



HAL
open science

Évaluation médico-économique d'une PCR multiplexe pour le diagnostic rapide des bactériémies et fongémies

Arthur Devès

► **To cite this version:**

Arthur Devès. Évaluation médico-économique d'une PCR multiplexe pour le diagnostic rapide des bactériémies et fongémies. Sciences pharmaceutiques. 2021. dumas-03407771

HAL Id: dumas-03407771

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03407771>

Submitted on 28 Oct 2021

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.

La propriété intellectuelle du document reste entièrement celle du ou des auteurs. Les utilisateurs doivent respecter le droit d'auteur selon la législation en vigueur, et sont soumis aux règles habituelles du bon usage, comme pour les publications sur papier : respect des travaux originaux, citation, interdiction du pillage intellectuel, etc.

Il est mis à disposition de toute personne intéressée par l'intermédiaire de [l'archive ouverte DUMAS](#) (Dépôt Universitaire de Mémoires Après Soutenance).

Si vous désirez contacter son ou ses auteurs, nous vous invitons à consulter la page de DUMAS présentant le document. Si l'auteur l'a autorisé, son adresse mail apparaîtra lorsque vous cliquerez sur le bouton « Détails » (à droite du nom).

Dans le cas contraire, vous pouvez consulter en ligne les annuaires de l'ordre des médecins, des pharmaciens et des sages-femmes.

Contact à la Bibliothèque universitaire de Médecine Pharmacie de Grenoble :

bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

Année : 2021

ÉVALUATION MÉDICO-ÉCONOMIQUE D'UNE PCR MULTIPLEXE POUR LE
DIAGNOSTIC RAPIDE DES BACTÉRIÉMIES ET FONGÉMIES

THÈSE
POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE
SPÉCIALITÉ : BIOLOGIE MÉDICALE

Par M. Arthur DEVÈS

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE
GRENOBLE

Le : 25/10/2021

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE :

Président du jury :

Mme le Professeur Murielle CORNET

Membres :

M. le Docteur Yvan CASPAR (directeur de thèse)

Mme le Professeur Caroline LANDELLE

Mme le Docteur Patricia PAVESE

Mme le Professeur Carole SCHWEBEL

ENSEIGNANTS - CHERCHEURS Année 2021 / 2022

Doyen de la Faculté - **Pr. Michel SEVE**
Vice-Doyen Pédagogie - **Mr Pierre CAVAILLES**
Vice-Doyen Recherche – **Pr. Walid RACHIDI**

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE	HDR
MCF	ALDEBERT	DELPHINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheRex	Oui
PU-PH	ALLENET	BENOIT	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, THEMAS	Oui
PU	BAKRI	ABDELAZIZ	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
CDD	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	Oui
MCF	BELAIDI-CORSAT	ELISE	HP2, Inserm U1042	Oui
MAST	BELLET	BEATRICE	-	
MCF	BOUCHERLE	BENJAMIN	DPM - UMR 5063 CNRS	
PU	BOUMENDJEL	AHCENE	LRB /INSERM U 1039	Oui
MCF	BOURGOIN	SANDRINE	TIMC	
MCF	BRETON	JEAN	LCIB – UMR E3 CEA	Oui
MCF	BRIANCON-MARJOLLET	ANNE	HP2 – INSERM U1042	Oui
PU	BURMEISTER	WILHEM	UVHCI- UMI 3265 EMBL CNRS	Oui
MCU-PH	BUSSER	BENOIT	Institute for Advanced Biosciences, UGA / Inserm U 1209 / CNRS 5309	Oui
Professeur Emérite	CALOP	JEAN		Oui
MCF	CAVAILLES	PIERRE	IAB	
MCU-PH	CHANOINE	SEBASTIEN	CR UGA - INSERM U1209 - CNRS 5309	
AHU	CHEVALIER	SIMON	TIMC IMAG	
MCF	CHOISNARD	LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	
MCU-PH	CHOVELON	BENOIT	DPM – UMR 5063 CNRS	
MAST	COMBE	JEROME	-	
PU-PH	CORNET	MURIEL	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheRex	Oui
Professeur Emérite	DANEL	VINCENT	-	Oui
Professeur Emérite	DECOUT	JEAN-LUC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF Emérite	DELETRAZ-DELPORTE	MARTINE	LPSS – EAM 4129 LYON	équiv.
MCF	DEMEILLERS	CHRISTINE	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
PU-PH	DROUET	CHRISTIAN	GREPI EA7408	Oui
PU	DROUET	EMMANUEL	IBS – UMR 5075 CEA CNRS HIV & virus persistants Institut de Biologie Structurale	Oui
MCF	DURMORT	CLAIRE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	Oui
PU-PH	FAURE	PATRICE	DPM – UMR5063	Oui
MCF	FAURE-JOYEUX	MARIE	HP2 – INSERM U1042	Oui

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE	HDR
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	Oui
MCF	GEZE	ANNABELLE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF Emérite	GILLY	CATHERINE	DPM – UMR 5063 CNRS	équiv.
PU	GODIN-RIBUOT	DIANE	HP2 – INSERM U1042	Oui
MCF	GONINDARD	CHRISTELLE	LECA – UMR CNRS 5553	
Professeure Emérite	GRILLOT	RENEE	-	Oui
MCF	GUIEU	VALERIE	DPM – UMR 5063 CNRS	
CDD	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	Oui
AHU	LEENHARDT	JULIEN	INSERM – U1039	
PU	LENORMAND	JEAN-LUC	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS, TheReX	Oui
PU	MARTIN	DONALD	TIMC-IMAG UMR 5525 CNRS	Oui
PRCE	MATTHYS	LAURENCE	-	
AHU	MINOVES	MELANIE	HP2 – INSERM U1042	
PU	MOINARD	CHRISTOPHE	LBFA - INSERM U1055	Oui
PU-PH	MOSSUZ	PASCAL	IAB – INSERM U1209	Oui
MCF	MOUHAMADOU	BELLO	LECA – UMR 5553 CNRS	Oui
MCF	NICOLLE	EDWIGE	DPM – UMR 5063 CNRS	
MCF	OUKACINE	FARID	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	PERES	BASILE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
MCF	PEUCHMAUR	MARINE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	PEYRIN	ERIC	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
AHU	PLUCHART	HELENE	TIMC-IMAG – UMR 5525 CNRS, TheMAS	
PU	RACHIDI	WALID	BGE/BIOMICS/ CEA	Oui
PU	RAVELET	CORINNE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui
PU	RIBUOT	CHRISTOPHE	HP2 – INSERM U1042	Oui
Professeure Emérite	ROUSSEL	ANNE-MARIE	-	Oui
PU-PH	SEVE	MICHEL	TIMC	Oui
MCF	SOUARD	FLORENCE	DPM – UMR 5063 CNRS	Oui

STATUT	NOM	PRENOM	LABORATOIRE	HDR
MCF	SPANO	MONIQUE	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
MCF	TARBOURIECH	NICOLAS	IBS – UMR 5075 CEA CNRS	
CDD	TRUFFOT	AURELIE		
MCF	VANHAVERBEKE	CECILE	DPM – UMR 5063 CNRS	
MCF	WARTHER	DAVID	DPM	
Professeur Emérite	WOUESSIDJWE	DENIS	-	Oui

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 : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers

PAST : Professeur Associé à Temps Partiel

PRAG : Professeur Agrégé

PRCE : Professeur certifié affecté dans l'enseignement

PU : Professeur des Universités

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers

SyMMES : Systèmes Moléculaires et nanoMatériaux pour l'Energie et la Santé

TIMC-IMAG : Laboratoire Technique de l'Imagerie, de la Modélisation

UMR : Unité Mixte de Recherche

UVHCI: Unit of Virus Host Cell Interactions

Remerciements

À Madame le professeur Muriel Cornet, merci de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Soyez également remerciée d'avoir éveillé mon appétit pour l'infectiologie dès la PACES et de l'avoir maintenu durant mes études de Pharmacie.

À Madame le professeur Caroline Landelle, merci de votre engouement à juger ce travail et de l'attention que vous m'avez portée.

À Madame le professeur Carole Schwebel, merci me faire l'honneur de juger ce travail pour y apporter votre vision clinique.

À Madame le docteur Patricia Pavese, merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Les liens étroits entre votre discipline et la biologie sont à nouveau soulignés dans ce travail.

À Monsieur le Docteur Yvan Caspar, merci de votre gentillesse et de votre soutien constant pendant ces 2 années si particulières. Vos relectures attentives, vos conseils et votre savoir ont fait que cela a été un plaisir de travailler avec vous.

À ma mère, merci de ton implication dans ma vie et de ton amour inconditionnel.
À mon père, merci de m'avoir permis et donné envie de faire de grandes études.
À ma sœur, merci d'être présente dans les bons et mauvais moments.
À ma grand-mère Eveline, merci pour ton amour et ta fierté tout au long de ta vie.
À ma grand-mère Augusta, j'espère continuer à te faire honneur.

À mes amis de la faculté de Pharmacie de Grenoble, ces années n'auraient pas été si agréables sans vous :

- Lucien : la force tranquille, toujours calme, même dans les tempêtes
- Lou : la définition de la photogénie, malgré un goût particulier pour les bonnets
- Othilie : que je supporte depuis 8 interminables années mais qui arrive toujours à me faire rire et (surtout) râler
- Maxime : camarade de soirée à la main lourde et défenseur de la santé publique
- Pierre : notre Nostradamus toujours en selle et qui sait manier le couteau

Aux inconditionnels ZOB, merci d'avoir rendu mon internat inoubliable :

- Quentin (Le loustic) : même si tu viens d'ailleurs, les soirées, bars et discussions à Grenoble n'auraient pas eu le même goût sans toi. Tu manqueras particulièrement au prêtre que tu as formé
- Aurélien (Aurégien) : entre nous 2 c'est une histoire de nourriture et de vin. Merci pour les souvenirs du stage d'immunologie, Toulouse, Paris et les nombreux restaurants
- Julliane (Jus de Liane) : notre maman commère. Tu es un vrai bloc de gentillesse, discrétion, retenue et sang-froid. Reste solide comme un bloc à Dijon

- Vincent (VJPet) : tes talents sont nombreux, allant de chanteur-imitateur à malchance-man. Merci pour les fous rires, les discussions, les soirées. Le Sud a de la chance de t'avoir

À tous ceux rencontrés pendant l'internat :

- Meghann : merci pour ta gentillesse et ta douceur. Tu es un vrai loukoum !
- Salomé : je m'estime très chanceux d'être ton ami, mais mon foie moins....
- Gomech le ménache et Julien la marionnette : la plus belle paire de l'internat
- Jojo le rigolo : je crois que tu apprécies (supportes) mon humour tout-public depuis l'épisode roumain. Reste à savoir si tu vas survivre à la parasito...
- Giang le cuisinier : heureusement que tu seras encore dans le bureau pour faire des gâteaux gluants (et boire des teq-paf)
- Morgan la douche en garde : ou comment donner des AVC aux hors-filières
- Imad le branleur : garde ton humour particulier, tu auras ta revanche sur l'exploratrice
- Oriane : la comparse dans la lutte contre les bactéries et le fromage
- Vezizi la relève : de hauts espoirs reposent sur tes épaules, sois-en digne !
- Andrrrrrréani : Puisses-tu esquiver les arapèdes grenoblois et garder le cap
- Réza bruit de fond : Avec le recul, je te plains de nous avoir eu sur le dos pendant ta rédaction de thèse !
- Vincent Ronchonchon : Grand nounours spécialiste de la crème fouettée
- Caro l'aplasie : La légende raconte que tu étais déjà à l'IBP quand il était encore à Michallon
- Fanny la rouge : Docteur Fanny, miss Zhao. Gare à elle en soirée !
- A Aurélie et Sylviane : les meilleures secrétaires du labo

À tous les autres croisés sur la route : internes, biologistes, techniciens, secrétaires...
Merci pour votre présence

À mon pays,

*L'Ardecho ! L'Ardecho ! Merveillous païs
S'as pas vis l'Ardecho
N'as jamaï rein vis*

Table des matières

Liste des tableaux	9
Liste des figures	10
Liste des abréviations, sigles et acronymes.....	11
Introduction	12
1. Rappels bibliographiques	13
1.1. Les bactériémies et fongémies	13
1.1.1. Définition	13
1.1.2. Épidémiologie.....	15
1.1.2.1. Épidémiologie mondiale et européenne	15
1.1.2.2. Épidémiologie française.....	17
1.1.3. Principaux pathogènes impliqués	17
1.1.4. Impact médico-économique du sepsis	21
1.2. Diagnostic et traitement des bactériémies et fongémies	29
1.2.1. Prélèvement d'hémocultures	29
1.2.2. Diagnostic biologique des bactériémies et fongémies	34
1.2.3. Traitement des bactériémies et fongémies	53
1.2.4. Résistances	65
1.3. Techniques rapides d'identification des micro-organismes pathogènes et des gènes de résistance par PCR multiplexe syndromique.....	71
1.3.1. Technologies FilmArray et Verigene.....	72
1.3.2. Technologie ePlex.....	75
1.3.3. Principaux panels de PCR multiplexe syndromique commercialisés	81
1.4. Performances diagnostiques et impact médico-économique des PCR syndromiques	90
1.4.1. Cas des PCR multiplexes respiratoires	90
1.4.1.1. Protocoles des études	90
1.4.1.2. Performances microbiologiques.....	91
1.4.1.3. Impact clinique.....	92
1.4.1.4. Impact économique	94
1.4.2. Cas des PCR multiplexes gastro-intestinales	96
1.4.2.1. Protocoles des études	96
1.4.2.2. Performances microbiologiques.....	97
1.4.2.3. Impact clinique.....	97
1.4.2.4. Impact économique	98
1.4.3. Cas des PCR multiplexes pour le diagnostic des infections du système nerveux central	98

1.4.3.1.	Protocoles des études	98
1.4.3.2.	Performances microbiologiques	99
1.4.3.3.	Impact économique	100
1.4.4.	Cas des PCR multiplexes sur flacon d'hémoculture positif	101
1.4.4.1.	Protocoles des études	101
1.4.4.2.	Performances microbiologiques	104
1.4.4.3.	Impact clinique	107
1.4.4.4.	Impact économique	110
2.	L'étude HEMOFAST : matériels et méthodes	115
2.1.	Principe de l'étude	115
2.2.	Objectif principal	116
2.3.	Objectifs secondaires	117
2.4.	Travail personnel	122
3.	Analyse intermédiaire de l'étude	124
3.1.	Analyse descriptive	124
3.1.1.	Patients inclus dans l'étude	124
3.1.2.	Caractéristiques des hémocultures positives	127
3.1.2.1.	Délai de positivité des hémocultures positives	127
3.1.2.2.	Examen direct	127
3.1.2.3.	Résultats de la culture	127
3.1.3.	Performances de la PCR ePlex	129
3.1.4.	Diagnostic final retenu	133
3.2.	Analyse du critère de jugement principal	134
4.	Conclusion	137
5.	Références bibliographiques	139

Liste des tableaux

Tableau 1 : Score SOFA	14
Tableau 2 : Critères cliniques composant le score qSOFA.....	15
Tableau 3 : Évolution des bactériémies au CHUGA entre 2016 et 2019.....	19
Tableau 4 : Évolution des fongémies au CHUGA entre 2015 et 2019.....	20
Tableau 5 : Comparaison des différentes stratégies diagnostiques	26
Tableau 6 : Évolution du codage des sepsis et chocs septiques au CHUGA depuis 2015.....	27
Tableau 7 : Données économiques des épisodes de sepsis et choc septique au CHUGA entre 2015 et 2019.....	27
Tableau 8 : Temps médian estimé de positivité d'un flacon d'hémoculture selon l'agent infectieux	32
Tableau 9 : Modalités de prélèvement des hémocultures pour les patients adultes au CHUGA	33
Tableau 10 : Modalités de prélèvement des hémocultures pour les patients pédiatriques au CHUGA	33
Tableau 11 : Exemples d'aspects à la coloration de Gram et de morphologies des bactéries et levures	36
Tableau 12 : Protocole d'ensemencement des flacons d'hémoculture au CHUGA en fonction de l'examen microscopique	40
Tableau 13 : Antibiothérapie probabiliste en cas de patient instable et ne pouvant attendre les premiers résultats microbiologiques.....	60
Tableau 14 : Résumé des thérapeutiques anti-infectieuses adaptées selon l'agent infectieux en France.....	63
Tableau 15 : Détails des différentes carbapénémases les plus fréquentes en France	67
Tableau 16 : Prévalence des principales résistances au CHUGA depuis 2016.	70
Tableau 17 : Composition et principe du test FilmArray.	73
Tableau 18 : Composition et principe du test Verigene.	74
Tableau 19 : Liste des cibles du panel de la cartouche BCID-GN	76
Tableau 20 : Liste des cibles du panel de la cartouche BCID-GP	77
Tableau 21 : Panel de la cartouche fongique (n=15)	79
Tableau 22 : Principales PCR syndromiques respiratoires actuellement commercialisées	83
Tableau 23 : Principales PCR syndromiques gastro-intestinales actuellement commercialisées.....	85
Tableau 24 : Principales PCR syndromiques du SNC actuellement commercialisées ou en cours de développement	86
Tableau 25 : Principales PCR syndromiques du sepsis actuellement commercialisées.....	89
Tableau 26 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes respiratoires	91
Tableau 27 : Tableau récapitulatif de données médico-économiques des PCR syndromiques respiratoires	95
Tableau 28 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes gastro-intestinales.....	96
Tableau 29 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes « Système nerveux »	99
Tableau 30 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes sur flacons d'hémoculture positifs	103
Tableau 31 : Tableau récapitulatif de données médico-économiques des PCR syndromiques sur flacon d'hémoculture positif	114
Tableau 32 : Données socio-démographiques et comorbidités actives à l'inclusion.....	126
Tableau 33 : Bactéries et levures isolées par les techniques de culture conventionnelle dans les 2 bras de l'étude HEMOFAST.....	128
Tableau 34 : Bactéries et levures identifiées par la PCR ePlex dans les flacons d'hémoculture positifs monomicrobiens	130
Tableau 35 : Bactéries et levures identifiées par la PCR ePlex dans les 11 hémocultures polymicrobiennes.....	131
Tableau 36 : Résistances identifiées par la PCR.....	132
Tableau 37 : Portes d'entrée des infections caractérisées	134
Tableau 38 : Résultat de l'analyse du critère de jugement principal : taux de mise sous traitement optimisé avec un délai inférieur ou égal à 12 heures.....	135

Liste des figures

Figure 1 : Incidence des septicémies mondiales.....	16
Figure 2 : Répartition des différents organismes retrouvés dans les hémocultures (hors contamination) au CHUGA durant l'année 2019.....	19
Figure 3 : Écologie des fongémies au CHUGA, sur la période 2015-2019.....	21
Figure 4 : Représentation d'un flacon aérobic BD BACTEC®.....	31
Figure 5 : Schéma d'un automate BACTEC FX.....	35
Figure 6 : Schéma de la chaîne BD Kiestra® utilisée au CHUGA.....	41
Figure 7 : Colonies de <i>S. aureus</i> sur gélose COS.....	42
Figure 8 : Colonies d' <i>E. coli</i> sur gélose Drigalski.....	42
Figure 9 : Principe de la technologie MALDI-TOF.....	44
Figure 10 : Antibiogramme d'un staphylocoque doré.....	47
Figure 11 : Antibiogramme caractéristique d'une souche d' <i>E. cloacae</i> productrice de BLSE.....	48
Figure 12 : Antibiogrammes d'une souche d' <i>E. coli</i> produisant une céphalosporinase déréprimée. ...	49
Figure 13 : Tests de synergie d'une souche produisant une CDER (Oriapôle).....	49
Figure 14 : Détermination des CMI vancomycine et teicoplanine pour une souche de <i>S. aureus</i>	50
Figure 15 : CMI de ceftolozane/tazobactam (C/T), ciprofloxacine (CI), ceftazidime/avibactam (CZA) et céfépime (PM) d'une souche de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (CHUGA).....	51
Figure 16 : Capture d'écran du logiciel Adagio® utilisé au CHUGA.....	52
Figure 17 : Bandelettes E-test d'anidulafongine (AND), de voriconazole (VO), d'amphotéricine B (AP) et de fluconazole (FL) d'une souche de <i>C. krusei</i>	53
Figure 18 : Principes français de l'antibiothérapie du patient septique.....	59
Figure 19 : Évolution des principales résistances au cours des années 2016 à 2019 au CHUGA.....	70
Figure 20 : Déroulement technique du test ePlex®.....	75
Figure 21 : Image des 3 cartouches disponibles constituant le panel bactériémies et fongémies.....	79
Figure 22 : Représentation schématique de l'intérieur d'une cartouche.....	80
Figure 23: Représentation schématique du principe analytique de la PCR ePlex®.....	81
Figure 24 : Flowchart de l'étude HEMOFAST.....	121
Figure 25 : Organigramme des inclusions de l'étude HEMOFAST et des populations étudiées pour l'analyse intermédiaire.....	125
Figure 26 : Représentation schématique de l'analyse du critère de jugement principal.....	134

Liste des abréviations, sigles et acronymes

ADL	Activities of Daily Living (activité de la vie quotidienne (AVQ))
iADL	Instrumental Activities of Daily Living (activités instrumentales de la vie quotidienne)
ASP	Antimicrobial stewardship program (programmes de gestion de l'utilisation des antimicrobiens)
BCID	Blood Culture Identification (identification d'hémoculture)
BGN	Bacille à Gram négatif
BGP	Bacille à Gram positif
BLSE	Beta lactamase à spectre élargi
CDER	Céphalosporinase déréprimée
CGN	Cocci à Gram négatif
CGP	Cocci à Gram positif
CJP	Critère de jugement principal
CMI	Concentration minimale inhibitrice
C3G	Céphalosporines de 3ème génération
ET	Écart-type
FP	Fungal panel (panel fongique)
GN	Gram négatif
GP	Gram positif
IAS	Infections associées aux soins
IIQ	Intervalle interquartile
IMC	Indice de masse corporelle
IV	Intra-veineux(se)
LCS	Liquide cérébro-spinal
OR	Odds-ratio (rapport de cotes)
PEC	Prise en charge
PCR	Polymerase chain reaction
PLP	Protéines liant les pénicillines
PPA	Positive Percent Agreement (pourcentage de concordance positive)
SARM	<i>S. aureus</i> résistant à la méticilline
SASM	<i>S. aureus</i> sensible à la méticilline
SCoN	Staphylocoques à coagulase négative
Se	Sensibilité
SOC	Standard of care (norme des soins)
Sp	Spécificité
USI	Unités de soins intensifs
VVC	Voie veineuse centrale

Introduction

Malgré les progrès de la médecine, les bactériémies et fongémies restent des infections sévères présentant un taux de mortalité élevé. L'amélioration des techniques diagnostiques vise à raccourcir le délai d'obtention de l'identification du pathogène responsable de l'infection et de sa sensibilité aux traitements antibiotiques ou antifongiques. En effet, le pronostic des patients est lié à la rapidité d'instauration d'un traitement antibiotique efficace.

Des techniques diagnostiques rapides par PCR multiplexes, telles que la PCR ePlex BCID (GenMark Diagnostics) offrent depuis peu de nouvelles possibilités, mais leur positionnement dans la démarche diagnostique demande à être précisé. L'évaluation de l'impact médico-économique de ce test diagnostique innovant dans le cadre des bactériémies et fongémies fait l'objet de l'étude clinique HEMOFAST, dont le protocole et les premiers résultats seront présentés dans ce travail.

Dans la première partie de cette thèse, une large introduction bibliographique présentera le contexte des bactériémies et fongémies en termes d'épidémiologie (mondiale, européenne et française), de traitement et de stratégie diagnostique. Un focus sera également réalisé sur les nouvelles technologies diagnostiques par approche syndromique et leur impact médico-économique. Puis, les résultats de l'analyse intermédiaire de l'étude seront présentés.

1. Rappels bibliographiques

1.1. Les bactériémies et fongémies

1.1.1. Définition

Par définition, une bactériémie ou une fongémie est la présence viable de bactéries ou de champignons dans le sang. Une bactériémie transitoire peut être physiologique : notamment en période postprandiale ou après de légères effractions cutanéomuqueuses. Ce n'est pas le cas pour les fongémies. En revanche, les bactériémies et fongémies prolongées sont dues à un évènement infectieux sous-jacent, conduisant à une translocation sanguine suite à :

- un foyer infectieux (pneumopathie, infection des voies urinaires, infection digestive...)
- une infection d'une voie d'abord (voie veineuse centrale, picc-line...)
- une infection sur matériel (prothèse orthopédique, prothèse cardiaque...).

Lorsqu'elles deviennent prolongées, elles conduisent à un signal de danger pour le système immunitaire, entraînant une rupture de l'homéostasie par dysfonction d'organe(s). C'est l'état de sepsis. La définition du sepsis a été révisée en 2016 (1). Il est maintenant défini comme une dysfonction d'organe potentiellement fatale, causée par une réponse disproportionnée de l'hôte, vis-à-vis de l'infection. Le choc septique, quant à lui, est défini comme une sous-partie du sepsis dans laquelle les dysfonctions cellulaires et /ou métaboliques sont si importantes qu'elles augmentent la mortalité de façon substantielle par comparaison au sepsis seul (1). Les patients ont alors une hypotension persistante nécessitant l'administration de drogues vasopressives pour maintenir une pression artérielle moyenne ≥ 65 mmHg, ainsi qu'une lactatémie > 2

mmol/l malgré un remplissage adéquat. En cas de choc septique, la mortalité hospitalière augmente de 40% (1,2).

Plusieurs scores ont été développés, mais le plus utilisé est le score SOFA (Sequential Organ Failure Assessment), qui permet d'évaluer la sévérité de la dysfonction d'organe. C'est un score permettant de caractériser un patient septique : plus il est élevé, plus le patient a une probabilité accrue de décès. Ce score repose sur des critères cliniques et biologiques, définis dans le tableau 1 ci-dessous. Une personne sans comorbidités obtient un score SOFA égal à 0. *A contrario*, les patients avec un score SOFA ≥ 2 ont un risque de mortalité par sepsis d'environ 10%, ce qui selon l'état clinique des patients se traduit par un risque de décès de 2 à 25 fois plus élevé que chez les patients avec un score SOFA inférieur à 2 (1–3).

Score SOFA	1	2	3	4
Fonction respiratoire (PaO ₂ en mmHg)	< 400	< 300	< 200 (avec assistance respiratoire)	< 100
Hémostase Plaquettes (G/l)	< 150	< 100	< 50	< 20
Fonction hépatique Bilirubine (μ mol/l)	20-32	33-101	102-204	> 204
État cardiovasculaire Hypotension (doses en μ g/kg.min)	PAM < 70 mmHg	Dopamine ≤ 5 ou dobutamine (toute dose)	Dopamine > 5 ou adrénaline $\leq 0,1$ ou noradrénaline $\leq 0,1$	Dopamine > 15 ou adrénaline > 1 ou noradrénaline > 0,1
Fonctions supérieures Score Glasgow	13-14	10-12	6-9	< 6
Fonction rénale Créatininémie (μ mol/l) Ou volume urinaire	110-170	171-299	300-440 Ou < 500 ml/jour	> 440 Ou < 200 ml/jour

Tableau 1 : Score SOFA
Adapté d'après (3). PAM : pression artérielle moyenne

Le score qSOFA (quick SOFA, tableau 2) est une simplification du score SOFA qui permet de se passer des résultats biologiques nécessaires dans le calcul du score SOFA. Il permet, grâce à des données récupérables au lit du patient, d'identifier les

patients à risque d'aggravation (1,2). Le seuil est fixé à au moins 2, comme pour le score SOFA.

Critère clinique	Score
Fréquence respiratoire \geq 22/minute	1
Altération de l'état mental	1
Pression systolique \leq 100 mmHg	1

Tableau 2 : Critères cliniques composant le score qSOFA
D'après (1)

1.1.2. Épidémiologie

1.1.2.1. Épidémiologie mondiale et européenne

Selon la 70^{ème} assemblée mondiale de la santé de l'OMS de mai 2017, le sepsis tue chaque année 6 millions de personnes (4). À cette mortalité, s'ajoute de la morbidité : les survivants s'exposent à de nombreuses séquelles, notamment cognitives, apparaissant rapidement (5,6). *Iwashyna et al.* ont étudié les conséquences cognitives et fonctionnelles à long terme chez les survivants de sepsis sévère (ancienne définition avant la mise à jour de 2016, défini comme un sepsis compliqué par une dysfonction d'organe (7)). Il en ressort, que chez les patients sans limitation cognitive et fonctionnelle avant l'épisode septique, le sepsis générait en moyenne 1,57 nouvelle limitation et 1,50 chez les patients présentant déjà des limitations légères à modérées avant l'épisode (limitations dans les ADL ou iADL). Des déficiences cognitives modérées à sévères étaient présentes chez 6,1% des survivants avant l'épisode, contre 16,7% après l'épisode de sepsis (p-value<0,001). Ce déclin des fonctions physiques et cognitives persistait pendant au moins 8 ans (8).

Les données épidémiologiques les plus récentes sont celles de *Rudd et al.* qui, entre 1990 et 2017, montrent que le fardeau mondial du sepsis a été largement sous-estimé avec pour l'année 2017, 48,9 millions cas et 11 millions de morts, représentant 19,7%

de la mortalité totale de cette année. La tendance est néanmoins à la décroissance (-18,8% entre 1990 et 2017), mais une forte disparité persiste selon le niveau de développement des pays (Figure 1) (9). Cette décroissance, principalement observée dans les pays à haut niveau de développement, pourrait s'expliquer par un meilleur diagnostic et une thérapeutique qui s'est améliorée au fil des différentes recommandations (2).

En Europe, on estime à 1 200 000 le nombre annuel de bactériémies/fongémies, responsables de 157 000 décès (10). Toutefois, il reste compliqué d'avoir des statistiques exhaustives dans les pays à faible niveau de revenu (11).

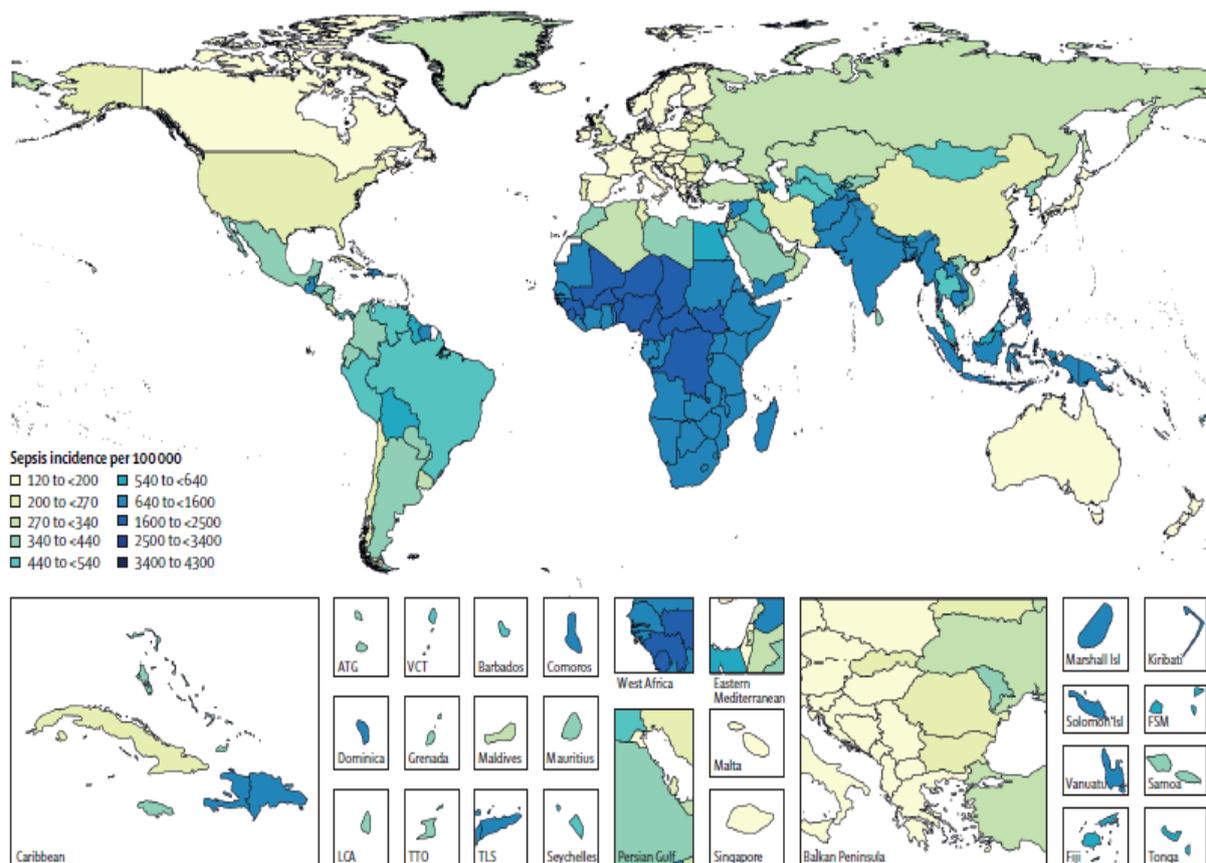


Figure 1 : Incidence des septicémies mondiales
Données normalisées selon l'âge pour 100 000 habitants, pour les deux sexes et en 2017. D'après (9).

Au niveau populationnel, le sepsis concerne principalement les âges extrêmes de la vie : les nouveau-nés et les personnes âgées. Il touche dans plus de la moitié des cas

les personnes âgées, et reste la première cause mondiale de décès pédiatriques, notamment à cause de la présentation clinique différente du sepsis chez les enfants, le rendant plus difficile à repérer, et de schémas thérapeutiques distincts (9,12,13).

1.1.2.2. Épidémiologie française

Annuellement, environ 30 000 patients décèdent en France pour cause de sepsis. L'augmentation du vieillissement de la population devrait logiquement entraîner une hausse de ce nombre. La mortalité en France des patients septiques est de 27% pour le sepsis simple, et 50% pour le choc septique (14). Cette mortalité des patients français en choc septique est élevée mais en diminution : en réanimation, elle passe de 60,1 % en 1993 à 39,5 % en 2010 et à l'hôpital de 62 % en 1997 à 48,7 % en 2011 (15,16).

Les bactériémies/fongémies peuvent être des infections communautaires et/ou associées aux soins. Selon les données de surveillance de Juin 2018 fournies par Santé Publique France, 5% environ des patients hospitalisés feront une infection associée aux soins (IAS). Les bactériémies se retrouvent à la 4^{ème} place de ces IAS. Si l'on s'intéresse à ce qui se passe en réanimation (réseau REA-RAISIN), 10% des patients qui ont un dispositif médical invasif (intubation, cathéter...) feront une infection liée à l'un de ces sites surveillés. Les bactériémies se retrouvent alors en seconde position, derrière les pneumopathies (17).

1.1.3. Principaux pathogènes impliqués

Les principaux microorganismes identifiés au cours de l'étude nationale de Santé publique France de 2017 appartenaient aux espèces *S. aureus* (15,94%), *E. coli* (14,49%) et *S. epidermidis* (13,9%), qui représentaient à elles trois presque la moitié des germes isolés (44,3 %). Les fongémies (*a fortiori* les candidémies) sont moins

fréquentes, mais sont de plus mauvais pronostic que les bactériémies, avec environ 40% de mortalité (18).

Les deux micromycètes les plus fréquemment impliqués étaient *Candida albicans* (2,9%) et *Candida parapsilosis* (1,06%) (19).

Dans la région Auvergne-Rhône-Alpes, le classement par ordre de fréquence des principaux microorganismes responsables d'infections nosocomiales était le suivant : *E. coli* (24,95%), *S. aureus* (13,74%), *S. epidermidis* (7,31%), *P. aeruginosa* (6,55%), *E. faecalis* (6,28%) et *K. pneumoniae* (6%) (20).

Au Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble-Alpes (CHUGA) au cours de l'année 2019, 73 988 flacons d'hémocultures bactériennes ont été prélevés : 7,05% (n = 5216) se sont révélés positifs, correspondant à 1 530 épisodes de bactériémies différents (les contaminations ayant été exclues). Le taux de contamination au CHUGA s'élevait à 0,36% (268 flacons sur les 73 988 prélevés), ce qui est conforme aux recommandations préconisant un taux de contamination < 3% voire < 1% en conditions optimales (21).

L'écologie bactérienne de ces épisodes était répartie de la façon suivante (Figure 2) :

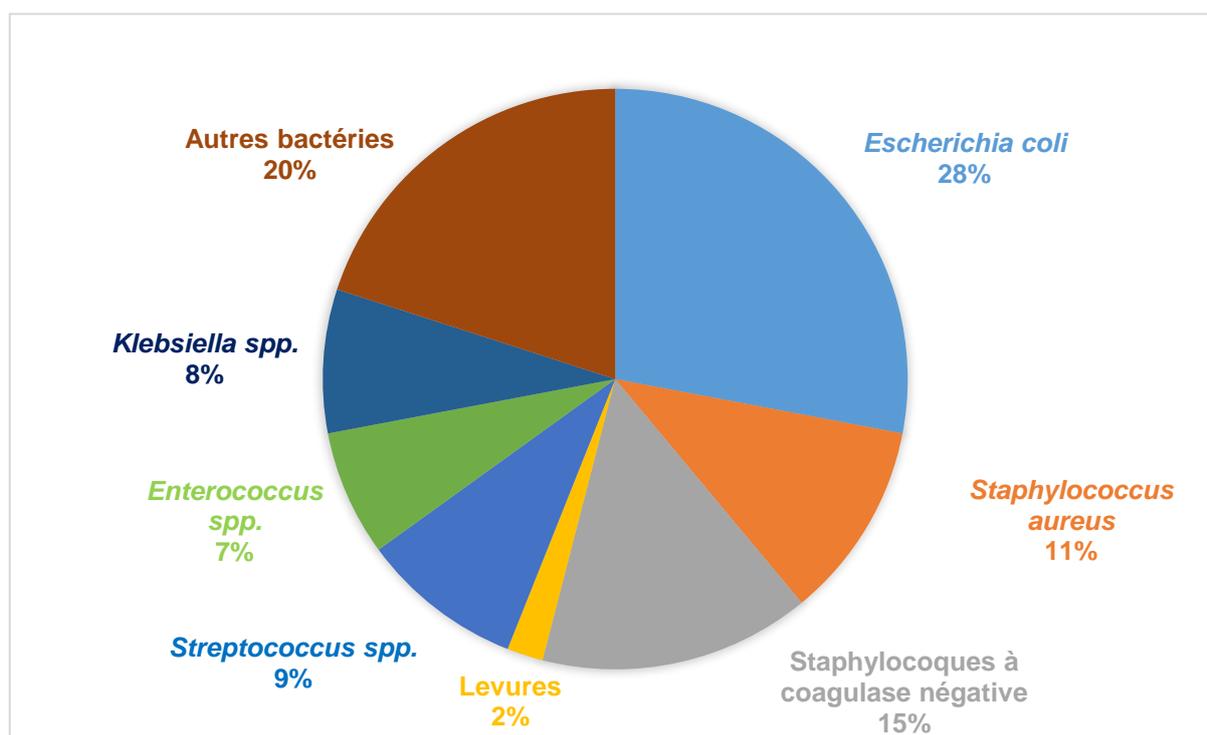


Figure 2 : Répartition des différents organismes retrouvés dans les hémocultures (hors contamination) au CHUGA durant l'année 2019.

D'après « Bilan des bactériémies 2016-2019, collaboration Bactériologie –Infectiologie –Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes »

Depuis la mise en place du réseau de surveillance en 2016 au CHUGA, l'évolution du nombre de bactériémies et de l'écologie bactérienne est la suivante (Tableau 3) :

	2016	2017	2018	2019
Nombre de flacons prélevés	69 024	63 698	72 134	73 988
Nombre de bactériémies	1433	1411	1512	1530
Taux de contamination	0,49%	0,45%	0,44%	0,36%
E. coli	23,9%	25,6%	26%	28%
S. aureus	9,7%	9,4%	13%	11%
Staphylocoques à coagulase négative	13,8%	12,6%	>8%	19%

Tableau 3 : Évolution des bactériémies au CHUGA entre 2016 et 2019.

D'après « Bilan des bactériémies 2016-2019, collaboration Bactériologie –Infectiologie –Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes »

Ainsi, nous notons une augmentation marquée du nombre de flacons prélevés depuis 2016, faisant suite à l'évolution des pratiques de prélèvement des hémocultures au CHUGA (prélèvement de 4 flacons lors de la ponction initiale). Le nombre d'épisodes de bactériémies est en revanche stable, avec un taux de contamination en pente descendante.

S'agissant des épisodes de fongémies, les données de 2015 à 2019 du laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHUGA montrent l'évolution ci-dessous (Tableau 4) :

Année	Nombre de flacons prélevés	Épisodes de fongémies
2015	7 940	37
2016	9 356	60
2017	6 864	25
2018	4 796	34
2019	3 966	52

Tableau 4 : Évolution des fongémies au CHUGA entre 2015 et 2019

Le nombre d'épisode de fongémies est relativement stable malgré un nombre de flacons prélevés en forte diminution.

Les données relatives à l'écologie fongique sont présentées dans la figure 3 :

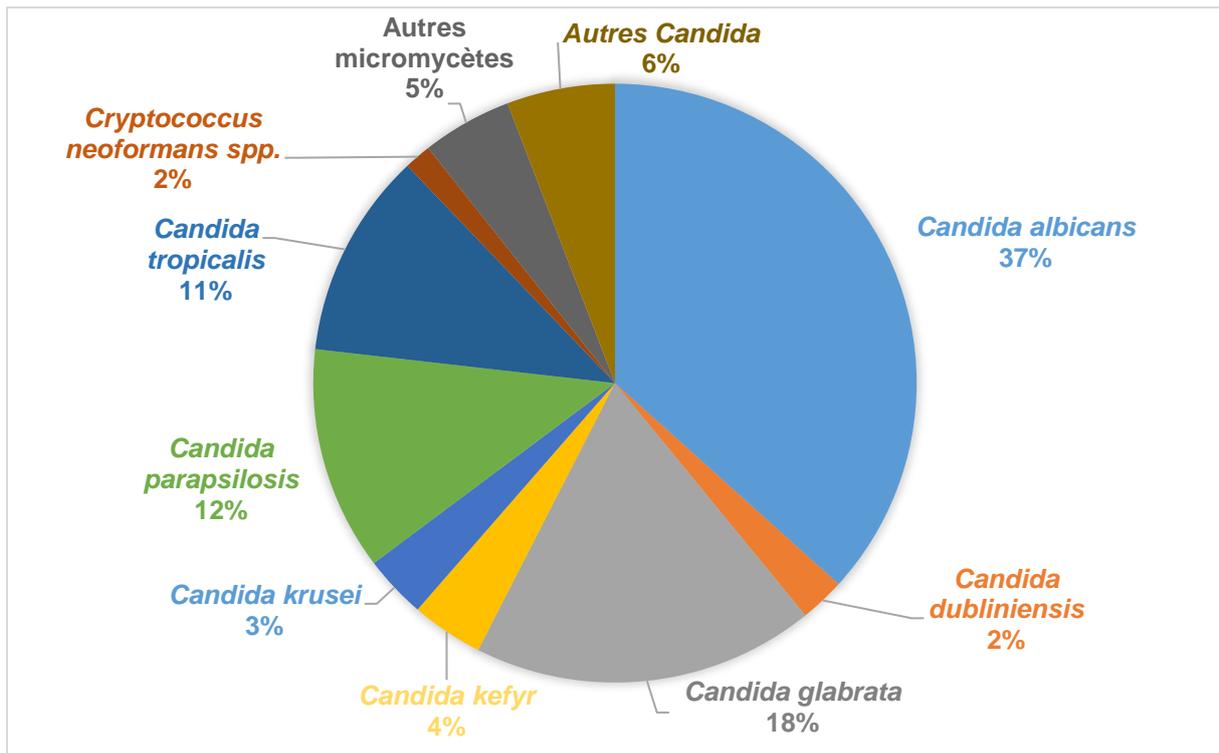


Figure 3 : Écologie des fongémies au CHUGA, sur la période 2015-2019

Une domination écrasante des levures du genre *Candida* est constatée, correspondant à 93% des isolats. Les espèces *C. albicans* et *C. glabrata* comptent pour 55% des levures mises en cause. Ces résultats sont en accord avec la littérature, puisque dans les candidoses systémiques, *C. albicans* est la levure prédominante, isolée dans plus de 50% des cas (22).

1.1.4. Impact médico-économique du sepsis

Les données françaises sont rares. *Adrie et al.* ont conduit une étude rétrospective de 1997 à 2000, sur des données issues de 6 unités de soins intensifs (USI) d'hôpitaux de région parisienne, pour estimer le coût (médical uniquement) des sepsis sévères en France chez des patients adultes, hospitalisés depuis au moins 2 jours. Le coût de séjour était deux fois plus élevé chez les patients en sepsis sévère (moyenne de 22 800€) que chez ceux en sepsis simple (9 600€), avec un coût moyen par jour de

1 267 € pour les patients sévères. Les coûts les plus importants du sepsis sévère étaient retrouvés chez les patients âgés, subissant une chirurgie d'urgence, en choc septique, avec un score APACHE II élevé ou avec un sepsis nosocomial. Les patients ayant contracté un sepsis sévère en USI avaient une plus grande durée de séjour en réanimation et demandaient une charge de travail plus importante, multipliant le coût d'un facteur 3 en comparaison aux autres patients. Les patients avec un sepsis communautaire généraient des coûts plus faibles que ceux présentant un sepsis nosocomial (12 600 vs 17 400€) (23).

Sur le territoire américain, une étude publiée en 2018 par *Paoli et al.* a démontré que le coût moyen d'un patient septique était de 21 568\$ avec, après stratification, une différence marquée entre les patients ayant un sepsis à l'admission (18 023\$) et ceux après admission (51 022\$). La durée de séjour et les coûts totaux grimpaient de 7,7 à 12,6 jours et de 16 324\$ à 38 298\$ entre les patients avec un sepsis sans dysfonction d'organe et les patients en choc septique (24). Les coûts peuvent cependant être allégés dans certaines situations. La détection et le traitement rapide des sepsis, avant progression vers des états graves, entraînent une moindre mortalité et donc une baisse statistiquement significative des coûts. Dans un hôpital américain, après mise en place d'une approche rapide de traitement des patients septiques arrivant aux urgences (administration d'antibiotique IV moins d'une heure après l'entrée), le bilan financier moyen d'un sepsis diminuait de 14 378\$ ± 11 972\$ à 12 311\$ ± 10 068 par cas (grâce notamment à une baisse de la durée de séjour en USI). Par ailleurs, une baisse de la mortalité, mais non significative ($p=0,113$), a été observée dans cette étude (25).

Une autre voie de rationalisation des dépenses passe par l'amélioration de la prise en charge biologique et des techniques diagnostiques. *Patel et al.* ont effectué une

comparaison avant-après la mise en place du MALDI-TOF (identification par MALDI-TOF sur des subcultures et antibiogramme par Vitek-2®) avec ASP (antimicrobial stewardship program), par rapport à l'ancienne technique conventionnelle (identification biochimique et antibiogramme par Vitek-2®). La mortalité à 30 jours était significativement abaissée dans le groupe MALDI-TOF (12% contre 21%, $p < 0,01$). Néanmoins, la durée de séjour ne semblait pas être réduite ($13 \pm 16,5$ jours contre $14,2 \pm 16,7$ jours ; $p = 0,4$). Le coût total pour l'hôpital par épisode de bactériémie diminuait significativement, passant de 42 580\$ à 45 019\$, malgré la charge financière supplémentaire de l'achat du MALDI-TOF et de l'ASP. Au total, cela générait une économie annuelle de 2,34 millions de dollars pour l'hôpital (26).

Toutefois, dans une revue systématique allemande s'intéressant aux coûts des sepsis dans les hôpitaux, il a été démontré une grande variabilité du coût estimé des sepsis entre les études sélectionnées, impliquant un besoin de standardisation (méthodes de calcul, modèle de questionnaire...), afin d'obtenir des résultats inter-études comparables et fiables. Les estimations des coûts variaient considérablement selon la méthode utilisée pour le calcul, le type de sepsis et la population étudiée. Sur 37 études incluses, la moyenne des coûts totaux d'un épisode de sepsis à l'hôpital par patient variait entre 13 292 et 75 015\$ avec une médiane de 32 421\$ (écart interquartile : 20 745-40 835\$). La médiane des coûts moyens différait entre les patients survivants (34 855\$) et les patients décédés (20 537\$). En unité de soins intensifs, on retrouvait une médiane de 27 461\$ (écart interquartile 16 007-31 251\$), avec cette fois-ci une moindre dépense chez les patients survivants (29 195\$) que chez les patients décédés (35 774\$). Le coût total journalier d'un sepsis en hôpital était de 586\$, avec une moyenne de 351\$ pour les survivants et 948\$ pour les patients décédés (27).

Des modélisations médico-économiques ont été réalisées dans le contexte du sepsis. *Zacharioudakis et al.* ont proposé, en 2019, un modèle d'analyse de décision pour étudier le rapport coût-efficacité d'une approche globale (service clinique et laboratoire), comprenant toutes les étapes de la prise en charge d'un patient souffrant de sepsis sévère ou d'un choc septique aux urgences et intégrant la possibilité de réaliser un diagnostic rapide à l'aide d'un test moléculaire. Les données du modèle ont été extrapolées à partir de la littérature. Le modèle décrit comprenait 2 bras : avec et sans réalisation d'un test moléculaire, effectué en même temps que les hémocultures, directement sur sang total. Les patients pouvaient, dans ce modèle, recevoir une antibiothérapie adaptée (AAT) ou inadaptée (IAAT), dont le pourcentage a été fixé à 85,1% et 14,9% respectivement, d'après les données de la littérature. Compte tenu de la variation des estimations, trois scénarios concernant la différence de la durée d'hospitalisation entre les patients recevant l'AAT et l'IAAT ont été implémentés, à savoir 0, 2 ou 4 jours. La sensibilité du test moléculaire a été fixée à 90% et les hémocultures à 100% car « gold standard » de ce modèle. Le coût d'hospitalisation a été fixé à 2 367,01\$ et le prix du test à 155\$. Le critère de jugement principal de l'analyse était le rapport coût-efficacité différentiel (ICER), en termes de décès évités, parmi les 2 stratégies concurrentes. L'ICER, étant défini comme le surcoût d'une stratégie divisé par la différence incrémentale de survie, correspond à un coût par année de vie gagnée, pondérée par la qualité de vie. Les coûts supplémentaires ont été estimés en tenant compte des différences dans les coûts attribués aux tests moléculaires et à la durée d'hospitalisation, en fonction de la pertinence du traitement antimicrobien.

Après évaluation statistique, l'utilisation de la méthode de diagnostic moléculaire était moins coûteuse et plus efficace dans le cas où la durée de séjour différait de 4 jours

entre les patients recevant l'AAT et l'IAAT (ICER - 7 302\$/décès évité et - 599\$/changement de l'IAAT vers l'AAT). Dans le cas où la durée de séjour était la même (ICER 9 902 \$/décès évité et 812 \$/changement de l'IAAT en AAT), ou ne différait que de 2 jours (ICER 1 300 \$/décès évité et 107 \$/changement de l'IAAT en AAT), l'utilisation du test moléculaire en complément des hémocultures était plus efficace mais plus coûteuse, avec un ICER estimé à $\leq 20\ 000$ \$/décès évité dans les deux cas. Leurs résultats ont spécifié que pour une différence d'au moins 2 jours de durée de séjour entre les patients sous AAT et IAAT, le test de diagnostic moléculaire aux urgences était coût-efficace pour une volonté de payer $\leq 20\ 000$ \$/décès évité (28).

Dans le même ordre d'idée, *Pliakos et al.* ont effectué une étude dont le but était d'évaluer le bénéfice médico-économique de stratégies concurrentes pour le diagnostic du sepsis, seules ou associées à un programme de gestion de l'utilisation des antimicrobiens (ASP) (29). À cet effet, ils ont construit un modèle d'analyse décisionnelle comparant 12 stratégies pour le diagnostic des bactériémies. Les principaux bras ont comparé l'utilisation de tests diagnostiques moléculaires rapides (mRDT, molecular rapid diagnostic tests) et des méthodes de laboratoire conventionnelles avec ou sans ASP. La stratégie utilisée comme norme était l'utilisation de méthodes de laboratoire conventionnelles sans ASP. Le modèle analytique de décision a évalué les rapports coût-efficacité de 5 stratégies principales : mRDT (avec et sans ASP), mRDT avec ASP, mRDT sans ASP, méthodes de laboratoire conventionnelles avec ASP et méthodes de laboratoire conventionnelles sans ASP. Le résultat calculé de l'analyse du scénario de référence était à nouveau l'ICER. La différence incrémentale d'efficacité était définie comme le nombre de QALY (quality-adjusted life year, qui correspond à une mesure des années de vie en parfaite

santé gagnées) gagnés et le nombre de décès évités. Les coûts supplémentaires ont été déterminés en calculant les différences des coûts de chaque stratégie (Tableau 5).

Stratégie évaluée	Coût moyen par patient (\$)	Probabilité de survie	QALY	\$/décès évité	\$/QALY gagné	Remarques
Méthodes conventionnelles sans ASP	55 932,02	0,85	11,45	Référence	Référence	Stratégie de référence
Méthodes conventionnelles avec ASP	41 723,98	0,84	11,31	/	/	Moins coûteux mais partiellement moins efficace dans les conditions de ce modèle → suboptimal, « coût efficace » si mortalité < 15%
mDRT (avec et sans ASP)	36 301,5	0,89	11,99	- 49 0763	- 36 434	Option coût-efficace
mDRT sans ASP	57 220,14	0,90	12,12	25 762	1 913	Probabilité de survie plus élevée mais stratégie plus coûteuse (coût additionnel par QALY gagné) → stratégie non coût-efficace
mDRT avec ASP	31 274,24	0,89	11,99	- 61 6445	- 45 764	Préviendrait 1 mort pour 25 patients testés Stratégie la plus coût-efficace par rapport à celle de référence

Tableau 5 : Comparaison des différentes stratégies diagnostiques
D'après (29)

Dans les plans coût-efficacité, les tests mDRT avaient une probabilité de 85,1% d'être coût-efficace comparés aux techniques conventionnelles de laboratoire sans ASP. De plus, les mDRT étaient une alternative coût-efficace aux méthodes conventionnelles, qu'ils soient ou non associés avec un ASP.

Un des résultats principaux de cette étude est qu'un mDRT avec ASP avait une probabilité bien supérieure d'être coût-efficace qu'un mDRT seul (80% contre 41,1%).

L'ASP améliorerait à la fois la survie des patients mais aussi les économies du système de santé.

Finalement, il apparaît donc assez difficile d'espérer une estimation précise des coûts des sepsis dans son hôpital sans s'y intéresser soi-même.

Au CHUGA, d'après les données du Département d'Information Médicale depuis 2015, le bilan financier est le suivant (Tableaux 6 et 7) :

Codage		2015	2016	2017	2018	2019
Séjours	choc	361	306	340	309	299
	sepsis	1 218	1 143	903	970	998
	sepsis + choc	183	155	171	179	174
	TOTAL	1 762	1 604	1 414	1 458	1 471
%	choc	20%	19%	24%	21%	20%
	sepsis	69%	71%	64%	67%	68%
	sepsis + choc	10%	10%	12%	12%	12%
	TOTAL	100%	100%	100%	100%	100%

Tableau 6 : Évolution du codage des sepsis et chocs septiques au CHUGA depuis 2015

Codage	Année	Nombre de séjours	Nombre de décès	Durée moyenne (jours)		Valorisation moyenne (€)	
				séjour	en réanimation	séjour*	en réanimation*
Sepsis	2015	1 218	142	21,6	7,9	15 323	6 567
	2016	1 143	114	20,9	6,7	15 689	5 734
	2017	903	100	22,0	8,0	16 254	6 478
	2018	970	108	21,4	6,7	15 771	6 021
	2019	998	119	22,5	6,6	15 231	5 812
Sepsis + choc	2015	183	56	34,8	29,5	23 963	21 352
	2016	155	48	31,8	28,1	24 394	21 967
	2017	171	41	29,0	24,2	22 442	19 977
	2018	179	58	30,7	27,2	24 520	22 770
	2019	174	62	30,3	24,5	21 158	18 106

Tableau 7 : Données économiques des épisodes de sepsis et choc septique au CHUGA entre 2015 et 2019.

*Séjour : valorisation du séjour (toutes les unités médicales sont considérées). En réa : valorisation attribuée aux seules unités médicales de réanimation

Dans le tableau 7, la valorisation ne correspond pas aux coûts réels engagés par l'hôpital, mais au montant remboursé par l'Assurance maladie (les coûts s'obtiendraient en prenant les dépenses réelles du CHUGA et en rapportant la part de ces séjours à l'activité totale de l'hôpital). En moyenne sur la période de temps 2005 - 2019, la valorisation d'un épisode de sepsis était de 15 653€ pour le séjour total (réanimation comprise) et 6 122 € en réanimation seule. En cas de choc septique, ces sommes augmentent respectivement à 23 295,6 € et 20 834,6 €. La durée moyenne de séjour pour un épisode de sepsis s'élevait à 21,7 jours et 7,2 jours en réanimation. Quant au choc septique, les durées de séjour montaient à 31,3 jours et 26,7 jours en réanimation.

En conclusion, même si sur notre centre la tendance semble être à la diminution du nombre de séjours hospitaliers pour cause de sepsis, la mortalité en 2019 reste élevée, aux alentours de 11% pour les patients présentant un sepsis et de 36% pour les patients en choc septique. La durée moyenne de séjour ne se réduit pas de façon notable sur la période 2015-2019, avec des coûts restant élevés.

Le prix moyen d'une cartouche de PCR syndromique (type FilmArray ou ePlex) est d'environ 150\$ ou €, voire inférieur. En se reportant au coût d'un épisode de sepsis au CHUGA, soit 15 653€, le prix d'une cartouche ne représenterait, au maximum, qu'1% du coût total d'hospitalisation d'un patient septique.

Toutes ces données renforcent l'intérêt de pratiques alternatives pour la gestion des sepsis et chocs septiques afin d'accélérer le diagnostic, d'améliorer la thérapeutique des patients, tout en espérant une augmentation de leur survie . Malgré le surcoût d'un test rapide, cela pourrait néanmoins conduire à une réduction ou une limitation *a minima* des coûts hospitaliers, via une diminution des délais d'hospitalisation.

1.2. Diagnostic et traitement des bactériémies et fongémies

1.2.1. Prélèvement d'hémocultures

Pour objectiver un épisode de sepsis, il faut une documentation microbiologique, c'est-à-dire la mise en évidence d'un ou de pathogène(s) dans le sang du patient. Le prélèvement sanguin se fait, idéalement, avant l'instauration d'une antibiothérapie ou d'un traitement antifongique. Dans les dernières recommandations internationales de 2016, il est conseillé d'effectuer les prélèvements à visée microbiologique avant l'instauration des thérapeutiques anti-infectieuses chez les patients avec un sepsis ou choc septique suspecté si cela n'entraîne pas de retard dans le début de l'antibiothérapie (proposition d'un délai acceptable de 45 minutes), incluant au minimum 2 paires de flacons d'hémoculture (aérobie et anaérobie) (30).

Une hémoculture est un examen biologique reposant sur une culture microbiologique du sang. En effet, lors d'un épisode de sepsis, la charge sanguine du pathogène est faible (de < 1 à 30 CFU/ml chez l'adulte et de < 5 à 1000 CFU/ml chez le nouveau-né), ne permettant pas de pouvoir directement détecter le micro-organisme en cause directement sur sang total (31,32). Quelques stratégies moléculaires innovantes sur sang total sont en développement, mais elles n'atteignent pas encore une sensibilité et spécificité comparables aux techniques réalisées sur flacon d'hémoculture positif (33,34). Nous pouvons citer la société T2 Biosystems, qui a développé le premier panel approuvé par la FDA pour la recherche sur sang total (Panels T2) (35).

Lors de la réalisation d'une hémoculture, le sang du patient est recueilli dans des milieux de culture liquides. Une série (ou une paire) d'hémoculture regroupe 2 flacons : un flacon contenant une atmosphère aérobie et un flacon avec une atmosphère anaérobie.

Au CHU de Grenoble, les flacons d'hémoculture utilisés sont (36) :

- Flacon BD BACTEC™ Plus Aerobic/F pour la recherche des microorganismes à croissance aérobie (mais ce milieu permet aussi parfois la croissance des levures). Ce flacon contient des résines chélatrices d'antibiotiques dans 25 ml de milieu trypticase-soja enrichi (Figure 4).
- Flacon BD BACTEC™ Lytic/10 Anaerobic/F pour les micro-organismes à croissance anaérobie. Ce flacon contient 40 ml de bouillon trypticase-soja enrichi avec des agents lytiques, pour libérer d'éventuelles bactéries phagocytées par les leucocytes du patient.
- Flacon BD BACTEC™ Mycosis IC/F, prélevé en cas de suspicion de fongémie, pour la culture de levures/champignons. Le milieu contient des antibiotiques (pour inhiber la pousse bactérienne éventuelle qui perturberait la détection d'une croissance fongique) dans 40 ml de bouillon trypticase-soja enrichi.
- Flacon pédiatrique BD BACTEC™ Peds Plus/F (atmosphère aérobie), pour les enfants de moins de 40 kilogrammes. Le volume de sang attendu est croissant avec le poids de l'enfant, mais ce flacon est conçu pour fonctionner avec un volume de sang inférieur à 3 ml.

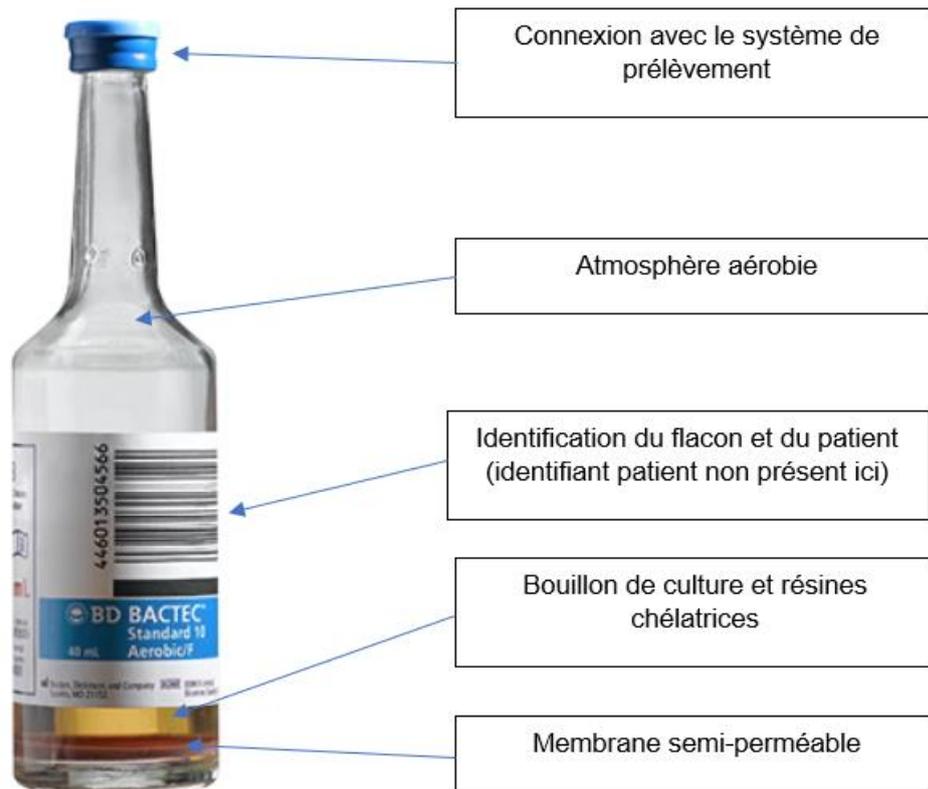


Figure 4 : Représentation d'un flacon aérobie BD BACTEC®
Adapté d'après <https://www.bd.com/en-ca/offerings/capabilities/microbiology-solutions/blood-culture/bd-bactec-blood-culture-media>

Le prélèvement des hémocultures est une étape critique conditionnant la sensibilité des hémocultures et leur spécificité bactérienne. Les étapes pré-analytiques critiques de ce prélèvement sont, notamment (21) :

- l'asepsie soignée de la peau, pour éviter une contamination par la flore cutanée (le taux de contamination doit être < 3% et < 1% de façon optimale)
- un remplissage adéquat des flacons, pour éviter un résultat « faux-négatif » par défaut de sensibilité (un volume entre 8 et 10 ml est recommandé)
- le nombre de flacons prélevés, l'idéal se situant entre 4 et 6 paires.

Effectivement, sur 351 épisodes de bactériémies monomicrobiennes avec 4 paires prélevées sur 24 heures, 73,2% de ces épisodes seulement étaient détectés par la

première paire, contre 87,7% avec 2 paires, 96,9% avec 3 paires et 99,7% lors de la réalisation de 4 paires (37)

- un délai entre le prélèvement et la mise en incubation du flacon au laboratoire le plus court possible, idéalement dans les 4 heures

L'établissement de conditions de croissance des plus favorables, au sein du flacon d'hémoculture, doit permettre une croissance du pathogène la plus rapide possible. Le temps de positivité de l'hémoculture est une donnée multifactorielle : il est donc bien compliqué de donner une estimation du temps nécessaire à sa positivité. Certains auteurs ont toutefois estimé à 3 jours maximum le temps nécessaire pour isoler des hémocultures les pathogènes cliniquement significatifs (38). Dans quelques études récentes, le temps médian de positivité d'une hémoculture en fonction du résultat de la coloration de Gram a été mesuré (Tableau 8) :

Microorganismes	Temps médian de la positivité en heures (écart interquartile)	Référence
Bactéries	15,5 (11,5-22)	(39)
À Gram positif	17,5 (12,5-23)	
À Gram négatif	14 (10,5-20)	
Micromycètes	27,5 (22-38)	(40)
Bactéries à Gram positif aérobies	16,3 (13,6-19,8)	
Bactéries à Gram négatif aérobies	15,5 (13,1-19,3)	
Anaérobies	32,6 (24,1-46,6)	

Tableau 8 : Temps médian estimé de positivité d'un flacon d'hémoculture selon l'agent infectieux

La recherche de la porte d'entrée de la bactériémie ou fongémie peut conduire à la réalisation d'autres prélèvements : LCS, urines, plaies, sécrétions respiratoires... Si un site anatomique est fortement en faveur de l'origine de l'infection, le prélèvement d'autres sites n'est pas nécessaire. En cas de doute sur une porte d'entrée au niveau d'un cathéter, on prélèvera une paire de flacon en périphérie et une paire sur le

cathéter. Il n'y a pas besoin de prélever des hémocultures sur des points de ponction différents, ni durant les pics thermiques dans les autres cas (30).

Les modalités de prélèvement des séries d'hémocultures en vigueur au CHU de Grenoble sont les suivantes (Tableau 9) :

Situation clinique suspectée	Modalités de prélèvement
Épisode infectieux simple	2 séries en une seule ponction
Infection endovasculaire ou endocardite infectieuse	2 séries en une seule ponction Puis une autre série à h+12
Infection de dispositif vasculaire invasif	1 série prélevée depuis le dispositif 1 série prélevée en périphérie
Infection fongique	1 flacon d'hémoculture fongique
Contrôle	1 série

Tableau 9 : Modalités de prélèvement des hémocultures pour les patients adultes au CHUGA

En cas de sepsis chez les enfants, le principe de prélèvement reste le même, avec cependant des différences concernant le type de flacon utilisé, le nombre de flacons à prélever et le volume de sang prélevé (Tableau 10).

Situation clinique pédiatrique suspectée	Modalités de prélèvement
Épisode infectieux simple	2 flacons pédiatriques en une seule ponction
Infection endovasculaire ou endocardite infectieuse	2 flacons pédiatriques en une seule ponction Puis une autre série à h+12
Infection de dispositif vasculaire invasif	1 série prélevée depuis le dispositif 1 série en périphérie
Infection fongique	1 flacon d'hémoculture fongique
Contrôle	1 série

Tableau 10 : Modalités de prélèvement des hémocultures pour les patients pédiatriques au CHUGA

Un contrôle des épisodes de bactériémies, consistant à prélever une seule série d'hémoculture avec un délai d'au moins 48 heures entre deux ponctions, n'est pas nécessaire sauf en cas de suspicion d'infection endovasculaire ou d'endocardite infectieuse (toutes les 48h jusqu'à négativation), de fongémie (toutes les 48h jusqu'à négativation), de bactériémie à *S. aureus* (toutes les 48h jusqu'à négativation), de

sepsis non contrôlé (à 48h) ou en cas de volonté de conserver un dispositif veineux central infecté (à 72h et toujours en discutant l'ablation du dispositif si les prélèvements demeurent positifs).

1.2.2. Diagnostic biologique des bactériémies et fongémies

Les techniques diagnostiques conventionnelles sont principalement basées sur la culture en milieu gélosé. En revanche, elles peuvent faire intervenir des automates assez variés. Un focus sur les techniques diagnostiques utilisées plus particulièrement au CHUGA sera réalisé dans les paragraphes suivants, car il s'agit de la stratégie diagnostique conventionnelle utilisée dans l'étude HEMOFAST faisant l'objet de cette thèse.

1.2.2.1. Incubation et positivité des flacons d'hémoculture

Une fois que le flacon d'hémoculture fongique ou que les flacons d'hémoculture bactérienne ont été réceptionnés au laboratoire, commence alors l'étape d'incubation de ces flacons dans des automates dédiés (BD Bactec FX® Becton Dickinson au CHUGA). À l'intérieur du flacon, la phase de croissance de la bactérie va consommer de l'oxygène et libérer du dioxyde de carbone, via son métabolisme énergétique, qui va diffuser dans la partie inférieure du flacon Bactec® contenant une membrane semi-perméable, où il va réagir avec un colorant rouge et permettre la détection de la positivité du flacon, par mesure de fluorescence. Concernant l'hémoculture fongique, le principe est le même : chaque flacon contient un détecteur chimique qui analyse toute augmentation en CO₂ résultant du métabolisme des micromycètes. Une mesure effectuée toutes les dix minutes recherche une augmentation de la fluorescence, elle-même proportionnelle à la quantité de CO₂ générée (41).

Les automates utilisés aux laboratoires de bactériologie et parasitologie–mycologie du CHUGA sont 5 automates de type BACTEC FX, pour une capacité totale de 1800 flacons (Figure 5). La présence d'un flacon positif est signalée par l'automate par un indicateur lumineux rouge et une alarme sonore.

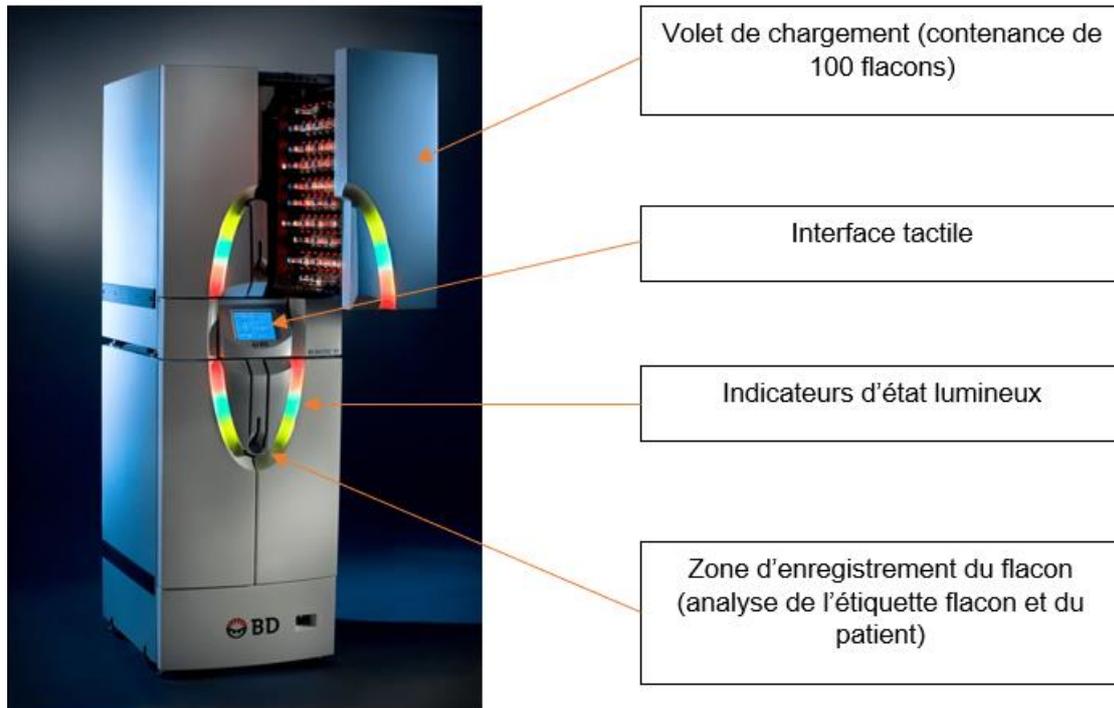


Figure 5 : Schéma d'un automate BACTEC FX
Adapté d'après <https://titan.ng/>

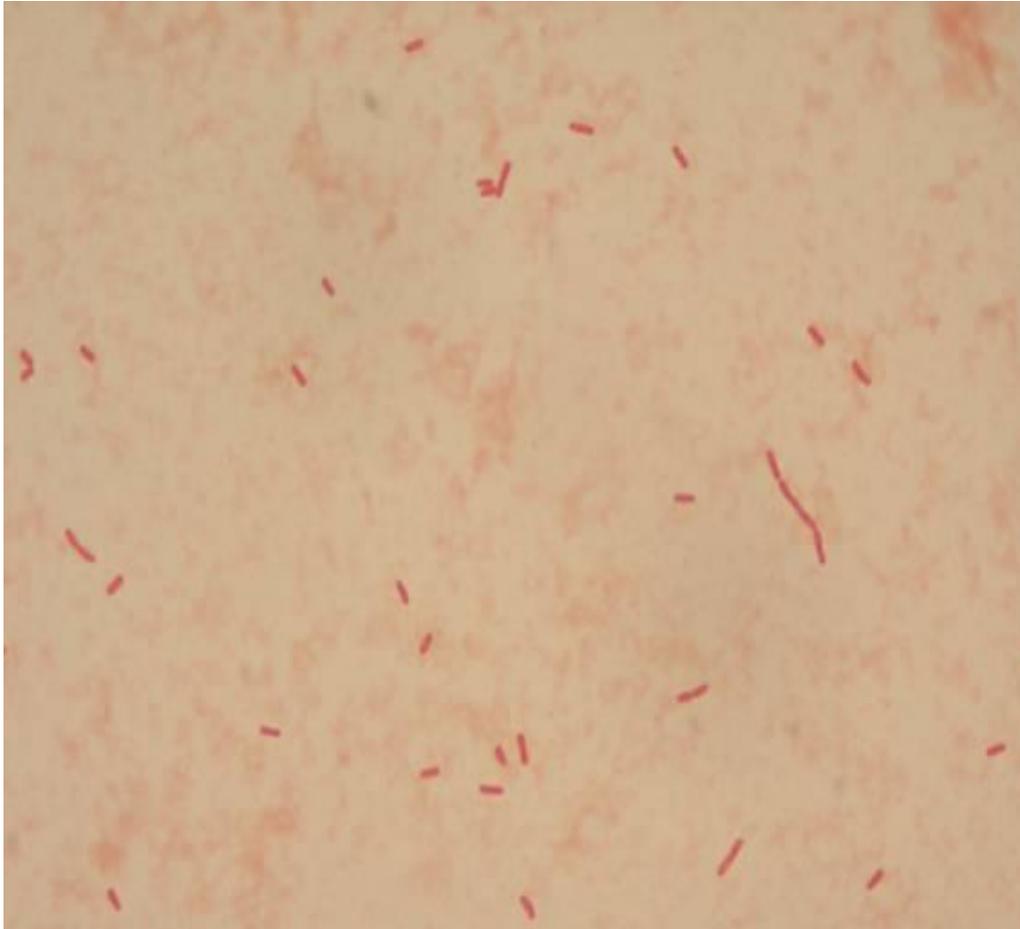
1.2.2.2. Examen microscopique

Une fois l'hémoculture positive retirée de l'incubateur, le personnel du laboratoire effectue un examen microscopique du liquide contenu dans le flacon. Cette étape permet une orientation vers le type de bactérie responsable selon le résultat de la coloration de Gram et de la morphologie du pathogène observé (Tableau 11).

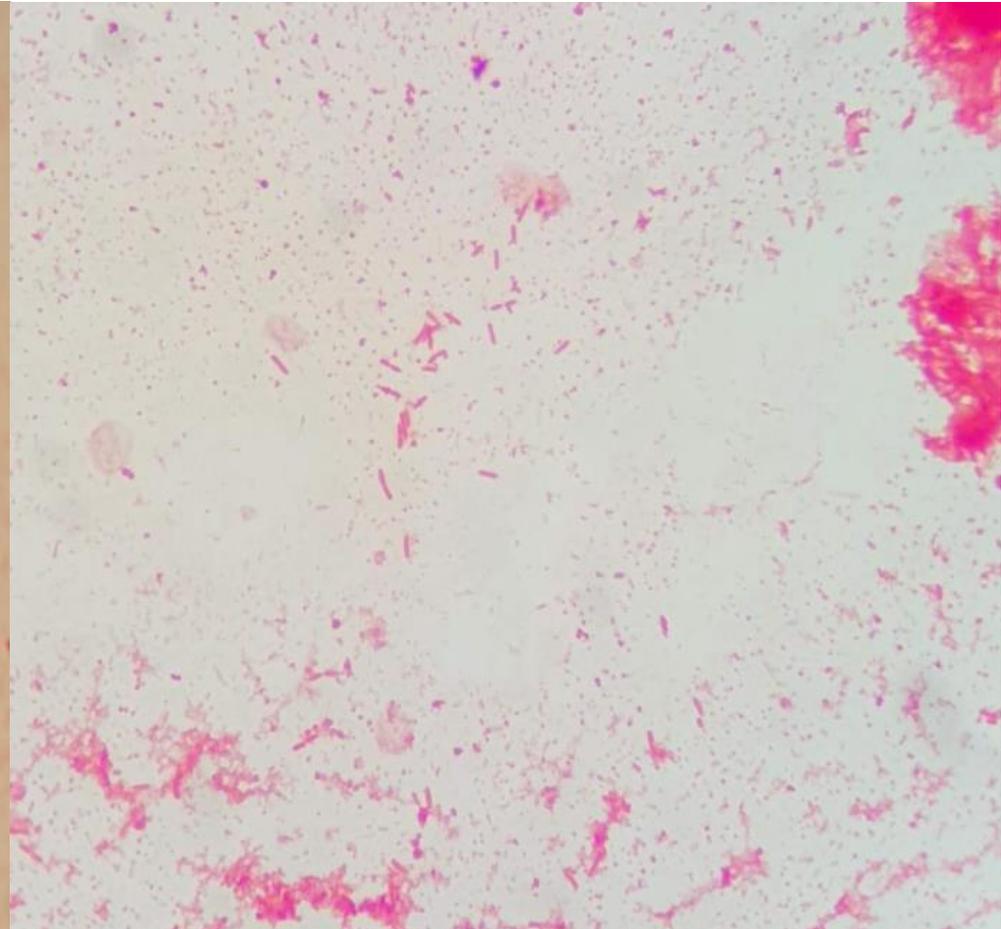
Aspect à la coloration de Gram	Morphologie	Exemples de bactéries/levures	Images
Cocci à Gram négatif	Réniforme ou en « grains de café »	<i>Neisseria spp.</i>	
Bacilles à Gram négatif	De type entérobactérie (petit et trapu)	<i>E. coli</i>	Gram 1
	De type Pseudomonas et apparentés (longiligne)	<i>Pseudomonas spp.</i>	Gram 2
Cocci à Gram positif	En amas	<i>Staphylococcus spp.</i>	Gram 3
	En chainettes	<i>Streptococcus spp.</i>	Gram 4
Bacilles à Gram positif	Sporulés	<i>Clostridium spp.</i> <i>Bacillus spp.</i>	Gram 6
	Non sporulés	<i>Lactobacillus spp.</i> <i>Corynebacterium spp.</i>	
Coccobacilles à Gram négatif	Forme hybride entre un coccus et un bacille	<i>Haemophilus spp.</i> <i>Bordetella spp.</i>	
Levures	Apparaissent Gram positif De taille plus grande que les bactéries Peuvent filamenter	<i>Candida spp.</i>	Gram 5

Tableau 11 : Exemples d'aspects à la coloration de Gram et de morphologies des bactéries et levures (tableau non exhaustif)

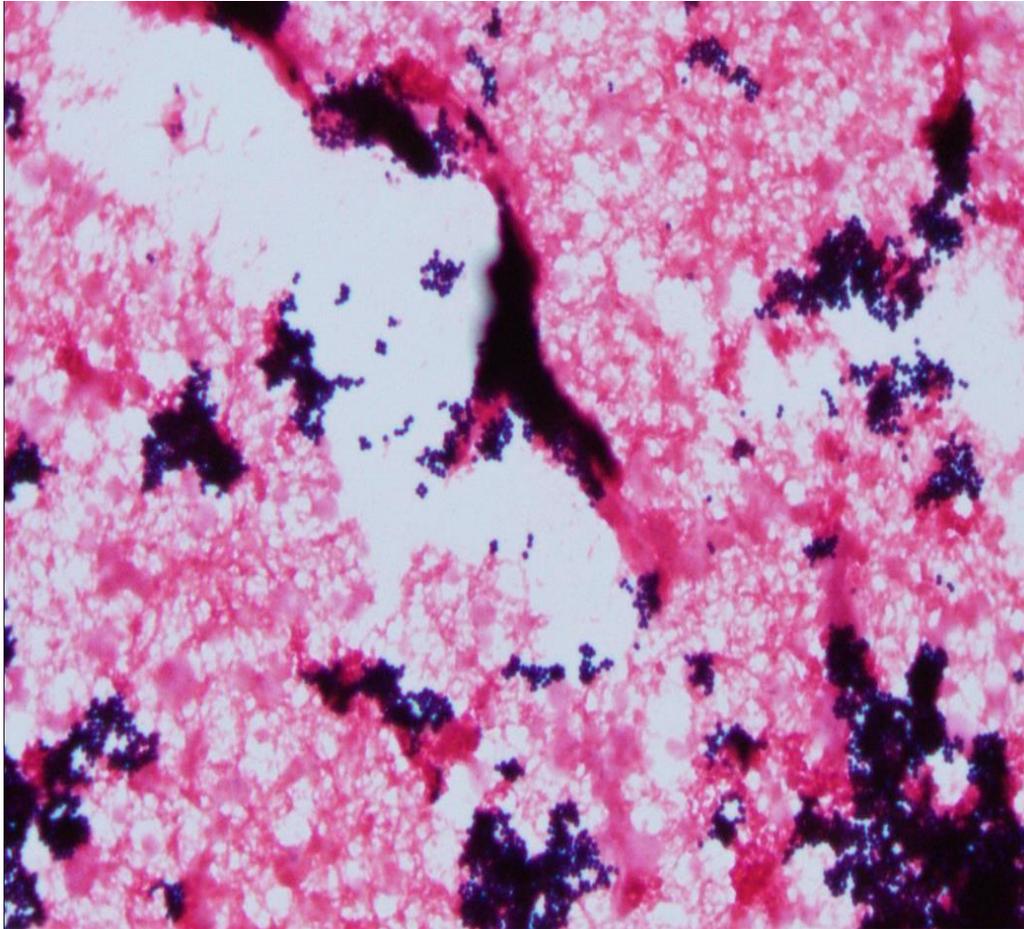
Voici quelques exemples d'examens microscopiques de pathogènes retrouvés chez des patients dont les hémocultures ont été traitées par le laboratoire de bactériologie du CHUGA (Gram 1 à 6) :



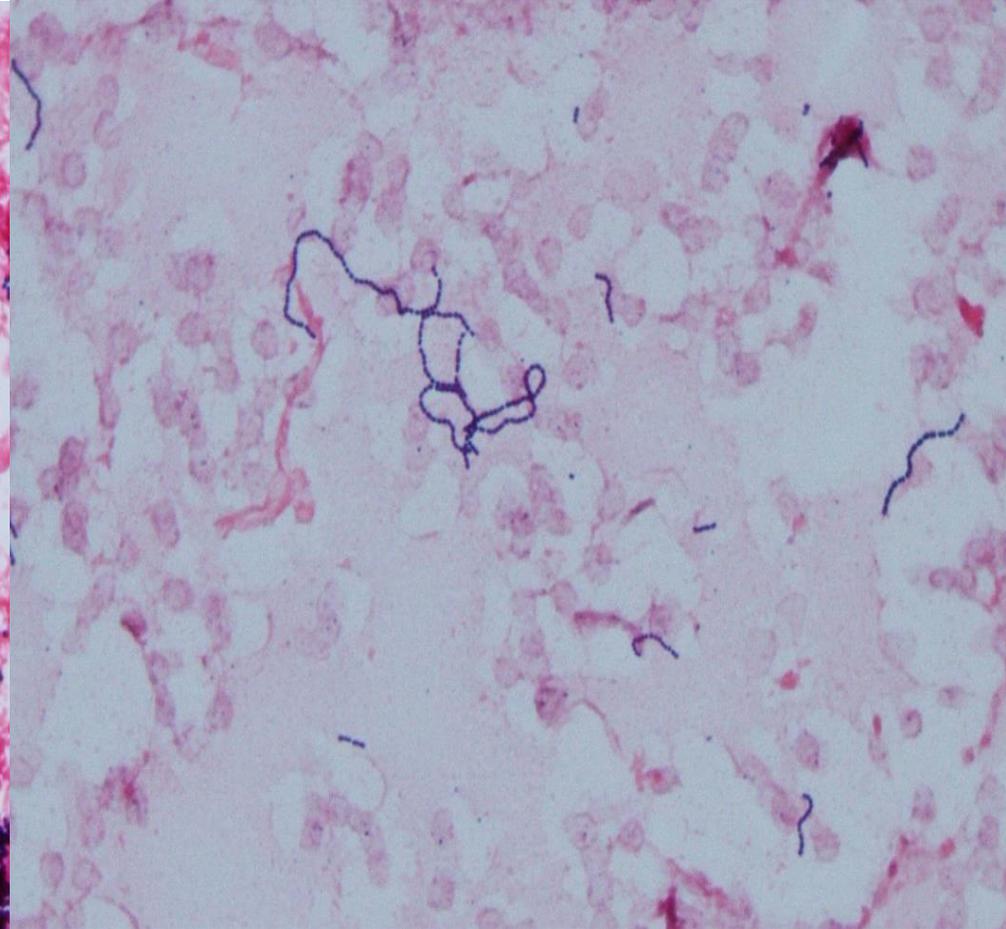
Gram 1 : Hémoculture positive à E. coli



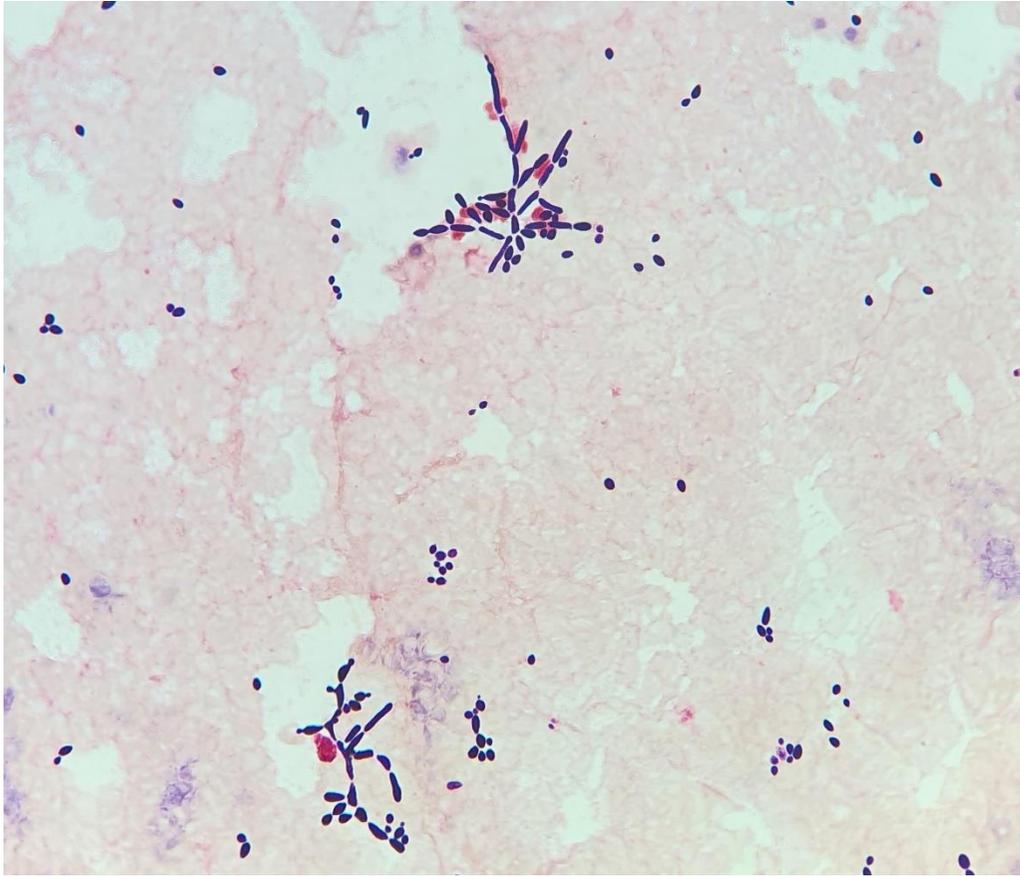
Gram 2 : Hémoculture positive à P. aeruginosa



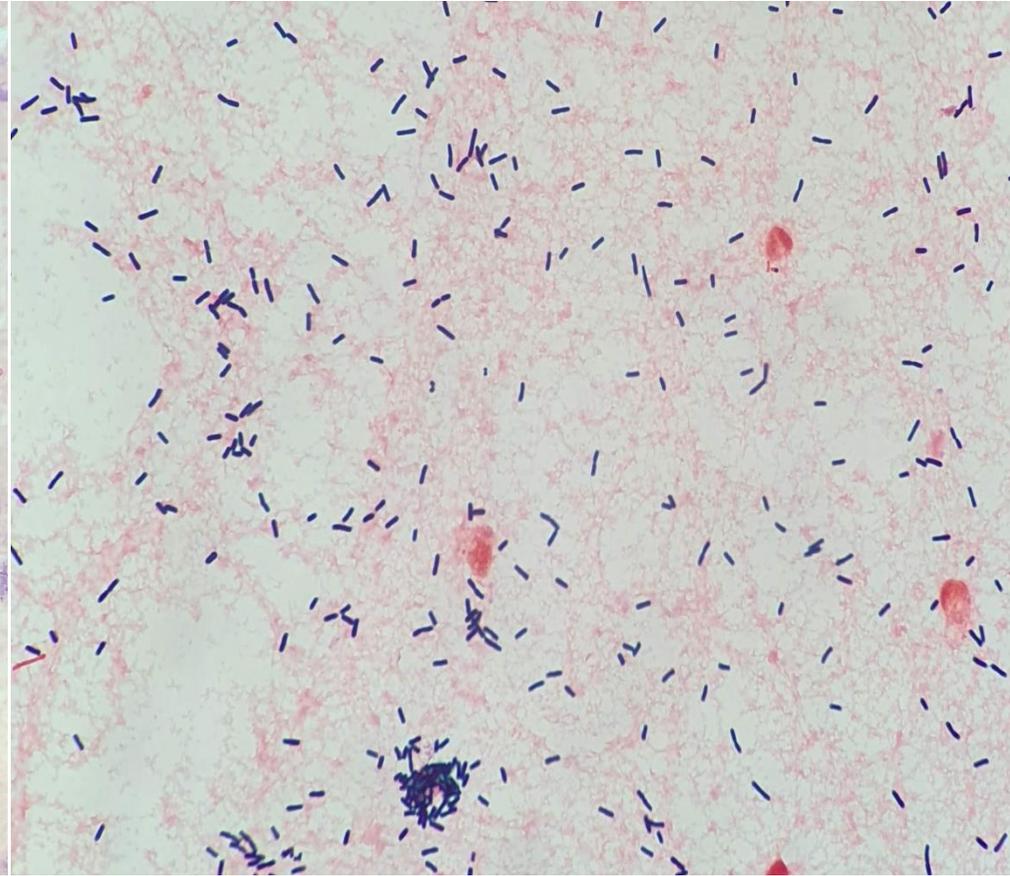
Gram 3 : Hémoculture positive à S. aureus



Gram 4 : Hémoculture positive à Streptococcus spp.



Gram 5 : Hémoculture positive à *C. albicans*



Gram 6 : Hémoculture positive à *Bacillus cereus*

En mycologie, l'examen microscopique d'un flacon d'hémoculture positif se fait entre lame et lamelle. Les filaments sont plutôt épais et d'aspect réfringent. L'observation microscopique sans coloration est facilitée par la saponine présente dans le flacon de mycologie, qui permet une lyse des globules rouges. Les levures sont d'aspect ovalaire ou arrondi, de taille plus importante que les bactéries. En cas de levures dans une hémoculture bactérienne, elles seront d'aspect Gram positif après coloration.

Dans le cas de levures avec des filaments, on s'orientera vers des espèces pouvant filamenter (*C. albicans* majoritairement). À l'inverse, on exclura *C. glabrata* qui en est incapable (22).

1.2.2.3. Culture

L'observation microscopique, après coloration de Gram, n'est bien sûr pas suffisante pour identifier l'espèce bactérienne et connaître son profil de résistance. Il faut passer par une étape supplémentaire, de mise en culture, pour pouvoir obtenir des colonies sur lesquelles réaliser l'identification précise de l'agent pathogène. La caractérisation microscopique va néanmoins influencer la mise en culture de l'hémoculture positive par le choix des milieux à ensemercer (Tableau 12).

Résultat de l'examen direct	Milieux de cultureensemencés
Bactérie à Gram négatif	COS aérobie+ COS anaérobie+ Drigalski
Bactérie à Gram positif	COS aérobie+ COS anaérobie
Faux positif	PVX aérobie+ PVX anaérobie
Flore polymicrobienne	COS aérobie+ COS anaérobie+ Drigalski ou ANC
Levures (en bactériologie)	COS aérobie + COS anaérobie
Levures (en mycologie)	Milieu CAN2 +/- gélose sang de mouton

Tableau 12 : Protocole d'ensemencement des flacons d'hémoculture au CHUGA en fonction de l'examen microscopique

En cas de cocci à Gram positif en chainettes évoquant des streptocoques ou entérocoques, un test à l'optochine est également réalisé sur gélose au sang (COS),

directement à partir du flacon positif, pour différencier le pneumocoque des autres streptocoques (le pneumocoque étant sensible à l'optochine).

Au CHU de Grenoble, la mise en culture des flacons d'hémoculture se fait de façon semi-automatique grâce à un système automatisé intelligent, la chaîne BD Kiestra® (Figure 6). Un flacon de solution saline contenant quelques microlitres de sang de l'hémoculture positive est inséré dans la chaîne automatisée, qui va ensemercer les géloses requises grâce à un système de pipette automatique et de bille magnétique réalisant l'isolement en quadrants de l'échantillon. Les géloses vont être subséquemment dirigées dans des étuves aérobies connectées. Celles destinées à l'atmosphère anaérobie seront dirigées vers une zone de recueil manuel, puis incubées en anaérobiose à l'extérieur de la chaîne.

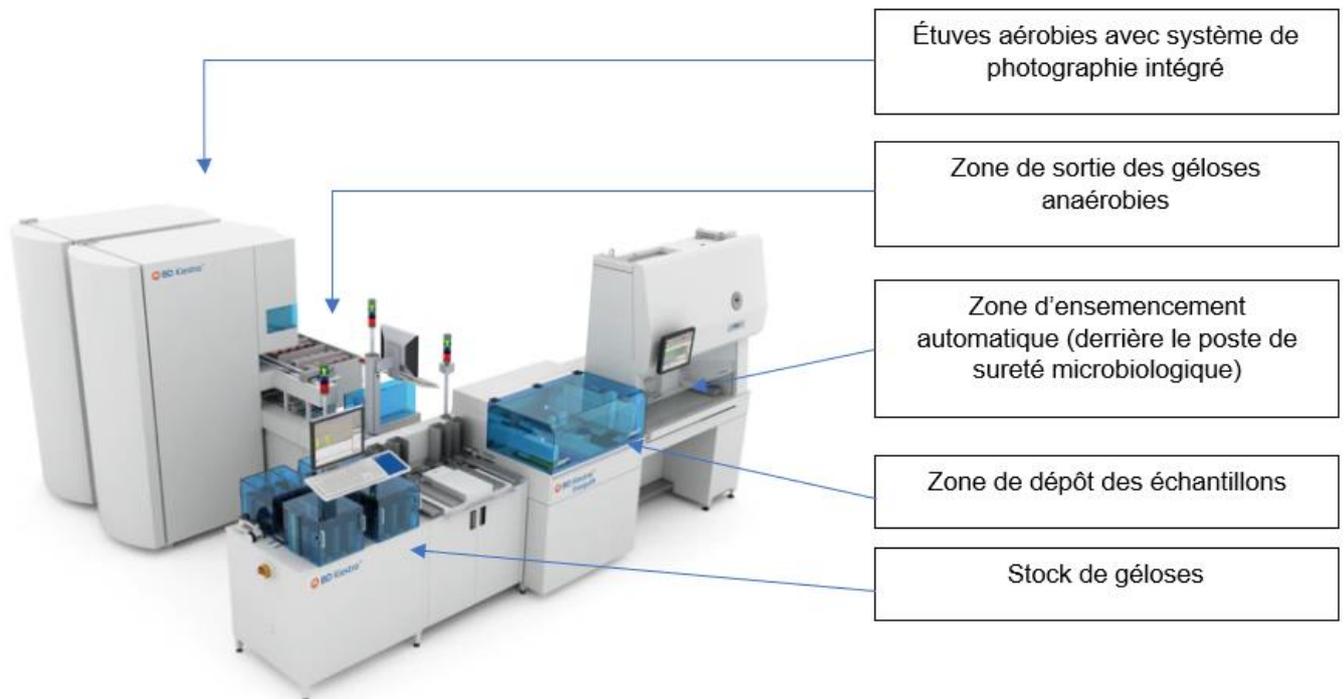


Figure 6 : Schéma de la chaîne BD Kiestra® utilisée au CHUGA
Adapté d'après <https://www.bd.com/en-us/offerings/capabilities/lab-automation/bd-kiestra-wca-system>

1.2.2.4. Identification

Après 14 à 48 heures d'incubation, la visualisation de colonies devient possible (Figures 7 et 8).

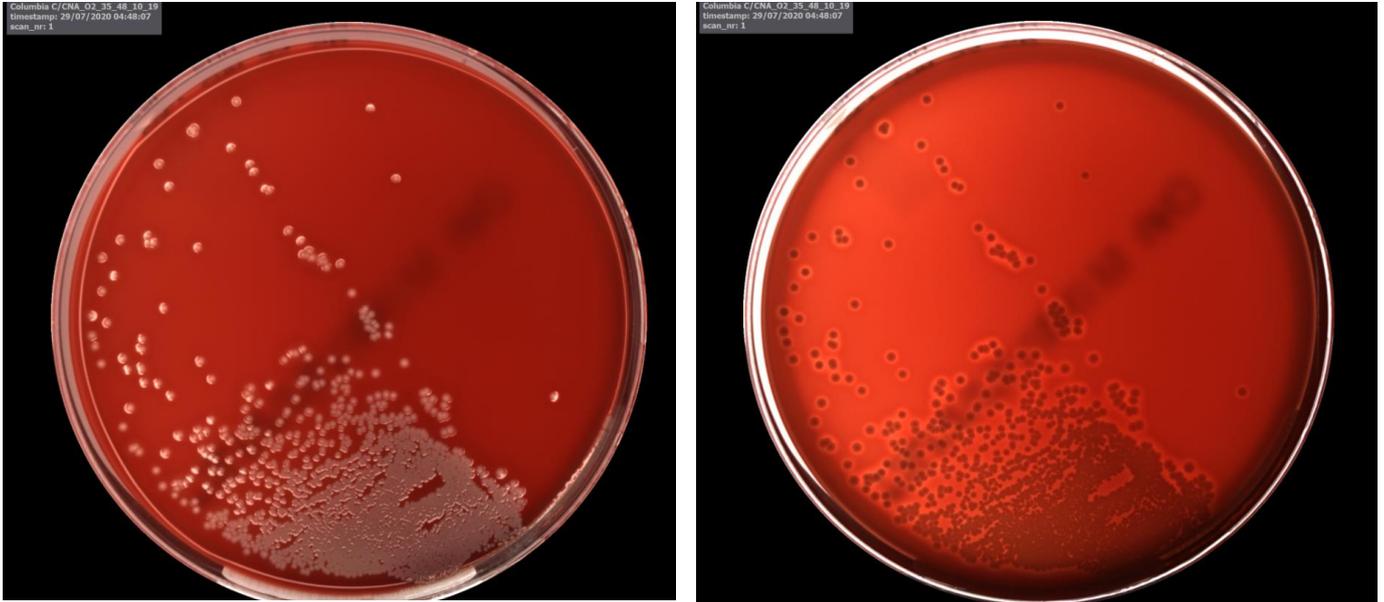


Figure 7 : Colonies de *S. aureus* sur gélose COS
Noter l'hémolyse complète autour des colonies, dite β -hémolyse (à la différence de l' α -hémolyse qui est incomplète).
Vue du dessus à gauche, vue d'en dessous à droite. CHUGA



Figure 8 : Colonies d'*E. coli* sur gélose Drigalski
Les colonies apparaissent jaunes grâce à la fermentation du lactose par *E. coli* ce qui entraîne un changement de l'indicateur coloré, la gélose étant bleue/verte à l'origine (visible dans le coin inférieur droit). CHUGA

De nos jours, l'identification de l'espèce bactérienne ou fongique se fait principalement par spectrométrie de masse MALDI-TOF (de l'anglais Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight) qui a remplacé presque totalement les galeries d'identification biochimique.

Cette technologie permet une analyse rapide de l'espèce bactérienne (60 minutes environ pour une plaque complète de 96 puits) permettant d'identifier, avec justesse, à l'espèce 97,7% des entérobactéries, 92% des bactéries à Gram négatif non fermentantes, 94,3% des staphylocoques, 84,8% des streptocoques et 85,2% des levures en 2010 (42). Les bases de données ayant été améliorées depuis, des taux d'identification encore meilleurs sont probables.

En pratique, les colonies bactériennes sont déposées sur une plaque, sur laquelle est ajoutée une solution matrice lysant les bactéries et permettant l'ionisation des protéines bactériennes. Il est possible d'ajouter une étape de lyse par un acide fort (de l'acide formique) en cas de bactérie difficile à lyser (bactéries à Gram positif principalement). Puis, le spectromètre envoie des impulsions laser courtes pour ioniser les protéines de l'échantillon et former des ions en phase gazeuse avec une fragmentation minimale (« ionisation douce »). Ces ions subissent alors une accélération en passant à travers un champ électrique, puis traversent un tube de vol maintenu sous vide (Figure 9). La durée nécessaire à chaque particule pour atteindre le détecteur, ou ce que l'on appelle le « time-of-flight » pour temps de vol, dépend de sa masse (m) et de sa charge (z) (rapport m/z). Une fois que toutes les protéines principales dans l'échantillon auront été détectées par le spectromètre de masse, une empreinte spectrale unique à chaque organisme sera produite.

L'identification de l'organisme testé est automatiquement déterminée à l'aide d'un logiciel qui compare le profil spectral protéique de l'organisme à tester avec une base

de données de référence, à laquelle de nouvelles sont ajoutées chaque année par le fournisseur de l'automate (43).

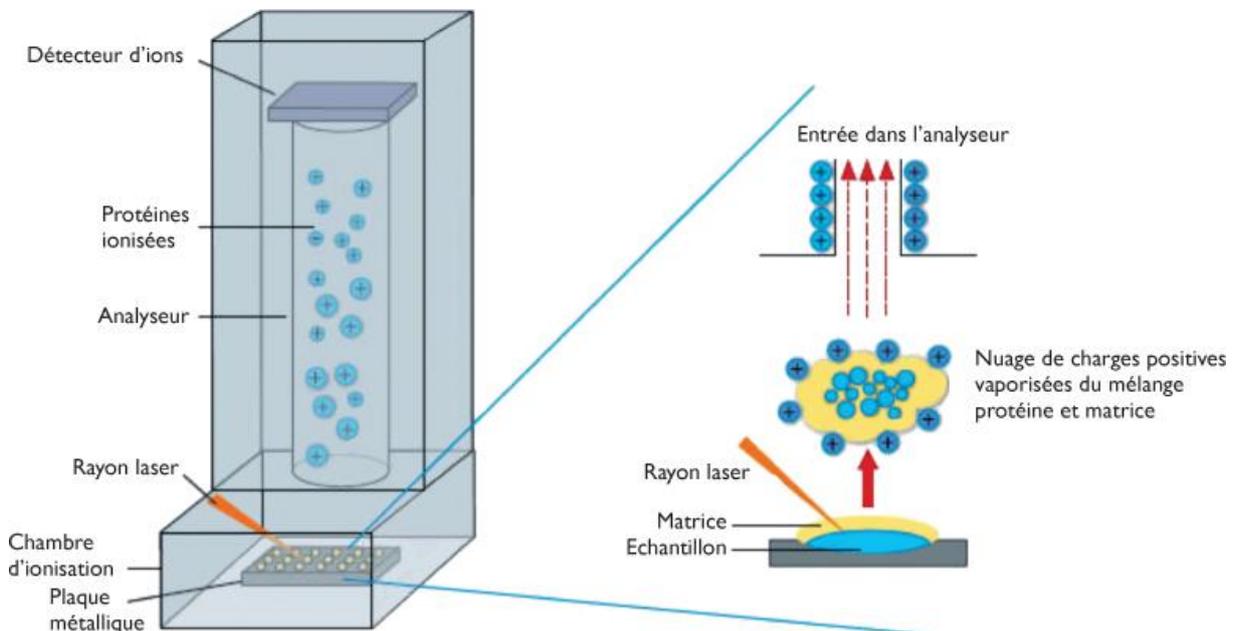


Figure 9 : Principe de la technologie MALDI-TOF
D'après <https://www.revmed.ch/RMS/2014/RMS-N-450/Quels-benefices-pour-les-cliniciens-de-la-mise-en-place-du-MALDI-TOF-MS-dans-le-laboratoire-de-bacteriologie>

L'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF a permis un gain de temps notable par rapport aux anciennes techniques d'identification, qui reposaient sur des galeries biochimiques. Ces dernières ne sont plus utilisées que dans de rares cas où la technologie MALDI-TOF est mise en défaut.

Cette étape d'identification survient généralement à J+1 ou J+2 de la positivité du flacon d'hémoculture. Toutefois, un système d'identification sur culture précoce est en train d'émerger. Il devient possible d'effectuer une identification par MALDI-TOF sur des micro-colonies obtenues après une courte incubation des géloses de repiquage d'une hémoculture positive (quelques heures contre 24 heures en moyenne actuellement). Ainsi, après une courte incubation de 2,5 heures, 58,3% des bactéries pourraient être identifiées par MALDI-TOF, avec une plus grande détection des bactéries à Gram négatif (78,6%), que des bactéries à Gram positif (42%). Ce taux

monterait à 82,3% au bout de 5,5 heures d'incubation. Près de 50% des bactéries anaérobies (11 sur 24, principalement des *Bacteroides sp.*) pouvaient être identifiées à 5,5 heures dans cette étude (44). Ces taux sont retrouvés dans une seconde étude d'hémocultures monomicrobiennes (bactéries à Gram positif, à Gram négatif et levures) avec 60,5% et 80,2% de concordance avec les méthodes conventionnelles après 3 et 5 heures d'incubation respectivement. En ne considérant que les bactéries, ces taux montent à 64,1% et 85% respectivement (45).

Cette étape d'identification permet une première étape d'optimisation de l'antibiothérapie empirique, grâce à la connaissance des résistances intrinsèques de l'espèce identifiée. Dans un hôpital texan, *Perez et al.* ont effectué une comparaison avant-après implémentation du MALDI-TOF avec ASP de patients présentant une bactériémie à Gram négatifs résistants (*E. coli* et *Klebsiella spp.* productrices de BLSE et/ou toutes bactéries aérobies Gram négatif sensibles au maximum à 2 classes d'antibiotiques). L'implémentation du MALDI-TOF a réduit le temps moyen d'identification de $40,9 \pm 15,1$ heures à $14,5 \pm 12,3$ h ($p < 0,001$). Le temps moyen pour obtenir une antibiothérapie optimisée chez les patients passait de $80,9 \pm 63$ heures à $23,2 \pm 19,9$ heures ($p < 0,001$). En prenant comme point de départ le début de l'épisode septique, l'initiation d'un traitement actif chez les patients recevant un traitement inactif passait de 89,7 à 32 heures ($p < 0,001$). Ce changement de prise en charge au laboratoire a entraîné une baisse toutes causes de la mortalité à 30 jours de 21% à 8,9% ($p = 0,01$), de même que celle à 60 jours (de 30,6% à 12,5% ; $p = 0,001$). La durée de séjour moyenne des patients survivants passait de $23,3 \pm 21,6$ jours à $15,3 \pm 17,3$ jours ($p = 0,0001$). En USI, elle diminuait de 16 ± 19 jours à $10 \pm 17,6$ jours ($p = 0,003$).

Ces changements résultaient en une baisse des coûts de 78 991\$ ± 90 106 à 52 693\$ ± 83 526 (p=0,002) (46).

Il est honnête de penser qu'une nouvelle réduction des délais d'identification, permise par les techniques moléculaires, plus rapides que le MALDI-TOF, puisse encore écourter ces différents paramètres.

1.2.2.5. Antibiogramme/Antifongigramme

1.2.2.5.1. Antibiogramme

En France, les antibiogrammes sont réalisés suivant les recommandations du CASFM-EUCAST (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie - European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing). En fonction de l'examen microscopique du flacon d'hémoculture positif et du type de bactérie observé, un panel différent d'antibiotiques est testé. L'ensemencement de l'antibiogramme se fait directement à partir du flacon afin de ne pas perdre de temps. Cet ensemencement direct est permis pour les entérobactéries, *P. aeruginosa*, les staphylocoques et les streptocoques. Une suspension de la bactérie est faite à partir d'une dilution (au 1/5^{ème} pour les streptocoques, au 1/50^{ème} pour les autres bactéries) d'un peu de l'hémoculture positive dans de la solution saline 0,9% et le tout est ensemencé sur une gélose de Mueller-Hinton (47). Pour ces espèces, cette technique permet de réduire de 24 heures le délai d'obtention de l'antibiogramme (48). Pour les autres espèces, l'antibiogramme ne peut être réalisé qu'après subculture du flacon d'hémoculture positif sur milieu gélosé. L'antibiogramme peut alors être réalisé à partir de cultures précoces (4-5 heures) ou plus tardives (24-48 heures) selon la vitesse de croissance des bactéries et être réalisé, soit par antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, soit par antibiogramme automatisé.

1.2.2.5.1.1. Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé

La gélose utilisée est nommée Mueller-Hinton (MH) et convient pour les bactéries non exigeantes (Figure 10). Un milieu MH contenant du sang de cheval défibriné avec supplémentation en β -NAD (nommée MH-F) est utilisé pour des bactéries exigeantes comme *Streptococcus spp.*, *Haemophilus spp.*, *Moraxella catarrhalis*, *Listeria monocytogenes*, *Campylobacter spp.*, *Pasteurella spp.*, *Corynebacterium spp.* et les autres bactéries à croissance lente (47).

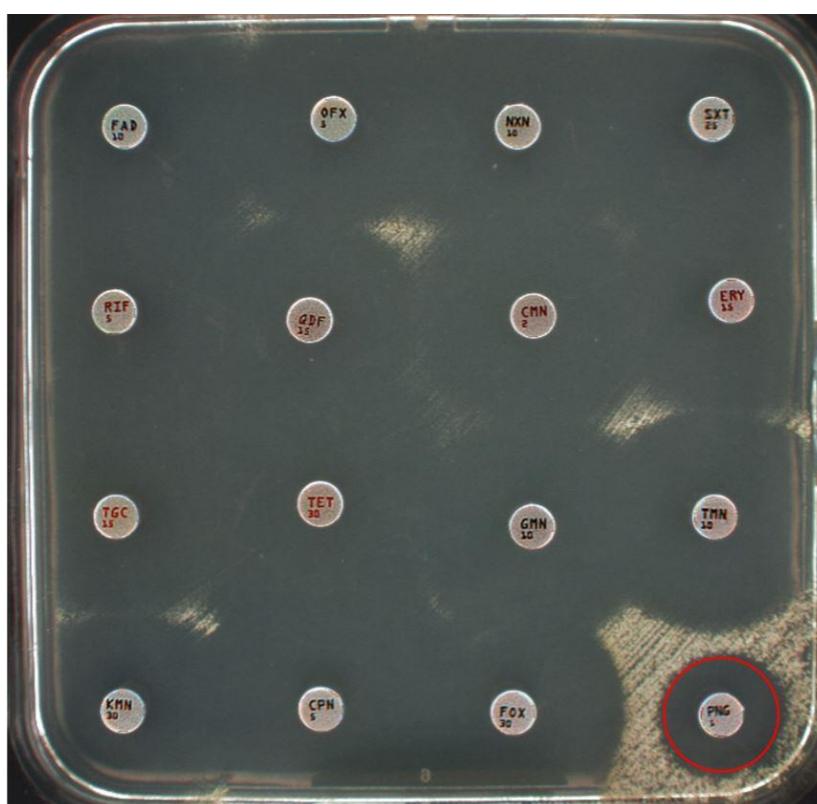


Figure 10 : Antibiogramme d'un staphylocoque doré
Noter la sensibilité à la céfoxitine (FOX) catégorisant cette souche en méticillino-sensible. La résistance à la pénicilline G (PNG, cercle rouge) est classique chez 95% des *S. aureus* en France. (CHUGA)

1.2.2.5.1.2. Tests complémentaires

Dans certaines situations cliniques particulières, en cas de soucis techniques (p. ex. profil de résistance aberrant) ou de suspicion de bactérie multi-résistante, des tests

complémentaires peuvent également être requis. À titre d'exemple à fort impact dans les bactériémies, la recherche d'une β -lactamase à spectre élargi ou d'une céphalosporinase dérégulée (CDER) est réalisée dès qu'une C3G est hydrolysée sur un antibiogramme d'entérobactérie. Des tests complémentaires sont nécessaires pour différencier une bactérie productrice de BLSE (Figure 11), d'une bactérie hyperproduisant une céphalosporinase (Figures 12 et 13). On réalisera dans un premier temps un antibiogramme sur gélose MH classique, un en parallèle sur une gélose supplémentée de cloxacilline (la cloxacilline inhibant *in vitro* les céphalosporinases), ainsi que des tests de synergie par la technique des disques rapprochés (disques de C3G rapprochés d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique ou de ticarcilline-acide clavulanique).

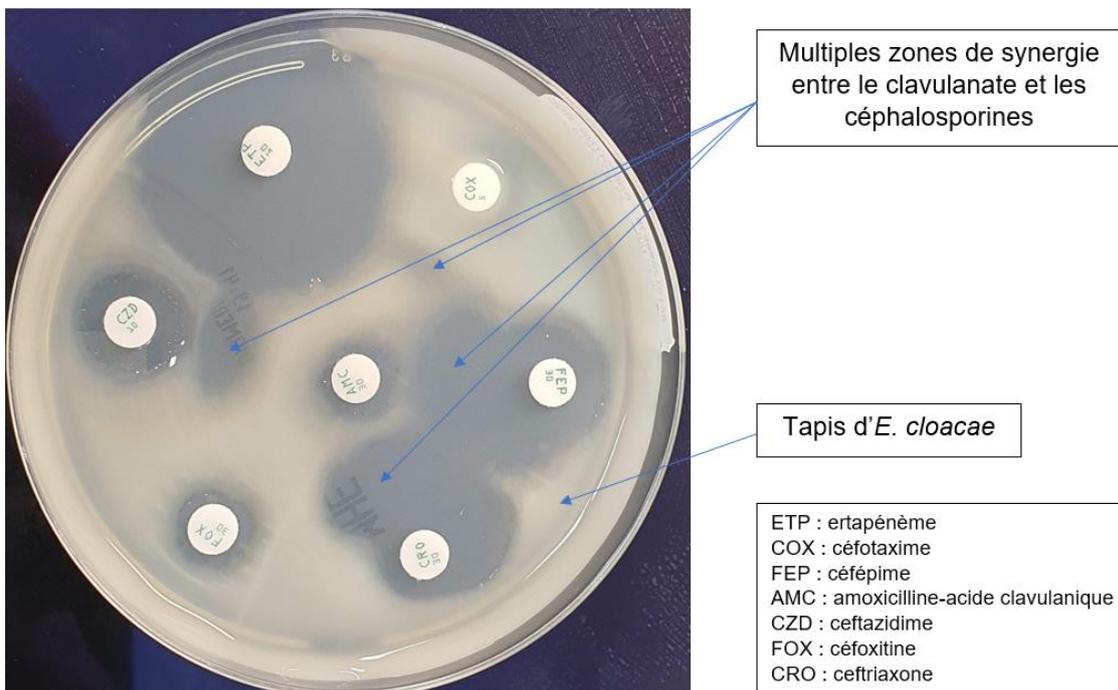


Figure 11 : Antibiogramme caractéristique d'une souche d'*E. cloacae* productrice de BLSE. Noter l'aspect « bouchon de champagne » évocateur d'une synergie typique des BLSE (Oriapôle)

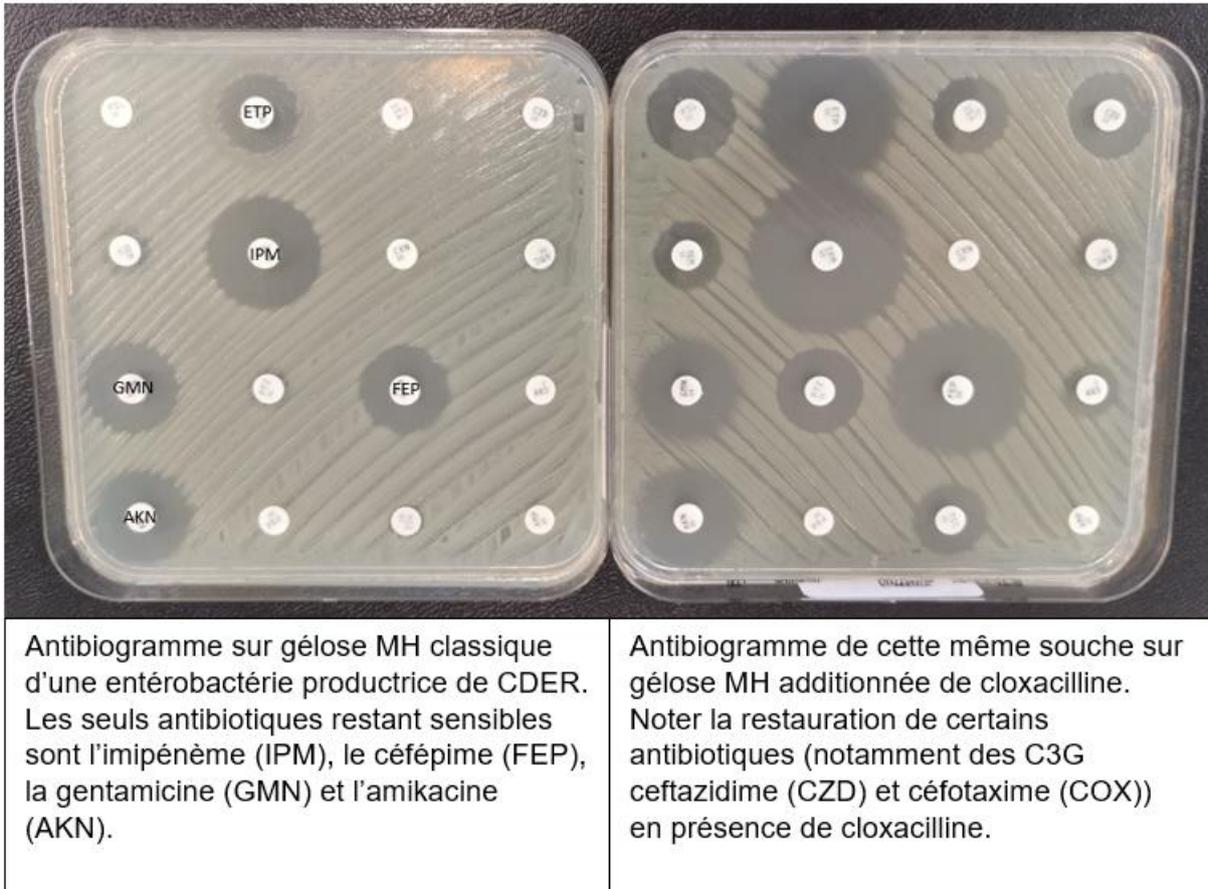
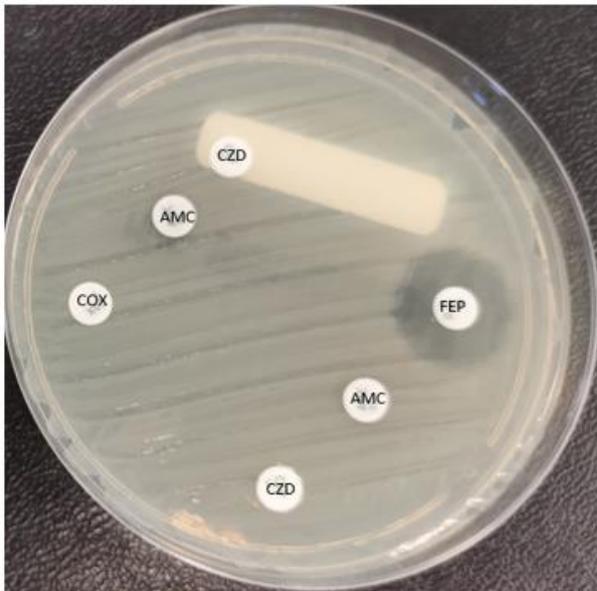


Figure 12 : Antibiogrammes d'une souche d'E. coli produisant une céphalosporinase dérégulée. La position et l'ordre des antibiotiques sont les mêmes entre les 2 géloses (Oriapôle)



Gélose « disques rapprochés ». Noter les 2 disques d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) entourés par un disque de céfépime (FEP), ceftazidime (CZD), céfotaxime (COX). Dans le cas d'une CDER, on note l'absence de synergie entre le clavulanate et les C3G mais la sensibilité au céfépime.

Figure 13 : Tests de synergie d'une souche produisant une CDER (Oriapôle)

1.2.2.5.1.1. Détermination de la concentration minimale inhibitrice d'un antibiotique (CMI)

Enfin, dans certaines situations, d'autres techniques de détermination de la sensibilité aux antibiotiques peuvent être utilisées. La détermination isolée de la CMI d'un antibiotique peut se faire en milieu liquide (Figure 14) ou en milieu solide (Figure 15). La CMI, en milieu liquide, est déterminée comme la plus petite concentration d'antibiotique inhibant la croissance visible de la souche bactérienne.

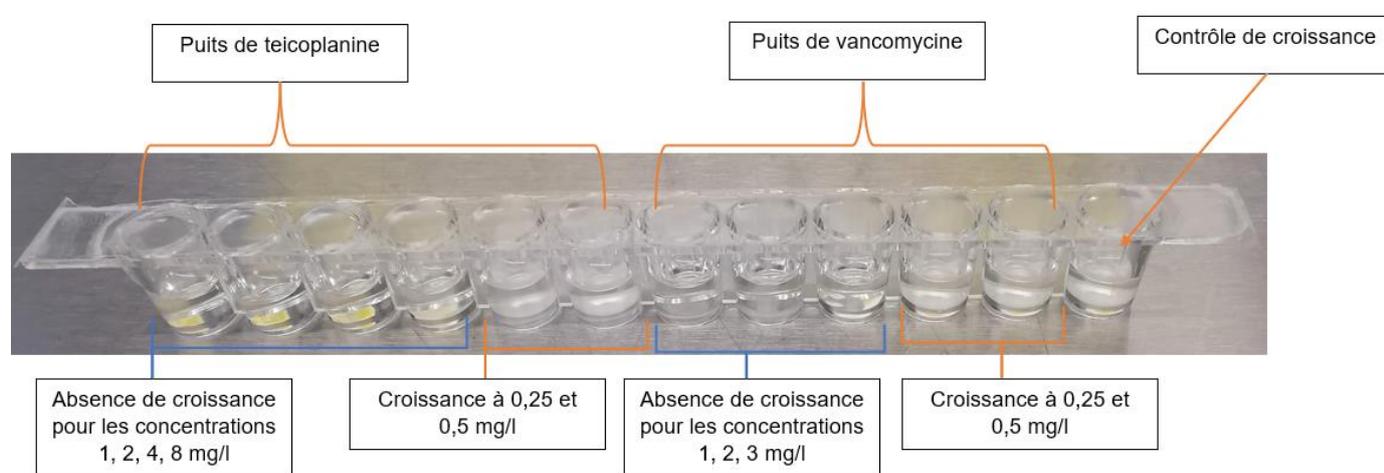


Figure 14 : Détermination des CMI vancomycine et teicoplanine pour une souche de *S. aureus* (ici les CMI sont égales à 1 mg/L) (CHUGA)

En milieu solide, la CMI se lit au point de rencontre de la croissance bactérienne et d'une bandelette imprégnée de concentrations croissantes d'un même antibiotique sur un milieu de culture gélosé, préalablement ensemencé avec la bactérie à tester.

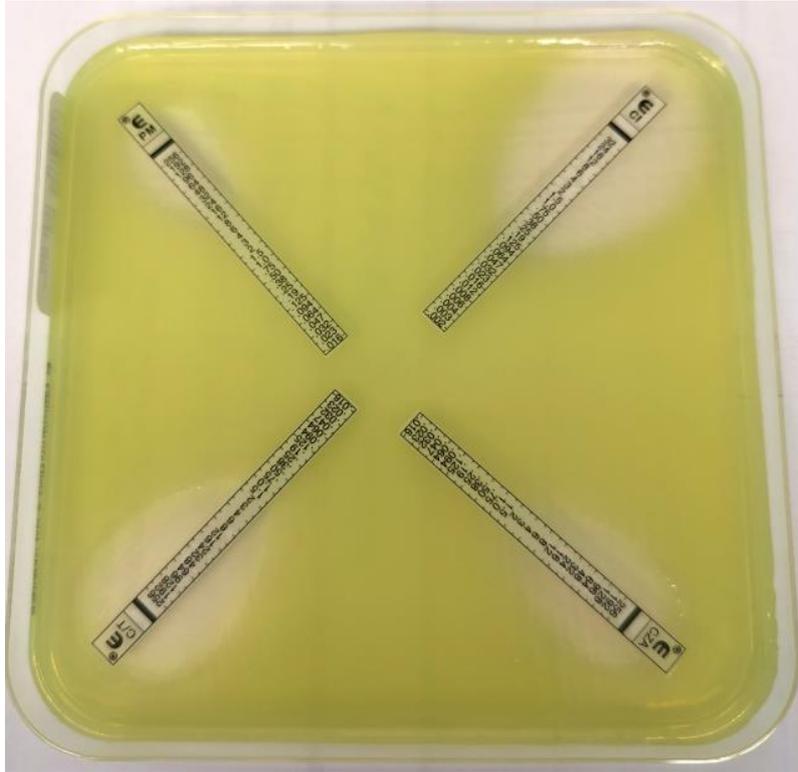


Figure 15 : CMI de ceftolozane/tazobactam (C/T), ciprofloxacin (CI), ceftazidime/avibactam (CZA) et céfépime (PM) d'une souche de *Pseudomonas aeruginosa* (CHUGA)

1.2.2.5.1.2. Interprétation biologique

Au CHUGA, la lecture des antibiogrammes en diffusion se fait en premier lieu à l'aide d'une caméra et d'un logiciel dédié Adagio® (Figure 16). Une seconde lecture visuelle reste possible par le biologiste en cas de doutes ou de résultats discordants. Ce logiciel expert permet une lecture automatisée des diamètres d'inhibition et est mis à jour régulièrement pour suivre les recommandations du CASFM-EUCAST.

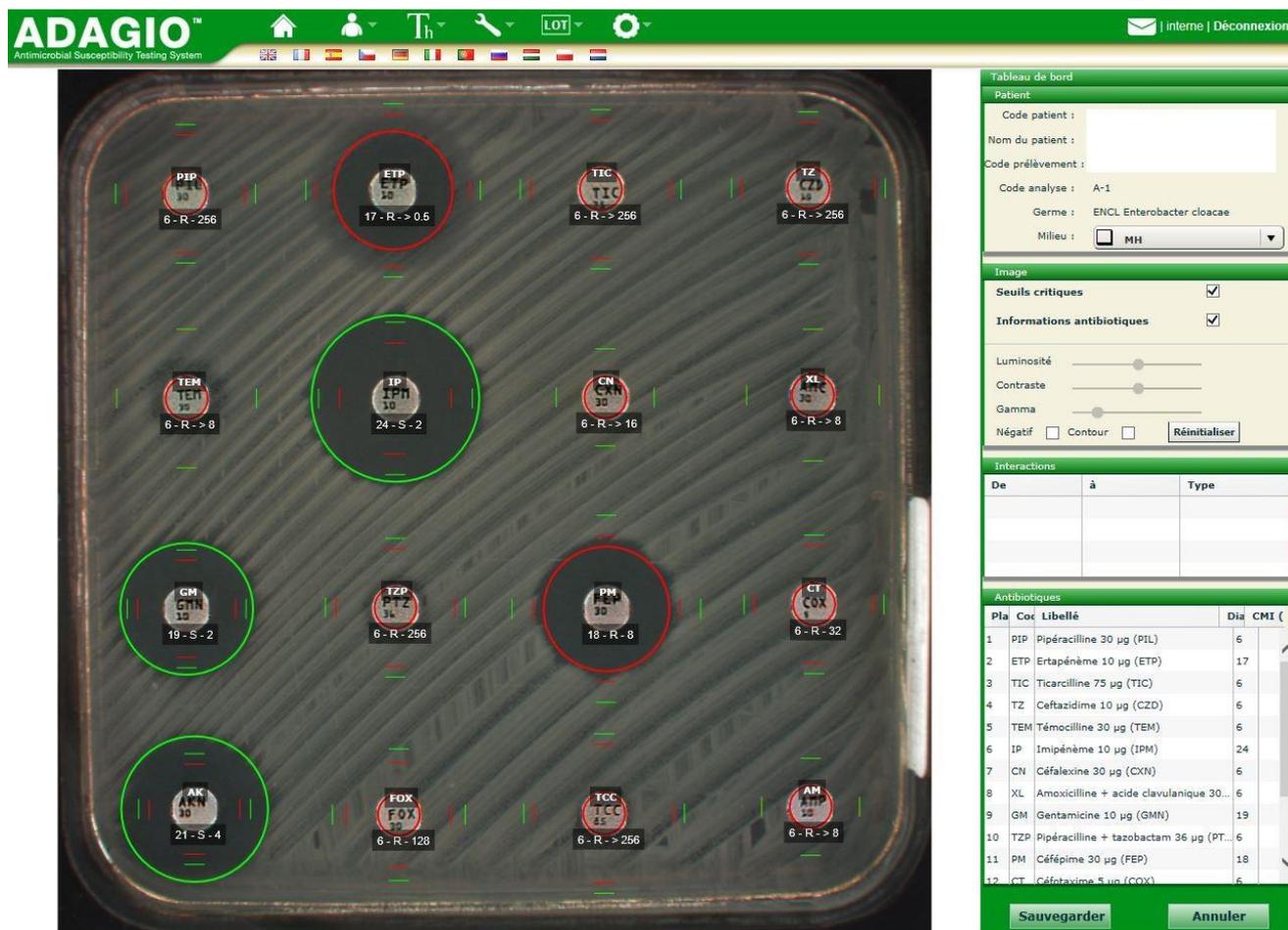


Figure 16 : Capture d'écran du logiciel Adagio® utilisé au CHUGA.

Un diamètre vert indique une sensibilité de la souche testée à l'antibiotique, alors qu'un diamètre rouge indique au contraire une résistance de la souche testée.

1.2.2.5.2. Antifongigramme

S'agissant de l'antifongigramme, il se fait au CHUGA par bandelettes E-test (BioMérieux®) en milieu gélosé RPMI (Roswell Park Memorial Institute), permettant la détermination des CMI des antifongiques (Figure 17). Les antifongiques à tester dépendent du type de champignon isolé (levure ou champignon filamenteux), voire de l'espèce. Pour les levures, les CMI sont lues à 24h d'incubation à 35°C et 24-48h à 35°C (ou 27°C pour les espèces thermo-intolérantes), ou selon leur croissance pour les champignons filamenteux. L'antifongigramme est réalisé uniquement sur des colonies isolées et non directement à partir du flacon d'hémoculture positif. Les seuils ou valeurs de référence sont principalement ceux de l'EUCAST (European committee

on antimicrobial susceptibility testing) et du CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) (49,50).

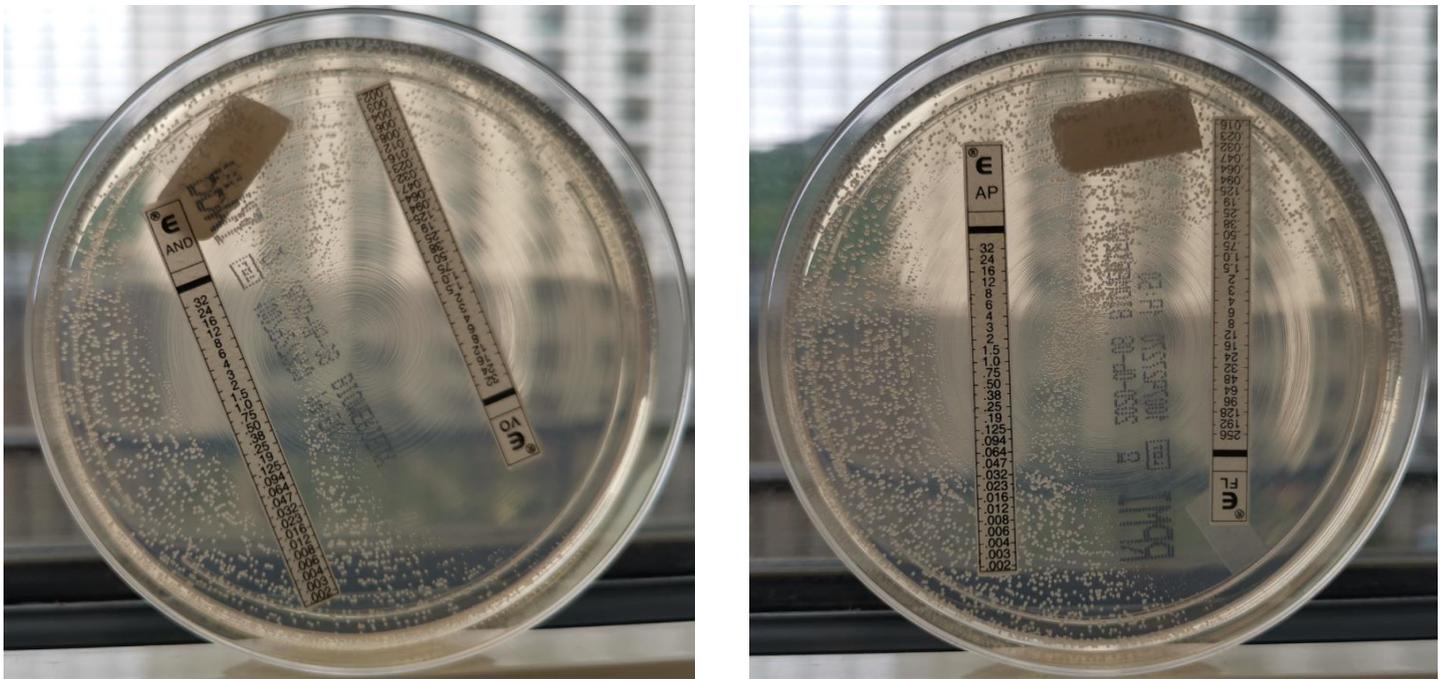


Figure 17 : Bandelettes E-test d'anidulafongine (AND), de voriconazole (VO), d'amphotéricine B (AP) et de fluconazole (FL) d'une souche de *C. krusei*

1.2.3. Traitement des bactériémies et fongémies

Dans ce paragraphe, différentes recommandations seront présentées mais seules les recommandations françaises seront approfondies, car le choix des traitements anti-infectieux peut être différent selon les pays et leur épidémiologie bactérienne et fongique.

1.2.3.1. Recommandations internationales

Le traitement de référence du sepsis consiste en un traitement anti-infectieux antibactérien et/ou antifongique, qui doit être instauré le plus rapidement possible (dans l'heure) suivant l'admission (30).

Le choix d'un agent antimicrobien dépend de nombreux facteurs dont :

- l'histoire médicale du patient et son âge
- la fonction hépatique et rénale du patient
- le terrain (grossesse, allaitement, ...) et les comorbidités éventuelles (diabète, déficit immunitaire, ...)
- l'écologie locale communautaire et hospitalière, ainsi que l'épidémiologie locale des profils de résistance
- le spectre de l'antibiotique
- les antécédents d'allergie du patient
- une utilisation récente d'antibiotiques par le patient
- le site anatomique infecté
- les propriétés pharmacocinétiques des antibiotiques

Tous ces facteurs empêchent de pouvoir donner des recommandations internationales simples et justifient l'instauration d'une équipe dédiée à l'adaptation rapide de l'antibiothérapie des patients septiques (30,51). Étant donné que la vaste majorité des patients en sepsis/choc septique est atteint d'au moins une forme d'immunodépression, les recommandations internationales suggèrent que le traitement initial devrait être suffisamment large, pour couvrir la plupart des pathogènes isolés dans les infections nosocomiales.

Ainsi, elles proposent soit (30) :

- un carbapénème
- une combinaison de β -lactamine à spectre large avec un inhibiteur de β -lactamase (ex : pipéracilline/tazobactam)
- une céphalosporine de 3^{ème} génération ou de 4^{ème} génération

Ces recommandations sont à adapter en fonction du site anatomique et de l'épidémiologie locale. Il est recommandé d'ajouter (en sus d'un antibiotique de la liste ci-dessus) un antibiotique agissant sur les bactéries à Gram négatif pour les patients critiques et à risque de pathogènes multi-résistants (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*, ...). De la vancomycine, teicoplanine ou une autre molécule anti-SARM peuvent également être ajoutées en cas de facteurs de risque de SARM. En cas de suspicion de légionnelle, on ajoutera un macrolide ou une fluoroquinolone. En cas de doute sur une infection par des levures du genre *Candida*, on ajoutera généralement une échinocandine plutôt qu'un antifongique azolé (30).

Une fois l'identification et les profils de sensibilités obtenus, ou dès l'amélioration clinique en l'absence de documentation microbiologique, la réduction du spectre anti-infectieux par des traitements plus étroits et ciblés sur les pathogènes identifiés est très fortement encouragée, ainsi que la collaboration avec les infectiologues (52,53). La présence d'une revue, par des pharmaciens ou des infectiologues (ASP), a un impact clinique majeur en permettant la réadaptation rapide de l'antibiothérapie. Cet ASP semblerait également avoir un impact économique positif, mais la fréquence d'une telle revue et son impact économique réel doivent encore être étayés par d'autres études (54). Les quelques études disponibles semblent indiquer un impact économique positif des ASP, voire des économies annuelles allant de 200 000\$ à 900 000\$, les coûts d'implémentation étant amortis par la réduction de la consommation d'antimicrobiens (55,56). D'un point de vue plus clinique, dans une étude avant-après, la présence d'un ASP a entraîné chez les patients atteints de candidémie une réduction de 38,4% de la consommation d'antifongique (baisse majoritaire des prescriptions de fluconazole) sans effet négatif sur la mortalité (57). Un même type d'étude retrouve une diminution significative des prescriptions d'antimicrobiens (-10%, $p < 0,001$), du

coût moyen par trimestre (-42 065,4 euros ; $p < 0,001$) après l'implémentation d'un ASP (58). Une autre rapporte une augmentation des prescriptions appropriées, une augmentation des durées appropriées et une meilleure adéquation avec les traitements de référence en période post implémentation de l'ASP (59). D'après une méta-analyse, l'ASP montrait également un effet significatif dans la réduction de l'incidence de *C. difficile*, pathogène problématique en situation hospitalière (risk ratio combiné : 0,48; IC_{95%} : 0,38- 0,62) (60).

Au final, la présence d'un ASP améliore grandement les bénéfices obtenus par les tests rapides : en prescrivant directement l'antibiotique le plus adapté d'après les recommandations officielles, avec le moins d'impact écologique possible, l'ASP potentialise le rôle de ces tests.

La durée du traitement antibiotique d'une bactériémie ou fongémie est de 7 à 10 jours, mais elle peut être allongée en cas de réponse clinique insuffisante, d'un foyer de l'infection non drainable, d'une bactériémie à *S. aureus* (durée pouvant aller de 14 jours à 6 mois), de certaines infections fongiques (notamment la candidémie) ou virales associées (p. ex. herpès, cytomégalovirus), ou encore en cas de déficits immunitaires (neutropénie incluse). La durée peut également être diminuée en présence d'une présentation clinique rapidement favorable (30,61–63). Une réévaluation journalière sur la possibilité ou non de désescalade de l'antibiothérapie est fortement recommandée (30).

L'antibiothérapie doit être rapidement bactéricide : chaque heure de retard sans antibiothérapie efficace dans les 6 premières heures de l'hypotension d'un choc septique est associée à une diminution moyenne de la survie de 7,6% (64). La survie des patients est donc fortement liée à la rapidité de l'instauration d'un traitement adapté (64,65). Dans une étude de 2014, parmi des patients admis pour sepsis sévère

et choc septique, la mortalité hospitalière était significativement inférieure chez ceux recevant un traitement antibiotique dans les 3 heures (16,2% contre 22,9% ; $p=0,04$) et était associée à une réduction de la durée de séjour (11 jours contre 14,5 ; $p < 0,01$) (66). Dans une cohorte multicentrique de patients septiques, chaque heure de délai avant instauration d'une antibiothérapie depuis l'entrée en service d'urgence était associée à une augmentation de 1,1% de la mortalité absolue ajustée au risque. Les auteurs suggèrent dans leur étude que la diminution du temps moyen d'accès à l'antibiothérapie à 1,5 h (au lieu de 3 heures) pourrait empêcher un décès tous les 61 patients septiques admis aux urgences (67).

Cette nécessité d'une rapidité de traitement est corroborée dans une autre étude, où 2 250 patients en choc septique ont été divisés en 4 groupes, selon le délai avant administration d'une antibiothérapie : ≤ 1 heure, 1-2 heures, 2-3 heures et > 3 heures. La mortalité des patients du groupe ≤ 1 heure était moindre que celle des groupes 2 et 4 (OR =1,248 ; IC_{95%} :1,053- 1,478 ; $p= 0,011$ et OR=1,419 ; IC_{95%} : 1,203-1,675 ; $p<0,001$ respectivement), mais non moindre que celle du groupe 3 (OR=1,186 ; IC_{95%} : 0,999-1,408 ; $p= 0,052$). Aucune association linéaire entre chaque heure de retard et une augmentation de la mortalité hospitalière n'a en revanche été retrouvée (68).

L'identification et l'établissement du profil de résistances du(des) pathogène(s) le plus rapidement possible semble donc primordial pour améliorer le taux de survie des patients septiques.

Le choix de l'ajout d'un antifongique au traitement probabiliste antibactérien se fait en fonction de plusieurs critères. Ainsi, les facteurs de risque pour les candidoses invasives sont : toute immunodépression, la pose prolongée de système d'abord vasculaire, la nutrition parentérale totale, la pancréatite nécrosante, une chirurgie majeure récente (en particulier abdominale), l'administration prolongée d'antibiotiques

à large spectre, un séjour prolongé en hospitalisation, une infection fongique récente et une colonisation fongique multisite. L'antifongique empirique sera préférentiellement une échinocandine (30). Toutefois, selon les recommandations, seuls les patients dans les situations suivantes devraient recevoir un traitement antifongique empirique : choc septique, défaillance multi-viscérale avec un site extra-digestif colonisé à *Candida spp.* (69).

1.2.3.2. Recommandations françaises

1.2.3.2.1. Traitement des bactériémies

Au départ, l'antibiothérapie instaurée en cas de sepsis est empirique et large spectre pour couvrir les principaux pathogènes potentiels et leurs mécanismes de résistances les plus fréquents. Le traitement antibiotique est à débiter d'emblée, sans attente des premières données microbiologiques, si le patient présente un sepsis ou un choc septique, car une bactériémie avec sepsis représente une urgence thérapeutique. Dans le cas d'une clinique fébrile sans foyer infectieux ni signe de gravité, le traitement est débuté lors de l'attestation de la bactériémie ou fongémie par la positivité des hémocultures (70).

Dans les recommandations françaises, en l'absence de documentation microbiologique, le traitement empirique est souvent une β -lactamine qui doit couvrir les germes les plus fréquents, et fréquemment associée à un second antibiotique (70). La dose de charge est couramment maximale, la voie d'administration très majoritairement parentérale.

L'adaptation médicamenteuse doit se faire dès les premiers résultats microbiologiques disponibles.

Ainsi d'après les recommandations françaises (70–72), deux schémas se distinguent (Figure 18) :

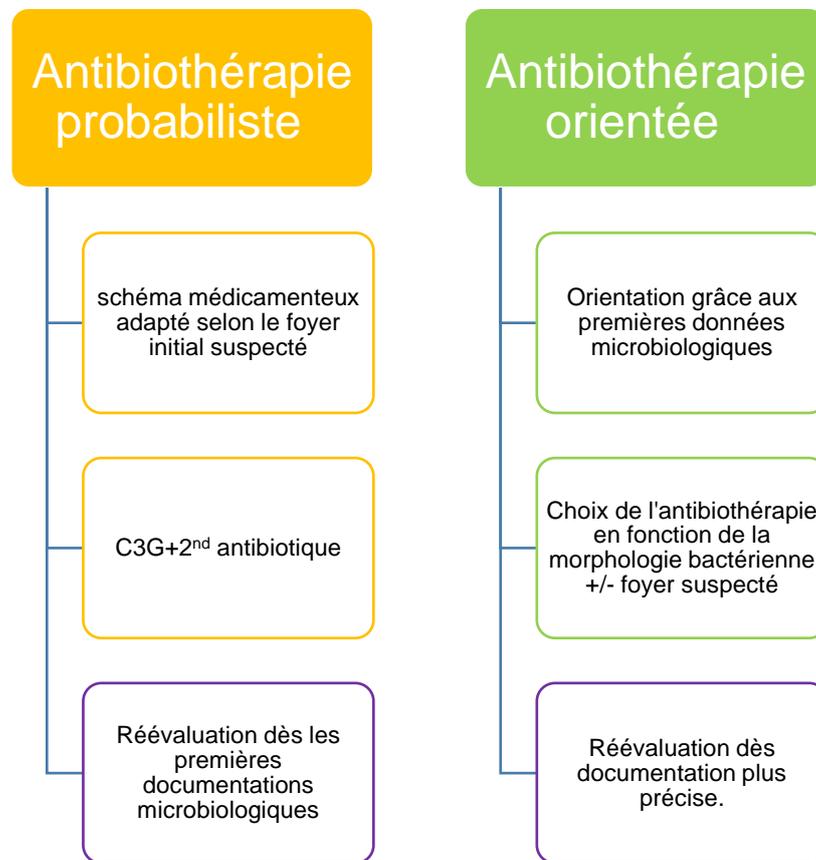


Figure 18 : Principes français de l'antibiothérapie du patient septique

1.2.3.2.1.1. Antibiothérapie probabiliste : schéma médicamenteux adapté selon le foyer initial suspecté

Une antibiothérapie probabiliste (sans documentation microbiologique) repose majoritairement sur une association comprenant une céphalosporine de 3^{ème} génération (céfotaxime ou ceftriaxone) et un second antibiotique selon le foyer (nitroimidazolé si porte d'entrée digestive, lévofloxacine ou macrolide si porte d'entrée pulmonaire, +/- aminoside...).

Voici, listées, les recommandations françaises de la SPILF (Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française, Tableau 13) (70,72) :

Lieu d'acquisition	Foyer suspecté	Antibiotiques de 1 ^{er} choix	Remarques
Infection communautaire	Voies digestives	C3G + métronidazole ± aminoside	FQ si allergie C3G
	Voies urinaires	C3G + aminoside	Aztréonam si allergie C3G
	Voies respiratoires	C3G + macrolide ou lévofloxacine	
	Pas de foyer suspecté	C3G ± aminoside	
Infection associée aux soins	Pas de foyer suspecté	β-lactamine large spectre + amikacine ± vancomycine ± échinocandine	À adapter selon le terrain

Tableau 13 : Antibiothérapie probabiliste en cas de patient instable et ne pouvant attendre les premiers résultats microbiologiques.

D'après (70). C3G : céfotaxime ou ceftriaxone ; FQ : fluoroquinolone ; β-lactamine large spectre : pipéracilline-tazobactam, céfépime, ceftazidime ou méropénème

Les carbapénèmes étant les plus puissantes molécules de la famille des β-lactamines, leur utilisation doit être raisonnée. C'est pourquoi leur place est restreinte dans la stratégie probabiliste, mais peut être envisagée (accord faible) en communautaire chez les patients en choc septique avec des facteurs de risque de bactérie résistante (c.-à-d. antécédent de moins de 3 mois de colonisation ou d'infection à entérobactérie productrice de BLSE ou *P. aeruginosa* ceftazidime-résistant) (73).

En cas d'infection sévère et suspectée comme associée aux soins, la prescription d'un carbapénème ne doit pas être systématique, mais peut être envisagée en cas d'au moins 2 facteurs parmi la liste :

- Traitement datant de moins de 3 mois par céphalosporine de troisième génération, par fluoroquinolones ou par l'association pipéracilline-tazobactam

- Prélèvement de moins de 3 mois, quel que soit le site, montrant un portage d'une entérobactérie productrice de BLSE, ou d'un *P. aeruginosa* ceftazidime-résistant
- Hospitalisation à l'étranger dans les 12 mois (selon l'épidémiologie locale)
- Vie en établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD), ou dans un service de soins de longue durée avec présence d'une sonde à demeure et/ou d'une gastrostomie
- Épidémie en cours due à une bactérie multi-résistante pour laquelle la seule option thérapeutique est un carbapénème (accord fort) (73).

Nous remarquons que la majorité des traitements utilisés en première intention, en cas d'urgence, sont des β -lactamines. Il en découle que les résistances aux β -lactamines à large spectre sont celles à rechercher le plus rapidement, notamment : β -lactamase à spectre élargi, céphalosporinase dérégulée, carbapénémase.

1.2.3.2.1.2. Antibiothérapie orientée d'après la coloration de Gram : traitement adapté à la morphologie microbienne

Dès le résultat de l'observation microscopique de la bactérie/levure présente dans l'hémoculture positive et en fonction de la morphologie et de la coloration de Gram du micro-organisme, des antibiotiques plus efficaces et/ou plus ciblés que ceux constituant le traitement empirique sont débutés (Tableau 14) :

- en cas de cocci à Gram positif évoquant des staphylocoques, on préférera une pénicilline M (type oxacilline/cloxacilline) ou de la céfazoline en cas de suspicion de SASM. On s'orientera vers de la vancomycine en cas de facteur de risque de SARM.
- en cas de cocci à Gram positif en chainettes évoquant des streptocoques ou entérocoques, on s'orientera vers l'amoxicilline dans les cas de suspicion de

pneumocoque, streptocoque ou entérocoque (les C3G sont également utilisables en communautaire, mais ne sont pas actives sur les entérocoques (74)).

- en cas de bacille à Gram négatif, l'antibiotique de choix est une céphalosporine de 3^{ème} génération associée ou non à un agent nitroimidazolé selon le foyer suspecté (surtout en cas de suspicion de foyer digestif ou si un germe anaérobie est suspecté).
- dans les rares cas de cocci à Gram négatif évoquant *Neisseria meningitidis* ou *Moraxella catarrhalis*, le traitement est encore une fois une céphalosporine de 3^{ème} génération.
- enfin en cas de bacilles à Gram positif, on pourra s'orienter vers de l'amoxicilline en cas de suspicion de *Listeria spp.* mais les espèces appartenant aux genres *Corynebacterium spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bacillus spp.* sont les plus fréquemment isolées.
- en cas de levures, on suspectera fortement le genre *Candida spp.* et on privilégiera alors une échinocandine par voie parentérale.

Tel qu'attendu, au vu de ces recommandations, les antibiotiques les plus prescrits en France dans les bactériémies nosocomiales sont les β -lactamines dans 54,81% des cas (dont 20% de C3G et 5,47% de carbapénèmes), les glycopeptides dans 15% des cas et les fluoroquinolones dans 9,85% des cas (19).

Pathogène isolé dans les hémocultures (non exhaustif)	Chimiothérapie anti-infectieuse optimisée de 1^{er} choix
Staphylocoques méticillino-sensibles	Oxacilline/cloxacilline/céfazoline
Staphylocoques méticillino-résistants	Vancomycine/daptomycine
Entérocoques	Amoxicilline
Streptocoques	Amoxicilline
Anaérobies	Nitroimidazolés
Méningocoque	Ceftriaxone/Céfotaxime
Entérobactéries	Céfotaxime/Ceftriaxone
<i>Candida spp.</i>	Fluconazole/Échinocandine
<i>Aspergillus spp.</i>	Isavuconazole/Voriconazole

Tableau 14 : Résumé des thérapeutiques anti-infectieuses adaptées selon l'agent infectieux en France. Données valables seulement en cas de sensibilité prouvée par l'antibiogramme ou l'antifongogramme.

Ainsi, plus vite les données microbiologiques seront obtenues (identification et résistance(s)), plus vite le traitement pourra être adapté, avec des impacts positifs sur le patient (meilleure survie avec un traitement adapté, moins d'effets indésirables) et sur l'écologie (moindre risque de sélection de mutants résistants) (75,76).

1.2.3.2.2. Retrait du matériel

L'implication d'un matériel dans la bactériémie doit entraîner son retrait, dans la mesure du possible (70). En cas d'infection de dispositif implantable par des staphylocoques à coagulase négative (ou corynébactéries, certains streptocoques/entérocoques et exceptionnellement *P. aeruginosa* et autres BGN), des protocoles de décontamination appelés « verrous », comme le « verrou vancomycine » sont possibles.

1.2.3.2.3. Traitement des fongémies

Concernant les fongémies, il s'agit dans la majorité des cas d'une candidémie (*Aspergillus spp.* est très rarement isolé dans les hémocultures (22)). Les recommandations internationales préconisent une échinocandine, par voie intraveineuse, durant 14 jours après la fin de la candidémie (définie par la négativité des hémocultures fongiques prélevées au rythme d'une tous les jours) (77). Un relais

per os par fluconazole est possible au bout de 10 jours de traitement parentéral en cas de patient stable, d'espèce sensible et de voie orale possible. Le positionnement des échinocandines, en première position dans le traitement des sepsis à *Candida spp.*, a été réaffirmé en 2019 par l'ESCIM/ESCMID (European Society of Intensive Care Medicine, European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), mais sans consensus par rapport au fluconazole (69). Toutefois, il a également été réaffirmé que la désescalade des échinocandines vers le fluconazole était conseillée chez des patients stables, en cas d'espèces sensibles et hors présence de cathéter veineux central ou matériel étranger. La durée de traitement de 14 jours après la première hémoculture négative n'a pas été modifiée par ces recommandations. Bien évidemment, en cas de présence de matériel invasif source de l'infection, son retrait le plus précocement possible est fortement recommandé. Si ce matériel n'est pas retirable, il ne faut pas désescalader vers un azolé à cause des propriétés anti-biofilm des échinocandines.

Le diagnostic d'aspergillose, lui, est à évoquer devant une fièvre persistante pendant plus de 48 heures malgré une antibiothérapie large spectre. Les facteurs favorisant de l'aspergillose pulmonaire invasive sont une neutropénie profonde (< 1,5 G/l) ou agranulocytose (0,5 G/l), les traitements immunosuppresseurs ou chimiothérapies. La réalisation d'un scanner thoracique permettra alors de privilégier une aspergillose invasive ou une candidose invasive selon l'aspect typique ou non de l'imagerie (signe du halo ou croissant gazeux). Ainsi, en cas de fièvre prolongée sous antibiotiques, chez un patient à risque d'infection invasive fongique, on s'orientera vers un traitement anti-*Candida spp.* ou anti-*Aspergillus spp.* en fonction des résultats du scanner thoracique, d'éventuels résultats mycologiques d'autres sites et de l'histoire clinique du patient (22,72).

1.2.4. Résistances

L'âge d'or des antibiotiques, à partir de la seconde moitié du 20^{ème} siècle, a laissé place à une inquiétude grandissante, suite à deux phénomènes concomitants : la quasi-absence de découverte de nouvelles classes d'antibiotiques et l'augmentation importante des résistances bactériennes. La lutte contre ces résistances est une course que certains qualifient de perdue d'avance. Cependant, une bonne gestion des anti-infectieux permet *a minima* de retarder cette échéance pour les plus pessimistes, ou même de renverser la vapeur comme cela est en train de se produire pour certaines espèces de bactéries à Gram positif, notamment *S. aureus* en Europe (78,79).

Les résistances développées par les bactéries sont extrêmement diverses. Certaines résistances présentent un fort impact sur les thérapeutiques de 1^{ère} ligne, utilisées pour le traitement des bactériémies et doivent être détectées au plus vite pour ne pas faire perdre de chance au patient (80).

Nous ferons uniquement, ici, un focus particulier sur les mécanismes de résistances détectés par le test de diagnostic rapide des bactériémies ePlex BCID, qui sera détaillé dans la suite de ce manuscrit.

1.2.4.1. β -lactamases à spectre élargi (BLSE) et céphalosporinases hyperproduites (HCASE)

Les BLSE sont des β -lactamases qui confèrent une résistance à toutes les β -lactamines, excepté aux céphamycines et aux carbapénèmes. Elles sont fréquemment sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases, bien que la restauration d'activité observée *in vitro* soit souvent insuffisante pour permettre leur utilisation en thérapeutique.

En 2018, le Centre national de référence (CNR) de la résistance aux antibiotiques a étudié le mécanisme de résistance aux β -lactamines de 923 souches d'entérobactéries (origine des prélèvements non précisée) (81). Parmi celles-ci, 121 souches étaient productrices de BLSE et 94 productrices de céphalosporinase plasmidique. Les espèces majoritaires étaient *K. pneumoniae* (37,4 %), *E. coli* (21,3 %), *E. cloacae* (21,3 %) et *P. mirabilis* (13,4 %). Le gène principal retrouvé est *CTX-M* qui représentait plus de 97% des gènes de BLSE identifiés par le CNR en 2018 (dont 71,5% correspondaient au gène *CTX-M-15*). Les autres gènes de BLSE (*SVH-12*, *TEM-3*) étaient anecdotiques (0,8% et 1,7% respectivement) (81). Notons que seul le gène *CTX-M* est recherché dans la cartouche ePlex Gram négatif qui sera détaillée dans un chapitre ultérieur.

L'hyperproduction d'une céphalosporinase survient généralement chez les entérobactéries du groupe 3 (hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique codée par le gène *ampC*), ou suite à l'acquisition d'un gène codant une céphalosporinase plasmidique pour les entérobactéries des groupes 0 et 2. Ce mécanisme confère une résistance à toutes les β -lactamines, excepté au céfépime et aux carbapénèmes. Concernant les entérobactéries, les céphalosporinases plasmidiques les plus fréquentes sont les enzymes de type *DHA* (61,7%) et *CMY* (37,2%) (81). Par ailleurs, en 2018 en France, 14,8% des souches de *P. aeruginosa* hyperproduisaient de manière isolée leur céphalosporinase AmpC.

Les données du réseau EARS-Net (centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies (ECDC- European Centre for Disease Prevention and Control)) indiquent qu'en France en 2019, 8,8% des isolats invasifs d'*E. coli* étaient résistants aux C3G (tendance à la baisse), 30,2% pour *K. pneumoniae*. Enfin, 11,5% des souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes au ceftazidime (82).

1.2.4.2. Carbapénémases

D'après les données EARS-Net, en France en 2019, moins de 1% des souches invasives d'*E. coli* étaient résistants aux carbapénèmes (imipénème, méropénème) contre 1% des isolats de *K. pneumoniae* (avec une tendance à la hausse), 12,7% des isolats de *P. aeruginosa* (avec une tendance à la baisse) et 9% des isolats d'*Acinetobacter spp.* (82).

Concernant les entérobactéries, les carbapénémases les plus fréquentes en France sont de type *OXA-48* (71,8%), *NDM* (15,7%), *VIM* (4,9%), *KPC* (3%), *IMP* (1,3%) (Tableau 15). Pour ce qui est des souches de *P. aeruginosa* productrices de carbapénémase, les enzymes de type *VIM* sont les plus fréquentes (74,7% des souches analysées) (81). Elles sont toutes recherchées dans la cartouche ePlex Gram négatif.

Carbapénémase	Classification d'Ambler	Hydrolyse des β -lactamines	Inhibée par (<i>in vitro</i>)	Germes fréquemment impliqués	Mortalité
OXA-48	Classe D	Toutes sauf ceftazidime +/- céfotaxime/ceftriaxone	/	Entérobactéries (principalement <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>)	N.C
NDM	Classe B (métallo- β -lactamase)	Toutes sauf aztréonam	EDTA Acide dipicolonique	Entérobactéries (principalement <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>)	18% à 67%
VIM	Classe B (métallo- β -lactamase)	Toutes sauf aztréonam	EDTA Acide dipicolonique	Entérobactéries	18% à 67%
KPC	Classe A	Toutes	Acide boronique Partiellement par IBL	Entérobactéries, <i>P. aeruginosa</i> , <i>A. baumannii</i>	>50%
IMP	Classe B (métallo- β -lactamase)	Toutes sauf aztréonam	EDTA Acide dipicolonique	Entérobactéries	18% à 67%

Tableau 15 : Détails des différentes carbapénémases les plus fréquentes en France Adapté d'après (83–85)

En cas d'isolement d'une bactérie productrice de carbapénémase dans une bactériémie, les options thérapeutiques sont limitées. Il est possible d'avoir recours à des antibiotiques anciens, mis de côté pour leur toxicité. C'est le cas de la colistine notamment, ou encore d'antibiotiques de seconde ligne comme la fosfomycine ou la tigécycline (86,87). De nouveaux antibiotiques comme l'association ceftazidime-avibactam, l'imipenème-relebactam, le méropénème-vaborbactam, ou parfois encore en phase d'évaluation comme l'aztréonam-avibactam, figurent parmi les options thérapeutiques selon le type de carbapénémase identifié (88).

1.2.4.3. Résistance à la méticilline des staphylocoques

Cette résistance est liée à l'acquisition d'une nouvelle PLP alternative, la PLP2a, beaucoup moins affine envers les β -lactamines. La résistance est portée par les gènes *mecA* ou *mecC*, contenus dans un élément génétique mobile intégré au chromosome bactérien (SCCmec, staphylococcal cassette chromosome). Cette résistance s'étend à toutes les β -lactamines à l'exception des nouvelles « C5G » (ceftaroline, ceftobiprole) qui présentent une très bonne efficacité, évaluée à 86,2% et 96,5% respectivement, sur des souches de SARM en Europe en 2015 (89).

En 2019, selon EARS-Net, 11,6% des isolats invasifs en France de *S. aureus* étaient résistants à la méticilline avec une tendance à la baisse (82).

Si l'on en croit les données du CNR des staphylocoques de Lyon, en 2018, sur les 166 souches de *S. aureus* et 33 souches de staphylocoques à coagulase négative (SCoN) envoyées pour expertise et pour lesquelles était demandée une étude de sensibilité ou de résistance à la méticilline, 41,5% des souches de *S. aureus* s'avéraient être des SARM avec une présence du gène *mecA* dans des 85,5% cas et *mecC* dans 14,5%

des cas. Quant aux SCoN, ils étaient résistants à la méticilline dans 36,4% des cas, avec une présence du gène *mecA* dans 100% des cas (90).

1.2.4.4. Résistance aux glycopeptides (vancomycine, teicoplanine) des entérocoques

Les entérocoques possèdent une PLP de faible affinité pour les β -lactamines, la PLP5, leur conférant une résistance intrinsèque à l'oxacilline, aux céphalosporines et à certaines autres β -lactamines. Toutefois, une sensibilité à certaines d'entre elles persiste mais dépend de l'espèce : ainsi les souches d'*E. faecium* sont majoritairement résistantes à l'amoxicilline, alors que l'espèce *E. faecalis* est constamment sensible aux pénicillines A. Les antibiotiques de recours sont la vancomycine ou la daptomycine. Cependant, depuis plusieurs années, on assiste à l'émergence d'entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) par l'acquisition des gènes *vanA* ou *vanB*, modifiant la cible des glycopeptides. Le mécanisme de résistance conféré par ces 2 gènes entraîne la substitution du dipeptide du peptidoglycane D-Ala-D-Ala par un peptide D-Ala-D-Lac, ce qui diminue de façon conséquente leur affinité pour les glycopeptides. Le gène *vanA* est inductible par la vancomycine et la teicoplanine, alors que *vanB* l'est seulement par la vancomycine (91). Selon les données 2018 du CNR de la résistance aux antibiotiques, sur les 725 souches d'entérocoques confirmées résistantes aux glycopeptides, le gène *vanA* était majoritaire parmi les ERG (n=487; 67%), suivi du gène *vanB* (n=231, 32%) (81).

En 2019, d'après EARS-Net, 0,7% des isolats invasifs d'*E. faecium* étaient résistants à la vancomycine (82).

1.2.4.5. Épidémiologie des résistances au CHUGA

Au niveau de notre centre, les SARM suivent une cinétique plutôt décroissante avec 6 % de *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline en 2019, alors que pour les bactéries à Gram négatif la tendance est à l'augmentation, avec des taux croissants de production de BLSE, voire inquiétants pour *K. pneumoniae* (Tableau 16, Figure 19).

	2016	2017	2018	2019
SARM	9,60%	11%	3,20%	6%
Entérobactéries BLSE	8,50%	8,80%	9,90%	10,40%
<i>E. coli</i> BLSE	5%	8,7%	9,0%	9%
<i>K. pneumoniae</i> BLSE	3,4%	17,9%	22,2%	23%
<i>E. cloacae</i> BLSE	0,6%	9,6%	9,6%	22%
<i>E. coli</i> BLSE d'origine nosocomiale	48,40%	33,30%	10%	31%
<i>K. pneumoniae</i> BLSE d'origine nosocomiale	47,60%	33,30%	21,60%	65%
<i>E. cloacae</i> BLSE d'origine nosocomiale	100%	100%	0%	73%

Tableau 16 : Prévalence des principales résistances au CHUGA depuis 2016.
Adapté d'après « Bilan des bactériémies 2016-2019, collaboration Bactériologie-Infectiologie-Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes »

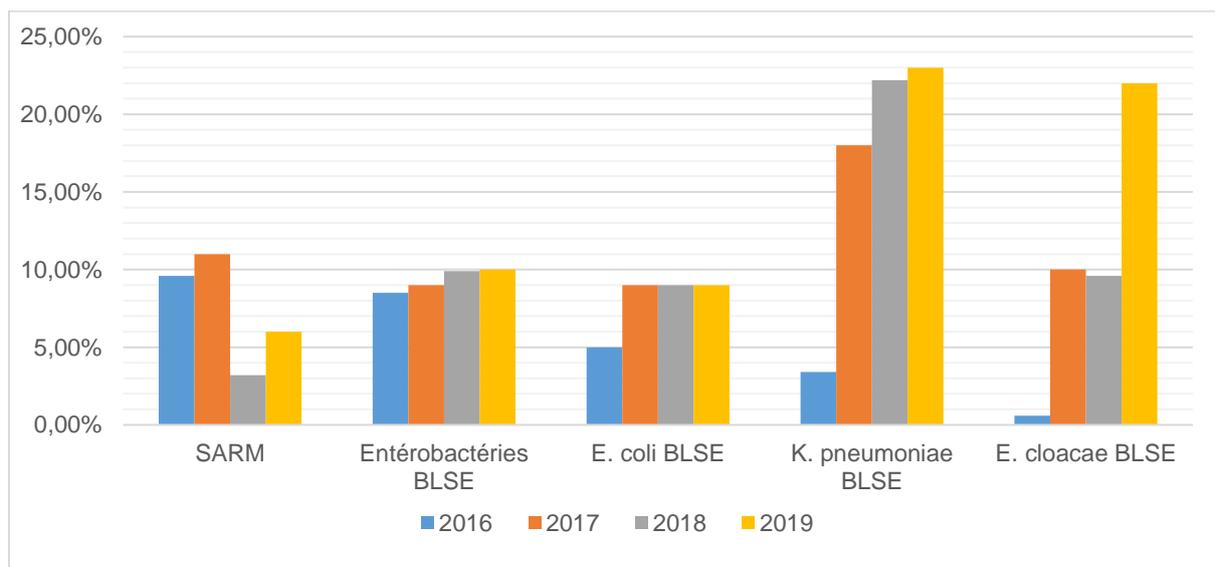


Figure 19 : Évolution des principales résistances au cours des années 2016 à 2019 au CHUGA.
D'après « Bilan des bactériémies 2016-2019, collaboration Bactériologie-Infectiologie-Hygiène hospitalière, CHU Grenoble Alpes »

1.3. Techniques rapides d'identification des micro-organismes pathogènes et des gènes de résistance par PCR multiplexe syndromique

Depuis une dizaine d'années, l'utilisation de PCR dites syndromiques s'intensifie. Ces PCR proposent, selon la présentation clinique du patient, la recherche d'un panel de pathogènes parmi les plus fréquemment impliqués dans un tableau clinique caractéristique (méningite/encéphalite, sepsis, respiratoire...) en un seul test rapide. Les gains espérés sont à la fois un gain clinique par la réduction des délais diagnostiques, un gain de temps technique, ainsi qu'un gain économique par la diminution des examens complémentaires inutiles, des traitements superflus et la réduction des durées des séjours hospitaliers.

Dans le cadre de cette thèse, nous nous focaliserons sur les PCR syndromiques et leur impact médico-économique. Les autres techniques rapides d'identification bactérienne des bactériémies et leurs performances microbiologiques ont déjà fait l'objet de revues récentes et détaillées (92–94).

Plusieurs acteurs se sont positionnés sur le marché des PCR multiplexes avec des panels différents. Les principaux fabricants sont les sociétés GenMark Diagnostics (Panels ePlex, Tableaux 19-21), BioFire/BioMérieux (Panels FilmArray, Tableau 17), Luminex (Panels Verigene, xTag, Tableau 18), Becton Dickinson (Panels BD MAX) et QIAGEN (QIAstat-Dx Panel) (95,96).

Ils proposent des panels adaptés à différents types d'infections :

- Respiratoires (ePlex, FilmArray, Verigene, xTAG, QIAstat-Dx)
- Sepsis (ePlex, FilmArray, Verigene)
- Gastro-intestinaux (FilmArray, Verigene, xTAG, BD MAX, QIAstat-Dx)
- Système nerveux central (FilmArray)

Le principe général de ces plateformes est semblable : un système automatisé central accueille une cartouche contenant les réactifs dans laquelle est ajoutée une aliquote du prélèvement d'intérêt, seule étape d'intervention technique humaine. Ces PCR syndromiques permettent de réduire de façon notable le temps technique (temps réduit de 1 à 7 minutes selon les panels et les fabricants), d'accroître le nombre de cibles pathogènes recherchées (de 3 à 43 selon les panels et les fabricants), en un temps analytique réduit (de 0,75 à 5 heures selon les panels et les fabricants).

Les technologies FilmArray, Verigene et ePlex sont détaillées ci-dessous. Le principe des panels ePlex BCID de GenMark® sera détaillé de manière plus complète, car il s'agit du test évalué dans le protocole HEMOFAST présenté dans cette thèse.

1.3.1. Technologies FilmArray et Verigene

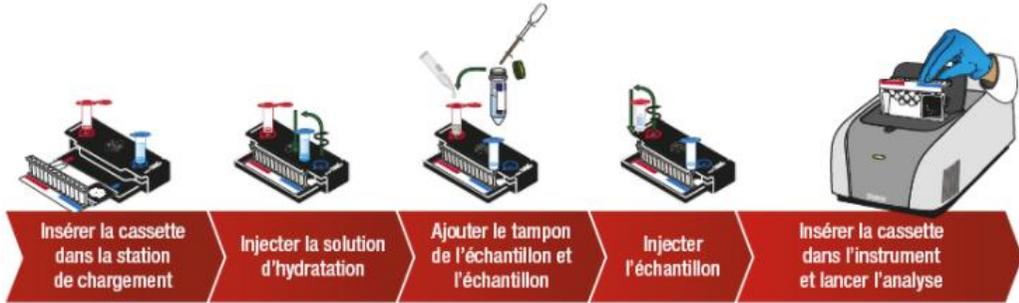
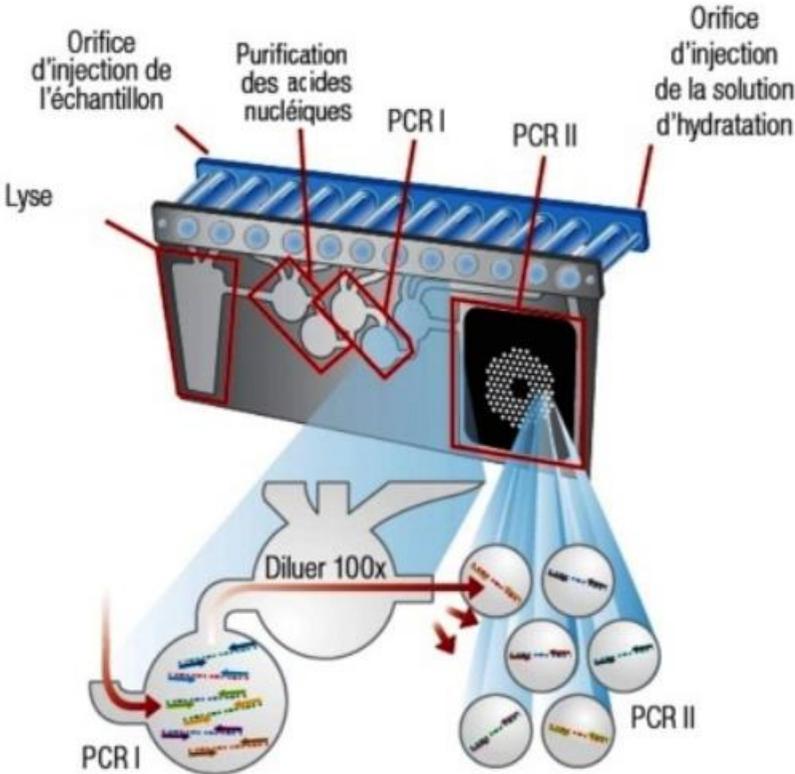
Principe général	Unité centrale	Cartouche
<p>Insertion de la cartouche dans la station de chargement. Ajout de la solution d'hydratation et de l'échantillon patient. Insertion de la cartouche dans l'unité centrale.</p> <p>Étapes automatisées de lyse cellulaire, d'extraction de l'ARN ou ADN, de purification puis d'amplification par 2 étapes de PCR (PCR nichées).</p> <p>Détection par hybridation des séquences amplifiées avec des sondes couplées à des fluorochromes.</p>	 <p>Sample Prep + Amplification + Detection</p>  <p>Insérer la cassette dans la station de chargement → Injecter la solution d'hydratation → Ajouter le tampon de l'échantillon et l'échantillon → Injecter l'échantillon → Insérer la cassette dans l'instrument et lancer l'analyse</p>	 <p>Orifice d'injection de l'échantillon, Purification des acides nucléiques, PCR I, PCR II, Orifice d'injection de la solution d'hydratation, Lyse, Diluer 100x, PCR I, PCR II</p>

Tableau 17 : Composition et principe du test FilmArray.
D'après <https://www.biomerieux-diagnostics.com/filmarray>, <https://www.biomerieux-usa.com/clinical/biofire-film-array>, <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/filmarray-me-panel-meningite-encephalite>

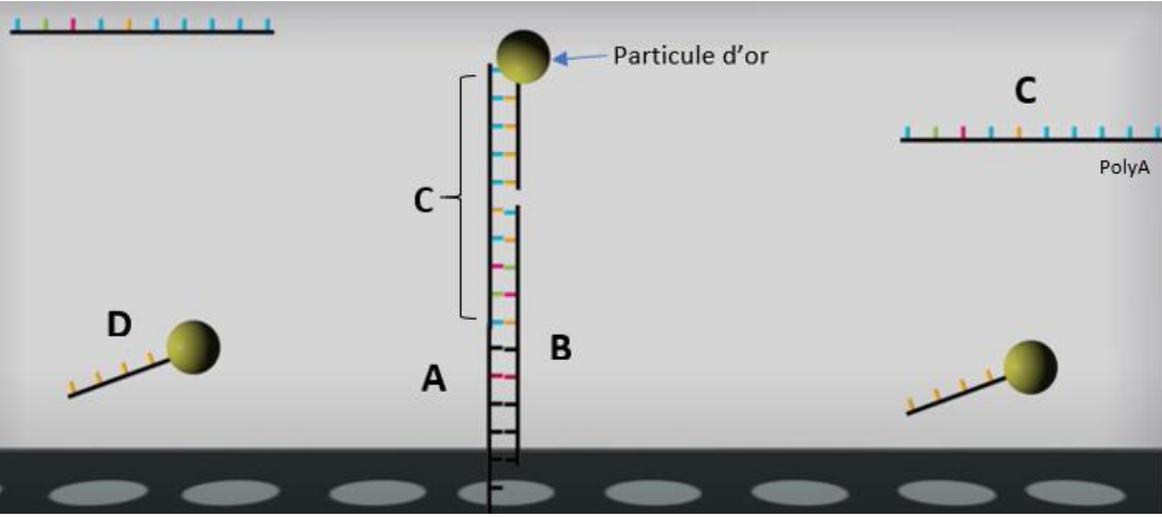
Principe général	Unité centrale	Cartouche
<p>Utilisation de 4 consommables à usage unique par test :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Une plaque d'extraction - Un support de pointe - Une plaque d'assemblage - Une cartouche <p>Chargement sur le « VERIGENE PROCESSOR SP » d'une plaque d'extraction, du support de pointe et de la plaque d'assemblage. Insertion de la cartouche et de l'échantillon. Au bout de 2 heures, retrait de la cartouche du VERIGENE PROCESSOR SP et séparation du support de substrat du reste de la cartouche. Chargement dans le « VERIGENE Reader » pour l'analyse finale : 10 secondes pour obtenir les résultats.</p> <p>Détection par diffraction de lumière créée par la liaison de particules d'argent sur une particule d'or, entraînant la création d'un spot lumineux visible sur la lame en cas de présence de l'acide nucléique cible.</p>	<p>2 éléments :</p> <ul style="list-style-type: none"> - Verigene Processor SP : combine l'extraction, la purification, l'amplification et l'hybridation d'acides nucléiques automatisés dans chaque module. - Verigene Reader : interprète les résultats de la cartouche  <p>2 Verigene Processor SP (à gauche) 1 Verigene Reader (à droite)</p> <p>Focus sur la technologie de détection :</p> <p>A : Brin ADN complémentaire lié au microréseau B : ADN extrait se liant à A et dépassant de A C : Séquence médiatrice pontant par sa partie basse le brin cible complémentaire B et par sa partie haute (contenant des polyA) la queue poly-T liée à la particule d'or D D : particule d'or liée à une queue poly-T</p>	 <p>La cartouche contient 2 éléments séparables : un pack de réactifs et un support de substrats.</p> <p>Le pack de réactifs est une cassette microfluidique qui contient tous les réactifs d'hybridation nécessaires pour un seul test et capture les déchets générés pendant le traitement du test.</p> <p>Le support de substrats contient une lame de verre qui sert de support solide pour le microréseau utilisé pour capturer les acides nucléiques ciblés.</p> 

Tableau 18 : Composition et principe du test Verigene.
D'après <https://www.luminexcorp.com/the-verigene-system/>

1.3.2. Technologie ePlex

Intéressons-nous à présent plus en détail à la PCR ePlex. Fabriquée et commercialisée par GenMark Diagnostics Inc. (5964 La Place Court, Carlsbad, CA 92008, USA), la PCR multiplexe ePlex® est un test de diagnostic *in vitro* d'amplification des acides nucléiques, destiné à détecter et identifier simultanément un panel d'agents infectieux et de gènes de résistances. Ce test multiplexe est en grande partie automatisé, seul un temps technique court (environ 2 minutes) est requis (Figure 20).

Dans le cadre du diagnostic des bactériémies et fongémies, c'est un test diagnostique qui vient s'ajouter à la prise en charge classique sans la remplacer. Il s'effectue directement sur un flacon d'hémoculture positif, après coloration de Gram pour permettre le choix du panel à utiliser parmi les panels GP, GN et FP. Les différents panels sont résumés ci-dessous (Tableaux 19, 20 et 21).



Étape 1 : Dépôt de l'échantillon dans la cartouche ePlex

Étape 2 : Insertion de la cartouche dans l'automate ePlex

Étape 3 : Génération du rapport de résultat

Figure 20 : Déroulement technique du test ePlex®

D'après <https://www.genmarkdx.com/int/solutions/panels/eplax-panels/blood-culture-identification-panels/>

1.3.2.1. Composition des panels

Chaque cartouche contient un panel de bactéries à Gram positif (GP), à Gram négatif (GN) ou de micromycètes (FP) parmi les plus fréquents. Les panels GN et GP associent à l'identification du pathogène, la recherche de quelques gènes de résistances choisis pour leur impact clinique majeur.

Panel de la cartouche BCID-GN (Gram négatif) :

Bactéries (n=21)	Gènes de résistance (n=6) et type de β -lactamase		Cibles pan-
<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Citrobacter</i> <i>Cronobacter sakazakii</i> <i>Enterobacter (non complexe cloacae)</i> <i>Enterobacter complexe cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Fusobacterium nucleatum</i> <i>Fusobacterium necrophorum</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae group</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Proteus</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella</i> <i>Serratia</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	CTX-M	BLSE	Pan <i>Gram Positif</i>
	IMP	Carbapénémase	Pan <i>Candida</i>
	KPC	Carbapénémase	
	NDM	Carbapénémase	
	OXA (OXA-23 et OXA-48)	Carbapénémase	
	VIM	Carbapénémase	

Tableau 19 : Liste des cibles du panel de la cartouche BCID-GN
D'après (97)

Le panel BCID-GN détecte également la présence de plusieurs espèces de levures du genre *Candida spp.* via une cible pan-Candida (détectant *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*) et de bactéries à Gram positif via une cible pan-Gram positif (détectant les genres *Streptococcus*, *Staphylococcus*, *Bacillus* et *Enterococcus*). Les panels correspondants doivent être utilisés dans un second temps en cas de détection de ces cibles pan-Candida ou pan-GP.

Panel de la cartouche BCID-GP (Gram positif) :

Bactéries (n=20)	Gènes de résistance (n=4) et rôle enzymatique		Cibles pan-
<i>Bacillus groupe cereus</i> <i>Bacillus groupe subtilis</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Cutibacterium acnes</i> <i>(Propionibacterium acnes)</i> <i>Enterococcus</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Listeria</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Micrococcus</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>(streptocoque du groupe B)</i> <i>Streptococcus groupe anginosus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>(streptocoque du groupe A)</i>	<i>mecA</i>	Résistance à la méticilline	Pan Gram Négatif
	<i>mecC</i>	Résistance à la méticilline	Pan <i>Candida</i>
	<i>vanA</i>	Résistance aux glycopeptides	
	<i>vanB</i>	Résistance aux glycopeptides	

Tableau 20 : Liste des cibles du panel de la cartouche BCID-GP
D'après (97)

Comme pour le panel BCID-GN, le panel BCID-GP contient une cible pan-*Candida* et une cible pan-Gram négatif (détectant jusqu'à 95% des bactéries à Gram négatif et notamment les *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Bacteroides*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Serratia* et *Neisseria*) (98).

En ce qui concerne les gènes de résistances détectés, lors de la validation des résultats de ces cartouches, il faut bien garder à l'esprit que seuls certains mécanismes de résistance de fort impact thérapeutique sont recherchés par cette PCR. De multiples autres mécanismes de résistance existent. Il faut donc bien connaître les résistances recherchées dans les panels BCID, pour ne pas tirer de conclusions erronées sur la sensibilité aux antibiotiques basées uniquement sur le résultat de cette PCR. Toutefois, si l'on extrapole les données des CNR déjà décrites auparavant, nous pouvons estimer qu'en France en 2018 (81,90) :

- plus de 90% des enzymes BLSE sont de type *CTX-M* et seront donc détectées par le panel BCID-GN

- 74,7% des carbapénémases de *P. aeruginosa* sont de type *VIM* et seront détectées par le panel BCID-GN
- 95,4% des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes produisent une carbapénémase de type *OXA-48*, *NDM*, *VIM*, *KPC*. Toutes sont présentes dans le panel BCID-GN.
- 99% des entérocoques résistants aux glycopeptides possèdent les gènes *vanA* ou *vanB*, présents dans le panel BCID-GP
- 100% des SARM possèdent le gène *mecA* ou *mecC* et 100% des staphylocoques à coagulase négative résistants à la méticilline possèdent le gène *mecA* présents dans le panel BCID-GP

Au total, la couverture des principaux gènes de résistance s'avère tout à fait intéressante pour une technique rapide, qui sera toujours associée à un antibiogramme. Il est néanmoins important de rappeler qu'en cas d'identification de plusieurs bactéries et d'un gène de résistance, on ne peut savoir précisément quelle bactérie en est porteuse.

Le dernier panel, le panel fongique (Tableau 21), couvre 15 cibles fongiques mais ne recherche pas la présence de gènes de résistance. En revanche, il permet la détection rapide de *C. auris*, un pathogène considéré comme émergent avec des caractéristiques de résistances aux azolés inquiétantes et classé par le CDC (center for disease control, centre pour le contrôle des maladies) comme menace urgente (98–100) .

Panel de la cartouche fongique BCID-FP :

Espèces	Sous-espèces
<i>Candida</i>	<i>C. albicans, C. auris, C. dubliniensis, C. famata, C. glabrata, C. guilliermondii, C. kefyr, C. krusei, C. lusitaniae, C. parapsilosis, C. tropicalis</i>
<i>Cryptococcus</i>	<i>C. gattii, C. neoformans</i>
<i>Fusarium</i>	
<i>Rhodotorula</i>	

Tableau 21 : Panel de la cartouche fongique (n=15)
D'après (97)

1.3.2.2. Technologie ePlex : électromouillage et eSensor

La technologie innovante de cette PCR repose sur l'utilisation d'une cartouche à usage unique (Figure 21), qui effectue de manière automatisée les étapes normalement manuelles d'une PCR, à savoir celles d'extraction, d'automatisation et de détection, en combinant la technologie de l'électromouillage et la technique propriétaire de détection : GenMark's eSensor®. Cette technologie associe une détection électrochimique à l'hybridation compétitive de l'ADN, permettant de garantir une spécificité élevée, car la détection n'est pas basée sur une détection optique ou par fluorescence.



Figure 21 : Image des 3 cartouches disponibles constituant le panel bactériémies et fongémies.
D'après <https://genmarkdx.com/panels/eplax-panels/bcid-panels/>

La réalisation du test est simple : 50 µL de sang de l'hémoculture d'intérêt sont déposés dans la chambre de réaction de la cartouche (Figure 22 : A). Cette étape est la seule intervention humaine et a une durée estimée selon le fabricant à moins de 2 minutes, ce que nous confirmons en pratique. La cartouche BCID est alors prête à être installée dans l'automate ePlex®. L'échantillon et les réactifs sont déplacés dans toutes les chambres réactionnelles par la technique de l'électromouillage (utilisation de champs électriques pour diriger des gouttelettes sur la surface hydrophobe d'un circuit imprimé). L'extraction et la purification se font par extraction magnétique en phase solide. De l'ADN complémentaire double-brin est généré par la PCR, puis est séparé en simples brins par une exonucléase. L'ADN cible ainsi formé va pouvoir se lier à 2 sondes, dont l'une est fixée sur des électrodes recouvertes d'or (sonde de capture) et l'autre est marquée au ferrocène (sonde signal). Ces deux sondes sont spécifiques de chaque ADN cible à détecter (correspondant à un gène spécifique d'un pathogène ou à un gène de résistance).

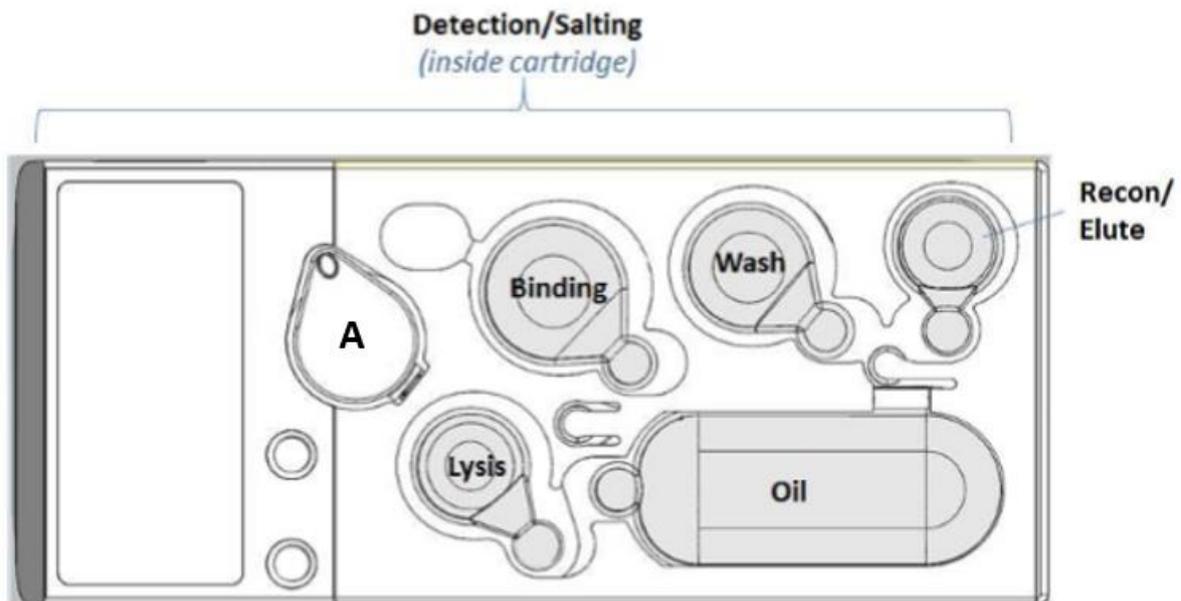


Figure 22 : Représentation schématique de l'intérieur d'une cartouche
Adapté d'après <https://genmarkdx.com/wp-content/uploads/2017/11/MSDS0024-B-ePlex-RP-Safety-Data-Sheet-SDS-CLP-EU-French.pdf>

Ainsi, si la cible (bactérie, micromycète ou gène de résistance) est présente dans le prélèvement, l'ADN amplifié va se lier aux deux sondes permettant sa détection par la génération d'un petit signal électrique (grâce au ferrocène) qui sera mesuré par voltampérométrie (95,101,102).

Les étapes d'hybridation et d'émission du signal sont résumées dans la figure 23 ci-dessous :

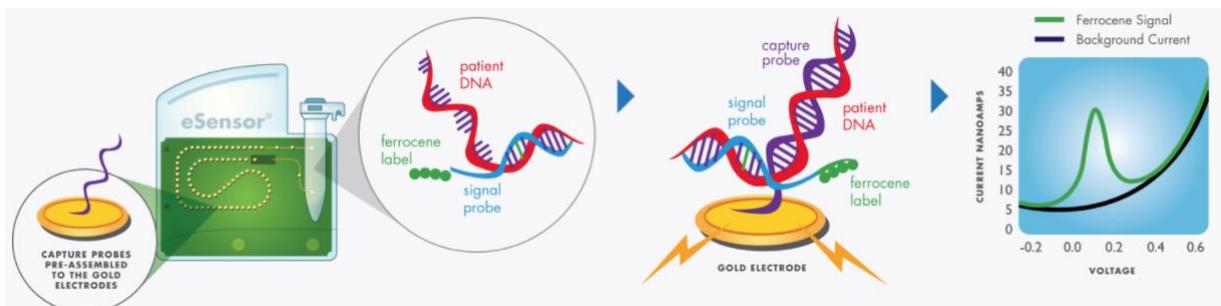


Figure 23: Représentation schématique du principe analytique de la PCR ePlex®
Le complexe ADN cible-sonde signal précédemment créé se lie à la sonde de capture fixée sur une électrode à l'or. L'hybridation entre l'ADNc, les sondes signal et de capture entraîne la production d'un courant électrique mesuré par voltampérométrie. C'est cette génération, ou non-génération, de signal qui permet de déterminer la présence, ou l'absence, du pathogène/gène de résistance d'intérêt. D'après (101)

1.3.3. Principaux panels de PCR multiplexe syndromique commercialisés

Voici le résumé des caractéristiques et des pathogènes recherchés par les principales PCR syndromiques actuellement commercialisées (Tableaux 22-25, non exhaustifs et datant pour la plupart d'avant l'inclusion du SARS-CoV-2) :

Panel respiratoire

Fabriquant	Nom du panel	Nombre de cibles total	Bactéries	Micromycètes	Virus	Détection de gènes de résistance	Temps technique (minutes)	Durée du test (h)	Coût	Référence
FilmArray	BioFire® FilmArray® Pneumonia Panel plus	34	18 <i>Acinetobacter complexe calcoaceticus-baumannii</i> <i>Enterobacter complexe cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella groupe oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	9 <i>Adénovirus</i> <i>Coronavirus</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Entérovirus/rhinovirus humains</i> <i>Virus de la grippe A et B</i> <i>Coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient (MERS CoV)</i> <i>Virus parainfluenza</i> <i>Virus respiratoire syncytial</i>	7 <i>mecA/C</i> <i>MREJ</i> <i>IMP</i> <i>KPC</i> <i>NDM</i> <i>OXA-48-like</i> <i>VIM</i> <i>CTX-M</i>	2	1	≈ 130€ HT	(103)
	FilmArray® Respiratory Panel 2.1 plus (RP2.1 plus)	23	4 <i>Bordetella pertussis</i> <i>Bordetella parapertussis</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	19 <i>Adénovirus</i> <i>Coronavirus HKU1, 229E, OC43, NL63</i> <i>MERS-CoV</i> <i>SARS-CoV-2</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Rhinovirus humain/Entérovirus</i> <i>Virus de la grippe A, A/H1, A/H1-2009, A/H3, B</i> <i>Virus parainfluenza 1 à 4</i> <i>Virus respiratoire syncytial</i>	0	2	0,75	≈ 100€ HT	(104)
Luminex	NxTAG® Respiratory Pathogen Panel	20	2 <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	18 <i>Entérovirus/rhinovirus humains</i> <i>Adénovirus</i> <i>Virus parainfluenza 1 à 4</i> <i>Coronavirus HKU1, NL63, 229E, OC43</i> <i>Influenza A, A H3, A H1, B</i> <i>Virus respiratoire syncytial A et B</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Bocavirus</i>	0	7	5		(105)

Luminex	VERIGENE® Respiratory Pathogens Flex Test	16	3 <i>Bordetella pertussis</i> <i>Bordetella parapertussis/B. bronchiseptica</i> <i>Bordetella holmesii</i>	0	13 <i>Adénovirus</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Influenza A, A (sous-types H1 et H3), B</i> <i>Virus parainfluenza 1 à 4</i> <i>Rhinovirus</i> <i>Virus respiratoire syncytial A et B</i>	0	5	2		(106)
GenMark	ePlex Respiratory Pathogen (RP) Panel	17	2 <i>Chlamydia pneumoniae</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i>	0	15 <i>Adénovirus</i> <i>Coronavirus (229E, HKU1, NL63, OC43)</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Entérovirus/rhinovirus humains</i> <i>Influenza A, A H1, A H1-2009, A H3, B</i> <i>Virus parainfluenza 1 à 4</i> <i>Virus respiratoire syncytial A et B</i>	0	2	1,5	≈ 130 € TTC	(107)
QIAGEN	QIAstat-Dx Respiratory Panel	21	3 <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Bordetella pertussis</i>	0	18 <i>Influenza A, A sous-type H1N1/2009,</i> <i>sous-type H1, sous-type H3 et B</i> <i>Coronavirus 229E, HKU1, NL63, OC43</i> <i>Virus parainfluenza 1 à 4</i> <i>Virus respiratoire syncytial A/B</i> <i>Métapneumovirus humain</i> <i>Adénovirus</i> <i>Bocavirus</i> <i>Rhinovirus/Entérovirus</i>	0	1	1	107,5 €	(96,108)

Tableau 22 : Principales PCR syndromiques respiratoires actuellement commercialisées

Panel gastro-intestinal

Nom commercial	Nom du panel	Nombre de cibles total	Cibles bactériennes	Parasites	Virus	Détection de gènes de résistance	Temps technique (minutes)	Durée du test (h)	Coût du test unitaire	Référence
FilmArray	FilmArray® GI Panel (Gastrointestinal)	22	13 <i>Campylobacter (jejuni, coli et upsaliensis)</i> <i>Clostridium difficile (toxine A/B)</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus et cholerae)</i> <i>E. coli entéroaggrégative (EAEC), entéropathogène (EPEC), entérotoxigénique (ETEC) lt/st, produisant des Shiga-toxines (STEC) stx1/stx2</i> <i>E. coli O157</i> <i>E. coli Shigella/entéroinvasive (EIEC)</i>	4 <i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>	5 <i>Adenovirus F40/41</i> <i>Astrovirus</i> <i>Norovirus GI/GII</i> <i>Rotavirus A</i> <i>Sapovirus (I, II, IV et V)</i>	0	2	1	≈ 90€ HT	(109, 110)
Luminex	VERIGENE® Enteric Pathogens Test	9	7 <i>Campylobacter Groupe</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Shigella spp.</i> <i>Vibrio Groupe</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>Shiga Toxine 1 (stx1) et 2 (stx2)</i>	0	2 <i>Norovirus</i> <i>Rotavirus</i>	0	5	2		(111)
QIAGEN	QIAstat-Dx Gastrointestinal Panel	24	14 <i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus et cholerae)</i> <i>Campylobacter spp. (Campylobacter jejuni, Campylobacter upsaliensis, Campylobacter coli)</i> <i>Salmonella spp.</i> <i>Clostridium difficile (tcdA/tcdB)</i> <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>E. coli entérotoxigénique (ETEC), entéropathogène (EPEC), entéroaggrégative (EAEC), producteur de shigatoxines,</i> <i>producteur de shigatoxines et sérotype O157:H7</i> <i>E. coli entéroinvasive (EIEC)/Shigella</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i>	4 <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Cryptosporidium spp.</i> <i>Giardia lamblia</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i>	6 <i>Adenovirus humain F40/F41</i> <i>Norovirus GI</i> <i>Norovirus GII</i> <i>Rotavirus A</i> <i>Astrovirus</i> <i>Sapovirus GI, GII, GIV et GV</i>	0	1	1	105\$	(108, 112)
Luminex	xTAG® Gastrointestinal Pathogen Panel	15	9 <i>Campylobacter</i> <i>Clostridium difficile Toxine A/B</i> <i>Escherichia coli O157</i> <i>E. coli entérotoxigénique LT/ST</i> <i>E. coli productrice de shigatoxines stx1/stx2</i> <i>Salmonella</i> <i>Shigella</i> <i>Vibrio cholerae</i> <i>Yersinia enterocolitica</i>	3 <i>Cryptosporidium</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia</i>	3 <i>Adénovirus 40/41</i> <i>Norovirus GI/GII</i> <i>Rotavirus A</i>	0	7	5		(113)

BD Max	Test BD MAX™ Bactéries Entériques (panel étendu disponible, en sus du panel classique)	4	4 <i>Salmonella spp.</i> <i>Campylobacter spp. (jejuni et coli)</i> <i>Shigella spp. / E. coli entéro-invasif (EIEC)</i> Gènes de Shiga-toxines 1 (stx1) et2 (stx2) Panel étendu (+5) : <i>Yersinia enterocolitica</i> <i>E. coli entérotoxigénique (ETEC)</i> <i>Plesiomonas shigelloides</i> <i>Vibrio spp. (V. vulnificus/ V. parahaemolyticus/V. cholerae)</i>	0	0	0	1	2		(114)
BD Max	Test BD MAX™ Parasites Entériques	3	0	3 <i>Giardia lamblia</i> <i>Cryptosporidium</i> <i>spp. (C. parvum et</i> <i>C. hominis)</i> <i>Entamoeba</i> <i>histolytica</i>	0	0	NC	4.5		(115)
BD Max	Détection des Virus Entériques sur le système BD MAX™	5	0	0	5 <i>Norovirus</i> <i>Rotavirus</i> <i>Adénovirus</i> <i>Astrovirus</i> <i>Sapovirus</i>	0	NC	3		(116)

Tableau 23 : Principales PCR syndromiques gastro-intestinales actuellement commercialisées

Panel « infections du SNC »

Nom commercial	Nom du panel	Nombre de cibles total	Bactéries	Micromycètes	Virus	Détection de gènes de résistance	Temps technique (minutes)	Durée du test (h)	Coût	Référence
FilmArray	FilmArray® ME Panel (Méningite/Encéphalite)	14	6 <i>Escherichia coli K1</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	1 <i>Cryptococcus neoformans / gattii</i>	7 <i>Cytomégalo virus</i> <i>Entérovirus</i> <i>Virus herpès simplex 1 et 2</i> <i>Herpès virus humain 6</i> <i>Parécho virus humain</i> <i>Virus varicelle-zona</i>	0	2	1	≈100€ HT	(117,118)
QIAGEN	Central Nervous System Panel (CNS) (en développement)	20	<i>Neisseria meningitidis</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Haemophilus influenzae</i>		<i>Entérovirus</i> , <i>Coxsackievirus</i> , <i>Echovirus</i> <i>Poliovirus</i>		1	1	/	(119)

Tableau 24 : Principales PCR syndromiques du SNC actuellement commercialisées ou en cours de développement

Panel « sepsis »

Nom commercial	Nom du panel	Nombre de cibles total	Cibles bactériennes	Micromycètes	Autres cibles	Détection de gènes de résistance	Temps technique (minutes)	Durée du test (h)	Coût	Référence
FilmArray	FilmArray® BCID Panel	27	<p style="text-align: center;">19</p> <p style="text-align: center;"><i>Enterococcus</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus agalactiae, pyogenes, pneumoniae</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterobacter complexe cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus</i> <i>Serratia marcescens</i></p>	<p style="text-align: center;">5</p> <p style="text-align: center;"><i>Candida albicans</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i></p>	0	<p style="text-align: center;">3</p> <p style="text-align: center;"><i>vanA/B</i> <i>mecA</i> <i>KPC</i></p>	2	1	129\$	(120,121)
FilmArray	BioFire BCID2 Panel	43	<p style="text-align: center;">26</p> <p style="text-align: center;">Panel BCID augmenté de :</p> <p style="text-align: center;"><i>Acinetobacter complexe calcoaceticus-baumannii</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Salmonella</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Enterococcus faecalis et faecium</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i></p>	<p style="text-align: center;">7</p> <p style="text-align: center;"><i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i> <i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i> <i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i></p>	0	<p style="text-align: center;">10</p> <p style="text-align: center;"><i>IMP</i> <i>KPC</i> <i>OXA-48-like</i> <i>NDM</i> <i>VIM</i> <i>mcr-1</i> <i>CTX-M</i> <i>mecA/C</i> <i>mecA/C et</i> <i>MREJ</i> <i>vanA/B</i></p>	2	1		(122)
Luminex	VERIGENE® Bloodstream Testing Panels Gram-Positive Blood Culture Test (BC-GP)	16	<p style="text-align: center;">13</p> <p style="text-align: center;"><i>Staphylococcus aureus, epidermidis, lugdunensis</i> <i>Streptococcus agalactiae, pneumoniae, pyogenes</i> <i>Enterococcus faecalis et faecium</i> <i>Streptococcus anginosus</i> <i>Staphylococcus spp.</i> <i>Streptococcus spp.</i> <i>Micrococcus spp.</i> <i>Listeria spp.</i></p>	0	0	<p style="text-align: center;">3</p> <p style="text-align: center;"><i>mecA</i> <i>vanA</i> <i>vanB</i></p>	5	2,5		(123)

Luminex	VERIGENE® Bloodstream Testing Panels Gram- Negative Blood Culture Test (BC-GN)	15	9 <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Acinetobacter spp.</i> <i>Citrobacter spp.</i> <i>Enterobacter spp.</i> <i>Proteus spp.</i>	0	0	6 CTX-M IMP KPC NDM OXA VIM	5	2		(123)
ePlex	ePlex BCID- GP Panel	26	20 <i>Bacillus groupe cereus et groupe subtilis</i> <i>Corynebacterium</i> <i>Enterococcus</i> <i>Enterococcus faecalis et faecium</i> <i>Lactobacillus</i> <i>Listeria</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Micrococcus</i> <i>Propionibacterium acnes</i> <i>Staphylococcus</i> <i>Staphylococcus aureus, epidermidis, lugdunensis</i> <i>Streptococcus</i> <i>Streptococcus agalactiae, groupe anginosus, pneumoniae</i>	0	Pan- Candida Pan- Gram négatif	4 <i>mecA</i> <i>mecC</i> <i>vanA</i> <i>vanB</i>	2	1,5		(97)
ePlex	ePlex BCID- GN Panel	29	21 <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Bacteroides fragilis</i> <i>Citrobacter</i> <i>Cronobacter sakazakii</i> <i>Enterobacter complexe cloacae</i> <i>Enterobacter (complexe non-cloacae)</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Fusobacterium necrophorum et nucleatum</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Proteus</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella</i> <i>Serratia</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0	Pan- Candida Pan- Gram positif	6 CTX-M IMP KPC NDM OXA (OXA- 23 et OXA- 48) VIM	2	1,5		(97)

ePlex	ePlex BCID- FP Panel	15	0	15 <i>C. albicans</i> <i>C. auris</i> <i>C. dubliniensis</i> <i>C. famata</i> <i>C. glabrata</i> <i>C. guilliermondii</i> <i>C. kefyr</i> <i>C. krusei</i> <i>C. lusitaniae</i> <i>C. parapsilosis</i> <i>C. tropicalis</i> <i>C. gattii</i> <i>C. neoformans</i>	0	0	2	1,5		(97)
--------------	-------------------------	-----------	----------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----------	----------	----------	------------	--	-------------

Tableau 25 : Principales PCR syndromiques du sepsis actuellement commercialisées

1.4. Performances diagnostiques et impact médico-économique des PCR syndromiques

Les PCR syndromiques sont assez récentes mais la littérature commence à s'étoffer. Les performances de ces PCR multiplexes ont été évaluées par comparaison aux techniques conventionnelles (culture et/ou PCR simplex selon le type de pathogène recherché) avec le risque que le multiplexage des cibles diminue de manière plus ou moins significative la sensibilité de ces tests, par rapport à des PCR simplex.

1.4.1. Cas des PCR multiplexes respiratoires

1.4.1.1. Protocoles des études

L'analyse de la littérature retrouve différentes études résumées dans le tableau 26 ci-dessous : une revue de 13 tests moléculaires rapides (uniplexes ou multiplexes) pour la détection des virus respiratoires publiée en 2019 (124); une étude comparative entre le panel ePlex et une PCR temps réel maison développée par un laboratoire de virologie (125); une étude médico-économique comparant l'ePlex à une PCR « maison » portant sur 64 patients avec des signes respiratoires (126); une étude rétrospective avant/après chez des patients présentant des symptômes respiratoires, ayant eu une PCR par une ancienne technique de référence (xTAG panel respiratoire, Luminex®) puis par la nouvelle PCR rapide ePlex (GenMark®, panel respiratoire) après son implémentation dans le laboratoire (USA) (127) et enfin, une étude impliquant le panel respiratoire FilmArray mis en place dans un hôpital néerlandais pendant la période hivernale de Décembre 2014 à Avril 2015 (128) .

Référence	Type d'étude	Nombre d'analytes	Pays	Période
Vos et al. (124)	Revue	71 études	Pays-Bas	Interrogation de la littérature le 31 août 2017
Nijhuis et al. (125)	Analyse rétrospective	343 échantillons	Ecosse et Pays-Bas	Échantillons datant 2009 à 2016
Van Rijn et al. (126)	Prospective monocentrique	68 échantillons	Pays-Bas	Janvier et mars 2017
Weiss et al. (127)	Analyse rétrospective	344 patients	Etats-Unis	Novembre 2016 Février 2019
Poelman et al. (128)	Analyse économique	492 prescriptions	Pays-Bas	Décembre 2014 Avril 2015

Tableau 26 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes respiratoires

1.4.1.2. Performances microbiologiques

D'après la revue de la littérature, les sensibilités des PCR multiplexes s'échelonnaient de 88,7% à 93,1% pour des spécificités comprises entre 94,2% à 97,9%. Les résultats faussement négatifs semblaient être liés à de faibles charges virales ou bactériennes (124). Dans l'étude de *Nijhuis et al*, avant investigation des discordances, le taux d'accord entre l'ePlex et la PCR maison était de 97,4% sur 343 prélèvements comportant 464 pathogènes respiratoires. Les discordants PCR maison \oplus /ePlex \ominus étaient principalement des prélèvements avec une charge virale ou bactérienne faible (Ct élevé). En excluant les pathogènes avec un Ct >35, le taux d'accord passait à 99,1%. Soulignons que les performances de la technique standard peuvent également parfois être mis en cause. En effet, dans cette même étude la PCR multiplexe ePlex a détecté 15 pathogènes dans 14 prélèvements, non identifiés par la PCR « maison » (125).

Parmi toutes ces études les délais de rendu de résultat étaient abaissés à [1,5-3,35] heures contre [3,25-37,1] heures auparavant ($p < 0,001$ du fait de plusieurs paramètres) (124–128). Le délai d'exécution était diminué avec les techniques multiplexes/uniplexes rapides par rapport aux PCR conventionnelles du fait d'une réalisation en temps réel plutôt que par série (car souvent une seule série quotidienne

est réalisée) (137). En termes de temps technique, moins de 2 minutes étaient nécessaires par échantillon pour l'ePlex, contre 30 à 45 minutes pour les PCR « maison ». Le résultat était également fourni plus rapidement par l'automate : en 90 minutes pour l'ePlex contre 2 heures 45 minutes pour la PCR « maison » (125).

1.4.1.3. Impact clinique

L'avantage de ces techniques rapides est, en premier lieu, de permettre une réévaluation plus prompte des traitements anti-infectieux pour les adapter à l'identification du ou des pathogène(s), comme cela a pu être démontré ou conclu dans plusieurs études. Ainsi, dans l'étude de *van Rijn et al.*, l'oseltamivir aurait théoriquement pu être arrêté un jour plus tôt chez les 14 patients négatifs pour la grippe (sur 19 en recevant pour seulement 5/19 positifs au virus de la grippe) avec la technique ePlex (médiane de 22,59 heures), par comparaison à la technique PCR classique. De plus, dans cette étude, 19 patients ont reçu des antibiotiques contre des bactéries intracellulaires, alors qu'aucun d'entre eux n'est revenu positif en PCR. En théorie, une médiane de 23,35 heures de durée de traitement antibiotique aurait pu être épargnée chez ces patients, si le traitement avait été stoppé lors de la disponibilité du résultat de la PCR multiplexe rapide (126). Dans une seconde étude de *Weiss et al.*, il a été démontré que chez les patients avec une imagerie normale couplée à un résultat de PCR multiplexe négatif, l'initiation d'antibiotiques était significativement moindre (44,9% contre 68,9% ; $p=0,013$). En revanche, aucune différence significative n'était retrouvée chez les patients avec une imagerie évocatrice d'une infection respiratoire (95,4% versus 89,6% ; $p=0,187$), démontrant que seule la combinaison d'une imagerie négative et d'un test de PCR multiplexe négatif conduisait à réduire l'instauration d'antibiotiques. Néanmoins, du fait de sa rapidité, les praticiens étaient enclins à patienter jusqu'aux résultats de la PCR pour adapter le traitement. Avant que

le résultat ne soit disponible dans les services, les patients avec une imagerie normale, mais également ceux avec une imagerie anormale, étaient moins nombreux à recevoir un traitement dans le groupe ePlex (96,8% contre 54,7% ; $p=0,007$ et 81,6% versus 100% ; $p<0,001$ respectivement) (127). Enfin, dans une étude de la revue de *Vos et al*, la prescription d'antibiotiques aurait pu être évitée (p-value non indiquée) chez 36,2% des patients grâce au résultat de la PCR rapide (124).

Il est, par ailleurs, envisageable d'obtenir une réduction des délais d'hospitalisation lorsque de nouvelles techniques plus rapides sont introduites dans les laboratoires. Deux études, au sein de la revue de *Vos et al*, ont montré une diminution de la durée d'hospitalisation des patients admis (5,7 jours contre 6,8 jours ; $p=0,044$ et 1,6 jour contre 2,1 jours ; $p=0,04$) (124). Une diminution de la durée de séjour des patients traités par antibiotiques, a également été remarquée dans le groupe PCR multiplexe (6,2 jours) versus le groupe PCR conventionnelle (7,2 jours ; $p=0,048$) dans l'étude de *Weiss et al* (127). Par ailleurs, la mise en place d'une PCR multiplexe pourrait permettre de réduire la durée d'isolement des patient négatifs en PCR comme cela a été observée dans l'étude de *van Rijn et al.*, avec une réduction de la médiane d'isolement de 2 jours (p-value non indiquée) (126). Enfin, des résultats non significatifs ou discordants ont été obtenus à ce jour en termes de mortalité, de taux d'effets indésirables ou de taux d'admission en réanimation. D'après la revue de *Vos et al*, la mortalité, les effets indésirables, l'admission en réanimation n'étaient pas influencés par l'utilisation de ces techniques rapides (124). Cependant, dans la comparaison ePlex/xTAG de *Weiss et al*, les patients positifs avec l'ancienne technique étaient plus fréquemment en USI lors de la disponibilité des résultats comparativement à ceux ayant été réalisés avec la technique rapide ePlex (27,3% versus 17,5% ; $p=0,039$) (127).

1.4.1.4. Impact économique

Même si la plupart des auteurs n'ont pas effectué d'analyse médico-économique, certains suggèrent que le temps technique économisé et les bénéfices cliniques d'une technique rapide pourraient générer un bilan financier négatif en cas d'utilisation (125). Il semble, notamment, judicieux de noter que la réduction des durées d'hospitalisation (comme cela semble être le cas d'après le paragraphe précédent) est normalement associée à un bilan financier positif, mais son impact n'est généralement pas évalué dans les études. Une analyse médico-économique a été réalisée dans l'étude de *Poelman et al.* Un résultat plus rapide permettait d'éviter 181 mises en isolement (chiffrées à 154 806€) et de réduire les infections nosocomiales (évaluées à 37 024€). L'introduction de cette nouvelle technique a, certes, engendré des coûts supplémentaires pour le laboratoire (8 905€ de main d'œuvre liés à l'extension du service de 08h à 22h et 33 830€ de surcoût liés aux réactifs), mais *in fine*, le bénéfice financier pour l'hôpital était au minimum de 149 096€ (bénéfice minimal car seuls les bénéfices liés aux jours d'isolement et aux taux d'infections nosocomiales ont été pris en compte) (128). Ces tests rapides ont également la possibilité de réduire le nombre et donc les coûts des examens complémentaires déclenchés de façon légitime par le médecin quand les résultats ne sont pas assez rapides. Dans la revue de la littérature de *Vos et al.*, deux études ont montré une diminution du nombre de radios thoraciques chez les patients positifs pour la grippe en technique rapide (réduction de 25% dans l'étude de *Busson et al.*, absence de test statistiques évaluant la significativité des résultats ; réduction non chiffrée dans l'étude de *Rappo et al.*, $p=0,005$) (124).

Le tableau 27, ci-dessous, résume les données des études préalablement citées traitant des PCR respiratoires.

Type de comparaison	Amélioration du délai de rendu	Impacts sur l'antibiothérapie	Impacts sur l'imagerie	Performances microbiologiques	Impacts sur la durée de séjour	Impacts autres
Revue (124)	Moyenne de 2,3h contre 37,1h	Absence de prescription d'antibiotiques chez 36,2% des patients (p-value non indiquée)	Réduction dans 2 études du nombre de radio thoraciques : réduction de 25% (p-value non indiquée), réduction non chiffrée (p=0,005)	Sensibilité commune : 90,9% (IC _{95%} : 88,7%–93,1%) Spécificité commune : 96,1% (IC _{95%} : 94,2%–97,9%)	Réduction de la durée de séjour dans 2 études : 5,7 jours contre 6,8 jours (p=0,044) ; 1,6 jour contre 2,1 jours (p=0,04)	Pas d'impact sur la mortalité, les effets indésirables, ou l'admission en réanimation
ePlex vs PCR maison (125)	90 min contre 2h45			Taux d'accord 97,4% sur les 464 pathogènes et de 99,1% si analyse des pathogènes avec un Ct <35		Détection par l'ePlex de 15 pathogènes non détectés par la PCR maison Temps technique réduit de 30-45 min à 2 min
ePlex vs PCR maison (126)	Temps de résultat plus court : médiane de 3,35h contre 27,11h (p< 0,001)	Durée plus courte d'oseltamivir non nécessaire (médiane de 22,59h) Durée plus courte d'antibiotiques anti-intracellulaires non nécessaires (médiane de 23,35h)				Réduction de la durée d'isolement des patients négatifs (réduction de la médiane de 2 jours ; p-value non indiquée)
ePlex vs xTAG (127)	3h contre 27,9h	Moins d'antibiotiques chez les patients avec imagerie normale et PCR multiplexe négative (44,9% contre 68,9%)			Diminution chez les patients traités par antibiotiques dans le groupe PCR multiplexe (6,2 vs 7,2 jours; p=0,048)	Attente du résultat avant instauration d'une antibiothérapie chez les patients avec imagerie normale OU anormale Plus de patients en USI lors du rendu des résultats avec l'ancienne technique (27,3% versus 17,5% ; p=0,039)
FilmArray vs PCR maison (128)	3h14 contre 36h					Baisse des isolements et des infections nosocomiales Gain minimal pour l'hôpital de 149 096 €

Tableau 27 : Tableau récapitulatif de données médico-économiques des PCR syndromiques respiratoires

1.4.2. Cas des PCR multiplexes gastro-intestinales

La littérature est beaucoup plus maigre en ce qui concerne les PCR multiplexes gastro-intestinales.

1.4.2.1. Protocoles des études

Parmi les trois études identifiées dans la littérature (Tableau 28), la première est une étude comparative des performances des panels Verigene® enteric pathogens, BioFire FilmArray™ gastrointestinal panel et du Luminex xTAG® gastrointestinal pathogen panel, comparés aux techniques conventionnelles (129). Le panel gastrointestinal QIAstat-Dx, quant à lui, a été évalué de façon multicentrique par comparaison au panel FilmArray GI, avec un contrôle par une autre PCR (Seegene Allplex GIP) en cas de discordance (130). Enfin, le panel FilmArray® GI a été comparé aux techniques de cultures conventionnelles chez 241 patients (180 adultes et 61 enfants) et par rapport à la prise en charge conventionnelle effectuée chez 594 patients de l'année précédente (110).

Référence	Type d'étude	Nombre d'analytes	Pays	Période	Sensibilités et spécificités	Autres
Huang et al. (129)	Rétro-prospective	152 échantillons	USA	Août 2015	Se= [71,4-100%] selon les cibles et les panels Sp= [98,6-100%]	/
Hannet et al. (130)	Rétro-prospective	385 échantillons	Danemark Allemagne	Juin-Août 2018 Décembre 2018-Février 2019	Se = 98,2% Sp = 99,9%	Taux d'accord entre les 2 multiplexes : 89,5%
Beal et al. (110)	Rétro-prospective	241 patients	USA	Juin 2015-Décembre 2015 et Juin 2016- Juin 2017	/	Baisse des examens d'imagerie Tendance à la baisse de la durée d'ATB Gain estimé à 293\$ par patient

Tableau 28 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes gastro-intestinales

1.4.2.2. Performances microbiologiques

Les 3 études confondues, les sensibilités et spécificités étaient respectivement comprises dans les intervalles [71,4-100]% et [98,6-100]% selon les fabricants et les cibles (129,130). De plus, les panels syndromiques auraient permis d'identifier des co-infections et étaient parfois plus sensibles que les méthodes conventionnelles (129). Du fait du nombre plus important de pathogènes recherchés, les PCR multiplexes sont associées à des taux de positivité bien plus élevés. Ainsi dans l'étude de *Beal et al*, le taux de positivité total était de 32,8% en utilisant le panel multiplexe (15,6% chez les adultes et 55,8% chez les enfants) contre 6,7% (3,4% chez les adultes et 15,6% chez les enfants) avec les techniques conventionnelles. Par rapport à la culture conventionnelle, les PCR multiplexes réduisent drastiquement les délais de rendu de résultat (disponibles en moyenne en 8,94 heures contre 54,75 heures pour les cultures dans l'étude de *Beal et al*) (110). Néanmoins, elles ne permettent pas d'obtenir l'antibiogramme du pathogène bactérien identifié le cas échéant.

1.4.2.3. Impact clinique

Seule l'étude de *Beal et al*. s'y est intéressée : une tendance à la diminution de la durée d'antibiothérapie a été observée avec le panel FilmArray (1,73 jours contre 2,12 ; $p=0,06$). De plus, le nombre d'exams d'imagerie était significativement réduit (0,18 examen contre 0,39 ; $p=0,0002$). Toutefois, la durée de séjour à l'hôpital n'était pas abaissée de manière significative ($5,2 \pm 3,2$ jours contre $5,6 \pm 3,4$; $p=0,14$), mais le temps entre le recueil des selles et la sortie de l'hôpital l'était, passant de $3,9 \pm 3,1$ jours à $3,4 \pm 2,9$ ($p=0,04$) (110).

1.4.2.4. Impact économique

D'après la seule étude de *Beal et al.*, la réduction des coûts était estimée à 293,61\$ par patient dans le bras FilmArray® en tenant compte d'un prix du test de 110\$ environ, par rapport à la culture standard, cela majoritairement via des économies réalisées par la réduction de la durée de séjour (gain supposé de 400\$ selon leur analyse de coûts) (110).

1.4.3. Cas des PCR multiplexes pour le diagnostic des infections du système nerveux central

Le liquide cérébro-spinal est une matrice de choix pour le développement de tests multiplexes rapides. Cependant, la littérature est également peu fournie sur le sujet pour l'instant et concerne, actuellement, exclusivement le panel méningo-encéphalite (ME) FilmArray de BioFire/BioMérieux.

1.4.3.1. Protocoles des études

Les performances du panel FilmArray ME sur LCS ont été étudiées par *Tansarli et al.* au travers d'une méta-analyse et d'une revue systématique (131). Ce panel a également été évalué de manière rétrospective sur 291 échantillons résiduels de LCS positifs par *Liesman et al.* (132) et dans une étude multicentrique de *Leber et al.*, incluant 1 560 LCS (133). La seule étude médico-économique identifiée est celle de *Duff et al.*, qui récemment ont étudié l'impact économique de la PCR multiplexe FilmArray® ME sur LCS, dans une population pédiatrique avec suspicion de méningite/encéphalite. Les économies ont été calculées par simulation selon trois prises en charge différentes : PEC classique, PCR multiplexe élargie à tous les patients ou PCR multiplexe en cas de cytologie du LCS $> 5\text{EB}/\text{mm}^3$ (134). Plus de détails sont répertoriés dans le tableau 29 ci-dessous.

Référence	Type d'étude	Nombre d'analytes	Pays	Période	Sensibilités et spécificités	Autres
Tansarli et al. (131)	Méta-analyse	13 (revue) 8 (méta-analyse)	USA	Mai 2019	Se = 90% (IC _{95%} : 86-93%) Sp = 97% (IC _{95%} 94-99%) VPP= 85,1% VPN=98,7%	Faux-positifs : <i>S. pneumoniae</i> et <i>S. agalactiae</i> Faux-négatifs : <i>C. neoformans/gattii</i>
Liesman et al. (132)	Rétrospective	291 LCS	USA	Mars 1975 - Juin 1997	PPA _{bactéries} : 97,5% PPA _{virus} : 90,1% PPA _{c. neoformans/gattii} : 52%	/
Leber et al. (133)	Prospective	1 560	USA	Février-Septembre 2014	Taux de réussite= 98,9% Taux d'accord pour les LCR positifs et négatifs : 84,4%, 99,9%	Faux-positifs : <i>C. neoformans/gattii</i>
Duff et al. (134)	Modélisation	6 643 données de patients issues d'une base de données	USA	2011-2014	/	Gains de -2 158 à -3 601\$

Tableau 29 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes « Système nerveux »

1.4.3.2. Performances microbiologiques

La PCR FilmArray ME offre une sensibilité toutes cibles confondues de 90% (IC_{95%} : 86-93%) et une spécificité moyenne de 97% (IC_{95%} : 94-99%) (131) . En détaillant, la sensibilité était de 97,5% pour les cibles bactériennes, 90,1% pour les virus (taux le plus bas pour HSV1 à 82,6%) mais uniquement 52% pour *Cryptococcus neoformans/gattii* (132). Les faux-positifs concernaient principalement le pneumocoque, *S. agalactiae* et *C. neoformans/gattii* (131,133). Quant aux faux-négatifs, ils touchaient préférentiellement *C. neoformans/gattii* (131). Cependant, les auteurs émettent des réserves quant à ce pathogène, en raison de l'étude de *Liesman et al.* détaillée ci-dessous (132). Dans leur étude, le taux de concordance peu satisfaisant (52%) pouvait être expliqué par le fait que la technique de référence était une technique antigénique

de *lateral flow assay* (immunochromatographie) et par la persistance longue de la positivité de l'antigène cryptococcique dans le sérum et LCS. Ainsi, après analyses des discordances, ce taux de concordance pour les cryptococoques passait à 92,3% quand les résultats étaient comparés directement aux frottis (coloration au calcofluor blanc) ou à la culture, mais qui ne sont pas les techniques de référence. La littérature est ainsi équivoque sur la conduite à tenir concernant la détection de *Cryptococcus spp.* par ce panel (sensibilité variable selon les études) et l'excrétion de l'antigène cryptococcique dans le LCS ou le sérum est prolongée. Des études supplémentaires sont recommandées par les auteurs pour positionner l'utilisation de ce panel dans le diagnostic initial de la cryptococcose (132). Les recommandations françaises précisent d'ailleurs que la recherche de l'antigène capsulaire reste pour l'instant plus sensible que les techniques multiplexes (22).

De façon globale, les résultats obtenus par le FilmArray étaient crédibles puisque la valeur prédictive positive du panel s'élevait à 85,1% et sa valeur prédictive négative à 98,7% (131), comparables aux taux d'accord pour les LCR positifs de 84,4% et négatifs supérieur à 99,9% en comparaison aux techniques de référence (culture et PCR) avec d'ailleurs un taux de réussite de la PCR de 98,9% (133).

1.4.3.3. Impact économique

L'étude de *Duff et al.*, montrait un impact économique positif du FilmArray® ME : la prise en charge classique revenait à 21 405\$ contre 17 804\$ pour la PCR sur tous les LCS et 19 247\$ pour la PCR restreinte aux LCS avec cytologie anormale. Le surcoût dû à l'achat des kits de PCR étant totalement compensé par les économies d'antibiotiques/antiviraux et à la meilleure gestion des admissions ou non des patients (134).

1.4.4. Cas des PCR multiplexes sur flacon d'hémoculture positif

Cette partie sera davantage détaillée puisqu'elle se focalise sur la matrice biologique d'intérêt de l'étude HEMOFAST et par la plus grande quantité d'études publiées sur le sujet.

1.4.4.1. Protocoles des études

L'analyse de la littérature retrouve 12 études aux conceptions différentes (Tableau 30). Deux métaanalyses ont évalué l'impact des tests moléculaires rapides pour le diagnostic des bactériémies (76) et les performances des panels Verigene® et FilmArray®, pour la détection des gènes de résistance chez les bactéries à Gram négatif (135). Quatre études prospectives ont étudié les panels ePlex BCID et FilmArray (136), le panel FilmArray BCID 1.0 (137), les panels ePlex (138), ou uniquement les panels ePlex bactériens (139). Deux études rétro-prospectives se sont également intéressées, soit uniquement au panel ePlex Gram positif, à partir d'hémocultures de patients analysées *a posteriori* et d'hémocultures artificielles (98), soit uniquement au panel ePlex fongique (140). Une étude particulière, réalisée au CHUGA, s'est intéressée prospectivement aux 3 panels ePlex et a effectué une analyse rétrospective de l'impact, qu'aurait eu cette PCR, sur le traitement antibactérien ou antifongique (93). La seule étude de type avant/après a testé le panel FilmArray sur des bactériémies à bactéries à Gram positif ou une candidémie, avec appariement à un groupe contrôle (75).

Du point de vue économique, une étude a comparé l'utilisation de vancomycine et la durée d'hospitalisation (141), alors qu'une autre s'est intéressée à l'impact médico-économique du panel FilmArray® dans une triple comparaison (142).

Les études sont détaillées dans le tableau 30 ci-dessous :

Référence	Type d'étude	Nombre d'analyses	Informations supplémentaires	Pays	Période
Pardo et al. (75)	Avant-après	336 patients	84 patients avec une bactériémie à CGP ou une candidémie (panel FilmArray) appariés à 252 patients « contrôle »	USA	Janvier 2012–Juin 2013 Août 2013-Janvier 2014
Oberhettinger et al (136)	prospective	137 hémocultures	Technique de référence (culture, identification par MALDI-TOF et antibiogramme automatisé par Vitek®)	Allemagne	Novembre 2017- Janvier 2018
Kang et al. (137)	prospective	100 hémocultures	Technique de référence (culture et identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF)	Taiwan	Juillet-Août 2018
De Angelis et al. (135)	Méta-analyse	20 études	Détection de gènes de résistances des panels Verigene® et FilmArray comparés à 5 études génotypiques et 15 études phénotypiques	/	2014-2017
Timbrook et al. (76)	Méta-analyse	31 études (5920 patients)		/	31 mai 2016
Carroll et al. (98)	Rétro-prospective	565 échantillons artificiels 1 777 échantillons cliniques	Étude multicentrique, techniques de référence diverses	USA	Juin 2014- Juillet 2016 Janvier-Mars 2018
Huang et al. (138)	Prospective	210 épisodes (182 monomicrobiens et 28 polymicrobiens)	Technique de référence (identification par MALDI-TOF, détection rapide de la PLP2a ou test chromogénique d'hydrolyse des C3G sur jeunes colonies, puis antibiogramme complet 18 à 24h plus tard par diffusion ou par Vitek®)	Belgique	Janvier et Octobre 2017
Krifors et al. (139)	Prospective	86 hémocultures	Technique de référence (culture, identification par MALDI-TOF, et antibiogramme)	Suède	Octobre-Décembre 2019
Zhang et al. (140)	Rétro-prospective	866 échantillons (725 artificiels et 141 cliniques)	Technique de référence (culture, MALDI-TOF ou identification biochimique pour les échantillons rétrospectifs ou PCR/Séquençage pour les prospectifs)	USA (10 centres médicaux)	2015, 2016, juillet-août 2018
Bryant et al. (93)	Rétro-prospective	187 épisodes (170 monomicrobiens et 17 polymicrobiens)	Technique de référence (identification par MALDI-TOF et antibiogramme en milieu solide)	France	Novembre 2016- Novembre 2017
Nguyen et al. (141)	Rétrospective	159 patients	Comparaison de l'utilisation de vancomycine et de la durée d'hospitalisation avant (n=65) / après (n=94) l'implémentation d'une PCR ciblant le gène <i>mecA</i>	USA	Décembre 2007 à Mai 2008 et Décembre 2008 à Mai 2009
Banerjee et al. (142)	Prospective	617 patients	Triple comparaison : prise en charge classique (n=207) versus FilmArray seul (n=198) ou associé à des prestations de conseils (n=212)	USA	Aout 2013 -Mars 2014

Tableau 30 : Tableau synthétique des études présentées portant sur les PCR multiplexes sur flacons d'hémoculture positifs

1.4.4.2. Performances microbiologiques

Le tableau 31, en fin de partie, regroupe les informations pertinentes extraites de ces études.

En premier lieu, nous pouvons constater que ces panels fournissent des résultats plutôt comparables aux techniques de référence. Les sensibilités des panels ePlex s'élevaient à 96-99% pour le panel Gram négatif et à 97-100% pour le panel Gram positif (93,138), pour les cibles incluses dans les panels, avec des spécificités globales comprises entre 97-100%, selon les cibles et études (138,139). Le taux de concordance de la technique ePlex, avec la technique de référence, variait entre 92-96% pour les hémocultures à Gram positif et 89,7-94% pour celles à Gram négatif (93,138,139). Quant au FilmArray, sa sensibilité s'élevait à 98,9% pour les bactéries à Gram positif incluses et 100% pour les Gram négatif incluses, pour des spécificités de 100% (136). Le taux d'accord de ce panel était compris entre 94-97,6% (75,137,142). Les sensibilités et spécificités du panel Verigene n'ont pas été évaluées dans ces études.

Lors de l'analyse de la littérature, il est important d'entrer dans le détail des études car il existe des difficultés de comparaison entre les panels, liées à des différences dans l'identification au genre ou à l'espèce de certaines bactéries, selon le panel évalué. Ainsi dans une étude, la PCR FilmArray obtenait une identification correcte au genre ou à l'espèce des bactéries à Gram positif pour 87,8% des hémocultures, alors que la PCR ePlex atteignait, elle, un score de 90,8% d'identification à l'espèce (136). Cependant, la présentation de ces résultats est critiquable et certaines différences importantes n'ont pas été pas mises en lumière. À titre d'exemple, dans le panel FilmArray, les SCoN et les entérocoques n'étaient identifiables qu'au genre, à la différence de l'ePlex qui arrivait à discriminer certaines espèces. Ainsi, en recalculant

les identifications correctes à l'espèce uniquement, les performances des panels deviennent 19,3% pour FilmArray et 72,44% pour l'ePlex pour les bactéries à Gram positif et 81,8% pour la PCR FilmArray versus 87,9% pour la PCR ePlex pour les bactéries à Gram négatif. Ces résultats sont bien loin des conclusions des auteurs, qui ont exprimé les performances du FilmArray en combinant genre et espèce et ont conclu à la comparabilité des 2 techniques (136). En réalité, le panel du FilmArray est moins étendu et l'identification des bactéries à Gram positif moins détaillée, expliquant la commercialisation par BioFire d'un second panel élargi fin 2020 (panel BCID 2.0).

Ces panels peuvent perdre de l'intérêt si l'écologie ciblée et celle locale ne correspondent pas, ils doivent donc être hautement inclusifs et contenir les principaux pathogènes d'intérêt. Les panels ePlex semblent l'être, puisque parmi les études le reportant, les panels Gram positif, Gram négatif et fongiques ciblent respectivement 94-98%, 94-95% et 86-93% des pathogènes rencontrés (93,98,138). À l'inverse, le panel FilmArray, lui, ne couvre que 70,2% des pathogènes dans la seule étude le reportant (137).

Parmi les espèces bactériennes non identifiées, car non incluses dans certains panels, on retrouve principalement des bacilles à Gram positif (*C. acnes*, *Actinomyces spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Corynebacterium spp.*, *Atopobium parvulum...*), ainsi que quelques BGN, notamment des anaérobies stricts, ou des CGN commensaux ou environnementaux (*Bacteroides spp.*, *Acinetobacter pittii*, *Moraxella liquefaciens*, *Neisseria polysaccharea*, *Capnocytophaga canimorsus*, *B. fragilis*, *B. vulgatus/dorei...*) (136–138).

À ce titre, les panels ePlex sont les plus inclusifs, permettant notamment la détection à dessein des germes connus pour être impliqués dans les contaminations (*Bacillus groupe subtilis*, *Corynebacterium spp.*, *Cutibacterium acnes*, *Lactobacillus spp.*,

Micrococcus spp), afin d'exclure un sepsis en cas de contamination. Leurs sensibilités et spécificités s'étendaient de 84,5-100% et 99,9-100% respectivement, la sensibilité la plus basse étant atteinte pour la cible *Corynebacterium spp* (98). Enfin, une des particularités des panels ePlex est d'inclure des aides à la lecture des examens directs via les cibles « pan- ». Les cibles pan-*Candida*, pan-Gram négatif et pan-Gram positif offrent des sensibilités et spécificités de 92,4%,97-99,9% ; 95,7%,97-99,6% et 60%, 99%, respectivement, très suffisantes donc pour être une aide appréciable à la lecture de l'examen direct (93,98).

En ce qui concerne la détection des micromycètes, le panel fongique ePlex prodiguait une sensibilité allant de à 96,2% à 100% et une spécificité de 99,8 à 100% selon les cibles (93,136,140), contre 100% pour l'unique étude les reportant pour le FilmArray (136). Le panel ePlex fongique a raté dans cette étude 5 cibles dans des échantillons artificiels (*C. albicans*, *C. guilliermondii*, *Fusarium spp.* et 2 isolats de *Rhodotorula spp.*) et 4 dans des échantillons cliniques (*C. albicans*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae* et *C. parapsilosis*), mais il a détecté 4 cibles, qui ne l'auraient pas été par la prise en charge classique, dans des échantillons polymicrobiens (140) .

Concernant la recherche de déterminants de résistance, la sensibilité et spécificité des panels Verigene, FilmArray et ePlex pour les marqueurs de résistances inclus dans ces panels, étaient respectivement de 85,3-95,5% et 99,1-99,7% ; 85,3-100% et 97,6-99,7% ; 96,8-100% et 96,6-100% (93,98,135–137,139).

Les cibles les plus souvent ratées étaient *mecA*, *VIM* et *NDM* (135–137,140).

Il est utile de rappeler qu'actuellement, pour la résistance aux C3G, seule la BLSE *CTX-M* est recherchée dans ces panels.

1.4.4.3. Impact clinique

L'intérêt majeur de l'utilisation de ces techniques moléculaires est le gain de temps obtenu, permettant des délais de rendu plus courts, par rapport aux techniques conventionnelles. Pour les bactéries, les résultats de la PCR étaient disponibles 10,9 heures avant l'identification, 24,7 heures avant l'obtention de l'antibiogramme partiel et 47,4 heures avant les résultats finaux. Pour *Candida spp.*, les valeurs montaient jusqu'à 24,7 heures avant identification partielle et 95,9 heures avant identification et antifongigramme finaux et permettaient d'obtenir un temps d'identification, à partir de l'observation microscopique, significativement plus court que la méthode classique (1,3h vs 22h ; $p < 0,001$) (75,139,142) .

Mais au-delà des performances microbiologiques, qu'en est-il de l'impact médical de ces tests rapides dans la prise en charge des patients septiques ? Plusieurs éléments sont fournis par la méta-analyse de *Timbrook et al.* (76), qui a colligé les résultats de 31 études sur l'impact des tests moléculaires rapides, mais qui ne ciblaient, la plupart du temps, qu'un faible nombre de pathogènes par rapport aux PCR multiplexes Verigene, FilmArray ou ePlex. Élément le plus important : la mortalité semble être réduite. Les odds ratio de mortalité étaient significativement plus bas dans les groupes avec test moléculaire rapide (OR =0,66 ; IC_{95%} : 0,54-0,80), par rapport aux stratégies diagnostiques conventionnelles. Le nombre de patients à traiter était de 20 pour éviter un décès dans les 30 jours (76). Cette baisse significative de la mortalité n'était retrouvée qu'en présence de programmes efficaces de gestion des antimicrobiens (ASP). Une vérification de la prescription des thérapeutiques anti-infectieuses, par un pharmacien ou un infectiologue, à partir des données de la culture et des tests rapides, était associée à un OR égal à 0,64 (IC_{95%} = 0,51–0,79) contre 0,7 (non statistiquement significatif, IC_{95%} : 0,46–1,12) en absence d'une telle structure de conseils. La mortalité

ne différait pas pour les levures (OR =0,90 ; IC_{95%} : 0,49-1,67) en cas de PCR rapide, possiblement à cause du peu d'études et des effectifs généralement faibles. Mais, elle diminuait de manière statistiquement significative, en cas de bactériémies à bactéries à Gram négatif (OR =0,51 ; IC_{95%} :0,33-0,78), à Gram positif (OR=0,73 ; IC_{95%} : 0,55-0,97) et polymicrobiennes (levures et/ou Gram positif et/ou Gram négatif, OR=0,58 ; IC_{95%} : 0,32-1,04) en cas d'utilisation d'une PCR rapide associée à une équipe de gestion des antibiotiques (76).

Le deuxième élément important, expliquant la différence de mortalité observée, est de permettre une réadaptation plus rapide du traitement probabiliste. Ainsi, le délai d'obtention d'une thérapeutique efficace était obtenue de 5,03 à 8,9 heures plus tôt, dans les groupes profitant d'un test moléculaire rapide (76,139).

En excluant une étude limitée aux entérocoques résistants à la vancomycine (et causant une grande hétérogénéité), il était significativement diminué de 1,89 heure en moyenne (IC_{95%} : -2,43 à -1,36), à l'avantage des tests rapides moléculaires (76).

Par ailleurs, les optimisations médicamenteuses étaient plus précoces et plus fréquentes avec ces techniques rapides. En cas de SAMS, les prescriptions des β -lactamines anti-SAMS augmentaient, passant de 38,5 à 61,7% dans une étude avant/après (141), ou dans une seconde étude, leurs durées augmentaient de 42 heures pour le groupe contrôle à 71 heures ou 85 heures ($p=0,04$) en cas de PCR seule ou de PCR+ASP (142).

À l'inverse, les prescriptions de vancomycine baissaient de 66 heures à 14 heures ($p<0,001$) et plus particulièrement de 58,4 à 30,4 heures ($p=0,005$) chez les patients avec des hémocultures contaminées à SCoN. Ceux présentant une bactériémie à ERV recevaient un traitement actif (daptomycine ou linézolide) 16 heures plus tôt dans le groupe PCR ($p=0,047$) (75,141,142).

Quand la vancomycine était nécessaire pour le traitement d'entérocoques sensibles, son utilisation était plus élevée dans les groupes PCR (70 heures pour le groupe PCR seule et 82 heures pour le groupe PCR+ASP) que dans le groupe contrôle (20 heures ; $p=0,037$). L'utilisation de pipéracilline-tazobactam était elle aussi réduite dans les groupes PCR (44 et 45 heures contre 56 heures ; $p=0,012$) (142).

Quant aux candidémies, davantage de patients du groupe contrôle recevaient du fluconazole avant la positivité de la culture (26% contre 0% ; $p=0,0156$) (75).

Concernant les nouvelles PCR multiplexes ciblant plus de 20 pathogènes différents, la PCR ePlex pouvait avoir un impact potentiel sur le traitement dans 20,9 à 45% des cas, selon 2 études le reportant (93,139). Le panel FilmArray, associé à une prestation de conseils, conduisait dans plus de la moitié des cas à une désescalade de l'antibiothérapie. Près de 80% de ces conseils étaient acceptés dans les 24 heures et le taux de désescalade était plus élevé dans le groupe PCR avec prestation de conseil (24,1%), que dans les 2 autres groupes (PCR seule : 14,7% et groupe contrôle : 12,1% ; $p=0,003$). À l'inverse, les escalades thérapeutiques appropriées étaient plus rapides dans le groupe avec prestation de conseil (5 heures contre 24 dans le groupe contrôle ; $p=0,04$) (142). Dans l'étude rétrospective de l'impact potentiel de la PCR ePlex sur 158 épisodes de bactériémies, conduite au CHUGA, le rendu rapide de l'identification et des gènes de résistances aurait entraîné (93) :

- Aucun changement dans 55% des cas (87/158)
- Un arrêt dans 1% des cas (2/158)
- Une désescalade dans 17% des cas (27/158)
- Une optimisation du traitement dans 16% des cas (25/158)
- À l'inverse, une escalade dans 11% des cas (17/158)

Au total, la mise en place de la PCR ePlex aurait induit en erreur les cliniciens dans la prise en charge de 4% des patients (6/158), alors que l'absence de PCR rapide aurait entraîné une perte de chance (avérée ou probable) pour 28% des patients (93).

L'étude prospective HEMOFAST, conduite à la suite de ce travail, vise à confirmer ces chiffres, en apportant des données prospectives sur l'impact clinique réel de la PCR ePlex.

1.4.4.4. Impact économique

Plusieurs études ont démontré un impact économique potentiel des PCR multiplexes dans le contexte des bactériémies, lié principalement à une réduction des durées d'hospitalisation, allant de -0,6 à -2,48 jours selon les études (75,76). Dans la méta-analyse de *Timbrook et al.*, l'intervalle de confiance à 95% de la réduction de la durée de séjour était de -3,90 à -1,06 jours (76). À titre d'exemple, l'implémentation d'une PCR ciblant le gène *mecA* et permettant l'identification du genre *Staphylococcus* et l'espèce *S. aureus*, a conduit à une diminution de la médiane de durée d'hospitalisation de patients, sous traitement empirique par vancomycine, de 8 à 5 jours ($p=0,03$) (141). Dans l'étude médico-économique de *Pardo et al.*, malgré le coût du test FilmArray (129\$, inclus dans les coûts du laboratoire), la dépense totale par patient était plus faible dans le groupe bénéficiant de ce test (1 645\$ contre 3 370\$), soit un gain de 1 725\$ par patient, couvrant largement le coût du FilmArray. Ces résultats font suggérer aux auteurs une économie de 30 000\$ pour 100 patients testés. Au final, le groupe intervention était associé à une réduction significative des coûts totaux (coût médian de 15 324\$ pour le groupe contrôle, contre 12 241\$ pour le groupe FilmArray, $p=0,03$), des coûts de séjours en unités de soins continus ($p=0,008$), de la durée de séjour en USC après positivité de la culture ($p=0,026$) et de la mortalité ($p=0,036$). La

majeure partie des économies réalisées provenaient de la réduction de la durée de séjour (1 852\$ contre 947\$) (75). Ces résultats sont appuyés par l'étude de *Banerjee et al.* : les 2 groupes FilmArray avaient un coût « laboratoire » plus élevé que le groupe contrôle en raison du surcoût du test, mais les coûts totaux n'étaient pas différents entre ces 3 groupes ($p=0,78$). Les auteurs retiennent que cette PCR mène à un usage plus judicieux des antibiotiques, avec une majoration de l'effet positif lorsqu'est associée une prestation de conseil par des infectiologues ou biologistes (142) .

En résumé, ces nouveaux panels de PCR multiplexes sont très spécifiques, avec une bonne sensibilité comme cela pouvait être attendu, puisque la PCR est réalisée sur un flacon d'hémoculture positif, c'est-à-dire en présence d'une forte concentration bactérienne ou fongique. Ils permettent un gain de temps notable, dans les délais de rendu de résultats, par rapport aux techniques diagnostiques standards et aux PCR uniplexes. La limite de ces panels est la non exhaustivité des cibles bactériennes potentielles, décidée par le fabricant en fonction des principaux pathogènes d'intérêt et de la littérature scientifique, pouvant impacter les performances des panels en cas d'écologie particulière. L'autre intérêt principal de ces PCR est la réadaptation plus rapide de l'antibiothérapie probabiliste des patients, qui peut impacter de manière positive la survie des patients, tout en entraînant un coût stable, voire diminué de cette nouvelle prise en charge.

Ils permettent également, une diminution des autres examens diagnostics inutiles et une réduction de l'antibiothérapie inappropriée.

Au CHUGA, nous avons déjà évalué les performances de ces tests ePlex® avec une analyse rétrospective de leur impact clinique potentiel. La conclusion retenue de cette analyse (ayant tenu lieu de travail de thèse) est que l'ePlex-BCID montre des

performances microbiologiques et un impact potentiel prometteurs, qui doivent être confirmés dans un essai prospectif contrôlé (92,93). Suite à ces premiers résultats très encourageants, il a été décidé de poursuivre l'évaluation clinique de ce test innovant par une étude prospective randomisée, afin de mesurer l'impact médico-économique de la PCR ePlex BCID au CHU Grenoble-Alpes. Cette étude clinique a pu démarrer en juin 2019. Le recueil des données pour les 200 premiers patients inclus a fait partie de mon travail de thèse. Les objectifs de cette étude sont précisés dans les paragraphes suivants.

Type de comparaison	Amélioration du délai de rendu	Impacts sur l'antibiothérapie	Performances microbiologiques	Impacts sur la durée de séjour	Impacts autres
FilmArray (75)	Identification plus rapide de 24,7 heures pour les bactéries et <i>Candida spp.</i>	Moins de vancomycine en cas de SAMS (66 heures contre 14 heures, $p < 0,001$) ou de contamination à SCoN (58,4 contre 30,4 heures, $p = 0,005$) Traitement anti-ERV plus rapide (-16h, $p = 0,047$) Plus de fluconazole en cas de candidémie (26% contre 0%, $p = 0,0156$)	Identification de 100% des organismes isolés en culture	2,3 jours contre 2,9 ($p = 0,008$)	Gain de 1 725\$ par patient Réduction de la mortalité ($p = 0,036$)
FilmArray (142)	Identification en 1,3h versus 22h	Diminution de la durée de vancomycine non nécessaire (0 heure contre 8,2 heures, $p = 0,03$) Augmentation de la durée de vancomycine nécessaire (70 heures et 82 heures contre 20 heures, $p = 0,037$) Durée de β -lactamines anti-SAMS plus élevée (71 heures et 85 heures contre 42 heures, $p = 0,04$) Utilisation de pipéracilline-tazobactam moindre (44 et 45 heures contre 56 heures, $p = 0,012$)			Coûts totaux non différents malgré le prix de la PCR ($p = 0,78$)
FilmArray vs ePlex (136)			Identification à l'espèce des GP : 19,3% pour le panel FilmArray et 72,44% pour l'ePlex Identification à l'espèce des GN : 81,8% pour FA et 87,9% pour ePlex Identification des résistances : 100% pour l'ePlex sur toutes les cibles, 93,9% pour FA sur <i>mecA</i> et 100% sur <i>vanB</i> Cibles fongiques : 100% d'identification à l'espèce		
FilmArray (137)			Se et Sp des gènes de résistance : 100% et 97,6% Taux de concordance d'identification de 94% et de 88,8% pour les gènes de résistance		
Verigene vs FilmArray (135)			Se= 85,3% et Sp=99,1% (études phénotypiques) Se=95,5% Sp=99,7% (études génotypiques)		

ePlex GP (98)			<p>Taux de réussite de la PCR : 99,9%</p> <p>Pourcentage de concordance positive et négative des cibles « pathogènes » de 93,1 à 100% et de 98,8 à 100%</p> <p>Se et Sp cible pan-Candida : 92,4%, 99,9%</p> <p>Se et Sp cible pan-GN : 95,7%, 99,6%</p> <p>Se et Sp panel GP : 91,7-100%, >99%</p> <p>Se et Sp (<i>mecA</i>) : 97,2% et 96,6%</p> <p>Se et Sp (<i>mecC</i>, <i>vanB</i>) : 100% et 100%</p> <p>Se et Sp (<i>vanA</i>) : 96,8% et 99%</p>		
ePlex (138)			<p>Taux d'accord ePlex-culture : 96% (GP), 94% (GN)</p> <p>Se=97% et Sp>99% pour GP</p> <p>Se=99% et Sp>97% pour GN</p> <p>Se et Sp= 100% pour le panel fongique</p> <p>Taux d'accord global de 96% pour le panel GP et 94% pour le GN</p> <p>Taux de pathogènes non ciblés bas (6%) et majorité (62,5% des 6%) étaient des anaérobies</p>		
ePlex (139)	Résultats disponibles en moyenne 10,9h plus tôt	Temps réduit pour obtenir antibiothérapie adaptée de 8,9h Optimisation possible dans 20,9% des cas après ePlex	<p>Taux d'accord de 92% pour les hémocultures monomicrobiennes à GP et 90% pour GN</p> <p>Sp GP et GN : 100%</p> <p>Se, Sp des gènes de résistances : 100%</p>		
ePlex FP (140)			<p>Se = 96,2- 100%</p> <p>Sp= 99,8-100%</p> <p>Taux de réussite de la PCR : 99,9%</p>		A détecté 4 cibles dans des échantillons polymicrobiens ratées par la PEC
ePlex (93)		<p>Impact potentiel : arrêt (1%), désescalade (17%), optimisation (16%), escalade (11%)</p> <p>Résultats erronés de la PCR dans 4% des cas</p> <p>Absence de la PCR : probable ou perte de chance dans 28% des cas</p>	<p>Se=100% pour les panels GP et fongiques</p> <p>Se=96% pour le panel GN</p> <p>Sp=100% pour le panel fongique</p> <p>Se et Sp= 100% pour les gènes de résistance</p>		
Métanalyse (76)		Temps pour atteindre une thérapeutique efficace réduit de -1,89 heure en moyenne (IC _{95%} : -2,43 à -1,36)		Réduite de 2,48 jours (IC _{95%} : de-3,90 à -1,06 jours)	Baisse de la mortalité dans le groupe tests rapides OR =0,66, IC _{95%} : 0,54-0,80
RT-PCR (141)		Baisse des prescriptions de vancomycine et augmentation des β-lactamines anti-SAMS			

Tableau 31 : Tableau récapitulatif de données médico-économiques des PCR syndromiques sur flacon d'hémoculture positif

2. L'étude HEMOFAST : matériels et méthodes

2.1. Principe de l'étude

L'étude HEMOFAST est une étude monocentrique menée en simple aveugle. Le titre déposé de cette étude clinique est « Évaluation clinique et médico-économique d'un test rapide (ePlex-BCID®, GenMark) de diagnostic des bactériémies et fongémies, combinant identification rapide des bactéries et micromycètes et évaluation des résistances bactériennes aux antibiotiques de première ligne à partir des flacons d'hémoculture positifs ».

Il s'agit d'un essai clinique prospectif de phase 3, randomisé en groupe parallèle (selon un ratio 1:1) :

- 1 groupe « témoin » recevant la prise en charge diagnostique « habituelle » (SoC, Standard of care ou PEC, prise en charge en français)
- 1 groupe « PCR » recevant la prise en charge diagnostique « habituelle » et la PCR GenMark ePlex®

La prise en charge diagnostique « habituelle » est celle qui a été détaillée au paragraphe 1.2.2 « Diagnostic biologique des bactériémies et fongémies au CHUGA ».

Le test innovant ePlex-BCID® a été approfondi au paragraphe 1.3 « Techniques rapides d'identification des micro-organismes pathogènes et des gènes de résistance par PCR multiplexe syndromique ». Le panel ePlex-BCID® approprié n'est effectué que pour la première série d'hémocultures positives (1^{er} flacon aérobie, anaérobie ou mycosis positif), pour chaque patient et pour un épisode infectieux donné. Dans les rares cas où, chez un même patient, des bactéries de Gram différent

ou une combinaison de bactéries et de micromycètes seraient observées sur la même ou sur différentes séries d'hémocultures (ou en cas de présence d'une cible pan-Gram négatif, pan-Gram positif ou pan-*Candida*), plusieurs cartouches ePlex-BCID® complémentaires sont réalisées.

Le nombre de patients à inclure a été fixé à 400, soit 200 patients dans chaque bras.

Ce chiffre a été obtenu en partant des hypothèses suivantes (143) :

- 40% d'antibiothérapies sont optimisées à t=12h après transmission du résultat de l'examen microscopique du flacon positif, chez les patients bénéficiant de la prise en charge diagnostique « habituelle »
- 55% d'antibiothérapies sont optimisées à t=12h chez les patients bénéficiant de la prise en charge diagnostique innovante

Pour une puissance à 80% et un risque α bilatéral égal à 5%, le nombre de sujets nécessaires est de 173 par groupe et une analyse intermédiaire peut être réalisée au seuil $\alpha=0,003$ (une différence sera considérée comme significative si la p-valeur correspondante est inférieure ou égale à 0,003).

En envisageant un pourcentage de données manquantes de 15%, le nombre de sujets nécessaires est de 200 par groupe, soit 400 personnes au total.

2.2. Objectif principal

L'objectif principal de l'étude est d'évaluer le bénéfice clinique de ce test rapide de diagnostic des bactériémies et fongémies, permettant une identification rapide et une évaluation des résistances bactériennes aux antibiotiques prescrits en première ligne au cours du sepsis, par comparaison à la stratégie diagnostique actuelle, chez des patients suspects de bactériémies et/ou fongémies, et pour lesquels une ou des bactéries et/ou micromycètes sera(seront) isolé(es) en culture.

Le critère de jugement principal étudié est le pourcentage de patients présentant une chimiothérapie anti-infectieuse considérée comme « optimisée » au vu de l'espèce identifiée, de ses mécanismes de résistance principaux et des recommandations en vigueur, à T12h après la validation du résultat de l'examen microscopique, suite à la coloration de Gram, du premier flacon d'hémoculture positif. Le délai d'obtention d'un traitement optimisé est étudié et validé lors de la réunion hebdomadaire pluridisciplinaire sur les bactériémies et fongémies, qui a lieu au laboratoire de microbiologie du CHUGA.

Le traitement est qualifié d'« optimisé » s'il est :

- « Adapté », c'est-à-dire efficace sur le ou les pathogènes identifiés dans les hémocultures d'après les résultats microbiologiques
- Et s'il s'inscrit dans les recommandations actuelles (efficacité clinique optimale, effets secondaires minorés, moindre sélection de résistances bactériennes, etc...).

Le patient est suivi pendant 30 jours maximum après la date de son inclusion.

2.3. Objectifs secondaires

Le premier critère de jugement secondaire est l'évaluation médico-économique « coût-conséquence » de la nouvelle stratégie incluant la PCR multiplexe rapide GenMark ePlex®, par rapport à la stratégie standard. L'évaluation se portera sur la durée d'hospitalisation avec un point à 30 jours, seront donc pris en compte des critères de coût et des critères cliniques.

- **Critère de coût** : coût moyen par patient de chacune des stratégies calculées du point de vue du CHUGA

➤ **Critères cliniques** : les conséquences cliniques suivantes seront mesurées dans chaque groupe :

- Taux de mortalité hospitalière et taux de mortalité spécifique (lié à l'infection) à 30 jours
- Taux de complications et événements morbides : taux d'admission et durée d'hospitalisation en réanimation, taux de modification de l'antibiothérapie pour cause de toxicité, taux de récurrence de la bactériémie dans les 30 jours, taux de réadmission dans les 30 jours pour cause de bactériémie récurrente
- Durée moyenne de séjour total et par unité de soins
- Délai et taux de modification du traitement antibiotique ou antifongique suite aux résultats : de l'examen direct, du test ePlex BCID® puis de l'antibiogramme ou antifongogramme en catégorisant les modifications du traitement en initiation d'une antibiothérapie/d'un traitement antifongique, optimisation, escalade, désescalade ou arrêt de l'antibiothérapie probabiliste ou du traitement antifongique probabiliste.
- Durée de traitement de certains anti-infectieux pour évaluer les durées d'exposition des patients aux antibiotiques à fort impact écologique sur les flores commensales (ex : carbapénèmes), ou à forte toxicité (ex : vancomycine).

Le second critère de jugement secondaire est l'étude de l'impact économique de cette PCR sur le budget du CHUGA, impact calculé sur un horizon de 1 an et à partir du premier critère de jugement secondaire. Les économies réalisées ou le surcoût annuel lié à l'introduction de la stratégie innovante seront calculés à partir du coût moyen par patient de chacune des stratégies, calculé dans le premier objectif secondaire.

➤ **Critères d'inclusion et de non-inclusion**

Pour qu'un patient puisse être inclus dans l'étude, il fallait qu'il respecte les critères d'inclusion suivants :

- ✓ Être âgé de plus de 18 ans (sans limite d'âge supérieur)
- ✓ Présenter une bactériémie et/ou fongémie définie par :
 - la présence de signes cliniques de sepsis ;
 - Et** - une hémoculture positive (bactéries et/ou micromycètes)
- ✓ Être hospitalisé dans les services cliniques du site Nord du CHUGA et suivi par l'unité mobile d'infectiologie du CHUGA
- ✓ Que l'hémoculture positive soit la première positive pour l'épisode de sepsis du patient
- ✓ Avoir un consentement éclairé et écrit, signé par le patient ou son représentant légal (ou le médecin en cas d'urgence).

Ne pouvaient être inclus dans l'étude les patients présentant les critères de non-inclusions suivants :

- ✗ Patients pour lesquels la suspicion de bactériémie ou de fongémie ne peut pas être prouvée par l'isolement de la bactérie ou du micromycète en cause dans les hémocultures
- ✗ Personnes protégées (articles L1121-5 à L1121-8 du CSP)
- ✗ Hospitalisation dans l'unité de soins palliatifs
- ✗ Survie estimée inférieure à un mois (conduisant à une limitation des soins malgré les résultats de l'hémoculture positive)

Le recrutement dans les différents services cliniques du CHUGA a été effectué par les infectiologues déclarés dans le protocole. La randomisation a été réalisée par un biologiste médical du laboratoire de bactériologie ou de parasitologie-mycologie.

L'avis favorable du comité de protection des personnes a été délivré le 26 février 2019, pour une durée initialement prévue à 18 mois. Cependant, la pandémie de SARS-COV2 en 2019-2021, a stoppé temporairement l'étude qui a été prolongée dans le temps, jusqu'en juin 2021.

La figure 24 ci-dessous reprend plus en détail le déroulement de l'étude.

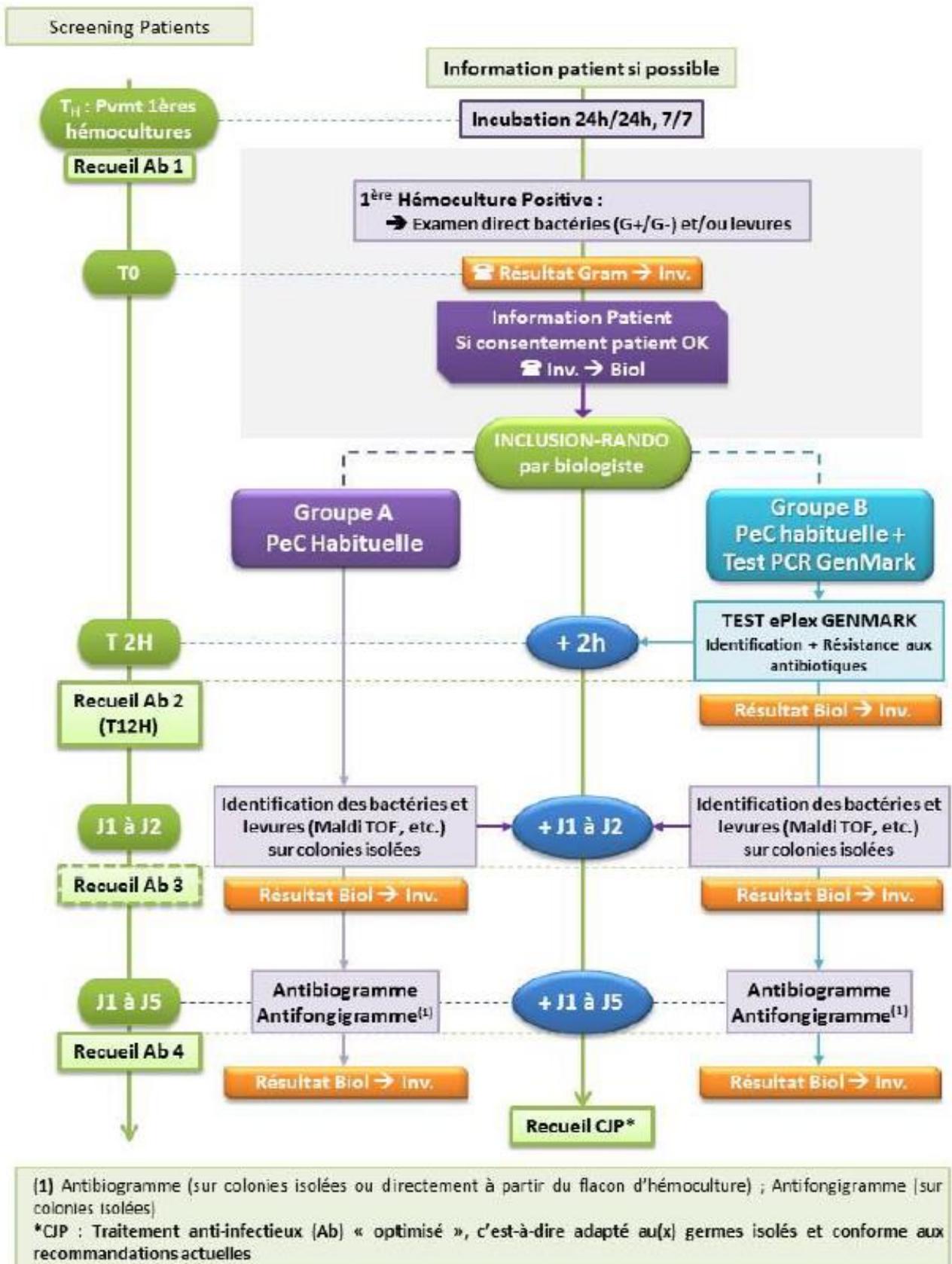


Figure 24 : Flowchart de l'étude HEMOFAST

2.4. Travail personnel

En tant qu'interne en biologie médicale, mon travail a consisté à effectuer les tests ePlex (réalisation des tests PCR après consentement du patient et communication des résultats aux infectiologues), ainsi que le remplissage de certaines parties du cahier d'observation électronique (eCRF, Ennov Clinical®), à savoir :

- Le service clinique au moment du prélèvement de la 1^{ère} hémoculture pour l'épisode de sepsis du patient
- La présence d'un traitement anti-infectieux dans les 15 jours précédant la positivité de l'hémoculture
- La date et heure de positivité et de prélèvement de la première hémoculture positive, son délai de positivité dans l'automate et le service clinique du patient à ce moment
- Le résultat de la coloration de Gram, son heure de validation par le laboratoire, l'ajout ou la modification d'un traitement suite à cet examen, et la survenue éventuelle de complications infectieuses ou d'évènements indésirables graves
- À T=2 heures dans le groupe ePlex BCID® : l'heure de transmission du résultat par téléphone à l'infectiologue, ainsi que le résultat de l'identification et la présence de gènes de résistance dans le panel, l'ajout ou la modification d'un traitement suite à ce résultat, et la survenue éventuelle de complications infectieuses ou d'évènements indésirables graves
- Le résultat de l'identification du pathogène par les techniques classiques ainsi que l'heure et la date de transmission, la concordance avec la PCR selon le groupe, l'ajout ou la modification d'un traitement suite à cet examen, et la survenue éventuelle de complications infectieuses ou d'évènements indésirables graves

- Les résultats de l'antibiogramme, l'heure et la date de transmission, la concordance avec les gènes recherchés par la PCR, l'ajout ou la modification d'un traitement suite à cet examen, et la survenue éventuelle de complications infectieuses ou d'évènements indésirables graves
- Le diagnostic final retenu, la date et heure du traitement adapté et celles du traitement optimisé
- Enfin, la liste des médicaments anti-infectieux reçus par le patient avec la dénomination commune internationale, le statut du traitement, la posologie, la voie d'administration, les dates et heures de début et de fin

Ces données étaient récupérées depuis les logiciels intranet Cristal-Link® ou Easily®, ou encore depuis les logiciels de réanimation (Clinisoft® ou DocManager®).

J'ai également participé à la mise en forme et au traitement des résultats de l'analyse intermédiaire présentés ci-dessous.

3. Analyse intermédiaire de l'étude

Dans cette thèse seront uniquement présentés les résultats obtenus lors de l'analyse intermédiaire de l'étude HEMOFAST, qui s'intéresse uniquement au critère de jugement principal. Des tests statistiques n'ont donc été réalisés, à ce stade, que pour ce critère.

Les résultats complets et définitifs feront eux, l'objet d'un mémoire de DES disponible ultérieurement.

3.1. Analyse descriptive

3.1.1. Patients inclus dans l'étude

218 patients ont été inclus dans l'étude HEMOFAST sur la période du 20 juin 2019 au 02 juillet 2020. Après retrait de 5 patients inclus à tort ou ayant retiré leur consentement (Figure 25), les statistiques descriptives de la population sont disponibles pour 107 patients dans le bras PEC « habituelle » et 106 dans le bras PEC « habituelle + PCR ».

En revanche, à la suite du décès d'un patient avant la réalisation du critère de jugement principal, l'analyse intermédiaire porte uniquement sur 212 patients : 107 dans le bras PEC « habituelle » et 105 dans le bras PEC « habituelle + PCR ».

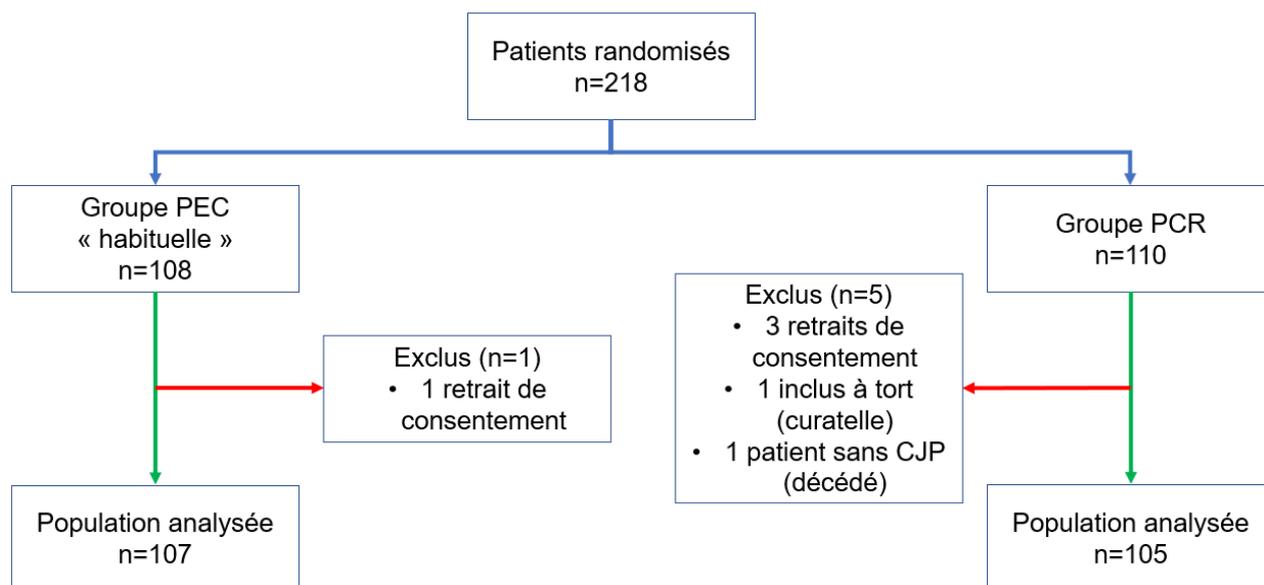


Figure 25 : Organigramme des inclusions de l'étude HEMOFAST et des populations étudiées pour l'analyse intermédiaire

Les caractéristiques socio-démographiques des patients sont présentées dans le tableau 32. Les patients inclus sont dans la majorité des femmes. La distribution est en faveur d'une population plutôt âgée, ce qui est conforme à la population habituellement atteinte de bactériémie ou fongémie. Sans surprise, les principaux services prescripteurs d'hémocultures sont les urgences, les services d'hématologie/oncologie et de réanimation, services recevant fréquemment des patients en état critique ou présentant des comorbidités favorisant la survenue de bactériémie ou fongémie.

Caractéristiques socio-démographiques	Groupe PEC « habituelle » (n = 107)	Groupe PCR (n = 105)
Age (ans), médiane [IIQ]	66 [53 ; 76]	67 [55 ; 80]
Sexe, n (%)		
- Homme	39 (36,5)	34 (32,0)
- Femme	68 (63,5)	72 (68,0)
IMC (kg/m ²), médiane [IIQ]	23,5 [21,3 ; 27,5] n = 101	25 [22 ; 28,7] n = 98
Services cliniques, n (%) :		
- Urgences	21 (19,6)	25 (23,6)
- Hématologie et Oncologie	19 (17,8)	19 (17,9)
- Réanimation médicale	18 (16,8)	12 (11,3)
- Hépato-gastro / Chirurgie digestive	15 (14)	10 (9,4)
- Urologie	7 (6,5)	6 (5,7)
- Autres services	27 (25,2)	34 (31,4)
Cancer, n (%)	56 (52,3) *	35 (33)
Pathologies chroniques, n (%)	45 (42,1)	55 (51,9)
Transplantation d'organe solide, n (%)	4 (3,7)	4 (3,8)
Greffe de moelle osseuse, n (%)	9 (8,4)	7 (6,6)
VIH, n (%)	0 (0,0)	2 (1,9)
Immunodépression, n (%)	44 (41,1) *	29 (27,4)
- Chimiothérapie dans les 90 jours, n (%)	35 (79,6) *	20 (69,0)
- Traitement antirejet, n (%)	9 (20,5)	10 (34,5)
- Corticostéroïdes au long cours, n (%)	3 (6,8)	4 (13,8)

Tableau 32 : Données socio-démographiques et comorbidités actives à l'inclusion.
Les astérisques indiquent une différence statistiquement significative entre les 2 groupes

Certains résultats bruts semblent indiquer l'existence de différences entre les 2 groupes au stade de l'analyse intermédiaire. Après application du test du χ^2 (ou du test exact de Fisher en fonction des effectifs), les comorbidités, pour lesquelles existait une différence statistiquement significative, étaient les patients atteints de cancer (χ^2 ; $p=0,004$), d'immunodépression (F ; $p=0,034$), ou ayant reçu une chimiothérapie dans les 90 jours (F ; $p=0,021$). Cette étude étant randomisée, les populations devraient être homogènes. L'analyse des résultats finaux corrigera peut-être ce déséquilibre non expliqué à ce stade.

3.1.2. Caractéristiques des hémocultures positives

3.1.2.1. Délai de positivité des hémocultures positives

Le délai de positivité des hémocultures était de 17,8 heures en moyenne (écart-type : 17,6 heures) avec une médiane de 11,5 heures (écarts interquartiles [9,4 ; 18,1]) dans le groupe PEC « habituelle », contre 15 heures (écart-type 12,1 heures) avec une médiane de 11,2 heures (écarts interquartiles [9,1 ; 16,1]) dans le groupe PCR.

3.1.2.2. Examen direct

Après réalisation de l'examen direct sur les flacons d'hémoculture positifs, nous avons pu observer la répartition suivante :

- Pour le groupe PEC « habituelle » : 52 BGN (48,6%), 33 CGP (31%) en amas, 12 CGP en chaînettes (11%), 3 levures (2,8%), 3 BGP (2,8%), 1 CGP en chaînettes associé à des BGN (0,9%), 2 CGP en amas associés à des BGN (1,9%), 1 CGP en chaînettes associé à des BGP (0,9%)
- Pour le groupe PCR : 55 BGN (51,9%), 31 CGP (29,2%) en amas, 13 CGP en chaînettes (12,2%), 3 levures (2,8%), 2 BGP (1,9%), 2 CGP en chaînettes associés à des BGN (1,9%)

3.1.2.3. Résultats de la culture

Les pathogènes les plus fréquemment retrouvés étaient *E. coli* (~20%)> *S. epidermidis* (~10%)> *S. aureus* (~10%)> *E. cloacae* (~6%)> *K. pneumoniae* (~5%) (Tableau 33).

L'hémoculture était polymicrobienne pour 14 patients (13,1%) des patients du groupe PEC « habituelle » et pour 11 patients (10,4%) du groupe PCR.

Quant aux micromycètes, leur répartition ne permet pas d'identifier une espèce prépondérante.

Bactéries et levures en culture	Groupe PEC « habituelle »		Groupe PCR	
	n = 107		n = 106	
	Effectif	%	Effectif	%
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	8,9	12	10,1
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	17	13,7	12	10,1
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	1,6	2	1,7
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	6	4,8	5	4,2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	1,6	1	0,8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	1	0,8	2	1,7
<i>Streptococcus groupe milleri</i>	1	0,8	3	2,5
<i>Enterococcus faecalis</i>	4	3,2	5	4,2
<i>Enterococcus faecium</i>	3	2,4	1	0,8
<i>Bacillus cereus</i>	0	0	1	0,8
<i>Micrococcus luteus</i>	2	1,6	1	0,8
<i>Autre(s) bactérie(s) à Gram positif</i>	7	5,6	6	5
<i>Escherichia coli</i>	25	20,2	26	21,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7	5,6	6	5
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0	0	2	1,7
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	0,8	2	1,7
<i>Citrobacter koseri</i>	0	0	2	1,7
<i>Salmonella sp</i>	0	0	1	0,8
<i>Enterobacter cloacae</i>	9	7,3	7	5,9
<i>Enterobacter aerogenes</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Morganella morganii</i>	4	3,2	0	0
<i>Serratia marcescens</i>	1	0,8	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	3	2,4	5	4,2
<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	1	0,8
<i>Citrobacter freundii</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0	0	1	0,8
<i>Bacteroides fragilis</i>	0	0	1	0,8
<i>Autre(s) bactérie(s) à Gram négatif</i>	9	7,3	6	5
<i>Candida albicans</i>	0	0	1	0,8
<i>Candida dubliniensis</i>	1	0,8	1	0,8
<i>Candida glabrata</i>	1	0,8	0	0
<i>Candida krusei</i>	0	0	1	0,8
<i>Candida lusitanae</i>	1	0,8	0	0
<i>Candida tropicalis</i>	1	0,8	0	0
Total	124	100	119	100

Tableau 33 : Bactéries et levures isolées par les techniques de culture conventionnelle dans les 2 bras de l'étude HEMOFAST.

La couleur rose de la police indique une bactérie à Gram négatif, bleue si Gram positif et orange pour les levures.

3.1.3. Performances de la PCR ePlex

Au total, ce sont 116 bactéries (63 à Gram négatif, 53 à Gram positif) et 3 levures qui étaient soumises à détection par l'ePlex dans le bras PCR.

Dans les hémocultures monomicrobiennes, un taux très satisfaisant de 93,3% (83/89) d'identifications correctes a été obtenu pour les cibles incluses dans les panels (Tableau 34). Parmi ces 116 bactéries, 5,2% (6/116) n'étaient pas détectées car non incluses dans le panel. En les intégrant, le taux d'identification correcte dans les hémocultures microbiennes diminuait alors à 87,4% (83/95). De plus, aucun résultat faux-positif n'a été produit.

En cas d'échantillon polymicrobien, la PCR ePlex a permis une identification complète de tous les pathogènes présents dans 9 cas sur 11 (soit 81,8%) (Tableau 35).

Enfin, tous les micromycètes inclus dans le panel ont été correctement détectés.

Ces données semblent suggérer, pour notre centre et son épidémiologie, une couverture très satisfaisante des panels ePlex, puisque 94,11% (112/119) des pathogènes impliqués étaient inclus dans les panels ePlex-BCID.

Les examens directs, utiles pour le choix du panel à lancer, n'ont pas été concordants avec les identifications pour deux échantillons : un *S. haemolyticus* n'a pas été vu dans une hémoculture positive à *E. coli* dans le groupe PEC « habituelle » et un *B. fragilis* a été raté au sein d'une hémoculture à *S. anginosus* dans le groupe PCR.

Bactéries et levures identifiées dans les hémocultures monomicrobiennes	Résultats de la PCR
<i>Escherichia coli</i>	22/23
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5/5
<i>Enterobacter complexe cloacae</i>	4*/5
<i>Proteus mirabilis</i>	4/4
<i>Proteus</i>	1/1
<i>Citrobacter</i>	2/3
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2/2
<i>Enterobacter (complexe non-cloacae)</i>	1/1
<i>Salmonella</i>	1/1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2/2
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1/1
<i>Staphylococcus aureus</i>	11/11
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	8/9
<i>Staphylococcus</i>	4/4
<i>Enterococcus faecalis</i>	5/5
<i>Streptococcus pyogenes</i>	1/1
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2/2
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0*/1
<i>Streptococcus groupe anginosus</i>	1*/2
<i>Streptococcus mutans</i>	1/1
<i>Bacillus groupe cereus</i>	1/1
<i>Micrococcus</i>	1/1
<i>Candida albicans</i>	1/1
<i>Candida dubliniensis</i>	1/1
<i>Candida krusei</i>	1/1
# <i>Peptoniphilus indolicus</i>	0/1
# <i>Gemella haemolysans</i>	0/1
# <i>Parvimonas micra</i>	0/1
# <i>Haemophilus parainfluenzae</i>	0/1
# <i>Acinetobacter pittii</i>	0/1
# <i>Raoultella ornithinolytica</i>	0/1
Total	83/95

Tableau 34 : Bactéries et levures identifiées par la PCR ePlex dans les flacons d'hémoculture positifs monomicrobiens

L'astérisque(*) indique une erreur de test pour cause de cartouche invalide. Les bactéries à Gram négatif sont indiquées en rose, les Gram positif en bleu et les levures en orange. Le signe # indique une bactérie hors panel

Bactéries et levures identifiées dans les hémocultures polymicrobiennes	Résultats de la PCR (n = nombre de flacons positifs)
<i>Streptococcus</i> groupe <i>anginosus</i> + <i>Bacteroides fragilis</i>	1/1
<i>E. coli</i> + <i>Streptococcus mitis/oralis</i>	1/1
<i>E. coli</i> + <i>P. mirabilis</i>	1/1
<i>E. cloacae</i> + <i>K. pneumoniae</i>	2/2
<i>S. aureus</i> + <i>S. epidermidis</i>	1/1
<i>E. faecium</i> + <i>E. coli</i> + <i>K. pneumoniae</i>	1/1
<i>S. epidermidis</i> + <i>S. capitis</i>	1/1
<i>S. capitis</i> + <i>S. haemolyticus</i> + <i>S. hominis</i>	1/1
<i>S. epidermidis</i> (non détecté) + <i>S. haemolyticus</i>	0/1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> + # <i>A. ursingii</i>	0/1
Détection de toutes les bactéries	9/11

Tableau 35 : Bactéries et levures identifiées par la PCR ePlex dans les 11 hémocultures polymicrobiennes. Les bactéries à Gram négatif sont indiquées en rose, les Gram positif en bleu. Le signe # indique une bactérie hors panel

Ainsi 92 épisodes de bactériémies/fongémies sur 106 ont été correctement identifiés soit une proportion de 87%. Seuls 14 épisodes n'ont pas été détectés : 12 monomicrobiens et 2 polymicrobiens.

Au niveau des résistances, la majorité des isolats (85,3% ; 99/116) n'en produisaient pas, ou étaient porteurs de résistances non recherchées par la PCR. Les résistances les plus fréquemment identifiées étaient la résistance à la méticilline, via le gène *mecA*, identifié dans 11/12 hémocultures contenant des souches de staphylocoques. Seules 3/5 souches productrices de BLSE ont été détectées via la cible *CTX-M* (Tableau 36). Aucune souche d'entérocoque résistant à la vancomycine ou de BGN producteur de carbapénémase n'a été identifiée au cours de l'étude.

Notons à nouveau qu'aucun résultat faussement positif n'a été produit.

Gènes de résistances détectés	Résultats de la PCR
<i>mecA</i> (résistance à la méticilline)	11/12
-SCoN	10/11
- <i>S. aureus</i>	1/1
<i>vanA/vanB</i>	0/0
CTX-M (BLSE)	3*/5
OXA, VIM, NDM, KPC, IMP	0/0

Tableau 36 : Résistances identifiées par la PCR.
L'astérisque(*) indique une erreur de test pour cause de cartouche invalide

Après analyse de toutes ces données, nous retrouvons un taux d'identification fiable de l'espèce ou du genre bactérien très satisfaisant pour les cibles incluses dans les panels, en accord avec les données de la littérature précédemment étudiée. Le taux de cartouches invalides s'élevait en revanche à 8% au premier passage (9/109, 48 BCID-GP, 58 BCID-GN, 3 BCID-FP), mais réduit à 2,8% (3/109) après repassage de l'échantillon sur une deuxième cartouche.

Le taux d'accord entre les techniques conventionnelles en vigueur au CHUGA et la PCR ePlex s'élève à 96,1% (IC_{95%} : [90,3 ; 98,9]) pour les cartouches valides (99/103 échantillons). En incluant les identifications invalides, ce taux reste très satisfaisant à 93,4% (99/106).

Les 3 cartouches en erreur correspondaient à 3 hémocultures monomicrobiennes contenant respectivement un *E. cloacae* producteur de BLSE, un *Streptococcus groupe anginosus* et un *S. pneumoniae*. Les 4 discordances relatives à l'identification des pathogènes correspondaient à trois souches de *S. epidermidis*, d'*E. coli* et de *Citrobacter freundii* non détectées dans trois hémocultures monomicrobiennes ainsi qu'à une souche de *S. epidermidis* non détectée dans une hémoculture polymicrobienne contenant deux staphylocoques (*S. epidermidis* + *S. haemolyticus*). Dans ce dernier échantillon, la cible *Staphylococcus a* été détectée mais pas celles spécifiques de *S. epidermidis*. L'espèce *S. epidermidis* était très minoritaire par rapport

à *S. haemolyticus* en culture, pouvant expliquer l'échec de la PCR par manque de sensibilité. Les autres souches non détectées peuvent être liées soit à un manque de sensibilité, soit à la présence de variations dans la séquence génomique de fixations des amorces de PCR. Enfin, l'absence de détection de la souche de *Citrobacter freundii* pourrait également être expliquée par la conception de la cible *Citrobacter sp.* qui ne détecte pas 100% des souches de *Citrobacter spp.*

Concernant les gènes de résistance, le gène *mecA* non détecté était porté par la souche de *S. epidermidis* non détectée dans l'hémoculture polymicrobienne, probablement du fait du manque de sensibilité évoqué ci-dessus. Concernant la détection des souches productrices de BLSE, une des souches non détectée correspond à la souche d'*E. cloacae* pour laquelle la cartouche est restée en erreur malgré deux tentatives. La caractérisation génotypique de la deuxième souche non détectée est en cours afin de savoir s'il s'agissait d'une BLSE non CTX-M.

3.1.4. Diagnostic final retenu

Après analyse clinico-biologique, 87,9% (94/107) des patients du bras PEC « habituelle » souffraient d'une bactériémie ou fongémie contre 89,6% (95/106) dans le groupe PCR . Les portes d'entrée des épisodes de bactériémies ou fongémies sont regroupées dans le tableau 37. Le taux de contamination des flacons d'hémoculture positifs s'élevait à 12,2% (13/107) et 10,4% (11/106) pour les groupes PEC « habituelle » et PCR respectivement.

Porte d'entrée de l'infection	Groupe PEC « habituelle » n = 107		Groupe PCR n = 106	
	Effectif	%	Effectif	%
PICC-Line/ PAC/ VVC	26	27,7	16	16,7
Génito-urinaire	22	23,4	27	28,1
Digestive	22	23,4	24	25
Pulmonaire	6	6,4	1	1
Hépatobiliaire	2	2,1	4	4,2
Endocardite	2	2,1	1	1
Ostéoarticulaire	1	1,1	3	3,1
Autre	6	6,4	5	5,2
NA	7	7,4	15	15,6
Total	94	100	96	100

Tableau 37 : Portes d'entrée des infections caractérisées

3.2. Analyse du critère de jugement principal

Pour rappel, le critère de jugement principal est le pourcentage de patients présentant une chimiothérapie anti-infectieuse considérée comme « optimisée » au vu de l'espèce identifiée, de ses mécanismes de résistance principaux et des recommandations en vigueur, à T12h après la validation du résultat de l'examen microscopique, suite à la coloration de Gram du premier flacon d'hémoculture positif (Figure 26).

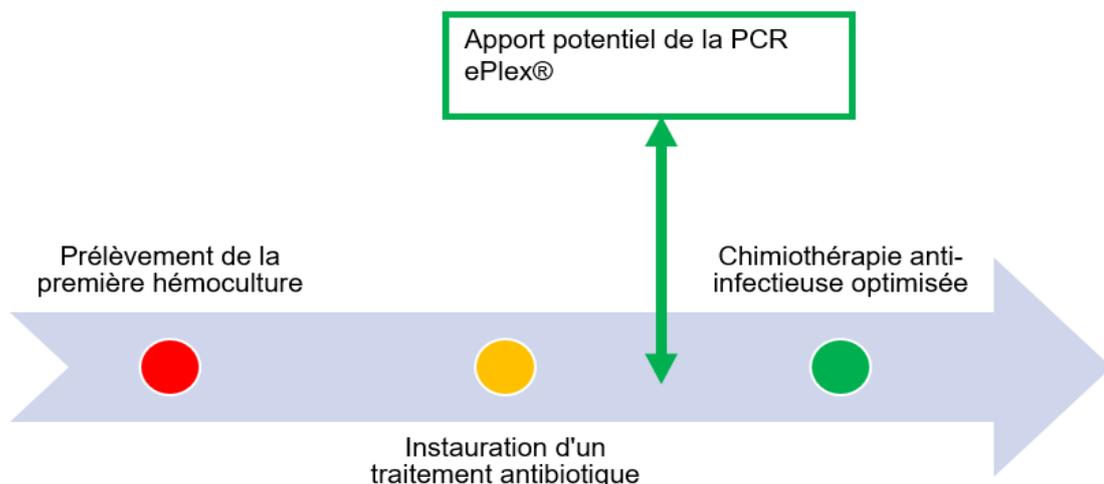


Figure 26 : Représentation schématique de l'analyse du critère de jugement principal.

Le délai entre la validation par le laboratoire du résultat de la coloration de Gram réalisée sur le premier flacon d'hémoculture positif et la mise en place du traitement optimisé, a été déterminé pour chaque patient. Il s'élevait en moyenne à 19,7 heures (écart-type : +/-30,0) dans le groupe « PEC habituelle » contre 7,9 heures (écart-type : +/-16,6) dans le groupe jouissant de la PCR. Le résultat rapide du test PCR a déclenché la modification du traitement antiinfectieux probabiliste reçu par le patient dans plus de 38% des cas (40/105 patients).

Le taux de mise sous traitement optimisé dans un délai ≤ 12 heures (T12h) est apparu significativement plus élevé dans le groupe bénéficiant de la PCR ePlex : 87% des patients de ce groupe ont reçu un traitement antiinfectieux optimisé à T12h, contre 64% dans le groupe « PEC habituelle » ($p < 0,001$; Tableau 38). La limite supérieure de la p-value retenue pour déterminer la significativité étant de 0,003 pour l'analyse intermédiaire, la différence entre ces 2 groupes est donc statistiquement significative.

	Groupe PEC « habituelle » n=107	Groupe PCR n=105	Total	p-value
Délai de mise sous traitement optimisé ≤ 12 heures				
NON	39 (36,45%)	14 (13,33%)	53 (25,00%)	<0,001
OUI	68 (63,55%)	91 (86,67%)	159 (75,00%)	
Total	107	105	212	

Tableau 38 : Résultat de l'analyse du critère de jugement principal : taux de mise sous traitement optimisé avec un délai inférieur ou égal à 12 heures.

À noter que si le traitement mis en place chez le patient avant la positivité des hémocultures était d'emblée optimisé, alors le délai d'optimisation devenait nul. Le taux de mise sous traitement optimisé d'un délai égal à 0 heure (signifiant optimisé

dès le départ) ne différait pas entre les 2 groupes (optimisé d'emblée chez 35,51% des patients du groupe PEC « habituelle » contre 35,24% dans le groupe PCR ; $p=0,966$), démontrant l'absence de biais d'interprétation du caractère optimal du traitement et la comparabilité des 2 groupes sur ce critère.

En conclusion, après analyse statistique (test du χ^2), les résultats de l'analyse du critère de jugement principal sont statistiquement significatifs. Le taux de mise sous traitement optimisé ≤ 12 heures est significativement supérieur dans le groupe de patients bénéficiant du test PCR. Ce résultat marquant a conduit à l'arrêt anticipé de l'étude, après validation de ces résultats, lors d'une réunion de concertation pluridisciplinaire et après inclusion de 310 patients.

À titre indicatif, la mortalité à 30 jours semble différer entre les 2 groupes. Elle atteint 11,2% (12/107) pour le groupe PEC « habituelle » mais diminue à 8,5% (9/106) dans le groupe bénéficiant de l'apport de la PCR ePlex

Néanmoins, il faudra attendre l'analyse statistique réalisée sur les données finales de l'étude pour statuer sur une différence significative.

4. Conclusion

THÈSE SOUTENUE PAR : Arthur DEVES

TITRE :

ÉVALUATION MÉDICO-ÉCONOMIQUE D'UNE PCR MULTIPLEXE POUR LE
DIAGNOSTIC RAPIDE DES BACTÉRIÉMIES ET FONGÉMIES

CONCLUSION :

Le développement des techniques moléculaires rapides, en biologie médicale, est porteur d'espoir pour améliorer la prise en charge des patients atteints de bactériémies et fongémies, pathologies associées à des taux de mortalité élevés. La nécessité d'un repiquage des flacons d'hémoculture positifs, sur milieux gélosés, pour obtenir l'identification du pathogène et la détermination de sa sensibilité aux antibiotiques ou antifongiques, explique que le délai diagnostique de ces infections reste, à ce jour, important. Une réduction de ce délai permettrait une réévaluation plus rapide du traitement antibiotique probabiliste, ce qui participerait à l'amélioration de la survie des patients et à la diminution de la prévalence des résistances bactériennes.

L'objectif de l'étude clinique « HEMOFAST », réalisée au Centre Hospitalo-Universitaire Grenoble-Alpes, est d'évaluer l'apport médico-économique de la PCR multiplexe rapide (ePlex®, GenMark Diagnostics) pour le diagnostic des bactériémies et fongémies.

Cette PCR permet d'identifier en 1h30, 56 espèces ou genres de bactéries et micromycètes et de rechercher 10 gènes de résistance, directement à partir de flacons d'hémoculture positifs. Le critère de jugement principal est la proportion de patients qui reçoivent une antibiothérapie optimisée à T12h, après la transmission du résultat de la positivité du flacon d'hémoculture, dans les deux bras de l'étude (prise en charge « habituelle » avec ou sans réalisation de la PCR multiplexe rapide). L'analyse intermédiaire, réalisée suite à l'inclusion des 213 premiers patients, a démontré que la

proportion de patients, avec une antibiothérapie optimisée à T12h, était significativement plus élevée dans le groupe PCR, par rapport au groupe PEC « habituelle » (86,67% vs 63,55%, $p < 0,001$), ce qui a conduit à l'arrêt anticipé de l'étude.

En outre, chez les patients inclus dans le groupe avec réalisation de la PCR multiplexe, cette dernière a permis d'obtenir, en 1h30, une identification correcte de l'espèce et une détection fiable des gènes de résistance recherchés dans 92 des 106 épisodes de bactériémies ou fongémies (soit 87%). Aucun résultat faux-positif n'a été produit, ce qui équivaut à une spécificité de 100% pour toutes les cibles recherchées par les panels de cette PCR.

Les performances et la simplicité de réalisation de ce test permettent d'envisager une implémentation aisée en routine, y compris pendant les horaires de garde, afin d'en maximiser les bénéfices. Ces premiers résultats encourageants seront complétés par un examen détaillé des conséquences cliniques et des données économiques, lors de l'analyse finale de l'étude.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le : 11/10/21

LE DOYEN

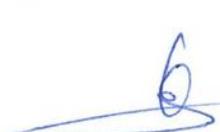
Michel SEVE



LE DIRECTEUR DE THÈSE :



LE TUTEUR UNIVERSITAIRE :

 Pr N. CORNET

5. Références bibliographiques

1. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 23 févr 2016;315(8):801-10.
2. Cecconi M, Evans L, Levy M, Rhodes A. Sepsis and septic shock. *The Lancet*. juill 2018;392(10141):75-87.
3. Vincent J-L, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, et al. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure: On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine (see contributors to the project in the appendix). *Intensive Care Med*. juill 1996;22(7):707-10.
4. OMS. SOIXANTE-DIXIÈME ASSEMBLÉE MONDIALE DE LA SANTÉ; WHA70.7; Point 12.2 de l'ordre du jour ;29 mai 2017; Amélioration de la prévention, du diagnostic et de la prise en charge clinique de l'état septique [Internet]. 2017. Disponible sur: http://apps.who.int/gb/ebwha/pdf_files/WHA70/A70_R7-fr.pdf
5. Calsavara AJC, Nobre V, Barichello T, Teixeira AL. Post-sepsis cognitive impairment and associated risk factors: A systematic review. *Aust Crit Care*. juill 2018;31(4):242-53.
6. Azabou E, Magalhaes E, Braconnier A, Yahiaoui L, Moneger G, Heming N, et al. Early Standard Electroencephalogram Abnormalities Predict Mortality in Septic Intensive Care Unit Patients. *Hahn CD, éditeur. PLOS ONE*. 8 oct 2015;10(10):e0139969.
7. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, Dellinger RP, Fein AM, Knaus WA, et al. Definitions for Sepsis and Organ Failure and Guidelines for the Use of Innovative Therapies in Sepsis. *Chest*. juin 1992;101(6):1644-55.
8. Iwashyna TJ, Ely EW, Smith DM, Langa KM. Long-term Cognitive Impairment and Functional Disability Among Survivors of Severe Sepsis. *JAMA*. 27 oct 2010;304(16):1787.
9. Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, Shackelford KA, Tsoi D, Kievlan DR, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*. janv 2020;395(10219):200-11.
10. Goto M, Al-Hasan MN. Overall burden of bloodstream infection and nosocomial bloodstream infection in North America and Europe. *Clin Microbiol Infect*. juin 2013;19(6):501-9.
11. Fleischmann C, Scherag A, Adhikari NKJ, Hartog CS, Tsaganos T, Schlattmann P, et al. Assessment of Global Incidence and Mortality of Hospital-treated Sepsis. Current Estimates and Limitations. *Am J Respir Crit Care Med*. févr 2016;193(3):259-72.
12. Rowe TA, McKoy JM. Sepsis in Older Adults. *Infect Dis Clin North Am*. déc 2017;31(4):731-42.
13. Emr BM, Alcamo AM, Carcillo JA, Aneja RK, Mollen KP. Pediatric Sepsis Update: How Are Children Different? *Surg Infect*. févr 2018;19(2):176-83.
14. institut Pasteur. SEPSIS / SEPTICÉMIE [Internet]. 2018. Disponible sur: <https://www.pasteur.fr/fr/centre-medical/fiches-maladies/sepsis-septicemie#epidmiologie>
15. Quenot J-P, Binquet C, Kara F, Martinet O, Ganster F, Navellou J-C, et al. The epidemiology of septic shock in French intensive care units: the prospective multicenter cohort EPISS study. *Crit Care*. 2013;17(2):R65.
16. Quenot JP, Pavon A, Fournel I, Barbar SD, Bruyère R. Le choc septique de l'adulte en France : vingt ans de données épidémiologiques. *Réanimation*. mai 2015;24(3):303-9.

17. Infections associées aux soins, résistance aux antibiotiques et consommation d'antibiotiques : données des réseaux de surveillance Raisin. Saint-Maurice : Santé Publique France ; 2018. 14 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr [Internet]. [cité 22 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/infections-associees-aux-soins/documents/rapport-synthese/infections-associees-aux-soins-resistance-aux-antibiotiques-et-consommation-d-antibiotiques-donnees-des-reseaux-de-surveillance-raisin>
18. Kett DH, Azoulay E, Echeverria PM, Vincent J-L. *Candida* bloodstream infections in intensive care units: Analysis of the extended prevalence of infection in intensive care unit study*. Crit Care Med. avr 2011;39(4):665-70.
19. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, mai-juin 2017. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019. 270 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr.
20. Daniau C, Berger-Carbonne A, et les CPIas. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, mai-juin 2017 : synthèse régionale des résultats. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019. 110 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr [Internet]. [cité 22 févr 2020]. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/infections-associees-aux-soins/documents/enquetes-etudes/enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante-mai-juin-2017-synthese>
21. Lamy B, Sundqvist M, Idelevich EA, ESCMID Study Group for Bloodstream Infections, Endocarditis and Sepsis (ESGBIES). Bloodstream infections - Standard and progress in pathogen diagnostics. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. févr 2020;26(2):142-50.
22. Association française des enseignants de parasitologie. Parasitoses et mycoses des régions tempérées et tropicales. 2019.
23. Adrie C, Alberti C, Chaix-Couturier C, Azoulay É, de Lassence A, Cohen Y, et al. Epidemiology and economic evaluation of severe sepsis in France: age, severity, infection site, and place of acquisition (community, hospital, or intensive care unit) as determinants of workload and cost. J Crit Care. mars 2005;20(1):46-58.
24. Paoli CJ, Reynolds MA, Sinha M, Gitlin M, Crouser E. Epidemiology and Costs of Sepsis in the United States—An Analysis Based on Timing of Diagnosis and Severity Level*: Crit Care Med. déc 2018;46(12):1889-97.
25. Judd WR, Stephens DM, Kennedy CA. Clinical and Economic Impact of a Quality Improvement Initiative to Enhance Early Recognition and Treatment of Sepsis. Ann Pharmacother. oct 2014;48(10):1269-75.
26. Patel TS, Kaakeh R, Nagel JL, Newton DW, Stevenson JG. Cost Analysis of Implementing Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Plus Real-Time Antimicrobial Stewardship Intervention for Bloodstream Infections. Bourbeau P, éditeur. J Clin Microbiol. janv 2017;55(1):60-7.
27. Arefian H, Heublein S, Scherag A, Brunkhorst FM, Younis MZ, Moerer O, et al. Hospital-related cost of sepsis: A systematic review. J Infect. févr 2017;74(2):107-17.
28. Zacharioudakis IM, Zervou FN, Shehadeh F, Mylonakis E. Cost-effectiveness of molecular diagnostic assays for the therapy of severe sepsis and septic shock in the emergency department. Lazzeri C, éditeur. PLOS ONE. 24 mai 2019;14(5):e0217508.
29. Pliakos EE, Andreatos N, Shehadeh F, Ziakas PD, Mylonakis E. The Cost-Effectiveness of Rapid Diagnostic Testing for the Diagnosis of Bloodstream Infections with or without Antimicrobial Stewardship. Clin Microbiol Rev. 30 mai 2018;31(3):e00095-17, /cmr/31/3/e00095-17.atom.

30. Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, Levy MM, Antonelli M, Ferrer R, et al. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock: 2016. *Intensive Care Med.* mars 2017;43(3):304-77.
31. Stranieri I, Kanunfre KA, Rodrigues JC, Yamamoto L, Nadaf MIV, Palmeira P, et al. Assessment and comparison of bacterial load levels determined by quantitative amplifications in blood culture-positive and negative neonatal sepsis. *Rev Inst Med Trop São Paulo [Internet].* 25 oct 2018 [cité 6 avr 2020];60(0). Disponible sur: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0036-46652018005000235&lng=en&lng=en
32. Yagupsky P, Nolte FS. Quantitative aspects of septicemia. *Clin Microbiol Rev.* juill 1990;3(3):269-79.
33. Zboromyrska Y, Cillóniz C, Cobos-Trigueros N, Almela M, Hurtado JC, Vergara A, et al. Evaluation of the Magicplex™ Sepsis Real-Time Test for the Rapid Diagnosis of Bloodstream Infections in Adults. *Front Cell Infect Microbiol.* 12 mars 2019;9:56.
34. Xiao Y, Shen X, Zhao Q-F, Yao Y-H, Yang T-C, Niu J-J. Evaluation of Real-Time PCR Coupled With Multiplex Probe Melting Curve Analysis for Pathogen Detection in Patients With Suspected Bloodstream Infections. *Front Cell Infect Microbiol.* 22 oct 2019;9:361.
35. T2Bacteria Panel [Internet]. T2 Biosystems. [cité 14 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.t2biosystems.com/products-technology/t2bacteria-panel/>
36. Flacons BD BACTEC™ [Internet]. Disponible sur: <https://www.bd.com/scripts/fr/ds/productsdrilldown.asp?CatID=413&SubID=1669&siteID=20088&d=sepsis&s=fr%2Fds&sTitle=&metaTitle=4.1+Solutions+automatis%C3%A9es+pour+les+h%C3%A9mocolture&dc=fr%2Fds&dcTitle=France>
37. Lee A, Mirrett S, Reller LB, Weinstein MP. Detection of Bloodstream Infections in Adults: How Many Blood Cultures Are Needed? *J Clin Microbiol.* 1 nov 2007;45(11):3546-8.
38. Bourbeau PP, Pohlman JK. Three Days of Incubation May Be Sufficient for Routine Blood Cultures with BacT/Alert FAN Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 1 juin 2001;39(6):2079-82.
39. Krisanapan P, Chaiwarith R. Time to blood cultures positivity of microorganisms using a continuous-monitoring automated blood cultures system. *Asian Biomed.* 19 déc 2019;13(2):61-9.
40. Lambregts MMC, Bernards AT, van der Beek MT, Visser LG, de Boer MG. Time to positivity of blood cultures supports early re-evaluation of empiric broad-spectrum antimicrobial therapy. *Golebiewska J, éditeur. PLOS ONE.* 2 janv 2019;14(1):e0208819.
41. BACTEC Mycosis IC/F Culture Vials Selective Medium for Yeast and Fungi in a Plastic Vial [Internet]. 2019. Disponible sur: <https://legacy.bd.com/resource.aspx?IDX=36319>
42. van Veen SQ, Claas ECJ, Kuijper EJ. High-Throughput Identification of Bacteria and Yeast by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Conventional Medical Microbiology Laboratories. *J Clin Microbiol.* mars 2010;48(3):900-7.
43. Dingle TC, Butler-Wu SM. MALDI-TOF Mass Spectrometry for Microorganism Identification. *Clin Lab Med.* sept 2013;33(3):589-609.
44. Altun O, Botero-Kleiven S, Carlsson S, Ullberg M, Özenci V. Rapid identification of bacteria from positive blood culture bottles by MALDI-TOF MS following short-term incubation on solid media. *J Med Microbiol.* 1 nov 2015;64(11):1346-52.
45. Curtoni A, Cipriani R, Marra ES, Barbui AM, Cavallo R, Costa C. Rapid Identification of Microorganisms from Positive Blood Culture by MALDI-TOF MS After Short-Term Incubation on Solid Medium. *Curr Microbiol.* janv 2017;74(1):97-102.

46. Perez KK, Olsen RJ, Musick WL, Cernoch PL, Davis JR, Peterson LE, et al. Integrating rapid diagnostics and antimicrobial stewardship improves outcomes in patients with antibiotic-resistant Gram-negative bacteremia. *J Infect.* sept 2014;69(3):216-25.
47. CASFM2019_V2.0_MAI.pdf [Internet]. [cité 8 avr 2020]. Disponible sur: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/05/CASFM2019_V2.0_MAI.pdf
48. Cédric Paquin. Antibiogramme direct sur flacon d'hémoculture positif : mise au point et intérêt en thérapeutique. *Sciences pharmaceutiques.* 2016. (dumas-01495351). UFR de Pharmacie de Rouen; 2016.
49. EUCAST: Clinical breakpoints for antifungals [Internet]. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.eucast.org/astoffungi/clinicalbreakpointsforantifungals/>
50. Clinical & Laboratory Standards Institute: CLSI Guidelines [Internet]. Clinical & Laboratory Standards Institute. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://clsi.org/>
51. Leekha S, Terrell CL, Edson RS. General Principles of Antimicrobial Therapy. *Mayo Clin Proc.* févr 2011;86(2):156-67.
52. Hughes SJ, Moore LS. Antimicrobial stewardship. *Br J Hosp Med.* 2 mars 2019;80(3):C42-5.
53. Rice LB. Antimicrobial Stewardship and Antimicrobial Resistance. *Med Clin North Am.* sept 2018;102(5):805-18.
54. Naylor NR, Zhu N, Hulscher M, Holmes A, Ahmad R, Robotham JV. Is antimicrobial stewardship cost-effective? A narrative review of the evidence. *Clin Microbiol Infect.* nov 2017;23(11):806-11.
55. Dellit TH, Owens RC, McGowan JE, Gerding DN, Weinstein RA, Burke JP, et al. Infectious Diseases Society of America and the Society for Healthcare Epidemiology of America Guidelines for Developing an Institutional Program to Enhance Antimicrobial Stewardship. *Clin Infect Dis.* 15 janv 2007;44(2):159-77.
56. Ruiz-Ramos J, Frassetto J, Romá E, Poveda-Andres JL, Salavert-Leti M, Castellanos A, et al. Cost-effectiveness analysis of implementing an antimicrobial stewardship program in critical care units. *J Med Econ.* 3 juin 2017;20(6):652-9.
57. Martín-Gutiérrez G, Peñalva G, Ruiz-Pérez de Pipaón M, Aguilar M, Gil-Navarro MV, Pérez-Blanco JL, et al. Efficacy and safety of a comprehensive educational antimicrobial stewardship program focused on antifungal use. *J Infect.* mars 2020;80(3):342-9.
58. Álvarez-Lerma F, Grau S, Echeverría-Esnal D, Martínez-Alonso M, Gracia-Arnillas MP, Horcajada JP, et al. A Before-and-After Study of the Effectiveness of an Antimicrobial Stewardship Program in Critical Care. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. avr 2018 [cité 9 sept 2021];62(4). Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/AAC.01825-17>
59. Neels AJ, Bloch AE, Gwini SM, Athan E. The effectiveness of a simple antimicrobial stewardship intervention in general practice in Australia: a pilot study. *BMC Infect Dis.* déc 2020;20(1):586.
60. Feazel LM, Malhotra A, Perencevich EN, Kaboli P, Diekema DJ, Schweizer ML. Effect of antibiotic stewardship programmes on *Clostridium difficile* incidence: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 1 juill 2014;69(7):1748-54.
61. Sawyer RG, Claridge JA, Nathens AB, Rotstein OD, Duane TM, Evans HL, et al. Trial of Short-Course Antimicrobial Therapy for Intraabdominal Infection. *N Engl J Med.* 21 mai 2015;372(21):1996-2005.
62. Eliakim-Raz N, Yahav D, Paul M, Leibovici L. Duration of antibiotic treatment for acute pyelonephritis and septic urinary tract infection— 7 days or less versus longer treatment: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *J Antimicrob Chemother.* oct 2013;68(10):2183-91.

63. Havey TC, Fowler RA, Daneman N. Duration of antibiotic therapy for bacteremia: a systematic review and meta-analysis. *Crit Care*. 2011;15(6):R267.
64. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med*. juin 2006;34(6):1589-96.
65. Naucler P, Huttner A, van Werkhoven CH, Singer M, Tattévin P, Einav S, et al. Impact of time to antibiotic therapy on clinical outcome in patients with bacterial infections in the emergency department: implications for antimicrobial stewardship. *Clin Microbiol Infect*. févr 2020;S1198743X20301361.
66. Joo YM, Chae MK, Hwang SY, Jin S-C, Lee TR, Cha WC, et al. Impact of timely antibiotic administration on outcomes in patients with severe sepsis and septic shock in the emergency department. *Clin Exp Emerg Med*. 30 sept 2014;1(1):35-40.
67. Peltan ID, Brown SM, Bledsoe JR, Sorensen J, Samore MH, Allen TL, et al. ED Door-to-Antibiotic Time and Long-term Mortality in Sepsis. *Chest*. mai 2019;155(5):938-46.
68. Ko BS, Choi S-H, Kang GH, Shin TG, Kim K, Jo YH, et al. Time to Antibiotics and the Outcome of Patients with Septic Shock: A Propensity Score Analysis. *Am J Med*. oct 2019;S000293431930854X.
69. Martin-Loeches I, Antonelli M, Cuenca-Estrella M, Dimopoulos G, Einav S, De Waele JJ, et al. ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients. *Intensive Care Med*. juin 2019;45(6):789-805.
70. Pilly E, Épaulard O, Le Berre R, Chirouze C, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). *ECN.Pilly 2020: maladies infectieuses et tropicales : prépa. ECN, tous les items d'infectiologie*. 2019.
71. Prise en charge initiale des états septiques graves de l'adulte et de l'enfant. *Réanimation*. 19 janv 2007;16:S1-21.
72. Pilly E, Collège des universitaires de maladies infectieuses et tropicales (France). *Maladies infectieuses et tropicales: tous les items d'infectiologie*. Paris: Alinéa plus; 2019.
73. Stratégies de réduction de l'utilisation des antibiotiques à visée curative en réanimation (adulte et pédiatrique) - La SFAR [Internet]. Société Française d'Anesthésie et de Réanimation. 2015 [cité 12 janv 2021]. Disponible sur: <https://sfar.org/strategies-de-reduction-de-lutilisation-des-antibiotiques-a-visee-curative-en-reanimation-adulte-et-pediatrique/>
74. Aubron C, Lerolle N, Schwebel C, Terzi N, Collège des enseignants de médecine intensive - réanimation. *Médecine intensive, réanimation, urgences et défaillances viscérales aiguës*. 2018.
75. Pardo J, Klinker KP, Borgert SJ, Butler BM, Giglio PG, Rand KH. Clinical and economic impact of antimicrobial stewardship interventions with the FilmArray blood culture identification panel. *Diagn Microbiol Infect Dis*. févr 2016;84(2):159-64.
76. Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Infect Dis*. 1 janv 2017;64(1):15-23.
77. Cornely OA, Bassetti M, Calandra T, Garbino J, Kullberg BJ, Lortholary O, et al. ESCMID* guideline for the diagnosis and management of Candida diseases 2012: non-neutropenic adult patients. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis*. déc 2012;18 Suppl 7:19-37.
78. Jarlier V. Curbing Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus in 38 French Hospitals Through a 15-Year Institutional Control Program. *Arch Intern Med*. 22 mars 2010;170(6):552.
79. Johnson AP, Davies J, Guy R, Abernethy J, Sheridan E, Pearson A, et al. Mandatory surveillance of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) bacteraemia in England: the first 10 years. *J Antimicrob Chemother*. avr 2012;67(4):802-9.

80. Jehl F, Chomar M, Tankovic J, Gérard A, Schrenzel J, Gutmann L, et al. De l'antibiogramme à la prescription. Marcy-l'Étoile: BioMérieux; 2012.
81. CNR résistance aux antibiotiques - Bilans d'activité [Internet]. [cité 5 mai 2020]. Disponible sur: <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/bilans-dactivite.html>
82. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual Epidemiological Report 2019 [Internet]. European Centre for Disease Prevention and Control. 2020 [cité 12 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/surveillance-antimicrobial-resistance-europe-2019>
83. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. Kraft CS, éditeur. J Clin Microbiol. 29 août 2018;56(11):e01140-18, /jcm/56/11/e01140-18.atom.
84. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. mai 2012;18(5):432-8.
85. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Emerg Infect Dis. oct 2011;17(10):1791-8.
86. Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, Pascual A. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Rev. 14 févr 2018;31(2):e00079-17, /cmr/31/2/e00079-17.atom.
87. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, et al. Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. Clin Infect Dis. 3 avr 2018;66(8):1290-7.
88. Durante-Mangoni E, Andini R, Zampino R. Management of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections. Clin Microbiol Infect. août 2019;25(8):943-50.
89. Pfaller MA, Flamm RK, Duncan LR, Streit JM, Castanheira M, Sader HS. Antimicrobial activity of ceftobiprole and comparator agents when tested against contemporary Gram-positive and -negative organisms collected from Europe (2015). Diagn Microbiol Infect Dis. mai 2018;91(1):77-84.
90. Centre National de Référence des Staphylocoques - Bilans d'activité du CNR [Internet]. [cité 5 mai 2020]. Disponible sur: <http://cnr-staphylocoques.univ-lyon1.fr/webapp/website/website.html?id=2021394&pageId=129403>
91. Courvalin P. Vancomycin Resistance in Gram-Positive Cocci. Clin Infect Dis. 1 janv 2006;42(Supplement_1):S25-34.
92. Bryant S. Sabrina Bryant. Évaluation des performances microbiologiques et de l'impact pré-clinique potentiel de la PCR multiplexe ePlex-BCID® (GenMark Diagnostics) pour le diagnostic rapide des bactériémies et fongémies: Hemofast I. Médecine humaine et pathologie. 2019. dumas-02481807 [Internet]. Université Grenoble Alpes; 2019. Disponible sur: <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-02481807>
93. Bryant S, Almahmoud I, Pierre I, Bardet J, Touati S, Maubon D, et al. Evaluation of Microbiological Performance and the Potential Clinical Impact of the ePlex® Blood Culture Identification Panels for the Rapid Diagnosis of Bacteremia and Fungemia. Front Cell Infect Microbiol. 26 nov 2020;10:594951.
94. Ponderand L, Pavese P, Maubon D, Giraudon E, Girard T, Landelle C, et al. Evaluation of Rapid Sepsityper® protocol and specific MBT-Sepsityper module (Bruker Daltonics) for the rapid diagnosis of bacteremia and fungemia by MALDI-TOF-MS. Ann Clin Microbiol Antimicrob. déc 2020;19(1):60.
95. Schmitz JE, Tang Y-W. The GenMark ePlex®: another weapon in the syndromic arsenal for infection diagnosis. Future Microbiol. déc 2018;13(16):1697-708.
96. QIAstat-Dx assay menu [Internet]. ROW QIAGEN QIAstat-Dx. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://qiastat-dx.com/row/qiastat-dx-assay-menu/>

97. Blood Culture Identification (BCID) Panels [Internet]. GenMark. [cité 19 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.genmarkdx.com/solutions/panels/eplex-panels/blood-culture-identification-panels/>
98. Carroll KC, Reid JL, Thornberg A, Whitfield NN, Trainor D, Lewis S, et al. Clinical Performance of the Novel GenMark Dx ePlex® Blood Culture ID Gram-Positive Panel. *J Clin Microbiol.* 29 janv 2020;JCM.01730-19, jcm;JCM.01730-19v1.
99. CDC. Antibiotic-resistant Germs: New Threats [Internet]. Centers for Disease Control and Prevention. 2020 [cité 6 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>
100. Spivak ES, Hanson KE. *Candida auris*: an Emerging Fungal Pathogen. Kraft CS, éditeur. *J Clin Microbiol.* 22 nov 2017;56(2):e01588-17.
101. eSensor Technology [Internet]. GenMark. [cité 19 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.genmarkdx.com/solutions/technology/esensor/>
102. Electrowetting Technology [Internet]. GenMark. [cité 19 avr 2020]. Disponible sur: <https://www.genmarkdx.com/solutions/technology/electrowetting/>
103. BioFire FilmArray Pneumonia Panel plus [Internet]. bioMérieux France. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/biofire-filmarray-pneumonia-panel-plus>
104. BioFire Respiratory Panel 2.1 plus (RP2.1 plus) [Internet]. bioMérieux France. [cité 13 janv 2021]. Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/biofire-respiratory-panel-21-plus-rp21-plus>
105. NxTAG® Respiratory Pathogen Panel [Internet]. Luminex Corporation. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.luminexcorp.com/nxtag-respiratory-pathogen-panel/>
106. VERIGENE® Respiratory Pathogen Flex Test | Respiratory Infections [Internet]. Luminex Corporation. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.luminexcorp.com/respiratory-pathogens-flex-test/>
107. Respiratory Pathogen Panel [Internet]. GenMark. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.genmarkdx.com/solutions/panels/eplex-panels/respiratory-pathogen-panel/>
108. QIAGEN. QIAstat-Dx Ordering informations [Internet]. Disponible sur: <https://www.qiagen.com/de/products/diagnostics-and-clinical-research/infectious-disease/qiastat-dx-syndromic-testing/qiastat-dx/#orderinginformation>
109. FilmArray Gastrointestinal (GI) Panel [Internet]. bioMérieux France. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/filmarray-gastrointestinal-gi-panel>
110. Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Rand KH. A Gastrointestinal PCR Panel Improves Clinical Management and Lowers Health Care Costs. Loeffelholz MJ, éditeur. *J Clin Microbiol.* 1 nov 2017;56(1):e01457-17.
111. Luminex Corporation | VERIGENE Enteric Pathogens Test [Internet]. Luminex Corporation. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.luminexcorp.com/enteric-pathogens-test/>
112. Diagnosing GI infections with QIAstat-Dx [Internet]. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: https://go.qiagen.com/diagnosing-gastrointestinal-infections-with-QIAstat-Dx?cmpid=CM_ID_ID_QIAstatGIROW_0919_RD_other_QIAstatMicrosite
113. xTAG® Gastrointestinal Pathogen Panel (GPP) [Internet]. Luminex Corporation. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.luminexcorp.com/gastrointestinal-pathogen-panel/>
114. BD MAX™ Enteric Bacterial Panel [Internet]. BD Molecular Diagnostics. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://moleculardiagnosics.bd.com/syndromic-solutions/enteric-solutions/enteric-bacterial-panel/>

115. BD MAX™ Enteric Parasite Panel [Internet]. BD Molecular Diagnostics. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://moleculardiagnosics.bd.com/syndromic-solutions/enteric-solutions/enteric-parasite-panel/>
116. BD MAX™ Enteric Viral Panel [Internet]. BD Molecular Diagnostics. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://moleculardiagnosics.bd.com/syndromic-solutions/enteric-solutions/bd-max-evp/>
117. FilmArray ME Panel (Méningite-Encéphalite) [Internet]. bioMérieux France. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/filmarray-me-panel-meningite-encephalite>
118. 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. *J Pharm Pract.* févr 2019;32(1):36-40.
119. Luis Peñarrubia, Ester Sala, Gemma Pueyo, Yadaris Marquez, Ferran Fontdecaba, Melisa Rey, et al. Specificity analysis of the new QIAstat-Dx meningitis/encephalitis panel focused on the most prevalent central nervous system pathogens. 2019 avr 13; ECCMID 2019 Netherlands.
120. FilmArray BCID (Blood Culture IDentification) Panel - Panel d'identification pour hémocultures [Internet]. bioMérieux France. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.biomerieux.fr/diagnostic-clinique/filmarray-bcid-blood-culture-identification-panel-panel-didentification-pour>
121. Altun O, Almuhayawi M, Ullberg M, Ozenci V. Clinical Evaluation of the FilmArray Blood Culture Identification Panel in Identification of Bacteria and Yeasts from Positive Blood Culture Bottles. *J Clin Microbiol.* 1 déc 2013;51(12):4130-6.
122. BIOFIRE® BCID2 Panel [Internet]. Disponible sur: <https://www.biomerieux-diagnostics.com/biofire-bcid-panel>
123. VERIGENE® Bloodstream Infection Tests [Internet]. Luminex Corporation. [cité 1 mai 2020]. Disponible sur: <https://www.luminexcorp.com/bloodstream-infection-tests/>
124. Vos LM, Bruning AHL, Reitsma JB, Schuurman R, Riezebos-Brilman A, Hoepelman AIM, et al. Rapid Molecular Tests for *Influenza*, Respiratory Syncytial Virus, and Other Respiratory Viruses: A Systematic Review of Diagnostic Accuracy and Clinical Impact Studies. *Clin Infect Dis.* 13 sept 2019;69(7):1243-53.
125. Nijhuis RHT, Guerendiain D, Claas ECJ, Templeton KE. Comparison of ePlex Respiratory Pathogen Panel with Laboratory-Developed Real-Time PCR Assays for Detection of Respiratory Pathogens. *McAdam AJ, éditeur. J Clin Microbiol.* juin 2017;55(6):1938-45.
126. van Rijn AL, Nijhuis RHT, Bekker V, Groeneveld GH, Wessels E, Feltkamp MCW, et al. Clinical implications of rapid ePlex® Respiratory Pathogen Panel testing compared to laboratory-developed real-time PCR. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* mars 2018;37(3):571-7.
127. Weiss ZF, Cunha CB, Chambers AB, Carr AV, Rochat C, Raglow-Defranco M, et al. Opportunities Revealed for Antimicrobial Stewardship and Clinical Practice with Implementation of a Rapid Respiratory Multiplex Assay. *Miller MB, éditeur. J Clin Microbiol.* 14 août 2019;57(10):e00861-19, /jcm/57/10/JCM.00861-19.atom.
128. Poelman R, van der Meer J, van Leer-Buter C, Riezebos-Brilman A, Niesters HGM. Point-of-impact testing in the emergency department: Rapid diagnostics for respiratory viral infections. *J Clin Virol.* sept 2015;70:S48.
129. Huang RSP, Johnson CL, Pritchard L, Hepler R, Ton TT, Dunn JJ. Performance of the Verigene® enteric pathogens test, Biofire FilmArray™ gastrointestinal panel and Luminex xTAG® gastrointestinal pathogen panel for detection of common enteric pathogens. *Diagn Microbiol Infect Dis.* déc 2016;86(4):336-9.

130. Hannel I, Engsbro AL, Pareja J, Schneider UV, Lisby JG, Pružinec-Popović B, et al. Multicenter evaluation of the new QIAstat Gastrointestinal Panel for the rapid syndromic testing of acute gastroenteritis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. nov 2019;38(11):2103-12.
131. Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire® FilmArray® meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. mars 2020;26(3):281-90.
132. 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. Ledebor NA, éditeur. *J Clin Microbiol*. 7 févr 2018;56(4):e01927-17.
133. 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. Forbes BA, éditeur. *J Clin Microbiol*. sept 2016;54(9):2251-61.
134. 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 Microbiol*. mai 2018;13(6):617-29.
135. De Angelis G, Grossi A, Menchinelli G, Boccia S, Sanguinetti M, Posteraro B. Rapid molecular tests for detection of antimicrobial resistance determinants in Gram-negative organisms from positive blood cultures: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*. mars 2020;26(3):271-80.
136. Oberhettinger P, Zieger J, Autenrieth I, Marschal M, Peter S. Evaluation of two rapid molecular test systems to establish an algorithm for fast identification of bacterial pathogens from positive blood cultures. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol*. 4 févr 2020;
137. Kang C-M, Chen X-J, Chih C-C, Hsu C-C, Chen P-H, Lee T fen, et al. Rapid identification of bloodstream bacterial and fungal pathogens and their antibiotic resistance determinants from positively flagged blood cultures using the BioFire FilmArray blood culture identification panel. *J Microbiol Immunol Infect*. avr 2020;S1684118220300785.
138. Huang T-D, Melnik E, Bogaerts P, Evrard S, Glupczynski Y. Evaluation of the ePlex Blood Culture Identification Panels for Detection of Pathogens in Bloodstream Infections. Patel R, éditeur. *J Clin Microbiol*. 28 nov 2018;57(2):e01597-18, /jcm/57/2/JCM.01597-18.atom.
139. Krifors A, Rådberg G, Golbob S, Omar Z, Svensson C, Heimer D, et al. The clinical impact of implementing GenMark ePlex blood culture panels for around-the-clock blood culture identification; a prospective observational study. *Infect Dis*. 2 oct 2020;52(10):705-12.
140. Zhang SX, Carroll KC, Lewis S, Totten M, Mead P, Samuel L, et al. Multi-center Evaluation of a PCR-based Digital Microfluidics and Electrochemical Detection System for the Rapid Identification of 15 Fungal Pathogens Directly from Positive Blood Cultures. *J Clin Microbiol*. 19 févr 2020;JCM.02096-19, jcm;JCM.02096-19v1.
141. Nguyen DT, Yeh E, Perry S, Luo RF, Pinsky BA, Lee BP, et al. Real-Time PCR Testing for *mecA* Reduces Vancomycin Usage and Length of Hospitalization for Patients Infected with Methicillin-Sensitive Staphylococci. *J Clin Microbiol*. mars 2010;48(3):785-90.
142. Banerjee R, Teng CB, Cunningham SA, Ihde SM, Steckelberg JM, Moriarty JP, et al. Randomized Trial of Rapid Multiplex Polymerase Chain Reaction–Based Blood Culture Identification and Susceptibility Testing. *Clin Infect Dis*. 1 oct 2015;61(7):1071-80.
143. Timsit J-F, Soubirou J-F, Voiriot G, Chemam S, Neuville M, Mourvillier B, et al. Treatment of bloodstream infections in ICUs. *BMC Infect Dis*. déc 2014;14(1):489.



Serment de Galien



« Je jure en présence des Maîtres de la Faculté, des Conseillers de l'Ordre des Pharmaciens et de mes condisciples :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque ».

Arthur DEVÈS

ÉVALUATION MÉDICO-ÉCONOMIQUE D'UNE PCR MULTIPLEXE POUR LE DIAGNOSTIC RAPIDE DES BACTÉRIÉMIES ET FONGÉMIES

RÉSUMÉ :

Les bactériémies et fongémies restent des pathologies à forte mortalité, malgré des progrès récents. Un des axes d'amélioration est la réduction du délai diagnostique restant parfois élevé, compte-tenu des nécessités de repiquage sur milieu gélosé des flacons d'hémoculture positifs. L'étude clinique HEMOFAST réalisée au CHUGA et présentée ici, se propose d'évaluer l'impact médico-économique d'une nouvelle génération de PCR multiplexe syndromique, la PCR ePlex® développée par GenMark et utilisable directement sur flacon d'hémoculture positif, après réalisation d'un examen direct. Cette PCR comporte plusieurs panels, réalisés en fonction du résultat de l'examen direct, qui permettent d'identifier, en 1h30, 56 espèces ou genres de bactéries et micromycètes, ainsi que 10 gènes de résistance.

Le critère de jugement principal de l'étude est le délai de mise sous traitement optimisé inférieur ou égal à douze heures (T12h), comparé entre les 2 bras de l'étude : un bras recevant la prise en charge (PEC) « habituelle » en vigueur dans notre centre et un bras bénéficiant en sus du test rapide ePlex.

Les résultats de l'analyse intermédiaire présentés dans cette thèse montrent un apport significatif de ce test rapide, puisqu'une antibiothérapie optimisée était atteinte à T12h pour 63,55% des patients du groupe PEC « habituelle » contre 86,67% pour le groupe avec réalisation de la PCR. Cette différence est statistiquement significative ($p < 0,001$), ce qui a conduit à l'arrêt anticipé de l'étude.

De surcroît, sur les 106 épisodes de bactériémies ou fongémies étudiés durant le déroulement de l'étude, la PCR multiplexe ePlex a permis une identification de l'espèce présente et une détection fiable des déterminants de résistance pour 92 d'entre eux, soit une proportion de 87%. Aucun résultat faux-positif n'ayant été produit, la spécificité pour toutes les cibles incluses dans ces panels est de 100%.

Ces résultats encourageants seront complétés par les résultats définitifs lors de l'analyse finale de l'étude.

MOTS-CLÉS : sepsis, bactériémie, fongémie, HEMOFAST, ePlex

SPECIALITÉ : Biologie médicale