

Approche syndromique dans le diagnostic des maladies infectieuses

Said ZOUHAIR*

Résumé

L'approche syndromique est une technique innovante de biologie moléculaire qui a permis de perfectionner considérablement le diagnostic des maladies infectieuses. Son principe repose sur la détection et l'identification simultanées, avec un seul test, de différents agents pathogènes pouvant être responsables d'un syndrome infectieux donné. En raison de l'exhaustivité et la rapidité du diagnostic, l'approche syndromique favorise la mise en place d'une stratégie thérapeutique ciblée et une meilleure prise en charge pour le patient. Dans cet article, l'accent est mis sur les panels développés dans notre laboratoire dans le cas des infections respiratoires, gastro-intestinales, les méningites encéphalites et l'identification des hémocultures positives.

Mots clés : Approche syndromique ; maladies infectieuses ; diagnostic

Syndromic approach in the diagnosis of infectious diseases

Abstract

The syndromic approach is an innovative technique of molecular biology that has significantly improved the diagnosis of infectious diseases. Its principle is based on the simultaneous detection and identification, with a single test, of different pathogens that may be responsible for a given infectious syndrome. Due to the completeness and speed of diagnosis, the syndromic approach promotes the implementation of a targeted therapeutic strategy and better management for the patient. In this article, the focus is on the panels developed in our laboratory for respiratory, gastrointestinal infections, meningitis encephalitis and the identification of positive blood cultures.

Key words : Syndromic approach; infectious diseases; diagnostic.

* Département de Biologie Médicale de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech. Service de Bactériologie-Virologie et Biologie Moléculaire de L'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech. Maroc

@ : saidzouhair2012@gmail.com

Introduction

Le diagnostic microbiologique des maladies infectieuses est réalisé, habituellement, par des techniques conventionnelles qui délivrent, en quelques heures voire plusieurs jours, des résultats édités sur de nombreux comptes rendus séparés (bactériologie, virologie parasitologie, mycologie, ...). Cela a un impact sur la durée du séjour et la prise en charge du patient qui est beaucoup plus longue. L'analyse syndromique, quant à elle, permet de rechercher simultanément et en un seul test l'ensemble des agents pathogènes les plus fréquemment responsables d'une infection. Cette approche introduite par la technologie multiplex Filmarray (BioFire), permet de distinguer rapidement les infections virales des infections bactériennes favorisant ainsi la mise en place d'une stratégie thérapeutique ciblée et une meilleure prise en charge du patient. L'instrument intègre la préparation de l'échantillon qui nécessite 2 minutes, l'amplification par PCR, la détection et l'analyse réalisée en une durée totale d'environ une heure. Hormis leur grande rapidité, ces méthodes basées sur la PCR sont très spécifiques et sensibles et le développement de tests moléculaires pour un pathogène particulier peut être relativement aisé, pour autant que des séquences génétiques de référence soient disponibles.

L'objectif de cet article est de mettre la lumière sur une nouvelle technique implémentée dans notre laboratoire depuis deux ans et qui a montré la capacité de perfectionner, considérablement, le diagnostic des maladies infectieuses.

Les panels syndromiques

Il existe, actuellement, 4 panels syndromiques (Figure 1).

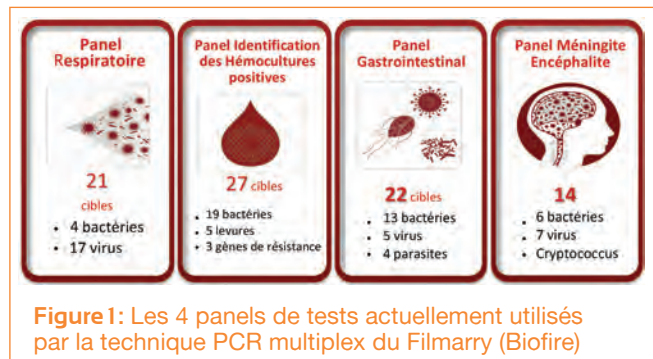


Figure 1: Les 4 panels de tests actuellement utilisés par la technique PCR multiplex du Filmarray (Biofire)

Panel respiratoire (21 cibles)

Il permet, sur un prélèvement nasopharyngé (Figure 2), la recherche simultanée de virus : *Adenovirus*, *Coronavirus 229E*, *Coronavirus HKU1*, *Coronavirus OC43*, *Coronavirus NL63*, *Human Metapneumovirus*, *Human Rhinovirus/Enterovirus*, *Influenza A*, *Influenza A/H1*, *Influenza A/H1-2009*, *Influenza A/H3*, *Influenza B*, *Parainfluenza 1*, *Parainfluenza 2*, *Parainfluenza 3*, *Parainfluenza 4* et le virus respiratoire Syncytial ; en même temps il détecte les bactéries (*Bordetella pertussis*, *Bordetella parapertussis*, *Chlamydomphila pneumoniae* et *Mycoplasma pneumoniae*).



Figure 2: Kit de prélèvement nasopharyngé

Le diagnostic des infections respiratoires repose principalement sur des arguments cliniques et radiologiques, les examens microbiologiques sont rarement demandés et l'antibiothérapie probabiliste qui est adoptée résulte de l'épidémiologie locale et des facteurs de risque liés au patient. Des techniques diagnostiques conventionnelles existent mais leur sensibilité, spécificité et le délai de réponse de ces tests ne sont pas réellement satisfaisants. Ces paramètres ont également été évalués pour ce panel sur les différents pathogènes et apparaissent sur les données publiées : la sensibilité varie de 87 à 100 % selon le germe et la spécificité est de 100 % (Tableau I). En plus, ce test réalisé au coup par coup a un grand avantage sur le temps technique qui est extrêmement réduit, et ne nécessite pas d'expérience requise en biologie moléculaire. L'étude se fait sur des prélèvements nasopharyngés à l'aide d'un kit d'écouvillonnage nasopharyngé (Figure 2).

Sur plusieurs études, l'utilisation du panel FILMARRAY respiratoire a permis l'arrêt des antibiothérapies inutiles et leur utilisation de façon plus rationnelle, une meilleure prescription des antigrippaux ainsi que l'isolement technique et géographique des patients évitant le risque de transmission nosocomiale. Un impact sur les admissions (moins d'hospitalisations) a été observé avec une réduction du nombre de radiographies et de la durée de séjour à l'hôpital.

Si le caractère pathogène de la grippe est bien reconnu et caractérisé, faut-il rechercher les autres virus respiratoires ?

Plusieurs scientifiques s'accordent sur l'impact de l'introduction de cette approche syndromique notamment chez les immunodéprimés, les enfants et les personnes âgées particulièrement aux urgences et services de soins intensifs avec une décision d'hospitalisation mieux documentée.

Tableau I : Sensibilité et spécificité selon le germe de la PCR multiplex du panel respiratoire Filmarray (Biofire), (Popowitch EB et al. 2015)

| Pathogènes | Sensibilité | | Spécificité Prospectif | Pathogènes | Sensibilité | | Spécificité Prospectif |
|--------------------------------------|----------------|----------------|------------------------|----------------------------------|----------------|----------------|------------------------|
| | Prospectif | Retrospectif | | | Prospectif | Retrospectif | |
| <i>Adénovirus</i> | 88,9 % | 100 % | 98,3 % | Virus de la grippe A/H1-2009 | 88,9 %* | 100 % | 98,6 % |
| <i>Coronavirus HKU1</i> | 95,8 % | pas applicable | 99,8 % | Virus de la grippe B | pas applicable | 100 % | 100 % |
| <i>Coronavirus NL63</i> | 95,8 % | pas applicable | 100 % | Virus <i>parainfluenza 1</i> | 100 %* | 97,1 % | 99,9 % |
| <i>Coronavirus 229E</i> | 100 % | 100 % | 99,80 % | Virus <i>parainfluenza 2</i> | 87,4 %* | 100 % | 99,8 % |
| <i>Coronavirus OC43</i> | 100 % | 100 % | 99,60 % | Virus <i>parainfluenza 3</i> | 95,8 %* | 100 % | 99,8 % |
| <i>Métapneumovirus humain</i> | 94,6 % | pas applicable | 99,2 % | Virus <i>parainfluenza 4</i> | 94,6 % | 100 % | 99,9 % |
| <i>Entérovirus/rhinovirus humain</i> | 92,7 % | 95,7 % | 94,6 % | Virus respiratoire syncytial | 100 %* | pas applicable | 89,1 % |
| Virus de la grippe A | 90,0 % | pas applicable | 99,8 % | Bordetella pertussis | 100 %* | 94,6 % | 99,9 % |
| Virus de la grippe A/H1 | pas applicable | 100 % | 100 % | <i>Chlamydomphila pneumoniae</i> | 100 %* | 100 % | 100 % |
| Virus de la grippe A/H3 | pas applicable | 100 % | 100 % | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> | 100 %* | 84,4 % | 100 % |

Panel méningite encéphalite

Il permet la détection à la fois de bactéries : *E. coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *L. monocytogenes*, *N. meningitidis*, *S. agalactiae*, *S. pneumoniae* et de virus : *Cytomegalovirus*, *Enterovirus*, *Herpes simplex type 1*, *Herpes simplex type 2*, *Humanherpes virus 6* (HHV-6), *Human Parechovirus*, *Varicella zona virus* (VZV), en plus de *Cryptococcus neoformans/gattii*.

Les kits de PCR multiplex regroupés en syndrome répondent à un besoin clinique croissant et permettent aux cliniciens un gain de temps considérable en recherchant les étiologies infectieuses les plus probables en un seul test. Cette approche prend toute son ampleur lors des méningites qui constituent une

urgence diagnostique et thérapeutique. En effet, la rapidité de rendu des techniques de PCR multiplex contribue à une prise en charge adaptée et immédiate en plus de rajouter tôt une ligne thérapeutique omise, décider d'administrer l'aciclovir à temps (Figure 3) et épargner le LCR prélevé pour des examens de 3^{ème} ligne diagnostique. Outre la possibilité d'effectuer le diagnostic étiologique (distinction infection virale et bactérienne et identification du pathogène), l'intérêt de l'approche syndromique est l'optimisation de la prise en charge médicale (traitement antiviral ou antibactérien efficace et adapté) et la maîtrise du risque infectieux grâce à une prise en charge plus rapide des patients.



|  FilmArray Meningitis / Encephalitis (ME) Panel - IVD | |  <small>www.BioFireDx.com</small> | |
|--|---------------------------------------|--|--|
| Run Summary | | | |
| Sample ID: | | Run Date: 27 Jul 2018 | |
| Detected: Herpes simplex virus 1 | | 12:53 PM | |
| | | Controls: Passed | |
| Result Summary | | | |
| Bacteria | | | |
| Not Detected | <i>Escherichia coli</i> K1 | | |
| Not Detected | <i>Haemophilus influenzae</i> | | |
| Not Detected | <i>Listeria monocytogenes</i> | | |
| Not Detected | <i>Neisseria meningitidis</i> | | |
| Not Detected | <i>Streptococcus agalactiae</i> | | |
| Not Detected | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | | |
| Viruses | | | |
| Not Detected | Cytomegalovirus | | |
| Not Detected | Enterovirus | | |
| ✓ Detected | Herpes simplex virus 1 | | |
| Not Detected | Herpes simplex virus 2 | | |
| Not Detected | Human herpesvirus 6 | | |
| Not Detected | Human parechovirus | | |
| Not Detected | Varicella zoster virus | | |
| Yeast | | | |
| Not Detected | <i>Cryptococcus neoformans/gattii</i> | | |
| Run Details | | | |
| Pouch: ME Panel v1.4 | | Protocol: CSF v3.0 | |
| Run Status: Completed | | Operator: HAFFOUD HAFFOUD (AMINE) | |
| Serial No.: 12136804 | | Instrument: 2FA03399 | |
| Lot No.: 741217 | | | |

Figure 3 : Compte rendu d'une analyse syndromique méningo-encéphalite par le panel ME Filmarray

Panel gastro-intestinal

Pour la mise en évidence de bactéries : *Campylobacter*, *Clostridium difficile* (Toxin A/B), *Salmonella*, *Shigella*, *Vibrio cholerae*, *Yersinia enterocolitica*, *Plesiomonas shigelloides*, *Aeromonas*, *Enteroggregative E. coli* (EAEC), *Enteropathogenic E. coli* (EPEC), *Enterotoxigenic E. coli* (ETEC), *E. coli* O157, *Shiga-like-toxin-producing E. coli* (STEC) *Shigella*/*Enteroinvasive E. coli* (EIEC), en même temps que les protozoaires (*Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia*) et les virus : *Adenovirus* 40/41, *Astrovirus*, *Norovirus* GI/GII, *Rotavirus* A et *Sapovirus*.

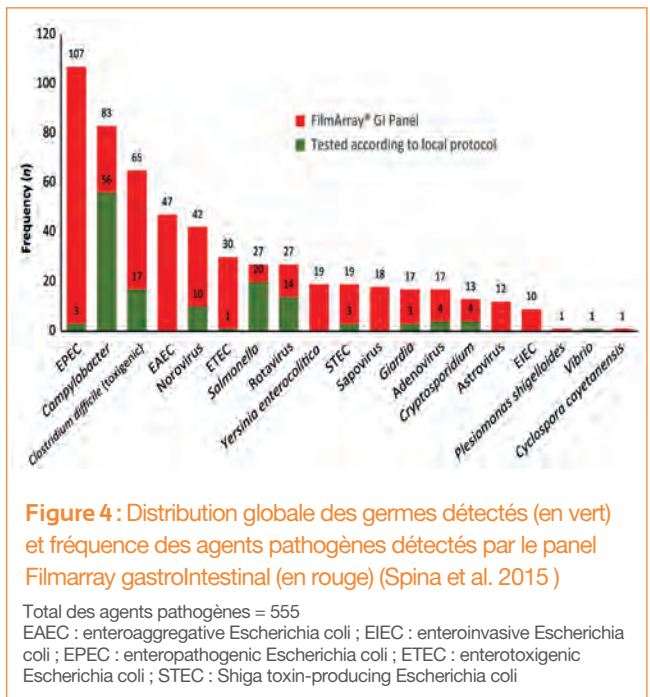
Panel d'identification des hémocultures positives

Utilisé pour la recherche de bactéries à Gram positive : *Enterococcus* spp., *L. monocytogenes*, *Staphylococcus*, *S. aureus*, *Streptococcus* spp., *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *S. pneumoniae*. La recherche de gènes de résistance aux antibiotiques : gène *mecA*, gène *Van A/B* et le gène *KPC*. La détection simultanée de bactéries à Gram négatif : *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *E. cloacae*, *K. oxytoca*, *K. pneumoniae*, *S. marcescens*, *Proteus*, *H. influenzae*, *N. meningitidis* ainsi que les levures : *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis* et *C. tropicalis*.

Intérêt et limites des méthodes moléculaires

Les méthodes moléculaires jouent désormais un rôle important pour le diagnostic des infections en pratique médicale. La PCR est devenue la méthode de référence particulièrement pour la détection de pathogènes difficilement cultivables. Dans l'étude de SPINA (Figure 4), 709 patients ont bénéficié du panel gastro-intestinal avec 37,6 % de mono-infectés

et 16,4 % de co-infectés. Les résultats de ce travail ont redistribué les étiologies des gastroentérites infectieuses avec, chez toutes les tranches d'âge, l'apparition d'*E. coli* entéropathogène en tête suivi chez les enfants de moins de 5 ans par le norovirus au lieu du campylobacter chez les sujets de 05 à 60 ans.



Les PCR multiplex constituent les meilleures techniques permettant une identification large des agents pathogènes si elle a remplacé les méthodes traditionnelles pour certaines indications, la PCR n'est pas applicable dans toutes les situations. Il est donc important de savoir quand employer les méthodes moléculaires, quels sont leurs avantages par rapport aux techniques conventionnelles, afin de pouvoir les prescrire de façon rationnelle. Le choix de l'approche analytique dépend du questionnement clinique, du type de pathogène et de l'existence de tests de laboratoire pour le pathogène en question.

Conclusion

L'approche syndromique permet un diagnostic étiologique plus performant, une meilleure maîtrise du risque infectieux viral, minimise l'exposition aux antibiotiques et contribue à améliorer le parcours de soins. L'utilisation de ces tests syndromiques doit faire évoluer nos algorithmes décisionnels, puis les recommandations. Un résultat doit toujours s'interpréter dans le contexte clinique et en association avec l'ensemble des examens biologiques. Enfin, la démocratisation de ces tests demeure impérative et passe par la réduction de leur coût et l'adaptation régulière des kits au contexte épidémiologique du pays.

Points essentiels

- L'approche syndromique est considérée comme une solution innovante au problème du diagnostic des maladies infectieuses.
- Cette approche permet de distinguer rapidement les infections virales des infections bactériennes et favoriser la mise en place d'une stratégie thérapeutique ciblée et une meilleure prise en charge du patient.
- Il s'agit d'un test rapide qui permet de poser très précocement le diagnostic.
- Le principe repose sur la recherche simultanée de nombreux pathogènes, les plus susceptibles d'être responsables d'un syndrome infectieux.
- Le résultat de l'approche syndromique doit toujours être interprété dans le contexte clinique et en association avec l'ensemble des examens biologiques.

Conflit d'intérêt

L'auteur déclare n'avoir aucun lien d'intérêt.

Remerciements

L'auteur remercie Dr Visseaux de l'Hôpital Bichat Claude Bernard de Paris et l'équipe de biologie moléculaire du laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Militaire Avicenne de Marrakech : Pr Arsalane Lamiae, Pr El Kamouni Youssef, Pr Miloudi Mouhcine, Mr Foukous Taoufiq, Mme Eddabbagh Bouchra, Mr Hafoud Amine et Mr Zouhal Kamal.

Références

- Cherpillod P LK et al. Nouveaux virus : mythe, fantasme ou réalité ? *Revue médicale Suisse*. 2014;10:1004-7.
- Dormond L et al. Multiplex real-time PCR for the diagnosis of malaria: correlation with microscopy. *Clin Microbiol Infect*. 2011;17(3):469-75.
- Dumoulin A. Diagnostic moléculaire des maladies infectieuses pour la pratique ambulatoire. *Revue médicale Suisse*. 2014;10:1866-70.
- Egli A et al. Cytomegalovirus and polyomavirus BK posttransplant. *Nephrol Dial Transplant*. 2007;22 Suppl 8:viii72-viii82.
- Karrer U, Nadal D. Virus d'Epstein-Barr et mononucléose infectieuse. *Forum Médicale Suisse*. 2014;14:226-32.
- Lienhard R. Pièges en sérologie infectieuse. *Revue médicale Suisse*. 2011;7:1964-7.
- Mandell LA et al. Infectious Diseases Society of America/ American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. *Clin Infect Dis*. 2007. 44 Suppl 2:S27-72.
- Meylan P. Infections à virus de l'herpès simplex : mise à jour pour le praticien. *Revue médicale Suisse*. 2011;7:886-93.
- Popowitch EB et al. Comparison of the Biofire FilmArray RP, Genmark eSensor RVP, Luminex xTAG RVPv1, and Luminex xTAG RVP fast multiplex assays for detection of respiratory viruses. *J Clin Microbiol*. 2013;51(5):1528-33.
- Rappo U. Impact of Early Detection of Respiratory Viruses by Multiplex PCR Assay on Clinical Outcomes in Adult Patients. *J Clin Microbiol*. 2016;54:2096-03.
- Rogers BB et al. Impact of a rapid respiratory panel test on patient outcomes. *Arch Pathol Lab Med*. 2015;139:636-41.
- Spina et al. Spectrum of enteropathogens detected by the Film Array GI Panel in a multicenter study of community-acquired gastroenteritis. *Clin Microbiol Infect*. 2015;21:19-728.