriopoulou V, Michos A. A prospective case control study regarding economic benefits of Biofire® FilmArray® meningitis/encephalitis (FA) panel in children with suspected central nervous system infection: preliminary results. :1.
110. Mina Y, Schechner V, Savion M, Yahav D, Bilavsky E, Sorek N, et al. Clinical benefits of FilmArray meningitis-encephalitis PCR assay in partially-treated bacterial meningitis in Israel. *BMC Infectious Diseases [Internet]*. déc 2019 [cité 12 sept 2019];19(1). Disponible sur: <https://bmcinfectdis.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12879-019-4348-x>
111. Eichinger A, Hagen A, Meyer-Bühn M, Huebner J. Clinical benefits of introducing

real-time multiplex PCR for cerebrospinal fluid as routine diagnostic at a tertiary care pediatric center. *Infection*. 1 févr 2019;47(1):51-8.

112. Soucek DK, Dumkow LE, VanLangen KM, Jameson AP. Cost Justification of the BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Versus Standard of Care for Diagnosing Meningitis in a Community Hospital. *Journal of Pharmacy Practice*. 1 nov 2017;0897190017737697.

113. Duff S, Hasbun R, Ginocchio CC, Balada-Llasat J-M, Zimmer L, Bozzette SA. Economic analysis of rapid multiplex polymerase chain reaction testing for meningitis/encephalitis in pediatric patients. *Future Microbiology*. mai 2018;13(6):617-29.

114. Duff S, Hasbun R, Balada-Llasat J-M, Zimmer L, Bozzette SamuelA, Ginocchio CC. Economic analysis of rapid multiplex polymerase chain reaction testing for meningitis/encephalitis in adult patients. *Infection* [Internet]. 20 mai 2019 [cité 24 juill 2019]; Disponible sur: <http://link.springer.com/10.1007/s15010-019-01320-7>

115. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat J-M, Cullison J, Daly J, Holt S, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 sept 2016;54(9):2251-61.

116. Dien Bard J, Alby K. Point-Counterpoint: Meningitis/Encephalitis Syndromic Testing in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol*. 2018;56(4).

117. Graf EH, Farquharson MV, Cárdenas AM. Comparative evaluation of the FilmArray meningitis/encephalitis molecular panel in a pediatric population. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*. 1 janv 2017;87(1):92-4.

118. Human herpesvirus 6 is latent in peripheral blood of patients with relapsing-remitting multiple sclerosis | *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry* [Internet]. [cité 25 juill 2019]. Disponible sur: <https://jnnp.bmj.com/content/67/4/529>

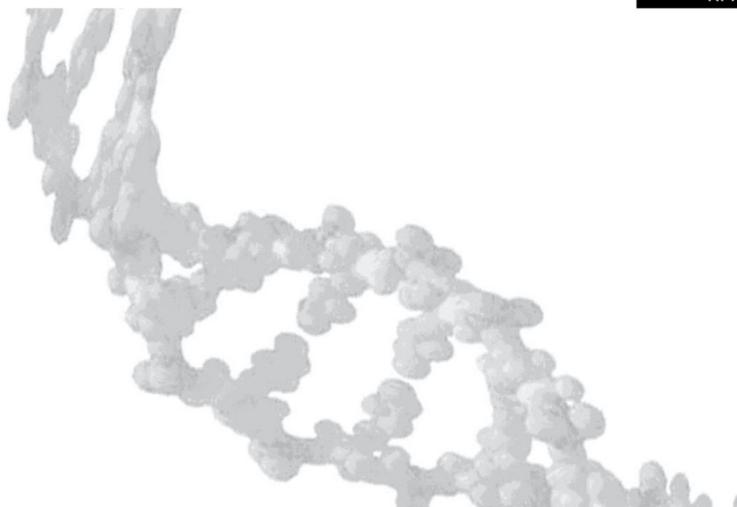
119. Clark DA. Clinical and laboratory features of human herpesvirus 6 chromosomal integration. *Clinical Microbiology and Infection*. 1 avr 2016;22(4):333-9.
120. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic Panel-Based Testing in Clinical Microbiology. *Clinical Microbiology Reviews*. 1 janv 2018;31(1):e00024-17.
121. Carole G. Diagnostic par sérologie et/ou par recherche du génome viral de l'infection congénitale à cytomégalovirus. 2015;45.
122. O'Halloran JA, Franklin A, Lainhart W, Burnham C-A, Powderly W, Dubberke E. Pitfalls Associated With the Use of Molecular Diagnostic Panels in the Diagnosis of Cryptococcal Meningitis. *Open Forum Infect Dis* [Internet]. 3 nov 2017 [cité 4 mai 2019];4(4). Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5726458/>
123. Walker M, Sheets J, Hamer D, O'Neal C. 2052. Performance of the Biofire Filmarray Meningitis/Encephalitis Panel in Cryptococcal Meningitis Diagnosis. *Open Forum Infect Dis*. 26 nov 2018;5(Suppl 1):S599.
124. Chew KL, Lee CK, Cross GB, Lum LHW, Yan B, Jureen R. Culture-confirmed cryptococcal meningitis not detected by Cryptococcus PCR on the Biofire meningitis/encephalitis panel®. *Clinical Microbiology and Infection*. 1 juill 2018;24(7):791-2.
125. Martins M dos A, Brighente KBS, Matos TA de, Vidal JE, Hipólito DDC de, Pereira-Chiocola VL. Molecular diagnosis of cryptococcal meningitis in cerebrospinal fluid: comparison of primer sets for *Cryptococcus neoformans* and *Cryptococcus gattii* species complex. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*. févr 2015;19(1):62-7.
126. Chen M, Zhou J, Li J, Li M, Sun J, Fang WJ, et al. Evaluation of five conventional and molecular approaches for diagnosis of cryptococcal meningitis in non-HIV-infected patients. *Mycoses*. 2016;59(8):494-502.

127. Rappelli P, Are R, Casu G, Fiori PL, Cappuccinelli P, Aceti A. Development of a nested PCR for detection of *Cryptococcus neoformans* in cerebrospinal fluid. *J Clin Microbiol.* nov 1998;36(11):3438-40.
128. Paschoal RC, Hirata MH, Hirata RC, Melhem M de SC, Dias ALT, Paula CR. Neurocryptococcosis: diagnosis by PCR method. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* août 2004;46(4):203-7.
129. Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ. Evaluation of a Commercial Multiplex Molecular Panel for Diagnosis of Infectious Meningitis and Encephalitis. *J Clin Microbiol.* 2018;56(4).
130. Piccirilli G, Chiereghin A, Gabrielli L, Giannella M, Squarzoni D, Turello G, et al. Infectious meningitis/encephalitis: evaluation of a rapid and fully automated multiplex PCR in the microbiological diagnostic workup. :8.
131. Couturier MR, Bard JD. Direct-from-Specimen Pathogen Identification: Evolution of Syndromic Panels. *Clin Lab Med.* sept 2019;39(3):433-51.
132. Breitschwerdt EB, Sontakke S, Hopkins S. Neurological Manifestations of Bartonellosis in Immunocompetent Patients: A Composite of Reports from 2005-2012. *Journal of Neuroparasitology.* 2012;3:1-15.
133. Japanese encephalitis [Internet]. [cité 25 juill 2019]. Disponible sur: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/japanese-encephalitis>
134. Sule WF, Oluwayelu DO, Hernández-Triana LM, Fooks AR, Venter M, Johnson N. Epidemiology and ecology of West Nile virus in sub-Saharan Africa. *Parasites & Vectors.* 13 juill 2018;11(1):414.
135. Howell BA, Azar MM, Landry ML, Shaw AC. Toscana Virus Encephalitis in a Traveler Returning to the United States: TABLE 1. Loeffelholz MJ, éditeur. *Journal of Clinical Microbiology.* avr 2015;53(4):1445-7.

136. Relich RF, Abbott AN. Syndromic and Point-of-Care Molecular Testing. *Advances in Molecular Pathology*. nov 2018;1(1):97-113.
137. Naccache SN, Lustestica M, Fahit M, Mestas J, Bard JD. One Year in the Life of a Rapid Syndromic Panel for Meningitis/Encephalitis: a Pediatric Tertiary Care Facility's Experience. *Journal of Clinical Microbiology*. 1 mai 2018;56(5):e01940-17.
138. Lumley SF, Pritchard D, Dutta A, Matthews PC, Cann K. Multiplex PCR reveals high prevalence of enterovirus and HHV6 in acellular paediatric cerebrospinal fluid samples. *Journal of Infection*. 1 sept 2018;77(3):249-57.

REF

RFIT-ASY-0118
RFIT-ASY-0119



FilmArray[®]
Meningitis/Encephalitis (ME)
Panel

Instruction Booklet

IVD

CE 0086

BIO  FIRE[®]

A BIOMÉRIEUX COMPANY

Customer and Technical Support for U.S. Customers

Reach Us on the Web
<http://www.BioFireDX.com>

Reach Us by E-mail
support@BioFireDX.com

Reach Us by Mail
515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT 84108
USA

Reach Us by Phone
1-800-735-6544 – Toll Free
(801) 736-6354 – Utah

Reach Us by Fax
(801) 588-0507

Customer and Technical Support outside of the U.S.

Contact the local bioMérieux sales representative or an authorized distributor for technical support.



BioFire Diagnostics, LLC
515 Colorow Drive
Salt Lake City, UT 84108
USA



Qarad b.v.b.a
Cipalstraat 3
B-2440 Geel, Belgium

© Copyright 2007–2017, BioFire Diagnostics, LLC. All rights reserved. RFIT-PRT-0276-03 June 2017

The information contained in this document is subject to change without notice. No part of this document may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, for any purpose, without the express written permission of BioFire Diagnostics, LLC.

FilmArray Software, Detector, and Metacall software modules © 2002–2017 BioFire Diagnostics, LLC.

BioFire Diagnostics, BioFire, the BioFire logo, FilmArray and LCGreen are trademarks of BioFire Diagnostics, LLC or BioFire Defense, LLC and are registered trademarks in the United States.

All other names of products and brands appearing in this manual are trademarks or registered trademarks of their respective owners.

The purchase of this product includes a limited, nontransferable license under specific claims of one or more U.S. patents as listed on BioFire Diagnostics' Web site (<http://www.biofiredx.com/Legal-Notices/>) and owned by BioFire and the University of Utah Research Foundation.

SYMBOLS GLOSSARY

The following symbols can be found on FilmArray ME Panel Kit components or throughout this Instruction Booklet. Use the definitions below as a guideline to interpreting the symbols.

ISO 15223-1:2012 Medical devices - Symbols to be used with medical devices labels, labeling and information to be supplied					
5.1.1 	Manufacturer	5.1.2 	Authorized representative in the European Community	5.1.4 	Use-By date (YYYY-MM-DD)
5.1.5 	Batch Code (Lot Number)	5.1.6 	Catalog Number	5.1.7 	Serial Number
5.2.8 	Do Not Use if Package Is Damaged	5.3.2 	Keep Away from Sunlight	5.3.7 	Temperature Limit
5.4.2 	Do Not Reuse	5.4.3 	Consult Instructions for Use	5.5.1 	<i>In vitro</i> Diagnostic Medical Device
5.5.5 	Contains Sufficient For <n> Tests				
United Nations Globally Harmonized System of Classification and Labeling of chemicals (GHS) (ST/SG/AC.10/30)					
	Serious eye damage, cat. 1		Acute toxicity, cat. 4 & Skin irritation, cat. 2		
European Union Directive 98/79/EC of the European Parliament and of the Council on <i>in vitro</i> Diagnostic Medical Device					
	European Union Conformity				
Manufacture Symbols (BioFire Diagnostics, LLC)					
	Consult Instructions for Use - Online		Consult Instructions for Use - Phone		
Use of Symbols in Labeling – 81 FR 38911, Docket No. (FDA-2013-N-0125)					
Rx Only	Prescription Use Only				

E-LABELING

The manual for this product can be accessed online at www.online-ifu.com/KEY-CODE. The product KEY-CODE is provided on the outer box label at the end of the URL. The KEY-CODE for this instruction booklet is also listed below. Additionally, a paper copy is available upon request by contacting customer service via phone, fax, e-mail, or regular mail.

FilmArray ME Panel CE IVD 6 and 30 Pack Kit - IFU	https://www.online-ifu.com/ITI0035
FilmArray ME Panel CE IVD 6 and 30 Pack Kit - Quick Guide	https://www.online-ifu.com/ITI0012
FilmArray ME Panel CE IVD 6 and 30 Pack Kit - SDS	https://www.online-ifu.com/ITI0067

TABLE OF CONTENTS

SYMBOLS GLOSSARY	II
E-LABELING	III
NAME AND INTENDED USE	2
FILMARRAY MENINGITIS/ENCEPHALITIS (ME) PANEL	2
SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST	2
SUMMARY OF DETECTED ORGANISMS	3
PRINCIPLE OF THE PROCEDURE	6
MATERIALS PROVIDED	7
MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED	8
WARNINGS AND PRECAUTIONS	8
GENERAL PRECAUTIONS	8
SAFETY PRECAUTIONS	8
LABORATORY PRECAUTIONS	9
PRECAUTION RELATED TO PUBLIC HEALTH REPORTING IN THE UNITED STATES	9
REAGENT STORAGE, HANDLING AND STABILITY	10
SAMPLE REQUIREMENTS	10
PROCEDURE	10
PREPARE POUCH	10
HYDRATE POUCH	11
PREPARE SAMPLE MIX	11
LOAD SAMPLE MIX	12
RUN POUCH	12
QUALITY CONTROL	14
PROCESS CONTROLS	14
MONITORING TEST SYSTEM PERFORMANCE	14
INTERPRETATION OF RESULTS	14
ASSAY INTERPRETATION	14
ORGANISM INTERPRETATION	15
FILMARRAY ME PANEL TEST REPORT	15
CONTROLS FIELD	16
RESULT SUMMARY	17
LIMITATIONS	18
EXPECTED VALUES	20
PERFORMANCE CHARACTERISTICS	21
CLINICAL PERFORMANCE	21
LIMIT OF DETECTION	29

ANALYTICAL REACTIVITY (INCLUSIVITY)	31
ANALYTICAL SPECIFICITY (CROSS-REACTIVITY AND EXCLUSIVITY)	33
REPRODUCIBILITY	35
INTERFERENCE	41
REFERENCES	43
WARRANTY INFORMATION	48

NAME AND INTENDED USE

FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel

The FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel is a qualitative multiplexed nucleic acid-based *in vitro* diagnostic test intended for use with FilmArray systems. The FilmArray ME Panel is capable of simultaneous detection and identification of multiple bacterial, viral, and yeast nucleic acids directly from cerebrospinal fluid (CSF) specimens obtained via lumbar puncture from individuals with signs and/or symptoms of meningitis and/or encephalitis. The following organisms are identified using the FilmArray ME Panel:

Bacteria:

- *Escherichia coli* K1
- *Haemophilus influenzae*
- *Listeria monocytogenes*
- *Neisseria meningitidis* (encapsulated)
- *Streptococcus agalactiae*
- *Streptococcus pneumoniae*

Viruses:

- Cytomegalovirus
- Enterovirus
- Herpes simplex virus 1
- Herpes simplex virus 2
- Human herpesvirus 6
- Human parechovirus
- Varicella zoster virus

Yeast:

- *Cryptococcus neoformans/gattii*

The FilmArray ME Panel is indicated as an aid in the diagnosis of specific agents of meningitis and/or encephalitis and results are meant to be used in conjunction with other clinical, epidemiological, and laboratory data. Results from the FilmArray ME Panel are not intended to be used as the sole basis for diagnosis, treatment, or other patient management decisions. Positive results do not rule out co-infection with organisms not included in the FilmArray ME Panel. The agent detected may not be the definite cause of the disease. Negative results do not preclude central nervous system (CNS) infection. Not all agents of CNS infection are detected by this test and sensitivity in clinical use may differ from that described in the package insert.

The FilmArray ME Panel is not intended for testing of specimens collected from indwelling CNS medical devices.

The FilmArray ME Panel is intended to be used in conjunction with standard of care culture for organism recovery, serotyping, and antimicrobial susceptibility testing.

SUMMARY AND EXPLANATION OF THE TEST

Central nervous system (CNS) infections are responsible for causing inflammatory conditions of the brain and/or meningeal tissues surrounding the brain (i.e., meningitis, encephalitis, meningoenzephalitis; here collectively termed ME). Approximately 15% of cases are fatal and many other cases result in life-long disabilities such as loss of limbs, visual and hearing deficits, seizures, and altered learning and memory.¹ The FilmArray ME Panel conducts tests for the identification

of 14 potential CNS pathogens from CSF (Table 1). The specimen can be tested using the FilmArray ME Panel with results available within about one hour.

Table 1. Bacteria, Viruses, and Yeast Detected by the FilmArray ME Panel

Bacteria	
<i>Escherichia coli</i> K1	<i>Neisseria meningitidis</i>
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>
Viruses	
Cytomegalovirus (CMV)	Enterovirus (EV)
Human herpesvirus 6 (HHV-6)	Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
Human parechovirus (HPeV)	Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
Varicella zoster virus (VZV)	
Yeast	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	

Summary of Detected Organisms

Bacteria

***Escherichia coli* K1** strains account for nearly 80% of *E. coli* isolated from CSF.² While most *E. coli* are harmless enteric organisms residing in the intestines of humans and animals, some cause gastrointestinal illness and extra-intestinal infections (e.g. urinary tract infections, bacteremia, and meningitis). *E. coli* associated with meningitis contain virulence factors which contribute to their pathogenesis by allowing them to spread through the blood, hijack normal host cell functions, infiltrate endothelial cells, and gain access to the tissues of the CNS.³ The K1 antigen is a capsule that protects the bacteria from the immune system. These infections are of particular concern for pre-term babies and neonates, and are responsible for nearly 45% or 30% of meningitis cases in these age groups with a mortality rate of 13 or 25%, respectively.⁴ Infections in adults are less common and generally opportunistic in nature following exposure of sterile organs to contents of the gastrointestinal tract following trauma or surgical procedures; the mortality rate for adults is reported to be 28-36%.^{5,6}

Haemophilus influenzae is a gram-negative coccobacillus that is isolated exclusively from humans.⁷ Strains of *H. influenzae* are divided into two groups based on the presence or absence of a polysaccharide capsule.^{7,8} Encapsulated strains are further divided into six serotypes (a through f). Prior to widespread use of the *H. influenzae* type b (Hib) conjugate vaccines, Hib caused >80% of invasive *H. influenzae* infections, predominantly in children under the age of five,⁷ with a mortality rate of 3 to 6% and a further 20 to 30% developing permanent sequelae ranging from mild hearing loss to mental retardation.⁸ In areas with routine vaccination, the majority of invasive *H. influenzae* infections are caused by non-typeable strains and remain an important cause of meningitis particularly for persons with predisposing conditions such as otitis or sinusitis, diabetes, immune deficiency, or head trauma with CSF leakage.⁹ Meningitis due to *H. influenzae* occurs at an estimated rate of approximately 0.08 cases per 100,000 in the United States,¹ and has been reported as the etiologic agent of bacterial meningitis in 20-50% of cases worldwide over the last several decades.¹⁰

Listeria monocytogenes, the causative agent of listeriosis, is a gram-positive bacillus that is ubiquitous in soil and water and can be found in the gastrointestinal tract of up to 5% of healthy human adults.^{11,12} Listeriosis is considered one of the most severe bacterial foodborne infections due to its high mortality rate even with early antibiotic treatment (11 – 60%).^{12,13} Invasive listeriosis can result in abortion, sepsis, meningitis, and meningoencephalitis. Populations at risk for developing invasive listeriosis include the immunosuppressed, pregnant women, neonates, fetuses, and the elderly.^{2,11} Meningitis due to *L. monocytogenes* is reported to be approximately 0.05 cases per 100,000 persons in the US per year,¹ and causes from 0.5-2.0% of bacterial meningitis cases in non-U.S. countries.¹⁰

***Neisseria meningitidis* (Encapsulated)** is a fastidious, aerobic, gram-negative diplococcus that is transmitted by contact with mucus or respiratory droplets, often from asymptomatic carriers. There are at least 12 different serogroups of *N. meningitidis*, six of which are associated with epidemics (groups A, B, C, W, X, and Y).¹⁴ The serogroup refers to types of capsular antigens, generally only encapsulated *N. meningitidis* are considered pathogenic. Meningococcal disease (spinal meningitis and/or meningococemia) is rare in developed countries, but can occur in outbreaks and is still a public health issue in developing countries. It is most common in infants, children, and young adults, and appears in places with crowded living conditions (e.g., college dormitories and military barracks). Seasonal incidence peaks in late winter and early spring¹⁵ with an annual incidence of about 0.2 cases per 100,000 in the US.¹ The disease can progress extremely quickly (<24 hours) with hypotension, multi-organ dysfunction, shock, peripheral ischemia, and limb loss and has a mortality rate of approximately 5-10%.¹⁶ There are six licensed meningococcal vaccines available in US that may be used in persons of all ages, depending on the vaccine.¹⁷ Despite extensive vaccination efforts worldwide, several serogroups of *N. meningitidis* still cause seasonal outbreaks, particularly in sub-Saharan Africa.¹⁴ Extreme reductions in serogroup C meningococcal meningitis have been observed in countries where vaccines providing protection for this serogroup have been introduced.¹⁸

Streptococcus agalactiae (Group B *Streptococcus* or GBS) is an important cause of meningitis in neonates, particularly those that are pre-term, and is often coincident with neonatal sepsis.^{2,19} The most important risk factor for neonatal disease is maternal colonization with GBS.² Since 1996, CDC guidelines (updated in 2010)²⁰ have called for prophylactic antibiotic treatment several hours before delivery and have resulted in declining rates of neonatal GBS.²¹ In adult patients, GBS is associated with advanced age or severe underlying health conditions. Overall incidence in the U.S. is estimated to be 0.25 infections per 100,000¹ and neonatal GBS disease has ranged from 0.2-2.4 per 1,000 births in Europe over the last few decades²². Mortality rates range from 10% for neonates²³ to 25-30% in adults.^{24,25}

Streptococcus pneumoniae colonizes the upper respiratory tract, and is the most frequently isolated respiratory pathogen in community-acquired pneumonia. It is also a major cause of meningitis, particularly in pediatric and elderly patients, and especially in those with underlying medical conditions, with an incidence rate of approximately 0.8 infections per 100,000 in the US,¹ and causes 20-31% of bacterial meningitis cases in non-U.S. countries.¹⁰ The mortality rate is also high: 8-15% for children and 20-37% for adults.²⁶ Mortality approaches 50% in resource-poor countries, especially where HIV co-infection is a factor.²⁷ Neurological sequelae (cognitive impairment, deafness, epilepsy) are reported for up to 40% of survivors.^{28,29} There are two licensed multivalent pneumococcal vaccines in the US (PPV23 and PCV13) which are recommended for neonates, immunocompromised, and those over the age of 65³⁰ and help reduce the risk of both invasive disease and pneumococcal pneumonia by 50-80%.³¹

Viruses

Human **cytomegalovirus** (CMV) is a double stranded DNA virus of the *Herpesviridae* family. Seroprevalance data show that infection is nearly ubiquitous in the population world-wide, with rates approaching 100% in developing countries³² and 36-90% in the US depending on age and race/ethnicity.³³ Maternal transfer of CMV may result in congenital infection with serious long-term sequelae, but generally infections are largely unnoticed in healthy individuals or may present mononucleosis-like illness. While severe illness in immunocompetent patients is rare,³⁴ CMV is an opportunistic pathogen in immunocompromised or immunosuppressed individuals, either as an initial infection or activation of a latent infection. Until the 1990s, before the availability of highly-active antiretroviral therapy, it is estimated that nearly half of HIV-infected patients developed severe CMV infection, primarily CMV retinitis, colitis or pneumonia.³⁵ Left untreated, CMV disease can be fatal in these populations.

Enteroviruses (EV) are small RNA viruses that are members of the *Picornaviridae* family and are associated with human illnesses ranging from asymptomatic or mild infections to serious CNS illnesses requiring hospitalization. Infection rates are highest in children, with the majority of infections occurring during summer months.³⁶ The most common EV serotypes are coxsackieviruses A9 and B1, and echoviruses 6, 9, and 18, which account for over 50% of serotyped detections.³⁶ Infections are spread via fecal-oral and respiratory routes and can spread quickly in community settings, particularly in

areas with poor sanitation.³⁷ EV is one of the commonly identified causes of infectious encephalitis/meningitis, with prevalence rates reported between 5.5-30% depending on location and patient demographics.³⁸⁻⁴⁰

Herpes simplex viruses 1 and 2 (HSV-1 and HSV-2) are DNA viruses of the *Herpesviridae* family named for the spreading skin ulcerations caused by infection with these viruses. HSV-1 infections usually occur early in childhood and manifest primarily as oral lesions, whereas HSV-2 is primarily associated with genital lesions and infections are acquired later in life and are associated with sexual activity. HSV establishes residency in nerve cells following initial infection (which is asymptomatic in most cases). Viral activation resulting in lesions or other severe disease outcomes (such as CNS infection), may occur throughout life, and are associated with fever, injury, exposure to UV irradiation (sunlight), emotional stress, hormone irregularities, and changes in immune status.³⁷ In the U.S., overall seroprevalence for HSV-1 is around 60%.⁴¹ The overall seroprevalence for HSV-2 is around 16% but varies with age, sex, and ethnicity.⁴² Worldwide, it is estimated that ~90% of people are infected with HSV-1, and HSV-2 is less common with 15-80% of people infected.⁴³ HSV is one of the most common causes of viral encephalitis, and is a significant cause of meningitis. In a large study of over 1600 CSF specimens in the United Kingdom,⁴⁴ HSV-1 was found in 25 (1.5%) patients (almost all of whom had encephalitis) and HSV-2 was found in 33 (1.9%) patients (almost all of whom had meningitis). This overall prevalence of ~3% in CSF is similar to that seen in a recent study of CSF patients in New York State.⁴⁰ This study also saw a similar distribution of HSV-1 and HSV-2 in encephalitis versus meningitis.

Human herpesvirus 6 (HHV-6) was discovered in the mid-1980s,⁴⁵ when the rise of immunocompromised patients led to an increase in the population susceptible to severe disease outcome.³⁷ There are two species of the virus: HHV-6A and HHV-6B. Studies have shown that over 95% of persons over the age of two are positive for one or both variants⁴⁶ and the infection establishes latency due to viral integration into host cells. While primary infection with HHV-6B causes roseola rash in infants, the clinical manifestations of primary infection with HHV-6A remain somewhat undefined; however, some studies have suggested that HHV-6A infection may be linked to inflammatory or neurological disease, and that HHV-6A may have an increased neurotropism compared to HHV-6B.^{47,48} This hypothesis is supported by the finding that HHV-6 inhabits CNS tissues, including the brain,⁴⁹ where it may cause tissue damage leading to encephalitis/meningitis. Furthermore, HHV-6 was identified in CSF of 1.8% of patients with encephalitis/meningitis in a recent study.⁴⁰ CNS disease associated with HHV-6 is found in both children and adults, suggesting CNS invasion during primary infection is possible.⁴⁶ While immunocompetent patients may experience CNS infection, it is much more common in severely immunosuppressed individuals.^{37,46} However, HHV-6 is known to reactivate in asymptomatic patients and can be detected by PCR in otherwise healthy individuals without signs of active HHV-6 infection.⁵⁰ Studies of HHV-6 in normal brain tissue have also identified HHV-6 DNA via PCR in up to 85% of patients without signs of active infection⁵¹ and HHV-6 DNA may persist in the CSF after acute infection. In a study of 56 allogeneic stem cell transplant patients, HHV-6 DNA was detected in the CSF of 14 (27%) patients without CNS symptoms.⁵² Given the prevalence of latent infection and potential for asymptomatic reactivation, positive HHV-6 results should be carefully interpreted in association with clinical symptoms and supplemental laboratory testing.

Human parechoviruses (HPeV) comprise another genus of the *Picornaviridae* family. HPeV were originally classified as Enterovirus upon their discovery in the 1950s and at least a dozen serotypes have been identified. Seroprevalence for HPeV-1 approaches 100% in adult populations, with most infections occurring during early childhood.⁵³⁻⁵⁵ As with EV, infections are spread via fecal-oral and respiratory routes with the most common symptoms being mild respiratory or gastrointestinal illness.⁵³ CNS disease from HPeV-1 is rare, but HPeV-3 is associated with severe disease outcomes such as sepsis, encephalitis, meningitis, and hepatitis in children <3 months of age.⁵⁶ Recent studies of CSF from infants with suspected CNS illness or sepsis have demonstrated HPeV at a prevalence of 3-17%, nearly all of which were HPeV-3.⁵⁷⁻⁵⁹ Magnetic resonance imaging studies of infants who survive HPeV CNS disease show damage to white matter of the brain and developmental disabilities later in life.⁶⁰

Varicella zoster virus (VZV) is a double stranded DNA virus of the *Herpesviridae* family that usually causes infections in childhood (chicken pox) and establishes latent presence in cells that can re-activate later in life (adult-onset zoster or shingles). VZV is primarily spread via aerosolization of viral particles from an infected individual, and infection of new

hosts begins within the epithelial cells of the respiratory tract. Following primary infection (fever and malaise accompanied with a maculopapular rash), VZV establishes itself in the sensory ganglia of the nervous system where it remains latent.³⁷ In the US, nearly 90% of the population had been infected with VZV before the advent of vaccines.³⁷ Similar rates have been reported in European countries.^{61,62} Of those infected, between 10-30% develop zoster (a painful rash along the dorsal ganglia), primarily later in life.^{63,64} It is estimated that the median global incidence of zoster is 4.0-4.5 per 1,000 person-years,⁶⁵ which highlights the frequency of VZV re-activation worldwide. Studies have shown that VZV is transiently detectable by PCR in the blood of older, asymptomatic individuals (both immunocompetent and immunocompromised), suggesting reactivation occurs throughout life but is usually managed by the immune system.^{66,67} Encephalitis and meningitis are complications of both varicella and zoster infections. In one study, VZV was the third most detected virus among patients with signs and symptoms of encephalitis/meningitis, with a reported prevalence of 1.9% in the study population.⁴⁰ For immunocompromised patients, VZV neuronal illness can become chronic and lead to progressive deterioration and death.⁶³ There are two live, attenuated VZV vaccines licensed for use in the US; one is for the vaccination of children against varicella and the other for zoster in older adults.⁶⁸

Yeast

Cryptococcus neoformans and *Cryptococcus gattii* are pathogenic fungi found in soil and bird droppings that can become pathogenic following inhalation and spread to other organ systems (particularly the brain and meninges). *C. neoformans* is considered an opportunistic pathogen of immunocompromised individuals. It is the AIDS-defining illness in up to 50% of AIDS patients.^{2,69} *C. gattii* infections are relatively rare but appear to be increasing. While typically associated with tropical and subtropical climates, since the 1990s *C. gattii* infections have been reported in British Columbia, Canada, the U.S. Pacific Northwest region, the Northeastern US, and in Europe.⁷⁰⁻⁷³ In addition to those with reduced immune function, *C. gattii* can also cause disease in the immunocompetent, particularly in persons with underlying health conditions.² Mortality from cryptococcal meningitis is high, ranging from 10% to nearly 50% in immunocompromised patients.^{69,72}

Principle of the Procedure

The FilmArray ME pouch is a closed system disposable that houses all the chemistry required to isolate, amplify and detect nucleic acid from multiple meningitis and encephalitis pathogens within a single CSF specimen obtained from a lumbar puncture. The rigid plastic component (fitment) of the FilmArray ME pouch contains reagents in freeze-dried form. The flexible plastic portion of the pouch is divided into discrete segments (blisters) where the required chemical processes are carried out. The user of the FilmArray ME Panel loads the sample into the FilmArray ME pouch, places the pouch into the FilmArray instrument/Module, and starts the run. All other operations are automated.

The following is an overview of the testing procedure:

1. Remove the FilmArray pouch from its vacuum-sealed package. Since solutions are drawn into the FilmArray ME pouch by vacuum, it is important to keep pouches in their protective packaging until the time of use.
2. Place the FilmArray ME pouch into the FilmArray Pouch Loading Station. The FilmArray Pouch Loading Station has been designed to prevent error by providing instructions and visual cues in the form of color-coded arrows to ensure that the pouch is properly loaded.
3. Load Hydration Solution into the FilmArray ME pouch using the Hydration Injection Vial. The vial is fitted with a blunt stainless steel cannula, which is used to deliver the solution into the pouch. Loading the pouch with Hydration Solution rehydrates the freeze-dried reagents contained in the pouch fitment.
4. Squeeze Sample Buffer ampoule to deliver contents into Sample Injection Vial and add CSF specimen using Transfer Pipette. Tightly close the lid of the Sample Injection Vial and invert to mix. The Sample Buffer contains reagents that promote binding of nucleic acids to magnetic beads for isolation.

5. Load the sample/buffer mixture into the FilmArray ME pouch using the Sample Injection Vial. When the sample mixture is loaded, a process control contained in the fitment of the pouch is introduced into the sample. The process control monitors all of the critical processes that occur in the pouch.
6. Transfer the pouch to the instrument/Module and initiate a run. The FilmArray software provides on-screen animations illustrating the steps needed to start the run.
7. View results on the test report at the completion of the run.

The following is an overview of the operations and processes that occur during a FilmArray run:

1. **Nucleic Acid Purification** - Nucleic acid purification occurs in the first three blisters of the pouch. The sample is lysed by agitation (bead beating) and the liberated nucleic acid is captured, washed and eluted using magnetic bead technology. These steps require about ten minutes and the bead-beater apparatus can be heard as a high-pitched whine during the first minute of operation.
2. **Reverse Transcription and 1st Stage Multiplex PCR** - Some pathogens identified by the FilmArray ME pouch are RNA viruses, and a reverse transcription (RT) step is performed to convert the viral RNA into cDNA prior to amplification. The purified nucleic acid solution is combined with a preheated master mix to initiate the RT step and subsequent thermocycling for multiplex PCR. The effect of 1st stage PCR is to enrich for the target nucleic acids present in the sample.
3. **2nd Stage PCR** - The products of 1st stage PCR are diluted and mixed with fresh PCR reagents containing an intercalating fluorescent DNA dye (LCGreen[®] Plus, BioFire Defense, LLC). This solution is distributed over the 2nd stage PCR array. The individual wells of the array contain primers for different assays (each present in triplicate) that target specific nucleic acid sequences from each of the pathogens detected, as well as control template material. These primers are 'nested' or internal to the specific products of the 1st stage multiplex reaction, which enhances both the sensitivity and specificity of the reactions.
4. **DNA Melting Analysis** – After 2nd stage PCR, the temperature is slowly increased and fluorescence in each well of the array is monitored and analyzed to generate a melt curve. The temperature at which a specific PCR product melts (melting temperature or T_m) is consistent and predictable and the FilmArray software automatically evaluates the data from replicate wells for each assay to report results. For a description of data interpretation and reporting see the Interpretation of Results section of this booklet.

The FilmArray software controls the operation of the instrument/Module, collects and analyzes data, and automatically generates a test report at the end of the run. The entire process takes about an hour. Additional detail can be found in the appropriate FilmArray Operator's Manual.

MATERIALS PROVIDED

Each kit contains sufficient reagents to test 30 or 6 samples:

- Individually packaged FilmArray ME Panel pouches
- Single-use (1.0 mL) Sample Buffer ampoules
- Single-use pre-filled (1.5 mL) Hydration Injection Vials (blue)
- Single-use Sample Injection Vials (red)
- Individually packaged Transfer Pipettes

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

FilmArray system including:

- FilmArray, FilmArray 2.0, or FilmArray Torch and software
- FilmArray Pouch Loading Station

WARNINGS AND PRECAUTIONS

General Precautions

1. For *in vitro* diagnostic use only.
2. This device is restricted to sale by or on the order of a physician, or to a clinical laboratory; its use is restricted to, by, or on the order of a physician.
3. A trained healthcare professional should carefully interpret the results from the FilmArray ME Panel in conjunction with a patient's signs and symptoms and results from other diagnostic tests.
4. FilmArray ME pouches are only for use with FilmArray systems.
5. Always check the expiration date on the pouch and do not use a pouch after its expiration date.
6. FilmArray pouches are stored under vacuum in individually-wrapped canisters. To preserve the integrity of the pouch vacuum for proper operation, be sure that a FilmArray instrument/Module will be available and operational before unwrapping any pouches for loading.

Safety Precautions

1. Wear appropriate Personal Protective Equipment (PPE), including (but not limited to) disposable powder-free gloves and lab coats. Protect skin, eyes and mucus membranes. Change gloves often when handling reagents or samples.
2. Handle all samples and waste materials as if they were capable of transmitting infectious agents. Observe safety guidelines such as those outlined in CDC/NIH *Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories*,⁷⁴ the CLSI Document M29 *Protection of Laboratory Workers from Occupationally Acquired Infections*,⁷⁵ or other appropriate guidelines.
3. Follow your institution's safety procedures for handling biological samples.
4. Dispose of materials used in this assay, including reagents, samples, and used buffer vials, according to federal, state, and local regulations.
5. Sample Buffer is assigned the following classifications: Acute toxicity (Category 4), Serious Eye damage (Category 1), and Skin irritation (Category 2). Please refer to the FilmArray Reagent Kit Safety Data Sheet (SDS) for more information.
6. Sample Buffer will form hazardous compounds and fumes when mixed with bleach or other disinfectants.

WARNING: Bleach should never be added to Sample Buffer or sample waste.

Laboratory Precautions

1. Preventing organism contamination

Due to the sensitive nature of the FilmArray ME Panel, it is important to guard against contamination of the specimen and work area by carefully following the testing process outlined in this booklet, including these guidelines:

- Samples should be processed in a biosafety cabinet. If a biosafety cabinet is not used, a dead air box (e.g., AirClean PCR workstation), a splash shield (e.g., Bel-Art Scienceware Splash Shields), or a face shield should be used when preparing samples.
- A biosafety cabinet that is used for performing CSF pathogen testing (e.g. culture) should not be used for sample preparation or pouch loading.
- Prior to processing samples, thoroughly clean both the work area and the FilmArray Pouch Loading Station using a suitable cleaner such as freshly prepared 10% bleach or a similar disinfectant. To avoid residue build-up and potential damage to the specimen or interference from disinfectants, wipe disinfected surfaces with water.
- Samples and pouches should be handled one at a time.
- Use clean gloves to remove materials from bulk packaging bags, and reseal bulk packaging bags when not in use.
- Change gloves and clean the work area between each sample.

2. Preventing amplicon contamination

A common concern with PCR-based assays is false positive results caused by contamination of the work area with PCR amplicon. Because the FilmArray ME pouch is a closed system, the risk of amplicon contamination is low provided that pouches remain intact after the test is completed. Adhere to the following guidelines to prevent amplicon contamination:

- Discard used pouches in an appropriate biohazard container immediately after the run has completed.
- Avoid excessive handling of pouches after test runs.
- Avoid exposing pouches to sharp edges or anything that might cause a puncture.
- Use clean gloves to remove materials from bulk packaging bags, and reseal bulk packaging bags when not in use.

**WARNING: If liquid is observed on the exterior of a pouch, the liquid and pouch should be immediately contained and discarded in a biohazard container. The instrument/Module and work space must be decontaminated as described in the appropriate FilmArray Operator's Manual.
DO NOT PERFORM ADDITIONAL TESTING UNTIL THE AREA HAS BEEN DECONTAMINATED.**

Precaution Related to Public Health Reporting in the United States

Local, state, and federal regulations for notification of reportable disease are continually updated and include a number of organisms for surveillance and outbreak investigations.^{76,77} Additionally, the Centers for Disease Control (CDC) recommends that when pathogens from reportable diseases are detected by a culture independent diagnostic test (CIDT), the laboratory should facilitate obtaining the isolate or clinical materials for submission to the appropriate

public health laboratory to aid in outbreak detection and epidemiological investigations. Laboratories are responsible for following their state and/or local regulations and should consult their local and/or state public health laboratories for isolate and/or clinical sample submission guidelines.

REAGENT STORAGE, HANDLING AND STABILITY

1. Store the test kit, including reagent pouches and buffers, at room temperature (15–25 °C). **DO NOT REFRIGERATE.**
2. Avoid storage of any materials near heating or cooling vents or in direct sunlight.
3. All kit components should be stored and used together. Do not use components from one kit with those of another kit. Discard any extra components from the kit after all pouches have been used.
4. Always check the expiration date and do not use reagents beyond the expiration date printed on the pouch or kit.
5. Do not remove pouches from their packaging until a sample is ready to be tested. Once the pouch packaging has been opened, the pouch should be loaded as soon as possible (within approximately 30 minutes).
6. Once a pouch has been loaded, the test run should be started as soon as possible (within 60 minutes).

SAMPLE REQUIREMENTS

This section describes the requirements for specimen collection, preparation, and handling that will help ensure accurate test results.

CSF Specimen Collection – CSF specimens should be collected via lumbar puncture, and should not be centrifuged.

Minimum Sample Volume – 0.2 mL (200 µL) of CSF specimen is required for testing.

Transport and Storage - Specimens should be processed and tested with the FilmArray ME Panel as soon as possible, though they may be stored for up to one day at room temperature (approximately 23°C), or under refrigeration (approximately 4°C) for up to seven days.

PROCEDURE

Refer to the FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Quick Guide, the FilmArray Training Video, or the appropriate FilmArray Operator's Manual for more detail and pictorial representations of these instructions.

Gloves and other Personal Protective Equipment (PPE) should be used when handling pouches and samples. Only one FilmArray ME pouch should be prepared at a time. Once sample is added to the pouch, it should be promptly transferred to the instrument/Module to start the run. After the run is complete, the pouch should be discarded in a biohazard container.

Prepare Pouch

1. Thoroughly clean the work area and the FilmArray Pouch Loading Station with freshly prepared 10% bleach (or suitable disinfectant) followed by a water rinse.

2. Remove the pouch from its vacuum-sealed package by tearing or cutting the notched outer packaging and opening the protective aluminum canister.

NOTE: If the vacuum seal of the pouch is not intact, the pouch may still be used. Attempt to hydrate the pouch using the steps in the Hydrate Pouch section. If hydration is successful, continue with the run. If hydration fails, discard the pouch and use a new pouch to test the sample.

3. Slide the pouch into the FilmArray Pouch Loading Station so that the red and blue labels on the pouch align with the red and blue arrows on the FilmArray Pouch Loading Station.
4. Place a blue-capped Hydration Injection Vial in the blue well of the FilmArray Pouch Loading Station.
5. Place a red-capped Sample Injection Vial in the red well of the FilmArray Pouch Loading Station.

Hydrate Pouch

1. Twist and lift the Hydration Injection Vial, leaving blue cap in the well of the FilmArray Pouch Loading Station.
2. Insert the cannula tip into the port in the pouch located directly below the blue arrow of the FilmArray Pouch Loading Station. Push down forcefully in a firm and quick motion until you hear a faint "pop" and feel an ease in resistance. The correct volume of liquid will be pulled into the pouch by vacuum.
3. Verify that the pouch has been hydrated. Flip the barcode label down and check to see that fluid has entered the reagent wells (located at the base of the rigid plastic part of the pouch). Small air bubbles may be seen. If the pouch fails to hydrate (dry reagents appear as white pellets), repeat Step 2 to verify that the seal of the port was broken or retrieve a new pouch and repeat from Step 2 of the Prepare Pouch section.

Prepare Sample Mix

1. Hold the Sample Buffer ampoule so that the tip is facing up.

NOTE: Use care to avoid touching the tip during handling, as this may introduce contamination.

2. Gently pinch the textured plastic tab on the side of the ampoule until the seal snaps.
3. Invert the ampoule over the red-capped Sample Injection Vial and re-position thumb and forefinger to grip the bottom of the ampoule. Dispense Sample Buffer using a slow, forceful squeeze, followed by a second squeeze. Squeezing the ampoule additional times will generate excessive bubbles, which should be avoided.
4. Thoroughly mix the patient sample.
5. Using the Transfer Pipette provided in the test kit, draw cerebrospinal fluid (CSF) sample to the second line (approximately 0.2 mL) of the Transfer Pipette. Add the sample to the Sample Buffer in the Sample Injection Vial. Discard the Transfer Pipette in a biohazard waste container and tightly close the lid of the Sample Injection Vial.

NOTE: DO NOT use the Transfer Pipette to mix the sample once it is loaded into the Sample Injection Vial.

6. Remove the Sample Injection Vial from the FilmArray Pouch Loading station and gently invert the vial at least 3 times to mix.
7. Return the Sample Injection Vial to the FilmArray Pouch Loading Station.

Load Sample Mix

1. Slowly twist the Sample Injection Vial so it loosens from its red cap and pause for 3-5 seconds. Lift the Sample Injection Vial, leaving the red cap in the well of the FilmArray Pouch Loading Station.
2. Insert the cannula tip into the port in the pouch fitment located directly below the red arrow of the FilmArray Pouch Loading Station. Push down forcefully in a firm and quick motion until you hear a faint "pop" and feel an ease in resistance. The correct volume of liquid will be pulled into the pouch by vacuum.
3. Verify that the sample has been loaded. Flip the barcode label down and check to see that fluid has entered the reagent well next to the sample loading port. If the pouch fails to pull sample from the Sample Injection Vial, the pouch should be discarded. Retrieve a new pouch and repeat from the Prepare Pouch section.
4. Discard the Sample Injection Vial and the Hydration Injection Vial in an appropriate biohazard sharps container.
5. Record the Sample ID in the provided area on the pouch label (or affix a barcoded Sample ID) and remove the pouch from the FilmArray Pouch Loading Station.

Run Pouch

The FilmArray Software includes step-by-step on-screen instructions that guide the operator through performing a run. Brief instructions for FilmArray, FilmArray 2.0, and FilmArray Torch systems are given below. Refer to the appropriate FilmArray Operator's Manual for more detailed instructions.

FilmArray and FilmArray 2.0

1. Ensure that the FilmArray system is powered on and the software is launched.
2. Follow on-screen instructions and procedures described in the Operator's Manual to place the pouch in an instrument, enter pouch, sample and operator information, and start the run.

Pouch identification (Lot Number and Serial Number), Pouch Type and Protocol are preprogrammed in the rectangular barcode located on the FilmArray pouch. The information will be automatically entered when the barcode is scanned. If it is not possible to scan the barcode, the pouch Lot Number, Serial Number, Pouch Type and Protocol can be manually entered from the information provided on the pouch label into the appropriate fields. To reduce data entry errors, it is strongly recommended that the pouch information be entered by scanning the barcode.
3. Enter the Sample ID. The Sample ID can be entered manually or scanned in by using the barcode scanner when a barcoded Sample ID is used.
4. If necessary, select and/or confirm the appropriate protocol for your sample type from the Protocol drop down list.
5. Enter a user name and password in the Name and Password fields.

NOTE: The bead-beater apparatus can be heard as a high-pitched noise (whine) during the first minute of operation.

6. Start run.
7. When the run is finished, follow the on-screen instructions to remove the pouch and immediately discard the pouch in a biohazard container.
8. The run file is automatically saved in the FilmArray database and the results report can be viewed, printed, and/or saved as a PDF file.

FilmArray Torch

1. Ensure that the FilmArray Torch system is on.
2. Select an available Module on the touch screen.
3. Scan the barcode on the FilmArray pouch using the barcode scanner.

Pouch identification (Lot Number and Serial Number), Pouch Type and Protocol are preprogrammed in the rectangular barcode located on the FilmArray pouch. The information will be automatically entered when the barcode is scanned. If it is not possible to scan the barcode, the pouch Lot Number, Serial Number, Pouch Type and Protocol can be manually entered from the information provided on the pouch label into the appropriate fields. To reduce data entry errors, it is strongly recommended that the pouch information be entered by scanning the barcode.

4. Enter the Sample ID. The Sample ID can be entered manually or scanned in by using the barcode scanner when a barcoded Sample ID is used.
5. Insert the pouch into the Module.
Ensure that the pouch fitment label is lying flat on top of pouch and not folded over. As the pouch is inserted, the Module will grab onto the pouch and pull it into the chamber.
6. If necessary, select and/or confirm a protocol from the protocol drop down list.
7. Enter operator user name and password, then select Next.

NOTE: The font color of the username is red until the user name is recognized by the software.

8. Review the entered run information on the screen. If correct, select Start Run.

Once the run has started, the screen displays a list of the steps being performed by the Module and the number of minutes remaining in the run.

NOTE: The bead-beater apparatus can be heard as a high-pitched noise (whine) during the first minute of operation.

9. At the end of the run, the status of the Module changes to Finished and the pouch is partially ejected.
10. Select the Finished Module on the Dashboard to view the report.
Select Print to print the report, or Save to save the report as a file
11. Removed the pouch from the Module and immediately discard the pouch in a biohazard container.

NOTE: Once the pouch has been removed, the report can only be viewed through the Browse Runs feature.

QUALITY CONTROL

Process Controls

Two process controls are included in each pouch:

1. RNA Process Control

The RNA Process Control assay targets an RNA transcript from the yeast *Schizosaccharomyces pombe*. The yeast is present in the pouch in a freeze-dried form and becomes rehydrated when sample is loaded. The control material is carried through all stages of the test process, including lysis, nucleic acid purification, reverse transcription, 1st stage PCR, dilution, 2nd stage PCR and DNA melting. A positive control result indicates that all steps carried out in the FilmArray ME pouch were successful.

2. PCR2 Control

The PCR2 Control assay detects a DNA target that is dried into wells of the array along with the corresponding primers. A positive result indicates that 2nd stage PCR was successful.

Both control assays must be positive for the test run to pass. When either control fails, the Controls field of the test report (upper right hand corner) will display Failed and all results will be listed as Invalid. If the controls fail, the sample should be retested using a new pouch.

Monitoring Test System Performance

The FilmArray software will automatically fail the run if the melting temperature (T_m) for either the RNA Process Control or the PCR2 Control is outside an acceptable range (80.2-84.2 for the RNA Process Control and 74.1-78.1 for the PCR2 Control). If required by local, state, or accrediting organization quality control requirements, users can monitor the system by trending T_m values for the control assays and maintaining records according to standard laboratory quality control practices.^{78,79} Refer to the appropriate FilmArray Operator's Manual for instructions on obtaining control assay T_m values. The PCR2 Control is used in all FilmArray pouch types (e.g., RP, GI, ME, and BCID) and can therefore be used to monitor the system when multiple pouch types are used on the same FilmArray system or instrument/Module.

Good laboratory practice recommends running external positive and negative controls regularly. Molecular grade water, or artificial CSF, can be used as an external negative control. Previously characterized positive CSF samples or negative samples spiked with well characterized organisms can be used as external positive controls. External controls should be used in accordance with the appropriate accrediting organization requirements, as applicable.

INTERPRETATION OF RESULTS

The FilmArray software automatically analyzes and interprets assay results and displays the final results in a test report (see the FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Quick Guide to view an example of a test report). The analyses performed by the FilmArray software and details of the test report are described below.

Assay Interpretation

When 2nd stage PCR is complete, the FilmArray instrument/Module performs a high resolution DNA melting analysis on the PCR products and measures the fluorescence signal generated in each well (for more information see appropriate FilmArray Operator's Manual). The FilmArray software then performs several analyses and assigns a final assay result. The steps in the analyses are described below.

Analysis of melt curves. The FilmArray software evaluates the DNA melt curve for each well of the 2nd stage PCR array to determine if a PCR product was present in that well. If the melt profile indicates the presence of a PCR product, then

the analysis software calculates the melting temperature (T_m) of the curve. The T_m value is then compared against the expected T_m range for the assay. If the software determines that the melt curve is positive and the T_m falls inside the assay-specific T_m range, the melt curve is called positive. If the software determines that the melt curve is negative or is not in the appropriate T_m range, the melt curve is called negative.

Analysis of replicates. Once melt curves have been identified, the software evaluates the three replicates for each assay to determine the assay result. For an assay to be called positive, at least two of the three associated melt curves must be called positive, and the T_m for at least two of the three positive melt curves must be similar (within 1°C). Assays that do not meet these criteria are called negative.

Organism Interpretation

The reported FilmArray ME Panel organism results (Detected or Not Detected) are based on analysis and interpretation of a single assay (most organisms) or a combination of two assays (*Haemophilus influenzae*, Herpes simplex virus 2 and Varicella zoster virus). For results that rely on two assays, a Detected result is reported when either one or both assays are positive and a Not Detected result is reported only when both assays are negative.

NOTE: Non-K1 *E. coli* serotypes may be present in a specimen and will not be detected by the FilmArray ME Panel.

NOTE: Non-encapsulated strains of *Neisseria meningitidis* are not detected by the FilmArray ME Panel.

NOTE: The FilmArray ME Panel does not distinguish between latent and active CMV and HHV-6 infections. Detection of these viruses may indicate primary infection, secondary reactivation, or the presence of latent virus. Results should always be interpreted in conjunction with other clinical, laboratory, and epidemiological information.

FilmArray ME Panel Test Report

The FilmArray ME Panel test report is automatically displayed upon completion of a run and contains three sections, the Run Summary, the Result Summary, and the Run Details (see the FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel Quick Guide to view an example of a test report). The test report can be saved as a PDF or printed.

The **Run Summary** section of the test report provides the Sample ID, time and date of the run, control results and an overall summary of the test results. Any organism with a Detected result will be listed in the corresponding field of the summary. If all of the organism assays were negative then None will be displayed in the Detected field. Controls are listed as Passed, Failed or Invalid. See the Controls Field section below for detailed information about the interpretation of controls and appropriate follow-up in the case of control failures.

The **Result Summary** section of the test report lists the result for each target tested by the panel. Possible results for each organism are Detected, Not Detected, or Invalid. See Results Summary section below for detailed information about interpretation of test results and appropriate follow-up for Invalid results.

The **Run Details** section provides additional information about the run including: pouch information (type, lot number, and serial number), Run Status (Completed, Incomplete, Aborted, Instrument Error, Instrument Communication Error, or Software Error), the protocol that was used to perform the test, the identity of the operator that performed the test, and the instrument/Module used to perform the test.

Once a run has completed, it is possible to edit the Sample ID. If this information has been changed, an additional section called **Change History** will be added to the test report. This Change History section lists the field that was changed, the original entry, the revised entry, the operator that made the change, and the date that the change was made. Sample ID is the only field of the report that can be changed.

Controls Field

The Controls field on the test report will display Passed, Failed, or Invalid. The Controls field will display Passed only if the run completed successfully (no instrument/Module or software errors) and both of the pouch control assays (RNA Process Control and PCR2 Control) were successful. The Controls field will display Failed if the run was completed successfully (no instrument/Module or software errors) but one or both of the pouch control assays failed. If the control result is Failed, then the result for all of the tests on the panel are displayed as Invalid and the sample will need to be retested with a new pouch.

Table 2 provides a summary and explanation of the possible control results and follow-up actions.

Table 2. Interpretation of Controls Field on the FilmArray ME Panel Test Report

Control Result	Explanation	Action Required	Outcome
Passed	The run was successfully completed AND Both pouch controls were successful.	None	Report the results provided on the test report.
Failed	The run was successfully completed BUT At least one of the pouch controls (RNA Process Control and/or PCR2 Control) failed.	Repeat the test using a new pouch.	Accept the results of the repeat testing. If the error persists, contact Technical Support for further instruction.
Invalid	The controls are invalid because the run did not complete. (Typically this indicates a software or hardware error).	Note any error codes displayed during the run and the Run Status field in the Run Details section of the report. Refer to the appropriate FilmArray Operator's Manual or contact Technical Support for further instruction. Once the error is resolved, repeat the test or repeat the test using another instrument/Module.	Accept the valid results of the repeat testing. If the error persists, contact Technical Support for further instruction.

Result Summary

The Result Summary section provides a complete list of the test results. Possible results for each organism include Detected, Not Detected, and Invalid. Table 3 provides an explanation for each interpretation and any follow-up necessary to obtain a final result.

Table 3. Reporting of Results and Required Actions

Result	Explanation	Action
Detected	The run was successfully completed AND The pouch controls were successful (Passed) AND The assay(s) associated with the interpretation were positive based on the following requirements for at least 2 of the 3 assay replicates: -a positive melt curve, and -the Tm for the melt data were within the assay specific limits, and -the Tm for the melt data were within 1°C of each other.	Report results. NOTE: If Detected results are reported for 2 or more organisms in a specimen, a retest of the specimen is recommended to confirm the polymicrobial result.
Not Detected	The run was successfully completed AND The pouch controls were successful (Passed) AND The assay(s) associated with the interpretation were negative (did not meet the requirements for a positive assay described in Detected).	Report results.
Invalid	The run did not complete successfully (Aborted, Incomplete, Instrument Communication Error, Instrument Error, or Software Error) OR The pouch controls were not successful (Failed)	See Table 2, <i>Interpretation of Controls Field on FilmArray Report</i> , for instruction.

LIMITATIONS

- For prescription use only.
- False negative results may occur when the concentration of organism(s) in the specimen is below the device limit of detection. In the prospective clinical study, two specimens were positive by standard of care culture and negative with the FilmArray ME Panel.
- Due to the small number of positive prospective and retrospective specimens for certain organisms, performance characteristics for *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, Cytomegalovirus, and Human parechovirus were established primarily using contrived clinical specimens.
- Due to the small number of positive specimens collected for certain organisms during the prospective clinical study, performance characteristics for HSV-1, HSV-2, Human parechovirus, Varicella, HHV-6 and *C. neoformans/gattii* were also established with retrospective clinical specimens.
- The FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel performance has only been established on the FilmArray, FilmArray 2.0, and FilmArray Torch systems.
- This test is a qualitative test and does not provide a quantitative value for the organism(s) in the specimen.
- Results from this test must be correlated with the clinical history, epidemiological data, and other data available to the clinician evaluating the patient.
- The performance of this test has not been established for CSF specimens from patients without signs and/or symptoms of meningitis and/or encephalitis.
- The performance of this test has not been specifically evaluated for CSF specimens from immunocompromised individuals.
- The effect of antibiotic treatment on test performance has not been evaluated.
- The performance of this test has not been established for monitoring treatment of infection with any of the panel organisms.
- This test is not intended for use with CSF collected from indwelling medical devices (e.g., CSF shunts).
- CSF specimens should not be centrifuged before testing.
- The effect of interfering substances has only been evaluated for those listed in the labeling. Interference by substances other than those described in the Interference section below could lead to erroneous results.
- A negative FilmArray ME Panel result does not exclude the possibility of CNS infection and should not be used as the sole basis for diagnosis, treatment, or other management decisions. There is a risk of false negative values due to the presence of sequence variants or rearrangements in the gene targets of the assay, procedural errors, inhibitors in specimens, technical error, sample mix-up, or infection caused by an organism not detected by the FilmArray ME Panel. Test results may also be affected by concurrent antimicrobial therapy or levels of organism in the sample that are below the limit of detection.
- The detection of organism nucleic acid is dependent upon proper sample collection, handling, transportation, storage, and preparation. Failure to observe proper procedures in any one of these steps can lead to incorrect results. There is a risk of false positive and false negative results caused by improperly collected, transported, or

handled specimens. The RNA process control and the PCR 2 control will not indicate whether or not nucleic acid has been lost due to inadequate collection, transport or storage of specimens.

- Positive and negative predictive values are highly dependent on prevalence. False positive results are more likely for low prevalence analytes.
- Viral, bacterial, and yeast nucleic acid may persist *in vivo* independently of organism viability. Detection of organism targets does not imply that the corresponding organisms are infectious or the causative agents for clinical symptoms.
- HHV-6 or CMV can exist in latent form that is reactivated during infection due to other pathogens, including agents not detected by the FilmArray ME panel that may cause meningitis/encephalitis (e.g., *Mycobacterium tuberculosis* or HIV). When detected by the FilmArray ME, HHV-6 or CMV should be considered as the likely cause of meningitis/encephalitis only in appropriate clinical settings and following expert consultation.
- Viral shedding into the CSF often occurs in cases of zoster (shingles; caused by reactivation of VZV). VZV may not be the cause of CNS disease in these cases.
- Organism and amplicon contamination may produce erroneous results for this test. Particular attention should be given to the Laboratory Precautions noted under the Warnings and Precautions section.
- Some organisms detected by the FilmArray ME Panel, such as *S. pneumoniae* and *H. influenzae* can be shed from the respiratory tract of healthy individuals. HSV-1 may also be shed from individuals with active or recurrent cold sores. Particular attention should be given to the Laboratory Precautions noted under the Warnings and Precautions section. Caution should also be exercised during specimen collection and testing to prevent contamination leading to false positive results.
- If two or more organisms are detected in a specimen, retesting is recommended to confirm the polymicrobial result.
- Cross-reactivity with organisms in addition to those listed in the Analytical Specificity section may lead to erroneous results. Cross-reactivity with human rhinoviruses may occur, but rhinoviruses are rarely present in human cerebrospinal fluid and are not a recognized cause of meningitis. Caution should be exercised during specimen collection and testing to prevent contamination with rhinovirus associated with respiratory infections.
- Only *E. coli* strains possessing the K1 capsular antigen will be detected. All other *E. coli* strains/serotypes will not be detected.
- Only encapsulated strains of *N. meningitidis* will be detected. Unencapsulated *N. meningitidis* will not be detected.

EXPECTED VALUES

In the prospective clinical evaluation of the FilmArray ME Panel, 1560 eligible specimens (CSF collected via lumbar puncture) were collected and tested at 11 study sites across the United States over approximately eight months (February – September 2014). The number and percentage of positive results as determined by the FilmArray ME Panel, stratified by age group, are presented in the following table. Overall, the FilmArray ME Panel detected at least one organism in a total of 136 prospective specimens (8.7% positivity rate), with a total of 141 analyte detections (co-detections were observed in five specimens; see Table 6).

Table 4. Expected Values (as determined by the FilmArray ME Panel) Summary by Age Group for the Prospective Clinical Evaluation (February through September 2014)

FilmArray ME Panel Result	Overall (n=1560)	< 2 mo. (n=299)	2-23 mo. (n=143)	2-17 years (n=197)	18-34 years (n=224)	35-64 years (n=522)	65+ years (n=175)
Bacteria							
<i>E. coli</i> K1	3 (0.2%)	0 (0%)	1 (0.7%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.4%)	0 (0%)
<i>H. influenzae</i>	2 (0.1%)	0 (0%)	1 (0.7%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.2%)	0 (0%)
<i>L. monocytogenes</i>	0 (0.0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>N. meningitidis</i>	0 (0.0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
<i>S. agalactiae</i>	1 (0.1%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.6%)
<i>S. pneumoniae</i>	16 (1.0%)	2 (0.7%)	2 (1.4%)	2 (1%)	3 (1.3%)	4 (0.8%)	3 (1.7%)
Viruses							
CMV	6 (0.4%)	4 (1.3%)	0 (0%)	1 (0.5%)	1 (0.4%)	0 (0%)	0 (0%)
EV	51 (3.3%)	31 (10.4%)	5 (3.5%)	11 (5.6%)	4 (1.8%)	0 (0%)	0 (0%)
HSV-1	4 (0.3%)	0 (0%)	2 (1.4%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (0.4%)	0 (0%)
HSV-2	12 (0.8%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.4%)	8 (1.5%)	3 (1.7%)
HHV-6	22 (1.4%)	9 (3%)	7 (4.9%)	2 (1%)	3 (1.3%)	1 (0.2%)	0 (0%)
HPeV	12 (0.8%)	12 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
VZV	7 (0.4%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	3 (1.3%)	3 (0.6%)	1 (0.6%)
Yeast							
<i>C. neoformans/gattii</i>	5 (0.3%)	1 (0.3%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (0.4%)	2 (0.4%)	1 (0.6%)

Table 5. FilmArray ME Panel Positivity Rate In the Prospective Clinical Evaluation; Overall and By Age Group

Overall (n=1560)	
Negatives	1424 (91.3%)
Positives	136 (8.7%)
Single Detections	131 (8.4%)
Co-Detections	5 (0.3%)
Positivity by Age Group	
< 2 mo. (n=299)	58 (19.4%)
2-23 mo. (n=143)	17 (11.9%)
2-17 years (n=197)	15 (7.6%)
18-34 years (n=224)	15 (6.7%)
35-64 years (n=522)	23 (4.4%)
65+ years (n=175)	8 (4.6%)

In the prospective clinical evaluation, the FilmArray ME Panel reported a total of 5 specimens with multiple analytes detected (i.e., mixed infections). This represents 3.7% (5/136) of positive specimens and 0.3% of all specimens tested (5/1560). The expected values for each FilmArray ME Panel result in co-detections are presented in the following table.

Table 6. Expected Values for Analytes in Co-detections (as determined by the FilmArray ME Panel) in the Prospective Clinical Evaluation (February through September 2014)

Analyte	Prevalence in Co-Detections (n=5)	
Bacteria		
<i>E. coli</i> K1	0	0%
<i>H. influenzae</i>	0	0%
<i>L. monocytogenes</i>	0	0%
<i>N. meningitidis</i>	0	0%
<i>S. agalactiae</i>	1	20%
<i>S. pneumoniae</i>	2	40%
Viruses		
CMV	1	20%
EV	1	20%
HSV-1	1	20%
HSV-2	1	20%
HHV-6	1	20%
HPeV	1	20%
VZV	1	20%
Yeast		
<i>C. neoformans/gattii</i>	0	0%

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Clinical and non-clinical studies have established that the performance characteristics of FilmArray ME Panel, including LoD (see Limit of Detection section below), positive percent agreement and negative percent agreement, and reproducibility, are equivalent on FilmArray and FilmArray 2.0 systems. Non-clinical studies also demonstrate similar performance characteristics on FilmArray Torch systems.

NOTE: FilmArray Torch Modules are FilmArray 2.0 instruments that have been re-configured into a stacked system for higher-throughput in a smaller workspace.

Clinical Performance

The clinical performance of the FilmArray ME Panel was established during a multi-center study conducted at 11 geographically distinct U.S. study sites between February and September, 2014. Specimens enrolled between February and June were collected and immediately frozen for later testing at the source laboratory. A total of 1643 prospective CSF specimens were acquired for the clinical study; 83 of these were excluded. The most common reason for specimen exclusion was that the specimen was found to not meet the inclusion criteria after the specimen had been enrolled. The final data set consisted of 1560 specimens, of which 545 (35%) had been previously frozen before testing. Table 7 provides a summary of demographic information for the 1560 specimens included in the prospective study.

Table 7. Demographic Summary for Prospective FilmArray ME Panel Clinical Evaluation

Prospective Study Specimens (%)	
Fresh	1015 (65%)
Frozen	545 (35%)
Total Specimens	1560
Sex	Number of Specimens (%)
Male	797 (51%)
Female	763 (49%)
Age Group	Number of Specimens (%)
< 2 mo.	299 (19%)
2-23 mo.	143 (9%)
2-17 years	197 (13%)
18-34 years	224 (14%)
35-64 years	522 (33%)
65+ years	175 (11%)
Status	Number of Specimens (%)
Outpatient	112 (7%)
Hospitalized	920 (59%)
Emergency	528 (34%)

The performance of the FilmArray ME Panel was evaluated by comparing the FilmArray ME Panel test result for each member of the panel with the appropriate comparator/reference methods shown in the table below.

Table 8. Comparator Methods for FilmArray ME Panel Clinical Evaluation

FilmArray Analyte	Comparator Method	Comparator Test Location
<i>E. coli</i> K1	CSF bacterial culture	Source Laboratory
<i>H. influenzae</i>		
<i>L. monocytogenes</i>		
<i>N. meningitidis</i>		
<i>S. agalactiae</i>		
<i>S. pneumoniae</i>		
CMV	Two PCR assays with bi-directional sequencing ^a	BioFire Laboratory
EV		
HSV-1		
HSV-2		
HHV-6		
HPeV		
VZV		
<i>C. neoformans/gattii</i>		

^a All assays targeted different nucleic acid sequences than those identified by the FilmArray ME Panel.

A total of 1560 specimens were evaluated in this study. Clinical sensitivity or positive percent agreement (PPA) was calculated as $100\% \times (TP / (TP + FN))$. True positive (TP) indicates that both the FilmArray ME Panel and reference/comparator method had a positive result for the specific analyte, and false negative (FN) indicates that the FilmArray result was negative while the comparator result was positive. Specificity or negative percent agreement (NPA) was calculated as $100\% \times (TN / (TN + FP))$. True negative (TN) indicates that both the FilmArray ME Panel and the

reference/comparator method had negative results, and a false positive (FP) indicates that the FilmArray ME Panel result was positive but the comparator result was negative. The two-sided 95% confidence intervals were calculated.

Table 9. FilmArray ME Prospective Clinical Performance Summary^a

Analyte		Sensitivity (compared to culture)			Specificity (compared to culture)		
		TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
Bacteria							
<i>E. coli</i> K1	Fresh	1/1	100	-	1014/1014	100	99.6-100
	Frozen	1/1	100	-	543/544	99.8	99.0-100
	Overall	2/2	100	34.2-100	1557/1558^{b,c}	99.9	99.6-100
<i>H. influenzae</i>	Fresh	1/1	100	-	1013/1014	99.9	99.4-100
	Frozen	0/0	-	-	545/545	100	99.3-100
	Overall	1/1	100	-	1558/1559^d	99.9	99.6-100
<i>L. monocytogenes</i>	Fresh	0/0	-	-	1015/1015	100	99.6-100
	Frozen	0/0	-	-	545/545	100	99.3-100
	Overall	0/0	-	-	1560/1560	100	99.8-100
<i>N. meningitidis</i>	Fresh	0/0	-	-	1015/1015	100	99.6-100
	Frozen	0/0	-	-	545/545	100	99.3-100
	Overall	0/0	-	-	1560/1560	100	99.8-100
<i>S. agalactiae</i>	Fresh	0/1	0.0	-	1013/1014	99.9	99.4-100
	Frozen	0/0	-	-	545/545	100	99.3-100
	Overall	0/1^e	0.0	-	1558/1559^e	99.9	99.6-100
<i>S. pneumoniae</i>	Fresh	2/2	100	34.2-100	1008/1013	99.5	98.8-99.8
	Frozen	2/2	100	34.2-100	536/543	98.7	97.4-99.4
	Overall	4/4	100	51.0-100	1544/1556^f	99.2	98.7-99.6
Analyte		Positive Percent Agreement (compared to PCR with bi-directional sequencing)			Negative Percent Agreement (compared to PCR with bi-directional sequencing)		
		TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
Viruses							
CMV	Fresh	2/2	100	34.2-100	1010/1013	99.7	99.1-99.9
	Frozen	1/1	100	20.7-100	544/544	100	99.3-100
	Overall	3/3	100	43.9-100	1554/1557^g	99.8	99.4-99.9
EV	Fresh	43/44	97.7	88.2-99.6	965/971	99.4	98.7-99.7
	Frozen	1/2	50.0	-	542/543	99.8	99.0-100
	Overall	44/46^h	95.7	85.5-98.8	1507/1514^h	99.5	99.0-99.8
HSV-1	Fresh	1/1	100	-	1013/1014	99.9	99.4-100
	Frozen	1/1	100	-	543/544	99.8	99.0-100
	Overall	2/2	100	34.2-100	1556/1558ⁱ	99.9	99.5-100
HSV-2	Fresh	6/6	100	61.0-100	1008/1009	99.9	99.4-100
	Frozen	4/4	100	51.0-100	540/541	99.8	99.0-100
	Overall	10/10	100	72.2-100	1548/1550ⁱ	99.9	99.5-100

HHV-6	Fresh	13/15	86.7	62.1-96.3	997/1000	99.7	99.1-99.9
	Frozen	5/6	83.3	43.6-97.0	535/536	99.8	99.0-100
	Overall	18/21^k	85.7	65.4-95.0	1532/1536^k	99.7	99.3-99.9
HPeV	Fresh	9/9	100	70.1-100	1003/1006	99.7	99.1-99.9
	Frozen	0/0	-	-	545/545	100	99.3-100
	Overall	9/9	100	70.1-100	1548/1551^l	99.8	99.4-99.9
VZV	Fresh	3/3	100	43.9-100	1010/1012	99.8	99.3-99.9
	Frozen	1/1	100	-	543/544	99.8	99.0-100
	Overall	4/4	100	51.0-100	1553/1556^m	99.8	99.4-99.9
Yeast							
<i>C. neoformans/gattii</i>	Fresh	0/0	-	-	1015/1015	100	99.6-100
	Frozen	1/1	100	-	540/544	99.3	98.1-99.7
	Overall	1/1	100	-	1555/1559ⁿ	99.7	99.3-99.9

^a The performance measures of sensitivity and specificity only refer to bacterial analytes for which the gold-standard of CSF bacterial culture was used as the reference method. Performance measures of Positive Percent Agreement and Negative Percent Agreement refer to all other analytes, for which PCR/sequencing assays were used as comparator methods.

^b The FP specimen was negative for *E. coli* K1 when tested using an independent PCR assay (targeting a nucleic acid region distinct from that identified by the FilmArray ME Panel). Meningitis was clinically excluded in this patient.

^c An additional infant presented with CSF pleocytosis (WBC 3738) and *E. coli* bacteremia. CSF cultures and FilmArray ME panel were negative, but no information regarding pre-treatment with antibiotics was available, and the patient was clinically diagnosed with meningitis.

^d *H. influenzae* was detected in the single FP specimen using an independent PCR assay and was also observed via Gram stain; the subject from whom this specimen was collected received a physician diagnosis of gram-negative bacterial meningitis.

^e The laboratory reported that *S. agalactiae* was present at a very low level (two colonies) for the FN specimen. The FP specimen was negative for *S. agalactiae* when tested using an independent PCR assay.

^f *S. pneumoniae* was detected in 5/12 FP specimens using an independent PCR assay; additional information regarding seven unconfirmed FP specimens is detailed below in Table 10.

^g CMV was detected in 1/3 FP specimens using an independent PCR assay.

^h EV was detected in 2/2 FN specimens using an independent PCR assay; one specimen was positive upon FilmArray ME retest. EV was detected in 5/7 FP specimens using an independent PCR assay.

ⁱ Both FP specimens were negative for HSV-1 when tested using an independent PCR assay.

^j HSV-2 was detected in 1/2 FP specimens using an independent PCR assay; the subject from whom this specimen was collected received a physician diagnosis of HSV meningitis.

^k HHV-6 was detected in 2/3 FN and 1/4 FP specimens using an independent PCR assay.

^l HPeV was detected in 1/3 FP specimens using an independent PCR assay; the subject from whom this specimen was collected received a physician diagnosis of HPeV meningitis. Both of the subjects from whom the remaining two specimens were collected received a diagnosis of HPeV infection following detection of HPeV in the blood.

^m VZV was detected in 1/3 FP specimens using an independent PCR assay; the subject from whom this specimen was collected received a physician diagnosis of herpes zoster. Of the remaining two specimens with FP results, one was collected from a subject who was diagnosed with herpes zoster oticus.

ⁿ *C. neoformans/gattii* was detected in 2/4 FP specimens using a commercially available antigen test. One FP specimen was positive by standard culture. Additional information regarding FilmArray ME Panel performance with respect to cryptococcal antigen testing is detailed below.

Of 12 false positive *S. pneumoniae*, seven could not be confirmed using an independent PCR assay. A review of subject medical data was conducted for the subjects from whom these specimens were collected and is summarized below in Table 10. None of the subjects had evidence of bacterial meningitis/encephalitis. The cause of these false positives was not determined.

Table 10. Clinical Characteristics of Subjects with Unconfirmed False Positive *S. pneumoniae* Results

Subject age	CSF WBC	FilmArray Result	Comparator Culture/ Investigation PCR ^a	Diagnosis Reported in Medical Record
<2 mo	3	Pos	Neg/Neg	Infection, non-CNS (<i>S. agalactiae</i> urine culture)
65+	2	Pos	Neg/Neg	Unable to obtain
2-17	0	Pos	Neg/Neg	Infection, non-CNS (folliculitis)
<2 mo	3	Pos	Neg/Neg	Infection, non-CNS (Parainfluenza virus)
18-34	1	Pos	Neg/Neg	CNS disease, non-infectious (epilepsy)
35-64	1	Pos	Neg/Neg	Infection, non-CNS (Hep B), multiple myeloma
18-34	1	Pos	Neg/Neg	Infection, non-CNS (Bells' Palsy)

^a This PCR is the same as that described in footnote f of Table 9.

The comparator method use to evaluate FilmArray ME Panel *C. neoformans/gattii* performance was PCR with bi-directional sequencing. FilmArray Panel performance for detection of *Cryptococcus* was also calculated in comparison to specific testing for *Cryptococcus* that was performed by the laboratory based upon clinician test requests for a subset of subjects. For data that were available, FilmArray ME Panel performance is shown in Table 11 relative to cryptococcal antigen testing (N=196), standard culture (N=1560), and fungal culture (N=23). Notably, seven out of eight CrAg-positive specimens were discordant with FilmArray ME Panel results. All seven of these specimens were negative for *Cryptococcus* when tested with both PCR comparator assays. Medical chart review indicated that each subject was on antifungal therapy for treatment of cryptococcal meningitis or cryptococcosis at the time of specimen collection and/or had prior history of *Cryptococcus* infection. Therefore, positive antigen results for these patients in the absence of PCR and culture-based organism detection are likely due to antigen persistence rather than the presence of live organism.

Table 11. FilmArray ME Panel *C. neoformans/gattii* assay performance relative to other comparator methods

Cryptococcus test comparator method	Positive Percent Agreement			Negative Percent Agreement		
	TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
Cryptococcal Antigen	1/8 ^a	12.5	2.2-47.1	187/188 ^b	99.5	97.0-99.5
Standard Culture	2/3 ^c	66.7	20.8-93.9	1554/1557 ^d	99.8	99.4-99.9
Fungal Culture	0/0	-	-	22/23 ^e	95.7	79.0-99.2

^a Seven specimens were positive by CrAg testing performed at the clinical site, but were negative by standard of care culture, FilmArray ME Panel, and two comparator assays. All seven subjects from whom these specimens were collected received antifungal therapy prior to LP and/or had prior history of *Cryptococcus* infection. The eighth specimen was positive by CrAg, FilmArray ME Panel, and standard culture.

^b *Cryptococcus* was detected in the single FP specimen using a CrAg testing kit at BioFire.

^c The single FN specimen was also positive by standard culture, but negative by the FilmArray ME Panel and two comparator assays. The laboratory reported that only one colony was recovered.

^d *Cryptococcus* was detected in 1/3 FP specimens using CrAg testing kits at BioFire (this is the same FP described in footnote b).

^e The single FP specimen was negative by standard of care culture, CrAg testing performed at the clinical site, and negative by two comparator assays, but was positive by CrAg testing performed at BioFire (this is the same FP described in footnote b).

The FilmArray ME Panel reported a total of 5 specimens with discernible multiple organism detections (0.3% of all specimens, 5/1560; and 3.7% of positive specimens, 5/136. Each multi-analyte detection contained two organisms, at least one of which was not detected by the reference/comparator method (i.e., each specimen contained at least one false positive result).

Table 12. Co-detection Combinations as Determined by the FilmArray ME Panel

Co-detection Combination	Number of Specimens	Discrepant Analytes (detected by FilmArray only)
CMV + <i>S. pneumoniae</i>	1	CMV
EV + HPeV	1	EV
HSV-1 + HHV-6	1	HSV-1
HSV-2 + <i>S. agalactiae</i>	1	<i>S. agalactiae</i>
<i>S. pneumoniae</i> + VZV	1	<i>S. pneumoniae</i> , VZV

The overall FilmArray ME Panel test success rate on the initial test of these specimens was 98.9% (1560/1577); 17 tests were unsuccessful (11 due to incomplete tests and six due to control failures). No pouch leaks were observed.

Testing of Preselected Archived Specimens

Several analytes were either not encountered or had a low prevalence in the prospective clinical study. To supplement the results of the prospective clinical study, an evaluation of 235 preselected archived specimens (of which 25 were negative) was performed. These specimens were archived clinical specimens that were selected because they had previously tested positive for one of the following analytes: *Cryptococcus*, CMV, *E. coli*, *H. influenzae*, HSV-1, HSV-2, HHV-6, HPeV, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae*, and VZV; or had been negative in previous laboratory testing. Prior to testing with the FilmArray ME Panel, the presence (or absence) of the expected analytes was verified in each specimen using a confirmatory molecular test (e.g. PCR with bi-directional sequencing). Out of the 210 positives, the historical result was confirmed by the comparator method for 150 (150/210; 71.4%); only confirmed analytes were used in calculations of PPA, but all specimens were used for NPA analyses as presented in Table 15.

The specimens were organized into "test panels" and randomized such that the users performing the FilmArray ME Panel testing were blinded as to the expected test result. A summary of the available demographic information of the tested samples is provided in Table 13 and the results of the FilmArray ME testing are presented in Table 14.

Table 13. Demographic Summary

Preselected Archived Specimens	
Total Specimens	235
Sex	Number of Specimens (%)
Male	70 (30%)
Female	90 (38%)
Unknown	75 (32%)
Age Group	Number of Specimens (%)
<2 mo	5 (2%)
2-23 mo	19 (8%)
2-17 yrs.	19 (8%)
18-34 yrs.	33 (14%)
35-64 yrs.	65 (28%)
65+ yrs.	26 (11%)
Unknown	68 (29%)

Table 14. FilmArray ME Panel Archived Specimen Performance Data Summary

Analyte	Positive Percent Agreement			Negative Percent Agreement		
	TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
Bacteria						
<i>E. coli</i> K1	2/2	100	34.2-100	35/35	100	90.1-100
<i>H. influenzae</i>	3/3	100	43.9-100	39/39	100	91-100
<i>L. monocytogenes</i>	1/1	100	-	41/41	100	91.4-100
<i>N. meningitidis</i>	7/7	100	64.6-100	34/34	100	89.8-100
<i>S. agalactiae</i>	2/2	100	34.2-100	40/40	100	91.2-100
<i>S. pneumoniae</i>	17/17	100	81.6-100	21/21	100	84.5-100
Viruses						
CMV	7/8	87.5	52.9-97.8	181/181	100	97.9-100
HSV-1	16/16	100	80.6-100	156/157	99.4	96.5-99.9
HSV-2	33/34	97.1	85.1-99.5	136/136	100	97.3-100
HHV-6	12/16 ^a	75.0	50.5-89.8	168/168	100	97.8-100
HPeV	2/3	66.7	20.8-93.9	187/187	100	98.0-100
VZV	22/22	100	85.1-100	162/164	98.8	95.7-99.7
Yeast						
<i>C. neoformans/gattii</i>	19/19 ^b	100	83.2-100	171/171	100	97.8-100

^a Two specimens were sequenced and identified as HHV-6A while 14 were HHV-6B. Of the four FilmArray FN specimens, one was sequenced and identified as HHV-6A and the remaining three FN specimens were identified as HHV-6B. The resulting PPA was 50% (1/2); 95% CI 9.5 – 90.5% and 79% (11/14); 95% CI 52.4 – 92.4% for HHV-6A and HHV-6B, respectively.

^b One specimen was sequenced and identified as *C. gattii* and 18 were *C. neoformans*.

Testing of Contrived Specimens

Several analytes, such as *Haemophilus influenzae*, were not detected in sufficient numbers in both prospective and archived testing efforts to demonstrate system performance. To supplement the prospective and archived data, an evaluation of contrived specimens was performed. Surrogate specimens were prepared using residual specimens that had previously tested negative for all ME panel analytes by FilmArray and comparator methods. For each analyte, at least 25 specimens were spiked at 2 × LoD and the remaining were spiked at four additional concentrations spanning the clinically relevant range using at least five different quantified strains for each organism. Specimens were prepared and randomized along with negative (unspiked) specimens such that the analyte status of each contrived specimen was blinded to the users analyzing the specimens. Contrived specimens were frozen, then distributed to prospective clinical study sites for testing. The results of the FilmArray testing are presented in Table 15.

Table 15. FilmArray ME Panel Performance Using Contrived Specimens

Analyte	PPA			NPA		
	TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
<i>E. coli</i> K1	47/49 ^a	95.9	86.3-98.9	245/245	100	98.5-100
<i>H. influenzae</i>	50/50	100	92.9-100	243/244	99.5	97.7-99.9
<i>L. monocytogenes</i>	50/50	100	92.9-100	244/244	100	98.5-100
<i>N. meningitidis</i>	75/75	100	95.1-100	219/219	100	98.3-100
<i>S. agalactiae</i>	48/50 ^b	96.0	86.5-98.9	244/244	100	98.5-100
CMV	47/49 ^c	95.9	86.3-98.9	245/245	100	98.5-100

Analyte	PPA			NPA		
	TP/(TP + FN)	%	95% CI	TN/(TN + FP)	%	95% CI
HHV-6	50/50	100	92.9-100	243/244	99.5	97.7-99.9
HPeV	50/50	100	92.9-100	244/244	100	98.5-100

^a One *E. coli* K1 false negative was observed at 2 × LoD and one *E. coli* K1 false negative was observed at 0.2 × LoD.

^b Both *S. agalactiae* false negatives were observed at 0.2 × LoD.

^c Both CMV false negatives were observed at 0.2 × LoD.

FilmArray 2.0 Clinical Comparison

To demonstrate that performance of the FilmArray ME Panel when used with FilmArray 2.0 is equivalent to FilmArray, a combination of residual, de-identified CSF specimens and contrived CSF specimens covering all 14 analytes on the FilmArray ME Panel were evaluated. A total of 149 specimens were tested consisting of 21 clinical specimens and 128 contrived specimens. Each analyte was represented a minimum of five times in the specimen set. All specimens were evaluated on both systems. The results of the FilmArray testing are presented in Table 16 (FilmArray 2.0 results are represented in the numerator and FilmArray results are the denominator).

Table 16. Clinical Performance Comparison Summary of FilmArray ME Panel When Tested on FilmArray 2.0 (FA2.0) and FilmArray (FA)

Analyte		Positive Percent Agreement			Negative Percent Agreement		
		FA2.0/FA	%	95% CI	FA2.0/FA	%	95% CI
Bacteria							
<i>E. coli</i> K1	Clinical	0/0	-	-	21/21	100%	84.5-100%
	Contrived	5/6	83.3%	43.7-97.0%	122/122	100%	97.0-100%
	Overall	5/6	83.3%	43.7-97.0%	143/143	100%	97.4-100%
<i>H. influenzae</i>	Clinical	0/0	-	-	21/21	100%	84.5-100%
	Contrived	10/10	100%	72.3-100%	118/118	100%	96.9-100%
	Overall	10/10	100%	72.3-100%	139/139	100%	97.3-100%
<i>L. monocytogenes</i>	Clinical	0/0	-	-	21/21	100%	84.5-100%
	Contrived	5/5	100%	56.6-100%	123/123	100%	97.0-100%
	Overall	5/5	100%	56.6-100%	144/144	100%	97.4-100%
<i>N. meningitidis</i>	Clinical	0/0	-	-	21/21	100%	84.5-100%
	Contrived	11/11	100%	74.1-100%	117/117	100%	96.8-100%
	Overall	11/11	100%	74.1-100%	138/138	100%	97.3-100%
<i>S. agalactiae</i>	Clinical	1/1	100%	20.7-100%	20/20	100%	83.9-100%
	Contrived	5/5	100%	56.6-100%	123/123	100%	97.0-100%
	Overall	6/6	100%	61.0-100%	143/143	100%	97.4-100%
<i>S. pneumoniae</i>	Clinical	1/1	100%	20.7-100%	20/20	100%	83.9-100%
	Contrived	6/7	85.7%	48.7-97.4%	120/121	99.2%	95.5-99.9%
	Overall	7/8	87.5%	52.9-97.8%	140/141	99.3%	96.1-99.9%
Viruses							
CMV	Clinical	1/1	100%	20.7-100%	20/20	100%	83.9-100%
	Contrived	5/5	100%	56.6-100%	123/123	100%	97.0-100%
	Overall	6/6	100%	61.0-100%	143/143	100%	97.4-100%
EV	Clinical	1/1	100%	20.7-100%	20/20	100%	83.9-100%
	Contrived	11/12	91.7%	64.6-98.5%	114/116	98.3%	93.9-99.5%
	Overall	12/13	92.3%	66.7-98.6%	134/136	98.5%	94.8-99.6%

HSV-1	Clinical	3/3	100%	43.9-100%	18/18	100%	82.4-100%
	Contrived	3/3	100%	43.9-100%	125/125	100%	97.0-100%
	Overall	6/6	100%	61.0-100%	143/143	100%	97.4-100%
HSV-2	Clinical	2/2	100%	34.2-100%	19/19	100%	83.2-100%
	Contrived	3/3	100%	43.9-100%	125/125	100%	97.0-100%
	Overall	5/5	100%	56.6-100%	144/144	100%	97.4-100%
HHV-6	Clinical	3/3	100%	43.9-100%	18/18	100%	82.4-100%
	Contrived	9/9	100%	70.1-100%	117/119	98.3%	94.1-99.5%
	Overall	12/12	100%	75.8-100%	135/137	98.5%	94.8-99.6%
HPeV	Clinical	0/0	-	-	21/21	100%	84.5-100%
	Contrived	8/8	100%	67.6-100%	120/120	100%	96.9-100%
	Overall	8/8	100%	67.6-100%	141/141	100%	97.4-100%
VZV	Clinical	3/3	100%	43.9-100	18/18	100%	82.4-100%
	Contrived	4/4	100%	51.0-100%	124/124	100%	97.0-100%
	Overall	7/7	100%	64.6-100%	142/142	100%	97.4-100%
Yeast							
<i>C. neoformans/gattii</i>	Clinical	2/2	100%	34.2-100%	19/19	100%	83.2-100%
	Contrived	15/15	100%	79.6-100%	112/113	99.1%	95.2-99.9%
	Overall	17/17	100%	81.6-100%	131/132	99.2%	95.8-99.9%
Overall Agreement		117/120	97.5%	92.9-99.2%	1960/1966	99.7%	99.3-99.9%

The FilmArray ME Panel demonstrated 100% concordance for 18 individual clinical specimens. Additionally, 100% concordance was also observed for nine out of 14 analytes when evaluating contrived specimens. Occasional discrepant results were observed; this was likely due to differential detection resulting from spiking near the LoD or unexpected detection of low-level (sub-LoD) analyte present as background in the clinical matrix that had been originally characterized as negative. Overall PPA for clinical and contrived specimens combined was 97.5% with the lower bound of the two-sided 95% confidence interval (95% CI) at 92.9%, and overall NPA was 99.7% with the lower bound of the two-sided 95% CI at 99.3%

Limit of Detection

The limit of detection (LoD) for FilmArray ME Panel analytes was estimated by testing dilutions of contrived samples containing known concentrations of one to five organisms (bacteria, viruses, and yeast). Confirmation of LoD was achieved by testing 20 replicates of a contrived sample containing analytes at their estimated LoD concentration. LoD was confirmed when the organism was detected in at least 19 of the 20 replicates tested (19/20 = 95%).

The confirmed LoD for each FilmArray ME Panel analyte is listed in Table 17. Detection in at least 95% of replicates at this LoD concentration has been demonstrated for each analyte on FilmArray, FilmArray 2.0 and FilmArray Torch systems. For bacteria and yeast, LoD is provided in units of CFU/mL or cells/mL and for most viruses, LoD is provided in infectious units (tissue culture infectious dose or TCID₅₀/mL). For some viruses and bacteria, LoD is (also) listed in nucleic acid copies/mL determined by molecular quantification with a quantitative real-time PCR assay.

NOTE: CFU/mL is a measure of viable cells and may be an underestimate of the amount of genetic material contained in the sample, especially for fastidious bacteria (e.g. *N. meningitidis* and *S. pneumoniae*). Similarly, molecular quantification is subject to the efficiency of the assay and characterization of the standard template used to determine copies/mL.

Table 17. Limit of Detection (LoD) for FilmArray ME Panel Analytes

ME Panel Test Result	Species/Isolate Tested	LoD Concentration	Detection at LoD Concentration ^a
BACTERIA			
<i>E. coli</i> K1	<i>E. coli</i> K1, strain C5 [Bort]; type O18ac:K1:H7 ATCC 700973	1×10 ³ CFU/mL	20/20 100%
<i>H. influenzae</i>	<i>H. influenzae</i> , strain AMC 36-A-1 [572] type b, biotype I ATCC 10211	1×10 ³ CFU/mL	20/20 100%
<i>L. monocytogenes</i>	<i>L. monocytogenes</i> , strain 1071/53, type 4b ATCC 13932	1×10 ³ CFU/mL	20/20 100%
<i>N. meningitidis</i>	<i>N. meningitidis</i> , strain M-1574 [199M/135] ATCC 43744	100 CFU/mL (~1.80×10 ³ copies/mL)	19/20 95%
<i>S. agalactiae</i>	<i>S. agalactiae</i> , type strain, G19, group B ATCC 13813	1×10 ³ CFU/mL	20/20 100%
<i>S. pneumoniae</i>	<i>S. pneumoniae</i> , strain SV 1, serotype 1 ATCC 33400	100 cells/mL (~1.50×10 ³ copies/mL)	19/20 95%
VIRUSES			
CMV ^b	CMV, strain AD-169 Zeptomatrix 0810003CF	100 TCID ₅₀ /mL (4.30×10 ³ copies/mL)	20/20 100%
EV (Species A-D)	Coxsackievirus A6, species A, strain Gdula ATCC VR-1801	50 TCID ₅₀ /mL	20/20 100%
	Coxsackievirus A9, species B Zeptomatrix 0810017CF	5 TCID ₅₀ /mL	20/20 100%
	Coxsackievirus A17, species C, strain G-12 ATCC VR-1023	5 TCID ₅₀ /mL	20/20 100%
	EV 70, species D, strain J670/71 ATCC VR-836	50 TCID ₅₀ /mL	20/20 100%
HSV-1	HSV-1, strain MacIntyre Zeptomatrix 0810005CF	250 TCID ₅₀ /mL (1.51×10 ³ copies/mL)	20/20 100%
HSV-2	HSV-2, strain MS Zeptomatrix 0810006CF	50 TCID ₅₀ /mL (1.29×10 ³ copies/mL)	20/20 100%
HHV-6	HHV-6A, strain U1102 NCPV 0003121v	1×10 ⁴ copies/mL	19/20 95%
	HHV-6B, strain HST NCPV 0006111v	1×10 ⁴ copies/mL	19/20 95%
HPeV	HPeV, type 3 Zeptomatrix 0810147CF	500 TCID ₅₀ /mL	19/20 95%
VZV	VZV, strain Ellen Zeptomatrix 0810171CF	0.10 TCID ₅₀ /mL (1.66×10 ³ copies/mL)	20/20 100%
YEAST			
<i>C. neoformans/gattii</i>	<i>C. neoformans</i> var. <i>grubii</i> , type strain, H99 [H99JP, NYSD 1649] ATCC 208821	100 CFU/mL	20/20 100%
	<i>C. gattii</i> , strain A6MR38, AFLP6C, VGIIc ATCC MYA-4877	100 CFU/mL	20/20 100%

^a Detection data are from LoD confirmation testing performed on the FilmArray system.

^b A dilution series of the World Health Organization (WHO) CMV International Standard (NIBSC 09/162) was also tested on FilmArray and FilmArray 2.0 systems. CMV was detected in 100% of replicates (10/10) at a concentration as low as 5.0×10³ IU/mL (IU = International Units).

Analytical Reactivity (Inclusivity)

The analytical reactivity (inclusivity) of the FilmArray ME Panel was evaluated with a collection of 96 isolates that represent the diversity of the FilmArray ME Panel analytes. Isolates were selected to represent relevant species, subspecies, or serotypes. Isolates were initially tested at concentrations near (1-3×) the limit of detection (LoD), and all 98 isolates were detected by the FilmArray ME Panel at concentrations within 10× LoD. When possible, *in silico* analysis of sequence data was used to make predictions of assay reactivity for less common strains or serotypes that were not tested but that may be detected by the FilmArray ME Panel.

A summary of ME Panel reactivity based on empirical data with notes about reactivity predictions based on *in silico* analysis is provided in Table 18 and all isolates tested are listed in Tables 19-20. No limitations on FilmArray ME Panel reactivity were identified.

Table 18. Summary of FilmArray ME Panel Analytical Reactivity (Inclusivity)

FilmArray ME Panel Test Result	# of Isolates Tested and Detected	Concentration Detected	Isolates Tested and Detected
Bacteria			
<i>E. coli</i> K1	5	1,000 - 3,000 CFU/mL	<i>E. coli</i> strains of the K1 serotype only
<i>H. influenzae</i>	9	1,000 - 3,000 CFU/mL	Non-typeable and typeable (types a-f) strains of <i>H. influenzae</i>
<i>L. monocytogenes</i>	6	1,000 - 3,000 CFU/mL	Types 1/2a, 1/2b, and 4b of <i>L. monocytogenes</i> ^a
<i>N. meningitidis</i>	7	100 - 300 CFU/mL	Encapsulated <i>N. meningitidis</i> (serotypes W135, A, B, C, D, Y and DNA from a strains with a variant <i>ctrA</i> gene)
<i>S. agalactiae</i>	5	1,000 - 3,000 CFU/mL	Multiple serotypes or isolates of <i>S. agalactiae</i> (Group B <i>Streptococcus</i>)
<i>S. pneumoniae</i>	6	100 - 300 cells/mL	Multiple serotypes of <i>S. pneumoniae</i>
Viruses			
CMV	5	100 - 300 TCID ₅₀ /mL (4.3×10 ³ - 1.3×10 ⁴ copies/mL)	Multiple strains of Cytomegalovirus (CMV).
EV	18	5 - 50 TCID ₅₀ /mL	Representative isolates from all species (A-D) and several serotypes of human Enterovirus, Coxsackievirus, and Echovirus ^b
HSV-1	5	250 - 750 TCID ₅₀ /mL (1.5×10 ³ - 4.5×10 ³ copies/mL)	Multiple strains of Herpes simplex virus 1 (HSV-1)
HSV-2	5	50 - 150 TCID ₅₀ /mL (1.3×10 ³ - 3.9×10 ³ copies/mL)	Multiple strains of Herpes simplex virus 2 (HSV-2)
HHV-6	4	1×10 ⁴ - 3×10 ⁴ copies/mL	A and B variants of Human herpesvirus 6 (HHV-6)
HPeV	6	500 - 5,000 TCID ₅₀ /mL	Serotypes 1-6 of Human parechovirus (HPeV) ^c
VZV	5	0.1 - 0.3 TCID ₅₀ /mL (1.7×10 ³ - 5×10 ³ copies/mL)	Multiple strains of Varicella zoster virus (VZV)
Yeast			
<i>C. neoformans/gattii</i>	10 (5 per species)	100 - 300 CFU/mL	Multiple strains, serotypes, and genotypes of <i>Cryptococcus neoformans</i> and <i>Cryptococcus gattii</i>

^a *In silico* analysis of available sequences predicts that the FilmArray ME Panel will react with all currently characterized strains and serotypes of *L. monocytogenes*.

^b *In silico* analysis of available sequences predicts that the FilmArray ME Panel will react with all currently characterized serotypes (>100) of human enteroviruses (including enteroviruses, coxsackieviruses, and echoviruses).

^c Based on sequence analysis, the FilmArray ME Panel is also predicted to react with HPeV serotypes 7 and 8. No sequence data were available for predicting reactivity with other serotypes.

Table 19. Bacterial Isolates Tested Near (1-3×) LoD and Detected by the FilmArray ME Panel

Isolate	Strain/Serotype Information	Isolate ID	Strain/Serotype Information
<i>E. coli</i> K1		<i>S. agalactiae</i>	
ATCC 700973	Serotype O18ac:K1:H7	ATCC 13813	Serotype Ia/c
BEI NR-17666	Serotype O2:K1:H4	ATCC 12403	Serotype III
BEI NR-17674	Serotype O16:K1:H-	ATCC BAA-611	Serotype V
NCTC 9007	Serotype O9:K1:H-	Clinical isolate – 2010	Unknown Serotype
NCTC 9045	Serotype O45:K1:H10	NCTC 8017	Unknown Serotype
<i>H. influenzae</i>		<i>N. meningitidis</i>	
ATCC 51907	Non-typeable [strain Rd [KW20]]	ATCC 43744	Serotype W135
ATCC 11116	Non-typeable, <i>aegyptius</i>	ATCC 13077	Serotype A
ATCC 9006	Type a [strain AMC 36-A-3]	ATCC 13090	Serotype B
ATCC 31512	Type b [strain Rab]	ATCC 13102	Serotype C
ATCC 10211	Type b [biotype 1]	ATCC 13113	Serotype D
ATCC 49699	Type c [strain C 9007]	ATCC 35561	Serotype Y
ATCC 9008	Type d [strain AMC 36-A-6]	<i>ctrA</i> variant	strain with variant <i>ctrA</i> gene ⁸⁰
ATCC 8142	Type e [strain AMC 36-A-7]		
ATCC 700223	Type f [strain GA-1264]		
<i>L. monocytogenes</i>		<i>S. pneumoniae</i>	
FSL-J2-020	Type 1/2a	ATCC 33400	Serotype 1
FSL-C1-056	Type 1/2a	ATCC BAA-334	Serotype 4
FSL-J2-064	Type 1/2b	ATCC BAA-341	Serotype 5
Clinical isolate – 2009 CDPH	Type 1/2b	NCTC 11900	Serotype 11A
FSL-J1-110	Type 4b	ATCC 700672	Serotype 14
ATCC 13932	Type 4b	ATCC 700673	Serotype 19A

Table 20. Viral Isolates Tested Near LoD (1-3×) and Detected by the FilmArray ME Panel

Isolate	Strain/Serotype Information	Isolate ID	Strain/Serotype Information
CMV		HSV-1	
Zeptomatrix 0810003CF	strain AD-169	Zeptomatrix 0810005CF	Strain MacIntyre
ATCC VR-977	strain Towne	ATCC VR-733	Strain F
ATCC VR-1590	strain Merlin	ATCC VR-260	Strain HF
ATCC VR-807	strain Davis	ATCC VR-1493	Strain KOS
NCPV 0302162v	strain Toledo	ATCC VR-1778	aka ATCC-2011-1
EV		HSV-2	

Isolate	Strain/Serotype Information	Isolate ID	Strain/Serotype Information
ATCC VR-1801	Coxsackievirus A6	Zeptomatrix 0810006CF	strain MS
ATCC VR-168	Coxsackievirus A10	ATCC VR-734	strain G
NCPV 0812071v	Coxsackievirus A16	ATCC VR-1779	aka ATCC-2011-2
NCPV 0812215v	Enterovirus 71	NCPV 0406272v	strain 131596
Zeptomatrix 0810017CF	Coxsackievirus A9	NCPV 0104152v	Strain HG52
NCPV 0812078v	Coxsackievirus B1	HHV-6	
NCPV 0812142v	Coxsackievirus B2	NCPV 0003121v	6A - strain U1102
Zeptomatrix 0810074CF	Coxsackievirus B3	NCPV 0006111v	6B - strain HST
Zeptomatrix 0810075CF	Coxsackievirus B4	ATCC VR-1480	6B - strain SF
Zeptomatrix 0810019CF	Coxsackievirus B5	Zeptomatrix 0810072CF	6B - strain Z29
Zeptomatrix 0810076CF	Echovirus 6	HPeV	
Zeptomatrix 0810077CF	Echovirus 9	Zeptomatrix 0810145CF	Serotype 1
NCPV 0901047v	Echovirus 18	Zeptomatrix 0810146CF	Serotype 2
ATCC VR-1023	Coxsackievirus A17	Zeptomatrix 0810147CF	Serotype 3
ATCC VR-850	Coxsackievirus A21	Zeptomatrix 0810148CF	Serotype 4
ATCC VR-583	Coxsackievirus A24	Zeptomatrix 0810149CF	Serotype 5 ^a
ATCC VR-836	Enterovirus 70	Zeptomatrix 0810150CF	Serotype 6
Zeptomatrix 0810237CF	Enterovirus 68 (aka Rhinovirus 87)	VZV	
		Zeptomatrix 0810171CF	Ellen (aka ATCC VR-1367)
		Zeptomatrix 0810172CF	Isolate A
		Zeptomatrix 0810173CF	Isolate B
		Zeptomatrix 0810168 CF	Strain 275
		ATCC VR-916	Webster

^a Detected at a concentration of 5,000 TCID₅₀/mL (10× LoD). All other serotypes tested were detected at 500-1,500 TCID₅₀/mL (1-3× LoD).

Table 21. Yeast Isolates Tested Near (1-3×) LoD and Detected by the FilmArray ME Panel

Isolate	Strain Information	Isolate ID	Strain Information
<i>C. neoformans</i>		<i>C. gattii</i>	
ATCC 32045	Unknown serotype type strain, CBS 132	ATCC MYA-4560	Serotype B strain WM179, type VGI
ATCC 208821	Serotype A, strain H99 type strain of var. <i>grubii</i>	ATCC MYA-4094	Serotype B strain R272, type VGIIb
ATCC MYA-4564	Serotype A strain WM148, type VNI	ATCC MYA-4877	Unknown serotype strain R38, type VGIIc
ATCC MYA-4566	Serotype AD strain WM628, type VNIII	ATCC MYA-4562	Serotype B strain WM161, type VGIII
ATCC MYA-4567	Serotype D strain WM629, type VNIV	ATCC MYA-4563	Serotype C strain WM779, type VGIV

Analytical Specificity (Cross-Reactivity and Exclusivity)

The potential for non-specific amplification and detection by the FilmArray ME Panel assays (cross-reactivity) was evaluated by testing high concentrations of on-panel (identified by the ME Panel assays) and off-panel (not intended to be identified by the ME Panel assays) organisms.

A total of 19 on-panel organisms (see Table 17 in the Limit of Detection section) and 107 off-panel organisms (see below) were tested, with additional *in silico* analysis to identify potential cross-reacting sequences or organisms. Off-panel organisms were selected for testing based on a combination of several factors including (1) relatedness to the species detected by the ME Panel (near-neighbors), (2) clinical relevance, (3) likelihood of being present in CSF and (4) genetic similarity to ME Panel assay primers, as determined by *in silico* analyses.

Prior to testing, *in silico* analysis indicated that the FilmArray ME Panel *Haemophilus influenzae* assay(s) may cross-react with *Haemophilus haemolyticus* and that the FilmArray ME Panel Enterovirus assay may detect many serotypes of closely related human Rhinoviruses. Both *H. haemolyticus* and rhinoviruses are found in the upper respiratory tract but are rarely isolated from CSF.

Table 22 lists the off-panel bacteria, viruses, fungi, and protists that were tested with the FilmArray ME Panel. All organisms were tested at the highest concentration possible based on the concentration of the culture (typically $\geq 1.0 \times 10^6$ CFU/mL for bacteria, $\geq 1.0 \times 10^4$ units/mL for viruses, and $\geq 1.0 \times 10^5$ cells/mL for fungi and protists). The cross-reactivity with *H. haemolyticus* and Rhinoviruses predicted by *in silico* analysis was confirmed by testing and cross-reactivity was also observed with *Cryptococcus amyloletus*, a near-neighbor to *Cryptococcus neoformans* that does not infect humans. No other cross-reactivity was predicted or observed.

NOTE: Precautions should be taken when handling CSF specimens to avoid contamination with potentially cross-reactive commensal or pathogenic organisms of the respiratory tract.

Table 22. Off-Panel Organisms Tested by the FilmArray ME Panel (cross-reactive organisms are in bold)

Gram-positive Bacteria	Gram-negative Bacteria	Viruses	
<i>Bacillus cereus</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	Adenovirus A12	Parainfluenza virus 2
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Citrobacter koseri</i>	Adenovirus B35	Parainfluenza virus 3
<i>Corynebacterium striatum</i>	<i>Cronobacter sakazakii</i>	Adenovirus C2	Parainfluenza virus 4
<i>Corynebacterium urealyticus</i>	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Adenovirus D20	Parvovirus B19
<i>Listeria ivanovii</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	Adenovirus E4	Respiratory Syncytial Virus
<i>Listeria innocua</i>	<i>Escherichia coli</i> (non-K1)	Adenovirus F41	Rotavirus
<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	<i>Escherichia fergusonii</i>	BK polyoma virus	Rubella Virus
<i>Propionibacterium acnes</i>	<i>Escherichia hermanii</i>	Coronavirus 229E	St. Louis Encephalitis Virus
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia vulneris</i>	Coronavirus NL63	West Nile Virus
<i>Staphylococcus capitis</i>	<i>Haemophilus ducreyi</i>	Coronavirus OC43	Fungi
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Haemophilus haemolyticus</i>^a	Dengue virus (Type 2)	<i>Aspergillus fumigatus</i>
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	<i>Haemophilus parahaemolyticus</i>	Epstein-Barr Virus	<i>Candida albicans</i>
<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	Hepatitis B virus (HBV)	<i>Candida krusei</i>
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Hepatitis C virus (HCV)	<i>Candida parapsilosis</i>
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	<i>Morganella morganii</i>		<i>Candida tropicalis</i>
<i>Streptococcus anginosus</i>	<i>Neisseria meningitidis</i> (Unencapsulated)	Human herpesvirus 8	<i>Cryptococcus albidus</i>
<i>Streptococcus bovis</i>	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Human Immunodeficiency Virus	<i>Cryptococcus amyloletus</i>^c
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	<i>Neisseria lactamica</i>	Human Rhinovirus A1^b	<i>Cryptococcus laurentii</i>
<i>Streptococcus intermedius</i>	<i>Neisseria mucosa</i>	Human Rhinovirus A16^b	<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>

Gram-positive Bacteria	Gram-negative Bacteria	Viruses	
<i>Streptococcus mitis (tigurinus)</i>	<i>Neisseria sicca</i>	Human Rhinovirus B3 ^b	<i>Filobasidium capsuligenum</i>
<i>Streptococcus mutans</i>	<i>Pantoea agglomerans</i>	Human Rhinovirus B83 ^b	
<i>Streptococcus oralis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Influenza A H1N1	Pathogenic Protists
<i>Streptococcus pseudopneumoniae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Influenza A H1N1-2009	<i>Naegleria fowleri</i>
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Salmonella bongori</i>		<i>Toxoplasma gondii</i>
<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Salmonella enterica</i>	Influenza B	
<i>Streptococcus sanguinis</i>	<i>Serratia marcescens</i>	JC polyoma virus	
	<i>Shigella boydii</i>	La Crosse Encephalitis Virus	
	<i>Shigella flexneri</i>	Measles Virus	
	<i>Shigella sonnei</i>	Mumps Virus	
	<i>Treponema pallidum</i>		

^a Detected by the FilmArray ME Panel as *Haemophilus influenzae*. *H. haemolyticus* is a commensal bacterium of the upper respiratory tract, rarely isolated from CSF. Cross-reactivity was observed only at concentrations > 1×10⁵ CFU/mL.

^b Detected by the FilmArray ME Panel as Enterovirus. Human Rhinoviruses are respiratory pathogens and rarely isolated from CSF.

^c Detected by the FilmArray ME Panel as *Cryptococcus neoformans/gattii*. *C. amyloletus* is not isolated from humans (normal habitat is insect frass).

Reproducibility

Multi-center and multi-system reproducibility studies were performed on FilmArray and FilmArray 2.0 to determine the reproducibility of the FilmArray Meningitis/Encephalitis (ME) Panel. Reproducibility testing of contrived samples was performed at three test sites (FilmArray) or at one site on three systems (FilmArray 2.0). The study incorporated a range of potential variation introduced by site or system, day, operator (at least two per site or system), pouch lot (at least three), and instrument (at least three per site and six per system). The samples contained various combinations of nine different ME Panel analytes, each at three different concentrations (Negative, Low Positive, and Moderate Positive). Frozen samples were tested on five different days for 90 data points per sample on FilmArray and 90 data points per sample on FilmArray 2.0.

A summary of results (percent (%) agreement with the expected result) for each analyte (by site or system) is provided in Table 23. The reproducibility of Tm for each positive assay (within site or system) is provided in the Table 24.

The FilmArray ME Panel demonstrated similar reproducibility on FilmArray and FilmArray 2.0 for all analytes with a Tm standard deviation for each assay of ± 0.5°C or less.

NOTE: The reproducibility of the FilmArray ME Panel results on the FilmArray Torch system was also evaluated in a similar study with equivalent results (agreement with the expected Detected and Not Detected results in ≥95.6% of samples tested, with a Tm standard deviation for each assay of ± 0.5°C or less).

Table 23. Reproducibility of the FilmArray ME Panel Test Results on FilmArray and FilmArray 2.0

Test Result (Organism/Isolate Tested)	Concentration Tested	Expected Result	Agreement with Expected Result							
			FilmArray			All Sites (95% Confidence Interval)	FilmArray 2.0			All Systems (95% Confidence Interval)
			Site A	Site B	Site C		System A	System B	System C	
BACTERIA										
<i>E. coli</i> K1 (ATCC 700973)	Moderate Positive 3x LoD 3x10 ³ CFU/mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1x LoD 1x10 ³ CFU/mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	29/30 96.7%	29/30 96.7%	29/30 96.7%	87/90 96.7% (90.6%-99.3%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
<i>H. influenzae</i> (ATCC 10211)	Moderate Positive 3x LoD 3x10 ³ CFU/mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1x LoD 1x10 ³ CFU/mL	Detected	29/30 96.7%	30/30 100%	30/30 100%	89/90 98.9% (94.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 13932)	Moderate Positive 3x LoD 3x10 ³ CFU/mL	Detected	29/30 96.7%	30/30 100%	30/30 100%	89/90 98.9% (94.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1x LoD 1x10 ³ CFU/mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
<i>N. meningitidis</i>	Negative (No analyte)	Not Detected	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0% - 100%)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)
<i>S. agalactiae</i> (ATCC 13813)	Moderate Positive 3x LoD 3x10 ³ CFU/mL	Detected	29/30 96.7%	30/30 100%	27/30 90.0%	86/90 95.6% (89.0%-98.8%)	29/30 96.7%	30/30 100%	29/30 96.7%	88/90 97.8% (92.2%-99.7%)

Test Result (Organism/Isolate Tested)	Concentration Tested	Expected Result	Agreement with Expected Result							
			FilmArray			All Sites (95% Confidence Interval)	FilmArray 2.0			All Systems (95% Confidence Interval)
			Site A	Site B	Site C		System A	System B	System C	
	Low Positive 1x LoD 1x10 ³ CFU/mL	Detected	26/30 86.7%	30/30 100%	27/30 90.0%	83/90 92.2% (84.6%-96.8%)	29/30 96.7%	29/30 96.7%	30/30 100%	88/90 97.8% (92.2%-99.7%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
	<i>S. pneumoniae</i>	Negative (No analyte)	Not Detected	118/120 98.3%	118/120 98.3%	118/120 98.3%	354/360 ^a 98.3% (96.4%-99.4%)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%
VIRUSES										
CMV	Negative (No analyte)	Not Detected	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)
EV <i>Coxsackievirus A9</i> (Zeptomatrix 0810017CF)	Moderate Positive 3x LoD 15 TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1x LoD 5 TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	28/30 93.3%	88/90 97.8% (92.2%-99.7%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
HSV-1	Negative (No analyte)	Not Detected	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)
HSV-2 (Zeptomatrix 0810006CF)	Moderate Positive 3x LoD 150 TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1x LoD 50 TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	29/30 96.7%	89/90 98.9% (94.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
HHV-6	Negative (No analyte)	Not Detected	120/120 100%	119/120 99.2%	120/120 100%	359/360 99.7% (98.5%-100%)	120/120 100%	120/120 100%	120/120 100%	360/360 100% (99.0%-100%)

Test Result (Organism/Isolate Tested)	Concentration Tested	Expected Result	Agreement with Expected Result							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Site A	Site B	Site C	All Sites (95% Confidence Interval)	System A	System B	System C	All Systems (95% Confidence Interval)
HPeV (Zeptomatrix 0810147CF)	Moderate Positive 3× LoD 1.5×10 ³ TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 1× LoD 500 TCID ₅₀ /mL	Detected	29/30 96.7%	30/30 100%	30/30 100%	89/90 98.9% (94.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
VZV (Zeptomatrix 0810171CF)	Moderate Positive 3× LoD 0.3 TCID ₅₀ /mL	Detected	29/30 96.7%	30/30 100%	30/30 100%	89/90 98.9% (94.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	29/30 96.7%	89/90 98.9% (94.0%-100%)
	Low Positive 1× LoD 0.1 TCID ₅₀ /mL	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)
YEAST										
<i>C. neoformans/gattii</i> <i>C. gattii</i> (ATCC MYA-4877)	Moderate Positive 30 ^x ^b or 3× LoD 3×10 ³ CFU/mL (FilmArray) 300 CFU/mL (FilmArray 2.0)	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)
	Low Positive 10 ^x ^b or 1x LoD 1×10 ³ CFU/mL (FilmArray) 100 CFU/mL (FilmArray 2.0)	Detected	30/30 100%	30/30 100%	30/30 100%	90/90 100% (96.0%-100%)	30/30 100%	30/30 100%	28/30 93.3%	88/90 97.8% (92.2%-99.7%)
	Negative (No analyte)	Not Detected	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)	60/60 100%	60/60 100%	60/60 100%	180/180 100% (98.0%-100%)

^a Six false positive *S. pneumoniae* results were reported. The unexpected results were observed at all three test sites, in different samples, on different days, and with different pouch lots. The overall incidence of false *S. pneumoniae* results observed in all reproducibility testing was <1%.

^b *C. gattii* was tested at concentrations equivalent to 10^x and 30^x LoD for the combined *Cryptococcus neoformans/gattii* test result on the FilmArray system, while *C. gattii* was tested at the intended 1x and 3x LoD concentrations on the FilmArray 2.0 system.

Table 24. Reproducibility of Tm (°C) For Select FilmArray ME Panel Assays on the FilmArray and FilmArray 2.0

Test Result (Organism/Isolate Tested)	Assay	Concentration Tested (× LoD)	Mean Tm (°C) (±StDev)							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Site A	Site B	Site C	All Sites	System A	System B	System C	All Systems
RNA Process Control	yeastRNA		82.4 ±0.2	82.5 ±0.3	82.0 ±0.2	82.3 ±0.3	81.7 ±0.3	81.9 ±0.3	81.7 ±0.3	81.8 ±0.3
PCR2 Control	PCR2		76.5 ±0.1	76.6 ±0.3	76.1 ±0.2	76.4 ±0.3	75.5 ±0.3	75.7 ±0.3	75.5 ±0.3	75.6 ±0.3
BACTERIA										
<i>E. coli</i> K1 (ATCC 700973)	Ecoli 3	3× LoD	82.9 ±0.1	82.8 ±0.3	82.6 ±0.1	82.8 ±0.3	82.1 ±0.3	82.3 ±0.3	82.1 ±0.3	82.2 ±0.3
		1× LoD	83.0 ±0.1	83.1 ±0.3	82.6 ±0.2	82.9 ±0.3	82.2 ±0.3	82.4 ±0.3	82.3 ±0.3	82.3 ±0.3
<i>H. influenzae</i> (ATCC 10211)	Hinfluenzae 1	3× LoD	78.6 ±0.1	78.6 ±0.4	78.2 ±0.2	78.5 ±0.4	77.9 ±0.3	77.9 ±0.3	77.7 ±0.2	77.8 ±0.3
		1× LoD	78.6 ±0.2	78.7 ±0.3	78.3 ±0.2	78.5 ±0.3	78.0 ±0.3	78.0 ±0.3	77.9 ±0.3	78.0 ±0.3
	Hinfluenzae 2	3× LoD	82.0 ±0.1	81.9 ±0.4	81.6 ±0.2	81.8 ±0.3	81.0 ±0.2	81.1 ±0.2	81.0 ±0.2	81.0 ±0.2
		1× LoD	82.0 ±0.1	82.0 ±0.3	81.7 ±0.2	81.9 ±0.3	81.2 ±0.2	81.3 ±0.2	81.2 ±0.2	81.2 ±0.2
<i>L. monocytogenes</i> (ATCC 13932)	Lmonocytogenes	3× LoD	80.4 ±0.2	80.6 ±0.3	80.2 ±0.2	80.4 ±0.3	80.0 ±0.4	80.1 ±0.3	80.0 ±0.3	80.0 ±0.3
		1× LoD	80.5 ±0.2	80.6 ±0.4	80.1 ±0.2	80.4 ±0.4	80.0 ±0.4	80.1 ±0.3	79.9 ±0.2	80.0 ±0.3
<i>S. agalactiae</i> (ATCC 13813)	Sagalactiae	3× LoD	82.0 ±0.1	82.0 ±0.3	81.6 ±0.2	81.9 ±0.3	81.1 ±0.3	81.3 ±0.3	81.2 ±0.2	81.2 ±0.3
		1× LoD	82.1 ±0.1	82.2 ±0.3	81.7 ±0.2	82.0 ±0.3	81.2 ±0.3	81.4 ±0.2	81.2 ±0.2	81.3 ±0.3
VIRUSES										
EV (Coxsackievirus A9) (Zeptomatrix 0810017CF)	EV2	3× LoD	89.7 ±0.1	89.7 ±0.3	89.3 ±0.2	89.6 ±0.3	89.1 ±0.3	89.3 ±0.3	89.2 ±0.3	89.2 ±0.3
		1× LoD	89.7 ±0.1	89.7 ±0.4	89.3 ±0.2	89.6 ±0.3	89.1 ±0.3	89.3 ±0.3	89.2 ±0.2	89.2 ±0.3
	HSV2 1	3× LoD	75.6 ±0.3	75.5 ±0.3	75.1 ±0.3	75.4 ±0.3	74.6 ±0.3	74.8 ±0.3	74.6 ±0.3	74.7 ±0.3

Test Result (Organism/Isolate Tested)	Assay	Concentration Tested (× LoD)	Mean Tm (°C) (±StDev)							
			FilmArray				FilmArray 2.0			
			Site A	Site B	Site C	All Sites	System A	System B	System C	All Systems
HSV-2 (Zeptomatrix 0810006CF)	HSV2 2	1× LoD	75.9 ±0.2	76.0 ±0.2	75.4 ±0.3	75.7 ±0.4	74.9 ±0.3	75.1 ±0.3	74.9 ±0.3	75.0 ±0.3
		3× LoD	88.8 ±0.2	88.9 ±0.4	88.4 ±0.2	88.7 ± 0.3	88.1 ±0.3	88.3 ±0.3	88.2 ±0.2	88.2 ±0.3
		1× LoD	88.9 ±0.2	89.0 ±0.3	88.5 ±0.2	88.8 ±0.4	88.2 ±0.3	88.5 ±0.3	88.3 ±0.2	88.3 ±0.3
		3× LoD	82.8 ±0.2	82.8 ±0.4	82.5 ±0.2	82.7 ± 0.3	82.2 ±0.3	82.3 ±0.3	82.1 ±0.2	82.2 ±0.3
HPeV (Zeptomatrix 0810147CF)	HPeV	1× LoD	82.8 ±0.2	82.9 ±0.3	82.5 ±0.2	82.7 ± 0.3	82.3 ±0.3	82.3 ±0.2	82.2 ±0.3	82.3 ±0.3
		3× LoD	88.9 ±0.2	89.0 ±0.4	88.5 ±0.2	88.8 ±0.4	88.5 ±0.2	88.5 ±0.2	88.4 ±0.2	88.5 ±0.3
VZV (Zeptomatrix 0810171CF)	VZV 1	1× LoD	89.0 ±0.2	89.0 ±0.5	88.5 ±0.2	88.8 ±0.4	88.5 ±0.3	88.5 ±0.3	88.3 ±0.2	88.4 ±0.3
		3× LoD	82.0 ±0.1	82.1 ±0.3	81.7 ±0.2	81.9 ± 0.3	81.5 ±0.3	81.5 ±0.2	81.4 ±0.2	81.5 ±0.2
	VZV 2	1× LoD	82.1 ±0.1	82.1 ±0.4	81.7 ±0.2	82.0 ± 0.3	81.5 ±0.3	81.5 ±0.2	81.4 ±0.2	81.5 ±0.2
		3× LoD	82.0 ±0.1	82.0 ±0.3	81.6 ±0.2	81.8 ± 0.3	81.2 ±0.3	81.4 ±0.3	81.3 ±0.3	81.3 ±0.3
YEAST										
<i>C. neoformans/gattii</i> (<i>C. gattii</i>) (ATCC MYA-4877)	Cryptococcus	30× ^a (FilmArray) 3× LoD (FilmArray 2.0)	82.0 ±0.1	82.0 ±0.3	81.6 ±0.2	81.8 ± 0.3	81.2 ±0.3	81.4 ±0.3	81.3 ±0.3	81.3 ±0.3
		10× ^a (FilmArray) 1× LoD (FilmArray 2.0)	82.0 ±0.2	82.1 ±0.2	81.6 ±0.2	81.9 ±0.3	81.3 ±0.3	81.5 ±0.4	81.3 ±0.2	81.4 ±0.3
		30× ^a (FilmArray) 3× LoD (FilmArray 2.0)	82.0 ±0.1	82.0 ±0.3	81.6 ±0.2	81.8 ± 0.3	81.2 ±0.3	81.4 ±0.3	81.3 ±0.3	81.3 ±0.3

^a *C. gattii* was tested at concentrations equivalent to 10× and 30× LoD for the combined *Cryptococcus neoformans/gattii* test result on the FilmArray system, while *C. gattii* was tested at the intended 1× and 3× LoD concentrations on the FilmArray 2.0 system.

Interference

Potentially interfering substances that could be present in CSF samples or introduced during specimen collection and testing were evaluated for their effect on FilmArray ME Panel performance. Each substance was added to contrived samples containing representative ME Panel organisms at concentrations equivalent to approximately 3× LoD. The concentration of substance added to the samples was equal to or greater than the highest level expected to be in CSF specimens (based on reference concentrations for normal or meningitis/encephalitis CSF, as indicated in Table 25).

The majority of substances evaluated had no effect on the FilmArray ME Panel control assays or organism test results. Valid results were obtained and each organism was detected in samples containing relevant and/or elevated levels of endogenous substances such as lactate, glucose, proteins (≤ 15 mg/mL), white blood cells, human genomic DNA, and blood, in samples added to transport media, and in samples containing ethanol (see Table 25). Interference or damage to the sample was observed with high levels of protein (albumin >15 mg/mL) or with bleach at a concentration > 0.1% (v/v).

Table 25. Effect of Potentially Interfering Substances on the FilmArray ME Panel

Endogenous Substances	Reference Concentration for CSF		Concentration Tested	Interference Results
	Normal	Meningitis/Encephalitis		
Glucose	40-70 mg/dL ⁸¹ (0.4-0.7 mg/mL)	≤ 70 mg/dL (≤ 0.7 mg/mL) ⁸²	990 mg/dL (9.9 mg/mL)	No Interference
Lactate	10-20 mg/dL ⁸¹ (0.1-0.2 mg/mL)	> 30 mg/dL (> 0.3 mg/mL) ⁸³	220 mg/dL (2.2 mg/mL)	No Interference
Protein [Albumin] ^a	45 mg/dL Total Protein (0.45 mg/mL) ⁸²	50-500 mg/dL Total Protein (0.5-5.0 mg/mL) ⁸²	5,000 mg/dL (50 mg/mL)	Interference ^b
			4,000 mg/dL (40 mg/mL)	Interference ^b
			1,500 mg/dL (15 mg/mL)	No Interference
			500 mg/dL (5 mg/mL)	No Interference
			100 mg/dL (1 mg/mL)	No Interference
Immunoglobulin (IgG)	0-8.0 mg/dL (0.0-0.08 mg/mL) ⁸⁴	> 8.0 mg/dL (> 0.08 mg/mL)	1000 mg/dL (10 mg/mL)	No Interference
White Blood Cells (WBC)	0-20 cells/μL ⁸⁵	5-5,000 cells/μL ⁸¹	10,000 cells/μL	No Interference
Human Genomic DNA ^c	≤ 0.068 ng/μL	≤ 17 ng/μL	20 ng/μL	No Interference
Human Whole Blood ^c	None ^d		10% (v/v)	No Interference
Hemoglobin	None ^d		200mg/dL (2 mg/mL)	No Interference
Transport Media	Concentration Tested		Result	
Trans-Isolate (T-I) Medium	50% (v/v)		No Interference	
Viral Transport Medium (VTM)	50% (v/v)		No Interference	
Disinfectants	Concentration Tested		Result	
Ethanol	7% (v/v)		No Interference	
Bleach	1% (v/v) [570 ppm chlorine in sample]		Interference ^e	
	0.1% (v/v) [57 ppm chlorine]		No Interference	
	0.01% (v/v) [5.7 ppm chlorine]		No Interference	
			No Interference	

^a Normal levels for albumin in CSF are between 0.0-0.27 mg/mL⁸³ or approximately half the total protein.

^b Interference (Not Detected results for one or more analytes in a sample) was observed only at concentrations substantially greater than the highest total protein levels expected in a CSF specimen.

^c Additional detection of HHV-6 was observed. Detection of this virus was suspected or confirmed to be a consequence of viral integration⁶⁶ rather than non-specific cross-reactivity or interference from the substance itself.

^d Blood (and hemoglobin) may be present in CSF specimens due to a bloody tap (lumbar puncture) or subarachnoid hemorrhage.

^e No organisms were detected despite normal function of the pouch control assays. Further investigation indicated the organisms were not detected due to bleach-associated damage (oxidation or other damage) to nucleic acids in the sample prior to testing.

NOTE: Due to the potential for interference from protein and the potential for specimen damage from bleach, care should be taken in the interpretation of negative FilmArray ME Panel test results from CSF specimens that may contain unusually high levels of proteins (>15 mg/mL) or specimens that may have been exposed to bleach prior to testing.

NOTE: Although transport media were not found to interfere with FilmArray ME Panel testing, the panel has not been validated for use with CSF specimens in transport media.

Potentially competing or interfering viruses and other microorganisms were also evaluated for their effect on FilmArray ME Panel performance (Table 26). Contrived samples containing representative ME Panel organisms at concentrations equivalent to approximately 3× LoD were spiked with high concentrations of other viruses, bacteria, or fungi that are detected by the ME Panel (competitive inhibition) or are not detected by the ME Panel (viral or microbial interference). Valid results were obtained and each 3× LoD ME Panel organism was detected in samples containing a high level of additional on-panel or off-panel organism.

Table 26. Effect of Potentially Competing or Interfering Viruses and Other Microorganisms on the FilmArray ME Panel

Competitive Inhibition	Concentration Tested	Results
<i>Escherichia coli</i> (K1)	1.02×10 ⁸ CFU/mL	No Inhibition/Interference
Coxsackievirus A9 (Enterovirus)	2.19×10 ⁵ TCID ₅₀ /mL	No Inhibition/Interference
Herpes simplex virus 1	1.95×10 ⁶ TCID ₅₀ /mL	No Inhibition/Interference
<i>Cryptococcus neoformans</i>	8.10×10 ⁵ CFU/mL	No Inhibition/Interference
Viral or Microbial Interference	Concentration Tested	Results
Epstein-Barr virus	1.64×10 ⁹ TCID ₅₀ /mL	No Interference
Influenza A H1N1-2009	2.45×10 ⁴ TCID ₅₀ /mL	No Interference
<i>Propionibacterium acnes</i>	1.12×10 ⁷ cells/mL	No Interference
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.95×10 ⁷ CFU/mL	No Interference
<i>Escherichia coli</i> (non-K1)	1.38×10 ⁸ CFU/mL	No Interference
<i>Staphylococcus aureus</i>	8.55×10 ⁶ CFU/mL	No Interference
<i>Candida albicans</i>	1.01×10 ⁶ CFU/mL	No Interference

REFERENCES

1. Thigpen, M. C. *et al.* Bacterial meningitis in the United States, 1998-2007. *N. Engl. J. Med.* **364**, 2016–2025 (2011).
2. Versalovic, J. & American Society for Microbiology. *Manual of clinical microbiology*. (ASM Press, 2011).
3. Kim, B. Y., Kang, J. & Kim, K. S. Invasion processes of pathogenic *Escherichia coli*. *Int. J. Med. Microbiol.* **295**, 463–470 (2005).
4. Gaschignard, J. *et al.* Neonatal Bacterial Meningitis: 444 Cases in 7 Years. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 212–217 (2011).
5. Lu, C. H., Chang, W. N., Chuang, Y. C. & Chang, H. W. The prognostic factors of adult gram-negative bacillary meningitis. *J. Hosp. Infect.* **40**, 27–34 (1998).
6. Gower, D. J., Barrows, A. A., 3rd, Kelly, D. L., Jr & Pegram, S., Jr. Gram-negative bacillary meningitis in the adult: review of 39 cases. *South. Med. J.* **79**, 1499–1502 (1986).
7. Agrawal, A. & Murphy, T. F. Haemophilus influenzae infections in the H. influenzae type b conjugate vaccine era. *J. Clin. Microbiol.* **49**, 3728–3732 (2011).
8. Ladhani, S. *et al.* Invasive Haemophilus influenzae Disease, Europe, 1996-2006. *Emerging Infect. Dis.* **16**, 455–463 (2010).
9. Brouwer, M. C., van de Beek, D., Heckenberg, S. G. B., Spanjaard, L. & de Gans, J. Community-acquired Haemophilus influenzae meningitis in adults. *Clin. Microbiol. Infect.* **13**, 439–442 (2007).
10. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. (Elsevier).
11. Wing, E. J. & Gregory, S. H. *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. *J. Infect. Dis.* **185 Suppl 1**, S18–24 (2002).
12. Disson, O. & Lecuit, M. Targeting of the central nervous system by *Listeria monocytogenes*. *Virulence* **3**, 213–221 (2012).
13. Vázquez-Boland, J. A. *et al.* *Listeria* pathogenesis and molecular virulence determinants. *Clin. Microbiol. Rev.* **14**, 584–640 (2001).
14. World Health Organization. Meningococcal meningitis fact sheet, February, 2015. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs141/en/>
15. Munro, R. Meningococcal disease: treatable but still terrifying. *Intern Med J* **32**, 165–169 (2002).
16. Pollard, A. J., Nadel, S., Ninis, N., Faust, S. N. & Levin, M. Emergency management of meningococcal disease: eight years on. *Arch. Dis. Child.* **92**, 283–286 (2007).
17. Cohn, A. C. *et al.* Prevention and control of meningococcal disease: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Recomm Rep* **62**, 1–28 (2013).
18. McIntyre, P. B., O'Brien, K. L., Greenwood, B. & van de Beek, D. Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide. *Lancet* **380**, 1703–1711 (2012).
19. Andersen, J., Christensen, R. & Hertel, J. Clinical features and epidemiology of septicaemia and meningitis in neonates due to *Streptococcus agalactiae* in Copenhagen County, Denmark: a 10 year survey from 1992 to 2001. *Acta Paediatr.* **93**, 1334–1339 (2004).
20. Verani, J. R., McGee, L., Schrag, S. J. & Division of Bacterial Diseases, National Center for Immunization and Respiratory Diseases, Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Prevention of perinatal group B

streptococcal disease--revised guidelines from CDC, 2010. *MMWR Recomm Rep* **59**, 1–36 (2010).

21. Schrag, S. J. *et al.* Group B streptococcal disease in the era of intrapartum antibiotic prophylaxis. *N. Engl. J. Med.* **342**, 15–20 (2000).
22. Rodriguez-Granger, J. *et al.* Prevention of group B streptococcal neonatal disease revisited. The DEVANI European project. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **31**, 2097–2104 (2012).
23. Heath, P. T. *et al.* Group B streptococcal disease in UK and Irish infants younger than 90 days. *Lancet* **363**, 292–294 (2004).
24. Dunne, D. W. & Quagliarello, V. Group B streptococcal meningitis in adults. *Medicine (Baltimore)* **72**, 1–10 (1993).
25. Domingo, P. *et al.* Group B streptococcal meningitis in adults: report of twelve cases and review. *Clin. Infect. Dis.* **25**, 1180–1187 (1997).
26. Brouwer, M. C., Tunkel, A. R. & van de Beek, D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. *Clin. Microbiol. Rev.* **23**, 467–492 (2010).
27. Scarborough, M. *et al.* Corticosteroids for bacterial meningitis in adults in sub-Saharan Africa. *N. Engl. J. Med.* **357**, 2441–2450 (2007).
28. Baraff, L. J., Lee, S. I. & Schriger, D. L. Outcomes of bacterial meningitis in children: a meta-analysis. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **12**, 389–394 (1993).
29. Østergaard, C., Konradsen, H. B. & Samuelsson, S. Clinical presentation and prognostic factors of *Streptococcus pneumoniae* meningitis according to the focus of infection. *BMC Infect. Dis.* **5**, 93 (2005).
30. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Use of 13-valent pneumococcal conjugate vaccine and 23-valent pneumococcal polysaccharide vaccine among children aged 6–18 years with immunocompromising conditions: recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices (ACIP). *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **62**, 521–524 (2013).
31. Musher, D. M. How effective is vaccination in preventing pneumococcal disease? *Infect. Dis. Clin. North Am.* **27**, 229–241 (2013).
32. Kothari, A., Ramachandran, V. G., Gupta, P., Singh, B. & Talwar, V. Seroprevalence of cytomegalovirus among voluntary blood donors in Delhi, India. *J Health Popul Nutr* **20**, 348–351 (2002).
33. Staras, S. A. S. *et al.* Seroprevalence of cytomegalovirus infection in the United States, 1988–1994. *Clin. Infect. Dis.* **43**, 1143–1151 (2006).
34. Rafailidis, P. I., Mourtzoukou, E. G., Varbobitis, I. C. & Falagas, M. E. Severe cytomegalovirus infection in apparently immunocompetent patients: a systematic review. *Virology* **5**, 47 (2008).
35. Drew, W. L. Cytomegalovirus Disease in the Highly Active Antiretroviral Therapy Era. *Curr Infect Dis Rep* **5**, 257–265 (2003).
36. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Nonpolio enterovirus and human parechovirus surveillance --- United States, 2006–2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 1577–1580 (2010).
37. Specter, S. *Clinical virology manual*. (ASM Press, 2009).
38. Cabrerizo, M. *et al.* Molecular characterization of enteroviruses associated with neurological infections in Spain, 2008. *J. Med. Virol.* **85**, 1975–1977 (2013).

39. Slika, S., Abbas, F. & Mahfouz, R. Implementation of the Cepheid Xpert EV assay for rapid detection of enteroviral meningitis: experience of a tertiary care center and a technical review. *Genet Test Mol Biomarkers* **17**, 232–235 (2013).
40. Dupuis, M. *et al.* Molecular detection of viral causes of encephalitis and meningitis in New York State. *J. Med. Virol.* **83**, 2172–2181 (2011).
41. Xu, F. *et al.* Trends in herpes simplex virus type 1 and type 2 seroprevalence in the United States. *JAMA* **296**, 964–973 (2006).
42. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14–49 years—United States, 2005–2008. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 456–459 (2010).
43. Wald, C. in *Human Herpesviruses: Biology, Therapy, and Immunoprophylaxis* (eds. Arvin, A., Campadelli-Fiume, G. & Mocarski, E. *et al.*) (Cambridge University Press, 2007).
44. Read, S. J. & Kurtz, J. B. Laboratory diagnosis of common viral infections of the central nervous system by using a single multiplex PCR screening assay. *J. Clin. Microbiol.* **37**, 1352–1355 (1999).
45. Salahuddin, S. Z. *et al.* Isolation of a new virus, HBLV, in patients with lymphoproliferative disorders. *Science* **234**, 596–601 (1986).
46. Braun, D. K., Dominguez, G. & Pellett, P. E. Human herpesvirus 6. *Clin. Microbiol. Rev.* **10**, 521–567 (1997).
47. Bates, M. *et al.* Predominant human herpesvirus 6 variant A infant infections in an HIV-1 endemic region of Sub-Saharan Africa. *Journal of Medical Virology* **81**, 779–789 (2009).
48. Álvarez-Lafuente, R., las Heras, V. De, Bartolomé, M., Picazo, J. J. & Arroyo, R. Relapsing-Remitting Multiple Sclerosis and Human Herpesvirus 6 Active Infection. *Archives of Neurology* **61**, 1523 (2004).
49. Luppi, M., Barozzi, P., Maiorana, A., Marasca, R. & Torelli, G. Human herpesvirus 6 infection in normal human brain tissue. *J. Infect. Dis.* **169**, 943–944 (1994).
50. Hall, C. B. *et al.* Human herpesvirus-6 infection in children. A prospective study of complications and reactivation. *N. Engl. J. Med.* **331**, 432–438 (1994).
51. Chan, P. K., Ng, H. K., Hui, M. & Cheng, A. F. Prevalence and distribution of human herpesvirus 6 variants A and B in adult human brain. *J. Med. Virol.* **64**, 42–46 (2001).
52. Ogata, M. *et al.* Human Herpesvirus 6 (HHV-6) Reactivation and HHV-6 Encephalitis After Allogeneic Hematopoietic Cell Transplantation: A Multicenter, Prospective Study. *Clinical Infectious Diseases* **57**, 671–681 (2013).
53. Stanway, G., Joki-Korpela, P. & Hyypiä, T. Human parechoviruses—biology and clinical significance. *Rev. Med. Virol.* **10**, 57–69 (2000).
54. Tauriainen, S. *et al.* Human parechovirus 1 infections in young children—no association with type 1 diabetes. *J. Med. Virol.* **79**, 457–462 (2007).
55. Westerhuis, B. *et al.* Human parechovirus seroprevalence in Finland and the Netherlands. *J. Clin. Virol.* **58**, 211–215 (2013).
56. Harvala, H., Wolthers, K. C. & Simmonds, P. Parechoviruses in children: understanding a new infection. *Curr. Opin. Infect. Dis.* **23**, 224–230 (2010).
57. Sharp, J. *et al.* Characteristics of young infants in whom human parechovirus, enterovirus or neither were detected in cerebrospinal fluid during sepsis evaluations. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **32**, 213–216 (2013).

58. Walters, B. *et al.* Detection of human parechovirus (HPeV)-3 in spinal fluid specimens from pediatric patients in the Chicago area. *J. Clin. Virol.* **52**, 187–191 (2011).
59. Renaud, C. *et al.* Introduction of a novel parechovirus RT-PCR clinical test in a regional medical center. *J. Clin. Virol.* **51**, 50–53 (2011).
60. Verboon-Maciolek, M. A. *et al.* Human parechovirus causes encephalitis with white matter injury in neonates. *Ann. Neurol.* **64**, 266–273 (2008).
61. Pierik, J. G., Gumbs, P. D., Fortanier, S. A., Van Steenwijk, P. C. & Postma, M. J. Epidemiological characteristics and societal burden of varicella zoster virus in the Netherlands. *BMC Infectious Diseases* **12**, 110 (2012).
62. Bonanni, P. *et al.* Varicella vaccination in Europe – taking the practical approach. *BMC Medicine* **7**, 26 (2009).
63. Dworkin, R. H. *et al.* Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin. Infect. Dis.* **44 Suppl 1**, S1–26 (2007).
64. Thomas, S. L. & Hall, A. J. What does epidemiology tell us about risk factors for herpes zoster? *Lancet Infect Dis* **4**, 26–33 (2004).
65. Yawn, B. P. & Gilden, D. The global epidemiology of herpes zoster. *Neurology* **81**, 928–930 (2013).
66. Mainka, C., Fuss, B., Geiger, H., Höfelmayr, H. & Wolff, M. H. Characterization of viremia at different stages of varicella-zoster virus infection. *J. Med. Virol.* **56**, 91–98 (1998).
67. Schünemann, S., Mainka, C. & Wolff, M. H. Subclinical reactivation of varicella-zoster virus in immunocompromised and immunocompetent individuals. *Intervirology* **41**, 98–102 (1998).
68. Gilden, D., Mahalingam, R., Nagel, M. A., Pugazhenti, S. & Cohrs, R. J. Review: The neurobiology of varicella zoster virus infection. *Neuropathol. Appl. Neurobiol.* **37**, 441–463 (2011).
69. Hasimoto e Souza, L. K. *et al.* Clinical and microbiological features of cryptococcal meningitis. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* **46**, 343–347 (2013).
70. Marr, K. A. *Cryptococcus gattii* as an important fungal pathogen of western North America. *Expert Rev Anti Infect Ther* **10**, 637–643 (2012).
71. McCulloh, R. J. *et al.* *Cryptococcus gattii* genotype VGI infection in New England. *Pediatr. Infect. Dis. J.* **30**, 1111–1114 (2011).
72. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Emergence of *Cryptococcus gattii*-- Pacific Northwest, 2004–2010. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **59**, 865–868 (2010).
73. Hagen, F. *et al.* Autochthonous and Dormant *Cryptococcus gattii* Infections in Europe. *Emerging Infectious Diseases* **18**, 1618–1624 (2012).
74. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. (2009).
75. Protection of Laboratory Workers From Occupationally Acquired Infections; Approved Guideline M29.
76. Adams, D. A. *et al.* Summary of Notifiable Diseases - United States, 2012. *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.* **61**, 1–122 (2014) at <<http://www.cdc.gov/mmwr/PDF/wk/mm6153.pdf>>
77. CIFORM Analysis of State Legal Authorities. at <<http://www.cifor.us/>>

78. Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions; NCCLS Approved Guideline. (2006).
79. User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance; NCCLS Approved Guideline. (2008).
80. Jaton, K., Ninet, B., Bille, J. & Greub, G. False-Negative PCR Result Due to Gene Polymorphism: the Example of *Neisseria meningitidis*. *Journal of Clinical Microbiology* **48**, 4590–4591 (2010).
81. Braunwald, E. *Principles of Internal Medicine*. (2001).
82. Solomon, T., Hart, I. J. & Beeching, N. J. Viral encephalitis: a clinician's guide. *Practical Neurology* **7**, 288–305 (2007).
83. R A Komorowski, S G Farmer, G A Hanson, and L L Hause. Cerebrospinal fluid lactic acid in diagnosis of meningitis. *J Clin Microbiol.* **8**, 89–92 (1978).
84. SFIN - Clinical: Cerebrospinal Fluid (CSF) IgG Index. at <<http://www.mayomedicallaboratories.com/test-catalog/Clinical+and+Interpretive/8009>>
85. Seehusen, D. A., Reeves, M. M. & Fomin, D. A. Cerebrospinal fluid analysis. *Am Fam Physician* **68**, 1103–1108 (2003).
86. Morissette, G. & Flamand, L. Herpesviruses and Chromosomal Integration. *Journal of Virology* **84**, 12100–12109 (2010).

WARRANTY INFORMATION

Product warranty information is available online at:

<http://www.biofiredx.com/support/>

For warranty information for customers outside the United States, contact the local bioMérieux sales representative or an authorized distributor.



A BIOMÉRIEUX COMPANY

*For additional information regarding our
products and applications, please contact
BioFire Diagnostics Customer Support
Department, local bioMérieux sales representative
or an authorized distributor.*