

Les tests d'amplification en chaîne par polymérase (PCR) multiplexes et les panels syndromiques



Chargement d'un appareil de PCR en temps réel.

Jean-Winoc Decousser

Équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) – Hôpitaux universitaires Henri-Mondor – Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) – Créteil – France

✉ **Pr Jean-Winoc Decousser** – EOH – Hôpitaux universitaires Henri-Mondor – AP-HP – 1 rue Gustave Eiffel – 94000 Créteil – France – E-mail : jean-winoc.decousser@aphp.fr

Cette nouvelle rubrique a pour objectif de partager avec la communauté des hygiénistes de tous horizons des nouveautés technologiques arrivant au laboratoire ou de faire un bilan sur des tests bien établis qui ont un impact particulier sur leur exercice quotidien. Ces nouveaux outils peuvent être les meilleurs alliés des hygiénistes, à condition d'en connaître non seulement les qualités, mais surtout les défauts.

Pour ce premier volet, nous allons aborder les tests PCR (ou *Polymerase chain reaction*¹) réalisables directement sur un prélèvement clinique et ciblant différents pathogènes ou marqueurs en même temps. Ils sont regroupés sous le nom de PCR multiplexes : différentes cibles génétiques sont recherchées, amplifiées et détectées simultanément. Les micro-organismes recherchés en même temps peuvent être des bactéries, des virus, ou encore des

champignons ou des parasites responsables d'un même syndrome (c'est-à-dire d'un ensemble de symptômes). Ces tests proposent des panels syndromiques d'amorces ciblant des agents infectieux (parfois associés à des gènes de résistance aux antimicrobiens ou à des gènes de virulence) à l'origine d'une même pathologie [1]. Nous nous intéresserons dans cet article aux tests entièrement automatisés qui ont contribué à démocratiser cette technique dans de nombreux laboratoires. L'épidémie de Covid-19² a significativement renforcé la diffusion de ces tests dans les laboratoires de biologie, qui se sont largement équipés d'appareils permettant ce genre d'approche. Nous excluons de cet article les tests PCR ne ciblant qu'un seul pathogène, même si plusieurs cibles sont incluses dans le réactif (par exemple : recherche des toxines de *Clostridium difficile*, recherche de *Staphylococcus aureus* et du gène de résistance à la méticilline). La quasi-totalité des réactifs de PCR commercialisés contiennent d'ailleurs un contrôle interne

1- Réaction en chaîne par polymérase.

2- *Coronavirus disease 2019*, maladie à coronavirus 2019.

d'amplification qui fait d'eux des PCR multiplexes par définition. Nous nous intéresserons néanmoins aux PCR multiplexes de détection des bactéries hautement résistantes et émergentes (BHRe), domaine d'intérêt particulier pour les hygiénistes.

Description de l'offre disponible

Les PCR multiplexes, c'est-à-dire recherchant plusieurs cibles en même temps dans un même prélèvement avec un seul test, existent depuis plusieurs dizaines d'années. C'est leur automatisation et leur simplification à l'extrême qui ont constitué un tournant pour le microbiologiste, le clinicien et l'hygiéniste. De plus, les approches syndromiques ont transgressé les séparations entre les différentes spécialités de la microbiologie et les laboratoires correspondants. Les analyses sont réalisées sur des plateformes de plus en plus compactes réalisant de façon automatisée les trois étapes des tests PCR (ou apparentés) : extraction, amplification et révélation de l'ADN³ ou de l'ARN⁴ des micro-organismes recherchés. Ces tests peuvent être réalisés par un personnel formé a minima n'ayant aucune spécialisation en biologie moléculaire, ce qui permet leur réalisation sur des plateaux techniques polyvalents fonctionnant 24 heures sur 24 et 7 jours sur 7, ou dans des structures plus petites de type « *point of care*⁵ » éloignées géographiquement des plateaux techniques. Leur délocalisation à l'intérieur même des services cliniques et leur utilisation par du personnel soignant n'ayant pas de formation de laboratoire sont techniquement possibles. En effet, en plus de leur miniaturisation et de leur automatisation, ces tests sont associés à des logiciels qui donnent des résultats validés techniquement et interprétés (présence ou absence de la cible), directement utilisables par les cliniciens. La biologie délocalisée, initialement limitée à des tests simples (biochimie d'urgence, tests immunologiques basiques, voire test génomique ciblant un seul pathogène), prend ainsi une nouvelle dimension. Les panels syndromiques concernent par exemple les infections neuro-méningées, les infections respiratoires hautes ou basses, les infections gastro-intestinales, les infections sexuellement transmissibles, les infections digestives et intra-abdominales, les infections ostéo-articulaires... (**Tableau I**). Des panels sont également commercialisés pour être utilisés sur des flacons d'hémoculture identifiés comme positifs par un système automatisé : ils ciblent des bactéries, des levures et des gènes de résistance aux antibiotiques. Comme évoqué précédemment, nous incluons à cette liste les PCR multiplexes recherchant plusieurs gènes de résistance dans un prélèvement de selles, utiles pour le dépistage des porteurs de BHRe. Les résultats sont obtenus très rapidement, en une heure environ.

Performances analytiques et limites de l'approche

Les performances analytiques, c'est-à-dire la capacité à détecter la présence de la cible (sensibilité) et uniquement cette cible (spécificité), varient selon les troupes commerciales et, à l'intérieur d'un panel, en fonction du micro-organisme recherché. Pour simplifier, un défaut de sensibilité entraîne des résultats faussement négatifs et une mauvaise valeur prédictive négative du test (probabilité qu'en effet la cible ne soit pas présente quand le test est rendu « négatif »). Un défaut de spécificité entraîne des résultats faussement positifs et une mauvaise valeur prédictive positive du test (probabilité qu'en effet la cible soit bien présente quand le test est rendu « positif »).

Sensibilité

La sensibilité de ces panels est toujours inférieure à des PCR simples ne recherchant qu'une cible à la fois. Ainsi, pour le panel syndromique « méningites », il a été établi un manque de sensibilité pour la détection des virus herpétiques à l'origine de résultats faussement négatifs [2]. Il en est de même pour la levure *Cryptococcus neoformans* [3]. Concernant la détection des bactéries multirésistantes, la technique dite « de référence » est la culture ; la sensibilité des tests PCR par rapport aux techniques de culture dépend néanmoins du type de culture réalisé. Il est important de souligner que, dans la quasi-totalité des laboratoires, la sensibilité d'un dépistage par culture réalisé en routine, c'est-à-dire ensemencé directement sur une gélose sélective sans bouillon d'enrichissement, n'est que de 80% environ par rapport à celle obtenue avec une étape supplémentaire d'enrichissement, qui allonge néanmoins le délai de résultat de 24 heures [4]. En fonction de la technique de référence utilisée (culture avec ou sans enrichissement), les tests PCR peuvent avoir une sensibilité égale voire supérieure à la culture (seuil de détection variant de 10 à 1 000 unités formant colonie par millilitre) [5]. Comme pour toutes les techniques de PCR ciblées, « on ne trouve que ce que l'on cherche ». Cela est particulièrement important lorsque le nombre de micro-organismes ou de gènes de résistance est potentiellement très élevé. Ainsi, contrairement aux gènes responsables de la résistance aux bêta-lactamines chez *S. aureus* (*mecA* et exceptionnellement *mecC*) et à la vancomycine chez les entérocoques (*vanA* et *vanB*), les gènes codant les bêta-lactamases sont extrêmement nombreux (plus de 7 000⁶). Les industriels doivent donc faire des choix dont la pertinence varie en fonction de l'adéquation à l'épidémiologie locale : ainsi la présence de la carbapénémase KPC⁷ que l'on retrouve dans de nombreux kits est due à sa forte prévalence en Amérique du Nord alors qu'elle est très peu fréquente en France. De même, la formulation initiale d'une des principales troupes de détection des carbapénémases ne comprenait pas OXA-48⁸ car cette

3- Acide désoxyribonucléique.

4- Acide ribonucléique.

5- *Point of care test* : test sur le lieu de soin.

6- Voir : <http://www.bldb.eu>

7- *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase.

8- Oxacillinase 48.



© Adobe stock - sinhyu

Centrifugation d'un échantillon biologique avant analyse.

enzyme est très peu fréquente en Amérique du Nord [5]. De plus, quelques mutations situées sur les sites de fixation (hybridation) des amorces permettant l'amplification des gènes cibles suffisent à rendre le test faussement négatif. Ce fut le cas pour le variant OXA-181 des carbapénémases de la famille des OXA-48, non détectées par les amorces initialement choisies par l'industriel, qui a dû mettre à jour la composition du réactif [5]. La qualité du prélèvement est essentielle aux performances de ces tests. Pour des raisons de simplification des protocoles d'extraction du matériel génétique, les milieux de transport liquides sont privilégiés (par exemple les selles). Cela limite l'évaluation de la qualité du prélèvement de départ : selles diarrhéiques, écouvillon rectal teinté... Concernant les infections pulmonaires, une part importante des prélèvements respiratoires sont réalisés par les cliniciens « à l'aveugle » sans que l'on soit sûr de prélever l'échantillon sur le site anatomique précis de l'infection. Parfois les techniques deviennent trop sensibles : la mise en évidence de la toxine de *Clostridium difficile* par PCR seule ou au sein d'un panel syndromique a artificiellement fait augmenter l'incidence des diarrhées dues à cette bactérie en détectant de simples porteurs. Cette approche ne doit plus être utilisée en première intention [6].

Spécificité

La spécificité des tests n'est pas non plus parfaite. Par exemple, des faux positifs du panel méningé ont été mis en évidence pour le pneumocoque [7]. La contamination du prélèvement par l'opérateur pouvant être porteur de ces micro-organismes a été évoquée. Concernant la détection de certaines bêta-lactamases, il est parfois difficile de différencier, au sein des milliers de types différents, celles d'intérêt comme les carbapénémases des autres à spectre d'activité plus restreint [5]. De plus, la

mise en évidence d'un de ces gènes ne signifie pas forcément la présence d'une entérobactérie productrice de carbapénémases : il peut être présent dans une souche de *Pseudomonas* sp. ou d'*Acinetobacter* sp. qui ne sont pas à proprement parler des BHRé [5]. Cela est encore plus vrai pour les résultats positifs des recherches du gène *vanB* dans les selles par PCR qui ne sont associés à une culture positive pour un entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) que dans moins de 3% des cas ; pour le gène *vanA*, un ERV est retrouvé en culture dans les deux tiers des cas lorsqu'une PCR positive a été trouvée [8]. Des gènes *vanB* non associés à des ERV sont assez fréquents dans des bactéries du microbiote digestif. Hormis dans une situation épidémique à ERV *vanB*, une PCR positive au gène *vanB* dans un dépistage rectal n'a donc aucune signification et doit être systématiquement confirmée par une culture. Concernant les prélèvements respiratoires, il faut distinguer les panels respiratoires « hauts » des panels respiratoires « bas ». Les premiers détectent de façon qualitative à partir d'un prélèvement nasopharyngé la présence de bactéries le plus souvent considérées comme des pathogènes stricts (par exemple *Bordetella pertussis*, bactérie responsable de la coqueluche), mais surtout celle de virus. L'interprétation est simple et purement qualitative (présence ou absence). Les panels de PCR multiplexes « bas » recherchent en plus à partir de prélèvements respiratoires plus profonds des bactéries dont certaines sont potentiellement commensales, c'est-à-dire présentes naturellement (**Tableau I**). Le résultat rendu est quantitatif à partir d'un nombre de copies de génome par millilitre. Les critères d'interprétation historiques sont basés quant à eux sur la culture quantitative [9]. Même si les deux types de résultats semblent concordants, il faut rester prudent.

Tableau I – Exemples de tests génomiques multiplexes commercialisés et disponibles sous une forme automatisée.

| Pathologie ciblée | Cibles | Prélèvement(s) utilisé(s) | Avantage(s) | Inconvénient(s) | Référence |
|-----------------------|--|--|--|---|-----------|
| Syndrome méningé | Bactéries, virus, levures : <ul style="list-style-type: none"> • <i>Escherichia coli</i> K1, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Listeria monocytogenes</i>, <i>Neisseria meningitidis</i>, <i>Streptococcus agalactiae</i>, <i>Streptococcus pneumoniae</i> • Cytomégalovirus, entérovirus, virus herpès simplex 1 et 2, herpès virus humain 6, paréchéovirus humain, virus varicelle-zona • <i>Cryptococcus neoformans</i>, <i>Cryptococcus gattii</i> | Liquide cérébro-spinal | Couvrent les principaux virus et bactéries responsables de méningites et encéphalites | Gravité de la maladie qui justifie un traitement empirique même en cas de résultat négatif Manque de sensibilité pour certaines cibles. | [7] |
| Syndrome respiratoire | Bactéries, virus, champignon, gènes de résistance : <ul style="list-style-type: none"> • <i>Bordetella pertussis</i> et <i>parapertussis</i>, <i>Chlamydia pneumoniae</i>, <i>Mycoplasma pneumoniae</i> • Adénovirus, coronavirus HKU1, NL63, 229E, OC43, SARS-CoV-2, MERS-CoV, métapneumovirus, rhinovirus, entérovirus, grippe A, A/H1, A/H1-2009, A/H3, B, virus parainfluenza 1 à 4, virus respiratoire syncytial • <i>Acinetobacter calcoaceticus</i>, <i>A. baumannii</i> complex, <i>Enterobacter cloacae</i> complex, <i>Escherichia coli</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Klebsiella aerogenes</i>, <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Legionella pneumophila</i> group, <i>Moraxella catarrhalis</i>, <i>Proteus</i> spp., <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>Citrobacter freundii</i>, <i>Klebsiella variicola</i>, <i>Moraxella catarrhalis</i>, <i>Morganella morganii</i>, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> • <i>Pneumocystis jirovecii</i> • <i>blaKPC</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaNDM</i>, <i>blaOXA-23</i>, <i>blaOXA-24/40</i>, <i>blaOXA-48</i>, <i>blaOXA-58</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaCTXM</i>, <i>ermB</i>, <i>mecA/C</i>, <i>blaTEM</i>, <i>blaSHV</i>, <i>sul1</i> | Prélèvement nasopharyngé Crachat, lavage broncho-alvéolaire, aspiration trachéale | Couvrent les principaux virus responsables d'infections respiratoires et les bactéries difficiles à cultiver Semi-quantification de certains pathogènes commensaux | L'interprétation de la présence de certains virus (rhinovirus, coronavirus saisonniers...) pour justifier des précautions complémentaires ou une chambre individuelle n'est pas consensuelle <ul style="list-style-type: none"> • Interprétation difficile de certains résultats (colonisation versus infection) • Détection non systématique de certaines espèces par tous les panels (p. ex. <i>S. maltophilia</i>) • Impossibilité d'associer la présence de bactéries à celle de gènes de résistance • Non-exhaustivité de la détection des gènes de résistance • Impossibilité pour certaines bêta-lactamases de savoir si elles sont à spectre restreint (pénicillinase) ou à spectre élargi (BLSE) : <i>blaTEM</i>, <i>blaSHV</i>. | [9,16,17] |
| Bactériémie, fongémie | Bactéries, levures, gènes de résistance : <ul style="list-style-type: none"> • <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex, <i>Bacteroides fragilis</i>, <i>Enterobacter cloacae</i> complex, <i>Escherichia coli</i>, <i>Klebsiella aerogenes</i>, <i>Klebsiella oxytoca</i>, <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Proteus</i> spp., <i>Salmonella</i> spp., <i>Serratia marcescens</i>, <i>Haemophilus influenzae</i>, <i>Neisseria meningitidis</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> • <i>Candida albicans</i>, <i>C. auris</i>, <i>C. glabrata</i>, <i>C. krusei</i>, <i>C. parapsilosis</i>, <i>C. tropicalis</i>, <i>Cryptococcus neoformans</i>, <i>C. gattii</i> • <i>mcr-1</i>, <i>blaKPC</i>, <i>blaIMP</i>, <i>blaNDM</i>, <i>blaOXA-48</i>, <i>blaVIM</i>, <i>blaCTX-M</i>, <i>vanA/B</i> | Flacon d'hémoculture positif | <ul style="list-style-type: none"> • Micro-organismes en culture abondante : pas de problème de sensibilité de détection • L'interprétation de la présence de gènes de résistance est facilitée par le caractère le plus souvent mono-microbien des cultures | Panel de gènes de résistances insuffisant, inadapté à l'épidémiologie locale | [10] |

| Pathologie ciblée | Cibles | Prélèvement(s) utilisé(s) | Avantage(s) | Inconvénient(s) | Référence |
|---|---|---|--|---|-----------|
| Syndrome diarrhéique | Bactéries, virus, parasites : • <i>Campylobacter (jejuni, coli et upsaliensis)</i> , <i>Clostridium difficile</i> (toxines A et B), <i>Plesiomonas shigelloides</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Vibrio (parahaemolyticus, vulnificus et cholerae)</i> , <i>Vibrio cholerae</i> , <i>E. coli</i> diarrhéogène, <i>E. coli Shigella</i> • Adénovirus F40 et F41, astrovirus, norovirus GI et GII, rotavirus A, sapovirus (I à V) • <i>Cryptosporidium</i> , <i>Cyclospora cayetanensis</i> , <i>Entamoeba histolytica</i> , <i>Giardia lamblia</i> | Écouvillonnage rectal / prélèvement de selle sur milieu de transport | • Résultat plus rapide et plus souvent positif que la coproculture • Certains virus et bactéries ne sont jamais recherchés en routine | • Difficulté d'évaluer la qualité du prélèvement • Difficulté d'interprétation de certains résultats (<i>Escherichia coli</i> producteur de toxines...) | [18] |
| Infection ostéo-articulaire | Bactéries, levures, gènes de résistance : • <i>Anaerococcus prevotii/vaginalis</i> , <i>Clostridium perfringens</i> , <i>Cutibacterium avidum/granulosum</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>E. faecium</i> , <i>Finnegoldia magna</i> , <i>Parvimonas micra</i> , <i>Peptoniphilus</i> , <i>Peptostreptococcus anaerobius</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>Streptococcus spp.</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. pneumoniae</i> , <i>S. pyogenes</i> , <i>Bacteroides fragilis</i> , <i>Citrobacter</i> , <i>Enterobacter cloacae complex</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Haemophilus influenza</i> , <i>Kingella kingae</i> , <i>Klebsiella aerogenes</i> , <i>K. pneumoniae group</i> , <i>Morganella morganii</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Proteus spp.</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Salmonella spp.</i> , <i>Serratia marcescens</i> • <i>Candida albicans</i> • <i>blaKPC</i> , <i>blaIMP</i> , <i>blaNDM</i> , <i>BlaOXA-48</i> , <i>blaVIM</i> , <i>blaCTX-M</i> , <i>vanA/B</i> , <i>mecA/C</i> | Liquide articulaire | Les PCR peuvent rester positives même en cas de traitement antibiotique intercurrent | • En raison de la gravité de l'infection et de la durée du traitement, nécessité de tester plusieurs prélèvements (augmentation du coût) • La recherche de la bactérie responsable peut également nécessiter une recherche d'ARN universelle ou une approche par métagénomique | [19] |
| Autres panels : infections urinaires, infections des tissus et implants, infections intra-abdominales | Bactéries, levures, gènes de résistance | Urine, biopsie, collection | | Coût et performances de l'examen de référence par culture suffisants la plupart du temps | [20] |
| Infections sexuellement transmissibles | Bactéries, virus, parasite : • <i>Chlamydia trachomatis</i> , <i>Mycoplasma genitalium</i> , <i>Neisseria gonorrhoeae</i> , <i>Treponema pallidum</i> • Virus herpès simplex 1 et 2 • <i>Trichomonas vaginalis</i> | Urine, prélèvement génital | Diversité des micro-organismes impliqués et co-infections fréquentes | Problème de codification et de facturation des analyses aux patients non hospitalisés | [21] |
| Syndrome septique en milieu tropical | Bactérie, Virus, parasites virus Chikungunya, virus de la Dengue (serotypes 1-4), <i>Leptospira spp.</i> , <i>Plasmodium spp.</i> | Sang | Diversité des micro-organismes ciblés, possibilité de diagnostic dans des laboratoires de brousse peu équipés. | Absence de certaines cibles comme <i>Salmonella typhi</i> . | [22] |
| Recherche de BHRé | Gènes de résistance les plus fréquemment retrouvés chez les BHRé (gènes <i>vanA</i> et <i>vanB</i> , <i>blaOXA-48</i> , <i>blaNDM</i> , <i>blaKPC</i> , <i>blaVIM</i> , <i>blaIMP</i>) | Écouvillonnage rectal ou péri-anal | Rapidité du résultat | Faux positifs liés à la présence de gènes de résistance sur des bactéries non ciblées (bactéries anaérobies commensales du tube digestif, bacille à Gram négatif non fermentant de type <i>Pseudomonas sp.</i> ou <i>Acinetobacter sp.</i>) | [5,8,23] |

ARN : Acide ribonucléique ; BHRé : bactérie hautement résistante émergente ; MERS-CoV : Middle East respiratory syndrome-related coronavirus, coronavirus du syndrome respiratoire du Moyen-Orient ; OXA : oxacillinaise ; PCR : polymerase chain reaction, réaction en chaîne par polymérase ; SARS-CoV-2 : Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, coronavirus 2 du syndrome respiratoire aigu sévère.

Intérêt selon l'acteur

Au-delà des performances de ces tests et de leurs limites analytiques, leur place dans la prise en charge des patients et leur contribution à son amélioration dépend de plusieurs facteurs qui varient selon l'acteur.

Intérêt pour le biologiste

Le biologiste n'a plus besoin de disposer d'un personnel formé à la biologie moléculaire ; il peut proposer des analyses sur des plages horaires très élargies, y compris au sein de laboratoires de garde polyvalents ou de *points of care*, petites structures délocalisées de la plateforme centrale de biologie, qui peuvent se trouver dans un autre établissement. Il existe néanmoins des inconvénients : les réactifs, souvent très coûteux (de quelques dizaines à centaines d'euros pièce), nécessitent des équipements spécifiques. Pour ne pas devoir les acheter, le biologiste doit s'engager à consommer un nombre de tests prédéfini par l'industriel. Ces réactifs et les machines qui les utilisent peuvent être source de dépendance et de défaillance en cas de rupture d'approvisionnement. Si le biologiste veut pouvoir disposer de plusieurs techniques pour la même recherche, il doit en établir la corrélation auprès de son organisme de certification. Des discordances entre les résultats de deux panels différents peuvent exister, en fonction des spécificités de chacun. Les conséquences de la délocalisation de la biologie au sein des services cliniques évoquées précédemment, ainsi que l'absence de remboursement pour les patients non hospitalisés, peuvent constituer des freins à la généralisation de ces tests. La mise en place d'approches syndromiques associant les différentes spécialités de la microbiologie peut matériellement et parfois politiquement poser des problèmes lorsque ces disciplines existent au sein d'unités séparées géographiquement ou budgétairement. Enfin, certains biologistes regrettent une détérioration du raisonnement clinique ciblant une étiologie précise au profit d'une approche large de criblage, moins réfléchie.

Intérêt pour le clinicien

Le clinicien peut être demandeur de ces tests rapides afin d'être conforté dans son choix thérapeutique à la fois efficace et respectueux du microbiote du patient et de l'écologie microbienne de son service. La mise en évidence de virus permet désormais également la prescription de traitements antiviraux ciblés (grippe, Covid-19). Néanmoins, le délai lié à l'acheminement du prélèvement peut être supérieur à la phase analytique, qui dure souvent moins d'une heure. Il doit également être sensibilisé par le biologiste à la présence de « trous » dans les panels proposés : par exemple, en cas de pneumopathie tardive acquise sous ventilation, l'espèce *Stenotrophomonas maltophilia*, pourtant impliquée notamment chez les patients multitraités par antibiotiques, ne fait pas systématiquement partie des cibles incluses dans les panels respiratoires. Il en est de même pour la détection des résistances acquises dont certaines, notamment chez *P. aeruginosa*, ne sont pas dues à l'acquisition des gènes supplémentaires facilement détec-

tables mais à des surexpressions de gènes naturellement présents. L'interprétation de la présence de gènes de résistance à partir d'un prélèvement multimicrobien est quant à elle difficile : le gène de résistance identifié est-il bien associé à la bactérie suspectée d'être responsable de l'infection ? Les panels de PCR multiplexes sont concurrencés par des techniques d'antibiogrammes phénotypiques dites « rapides » qui permettent une identification et un antibiogramme par extrapolation des concentrations minimales inhibitrices en sept heures environ [10]. Ce genre de subtilité nécessite la disponibilité de médecins sensibilisés et aguerris qui sauront traduire ces résultats en une adaptation de la stratégie anti-infectieuse. Dans le cas contraire, notamment en période de garde ou de week-end, il est probable que, si l'état clinique du patient est stable, l'adaptation du traitement antibiotique soit remise au lendemain, ce qui est un comble quand on dispose d'un test rapide. Enfin, la gravité de certaines infections (méningite, choc septique...) incite le clinicien à ne prendre aucun risque et à « couvrir » largement par son choix thérapeutique l'ensemble des micro-organismes potentiellement responsables jusqu'à la preuve définitive de leur absence.

Intérêt pour le patient

En théorie, le patient est le premier bénéficiaire d'un traitement efficace qui respecte aussi son écologie microbienne : un microbiote perturbé constitue un facteur de risque d'acquisition d'une bactérie multirésistante par acquisition exogène ou par sélection endogène [11]. En pratique, les études clinico-biologiques mettant en évidence la diminution du délai de l'obtention des résultats microbiologiques et l'adaptation du traitement sont pléthores, alors que celles évaluant l'intérêt clinique (impact sur la mortalité ou sur la durée de séjour) sont bien moins nombreuses et exceptionnellement favorables. Certaines identifient même parfois un risque d'erreur potentiellement délétère [12]. L'intérêt de la diminution de quelques jours d'antibiotiques sur la sélection de résistance ou l'apparition de surinfection chez le patient n'est pas démontré à ce jour [13]. Une situation particulière est celle de patients éloignés de structures de soins modernes (exemple de certains pays/certaines régions dépourvues de laboratoires équipés) et qui pourraient bénéficier de la réalisation de panel de PCR dans des structures avancées. Cette approche suivrait l'exemple de la détection automatisée de *Mycobacterium tuberculosis* et de l'identification de mutations associées à la résistance aux antibiotiques qui permet dans des pays ou des zones en voie de développement de s'affranchir d'un laboratoire structuré. Un kit récent permet ainsi sur un prélèvement sanguin d'identifier les virus du chikungunya, de la dengue ainsi que les agents du paludisme et de la leptospirose [22].

Impact pour l'hygiéniste

« Dépister vite pour isoler mieux » pourrait être la devise de ces panels de PCR, permettant à l'hygiéniste d'éviter les épidémies sans multiplier la mise en « précautions complémentaires » qui sont coûteuses en temps et en argent, et

moins bien respectées lorsqu'elles se multiplient [14]. La rapidité de la mise en précautions complémentaires des patients porteurs de BHR a été corrélée à la diminution de la survenue de cas secondaires dans une étude française de qualité [15]. Bien qu'intuitif, l'impact direct des techniques rapides de détection des porteurs de bactéries multirésistantes aux antibiotiques (BMR) ou de BHR sur la survenue d'épidémie n'est toujours pas strictement établi à ce jour. Concernant la prise en charge de certains syndromes infectieux, l'identification d'un pathogène, même sans conséquence thérapeutique, pourrait entraîner un meilleur respect des précautions complémentaires par rapport à un syndrome non microbiologique-ment étayé. Cependant, la mise à disposition de panels respiratoires larges peut être à l'origine de certaines questions : si le panel est négatif mais que le patient présente un syndrome respiratoire potentiellement infectieux, le maintien des précautions complémentaires, pourtant justifié, est parfois plus difficile à faire accepter aux cliniciens. Par ailleurs, la conduite à tenir devant l'identification d'un micro-organisme « banal » comme le rhinovirus ne fait pas consensus. Plus géné-

ralement, l'intérêt et la rentabilité de ces tests rapides, indépendamment de leurs performances analytiques et de la rapidité de l'obtention des résultats, sont étroitement liés à la disponibilité des moyens d'action : chambres individuelles, personnel en nombre suffisant pour respecter les mesures adaptées (précautions complémentaires, marche en avant, sectorisation). Dans le cas contraire, la contribution de ces tests sera, in fine, limitée.

Conclusion

Les tests microbiologiques rapides, et plus particulièrement les PCR multiplexes, constituent un outil particulièrement intéressant pour la promotion du bon usage des antibiotiques et la prévention de la transmission croisée. L'hygiéniste doit en connaître les avantages mais également les limites pour les utiliser ou les interpréter à bon escient. Il faut par ailleurs que leur impact sur la qualité de la prise en charge soit mieux établi scientifiquement afin d'en justifier le coût. De plus ils doivent s'accompagner d'une organisation humaine et matérielle suffisante pour permettre leur plein rendement. ■

Références

- 1- Rader TS 4th, Stevens MP, Bearman G. Syndromic multiplex polymerase chain reaction (mPCR) testing and antimicrobial stewardship: current practice and future directions. *Curr Infect Dis Rep* 2021;23(4):5.
- 2- Vaugon E, Mircescu A, Caya C, et al. J Diagnostic accuracy of rapid one-step PCR assays for detection of herpes simplex virus -1 and -2 in cerebrospinal fluid: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2022;S1198-743X(22)00317-2.
- 3- Lewis PO, Lanier CG, Patel PD, et al. False negative diagnostic errors with polymerase chain reaction for the detection of cryptococcal meningoencephalitis. *Med Mycol* 2020;58(3):408-410.
- 4- Sadek M, Poirer L, Nordmann P. Optimal detection of extended-spectrum -lactamase producers, carbapenemase producers, polymyxin-resistant enterobacterales, and vancomycin-resistant *enterococci* from stools. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2020;96(1):114919.
- 5- Decousser JW, Poirer L, Nordmann P. Recent advances in biochemical and molecular diagnostics for the rapid detection of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae*: a focus on β -lactam resistance. *Expert Rev Mol Diagn* 2017;17(4):327-350.
- 6- Crobach MJT, Planche T, Eckert C, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clin Microbiol Infect* 2016;22(Suppl 4):S63-S81.
- 7- Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat JM, et al. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 2016;54(9):2251-2261.
- 8- Bourdon N, Bérenger R, Lepoutier R, et al. Rapid detection of vancomycin-resistant enterococci from rectal swabs by the Cepheid Xpert vanA/vanB assay. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2010;67(3):291-293.
- 9- Enne VI, Aydin A, Baldan R, et al. Multicentre evaluation of two multiplex PCR platforms for the rapid microbiological investigation of nosocomial pneumonia in UK ICUs: the INHALE WP1 study. *Thorax* 2022;thoraxjnl-2021-216990.
- 10- Sze DTT, Lau CCY, Chan TM, et al. Comparison of novel rapid diagnostic of blood culture identification and antimicrobial susceptibility testing by Accelerate Pheno system and BioFire FilmArray Blood Culture Identification and BioFire FilmArray Blood Culture Identification 2 panels. *BMC Microbiol* 2021;21(1):350.
- 11- Wang J, Cassone M, Gibson K, et al. Gut microbiota features on nursing home admission are associated with subsequent acquisition of antibiotic-resistant organism colonization. *Clin Infect Dis* 2020;71(12):3244-3247.
- 12- Robinson ED, Stilwell AM, Attai AE, et al. Implementation of a rapid phenotypic susceptibility platform for Gram-negative bloodstream infections with paired antimicrobial stewardship intervention: is the juice worth the squeeze? *Clin Infect Dis* 2021;73(5):783-792.
- 13- Curran J, Lo J, Leung V, et al. Estimating daily antibiotic harms: an umbrella review with individual study meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2022;28(4):479-490.
- 14- Dhar S, Marchaim D, Tansek R, et al. Contact precautions: more is not necessarily better. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2014;35(3):213-221.
- 15- Fournier S, Monteil C, Lepointeur M, et al. Long-term control of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* at the scale of a large French multihospital institution: a nine-year experience, France, 2004 to 2012. *Euro Surveill* 2014;19(19):20802.
- 16- Peiffer-Smadja N, Bouadma L, Mathy V, et al. Performance and impact of a multiplex PCR in ICU patients with ventilator-associated pneumonia or ventilated hospital-acquired pneumonia. *Crit Care* 2020;24(1):366.
- 17- Buchan BW, Windham S, Balada-Llasat JM, et al. Practical comparison of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel to routine diagnostic methods and potential impact on antimicrobial stewardship in adult hospitalized patients with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2020;58(7):e00135-e0013520.
- 18- Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, et al. A gastrointestinal PCR panel improves clinical management and lowers health care costs. *J Clin Microbiol* 2017;56(1):e01457-e0145717.
- 19- Lefeuvre E, Jauréguiberry S, Devriese F et al. First evaluation of the automated-multiplex-PCR Unyvero ITI G2 cartridge for rapid diagnosis of osteo-articular infections. *Infect Dis Now* 2021;51(2):179-186.
- 20- Ciesielczuk H, Wilks M, Castelain S, et al. Multicenter performance evaluation of the Unyvero IAI cartridge for detection of intra-abdominal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2018;37(11):2107-2115.
- 21- Barrientos-Durán A, de Salazar A, Alvarez-Estévez M, et al. Detection of sexually transmitted disease-causing pathogens from direct clinical specimens with the multiplex PCR-based STD Direct Flow Chip Kit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020 Feb;39(2):235-241.
- 22- Manabe YC, Betz J, Jackson O, et al. Clinical evaluation of the BioFire Global Fever Panel for the identification of malaria, leptospirosis, chikungunya, and dengue from whole blood: a prospective, multicentre, cross-sectional diagnostic accuracy study. *Lancet Infect Dis* 2022;S1473-3099(22)00290-0.
- 23- Tato M, Ruiz-Garajosa P, Traczewski M, et al. Multisite evaluation of Cepheid Xpert Carba-R Assay for detection of carbapenemase-producing organisms in rectal swabs. *J Clin Microbiol* 2016;54(7):1814-1819.