

2020 - 2021

Thèse

pour le

Diplôme d'État de Docteur en Médecine

Spécialité en Biologie Médicale

**Évaluation du panel FilmArray
BioFire® BCID2 sur les liquides
péritonéaux**

NICOL Thomas

Né le 15/07/1994 à BREST (29)

Sous la direction de Mme le Professeur Marie KEMPF
et la co-direction de Mme le Docteur Carole LEMARIE

Membres du jury

Monsieur le Professeur Aurélien VENARA	Président
Madame le Professeur Marie KEMPF	Directrice
Madame le Docteur Carole LEMARIE	Co-Directrice
Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD	Membre
Madame le Docteur Soizic GERGAUD	Membre

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné NICOL Thomas
déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une
partie d'un document publiée sur toutes formes de support, y compris l'internet,
constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée.
En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées
pour écrire ce rapport ou mémoire.

signé par l'étudiant(e) le **15/09/2021**



LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

Doyen de la Faculté : Pr Nicolas Lerolle

Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie : Pr Frédéric Lagarce

Directeur du département de médecine : Pr Cédric Annweiler

PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
AZZOUZI Abdel Rahmène	Urologie	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BELLANGER William	Médecine Générale	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BOUVARD Béatrice	Rhumatologie	Médecine
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologue ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CHAPPARD Daniel	Cytologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COPIN Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine Générale	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
D'ESCATHA Alexis	Médecine et santé au travail	Médecine
DINOMAIS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUBEE Vincent	Maladies Infectieuses et Tropicales	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GARNIER François	Médecine générale	Médecine
GASCOIN Géraldine	Pédiatrie	Médecine
GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HENNI Samir	Médecine Vasculaire	Médecine
HUNAULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine

IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LEGENDRE Guillaume	Gynécologie-obstétrique	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénérérologie	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et Santé au Travail	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et Biologie Moléculaire	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANGOULVANT Cécile	Médecine Générale	Médecine
BAGLIN Isabelle	Chimie thérapeutique	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BEGUE Cyril	Médecine générale	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie	Pharmacie
BIERE Loïc	Cardiologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
BRIET Claire	Endocrinologie, Diabète et maladies métaboliques	Médecine
BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaire	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie / physiologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	Médecine générale	Médecine
KHIATI Salim	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie	Médecine
LACOEUILLE Franck	Médecine nucléaire et biophysique	Pharmacie
LANDREAU Anne	Botanique/ Mycologie	Pharmacie
LEBDAI Souhil	Urologie	Médecine
LEGEAY Samuel	Pharmacocinétique	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	Neurochirurgie	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Pharmacognosie	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
LUQUE PAZ Damien	Hématologie biologique	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MIOT Charline	Immunologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAILHORIES Hélène	Bactériologie-virologie	Médecine
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine

PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SAVARY Dominique	Médecine d'urgence	Médecine
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique	Pharmacie
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Médecine Générale	Médecine
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	Médecine Générale	Médecine
VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie

AUTRES ENSEIGNANTS

PRCE

AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSE Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine

PAST

CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
DILÉ Nathalie	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	Officine	Pharmacie
POIROUX Laurent	Soins Infirmiers	Médecine

ATER

BOUCHENAKI Hichem	Physiologie	Pharmacie
MESSAOUDI Khaled	Immunologie	Pharmacie
MOUHAJIR Abdelmounaim	Biotechnologie	Pharmacie

PLP

CHIKH Yamina	Economie-gestion	Médecine
--------------	------------------	----------

AHU

IFRAH Amélie	Droit de la Santé	Pharmacie
LEBRETON Vincent	Pharmacotechnie	Pharmacie

Monsieur le Professeur Aurélien VENARA

Vous me faites l'honneur de présider ce jury. Recevez ici l'expression de mon profond respect et toute ma gratitude pour l'intérêt que vous avez porté pour ce travail.

Madame le Professeur Marie KEMPF

Je vous remercie tout d'abord pour votre accueil dans votre laboratoire de Bactériologie depuis 3 semestres, votre enseignement et vos conseils concernant mon cursus. Je vous remercie également de m'avoir confié ce travail et de l'avoir dirigé. Je vous témoigne ici ma considération la plus grande.

Madame le Docteur Carole LEMARIE

Merci d'avoir accepté la co-direction de ce travail. Vos remarques et vos conseils sont toujours d'une pertinente justesse. Merci également pour tout ce que vous m'avez appris au cours de ces semestres ; votre connaissance de la Bactériologie est un trésor.

Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD

Vous me faites également un immense honneur de participer à ce jury. Merci pour votre enseignement de la bactériologie depuis 3 semestres déjà. Travailler avec vous est une chance.

Madame le Docteur Soizic GERGAUD

Je vous remercie de me faire l'honneur de participer à ce jury de thèse et d'accepter de juger ce travail.

Madame le Docteur Rachel CHENOUARD

Merci pour ton implication dans la formation des internes, ta disponibilité pour répondre à nos questions. Apprendre la bactériologie avec toi est un plaisir !

Monsieur le Docteur Jean-Philippe LEMOINE

Merci également pour ton investissement avec les internes. Et merci pour tout ce que tu m'as appris en Parasitologie et en Mycologie.

A l'ensemble des techniciens du laboratoire de bactériologie

Un grand merci à tous. Aussi bien pour votre temps et vos conseils lors de mes premiers stages dans le laboratoire, que pour votre aide pour ce travail. Chacun d'entre vous m'a en effet permis de terminer ce travail avec beaucoup plus de facilité. C'est un plaisir de travailler avec vous.

A mes co-internes de Brest

Merci pour cette première année d'internat ! Et notamment Thibault et Anton avec qui j'ai découvert la biologie et Clélia qui m'a appris beaucoup sur l'hémostase. Clin d'œil à Claire et Marion, joueuses de Babyfoot hors pair !

A mes co-internes d'Angers

Anne, Anne-Cécile, Maxime et Randa : ma promo d'arrivée sur Angers, le groupe des commères...

Steven, Laura, Matthieu, Morgane et Julien : ma promo de thèse, ça n'aura pas été une partie de plaisir mais on y sera arrivé tous ensemble !

A Orianne, la bactériologie sans toi ce n'est pas pareil ! C'est plus propre !

Aux hors-filières cliniciens : Jonathan, Jim et Charles. Votre présence avec nous au laboratoire aura été riche en enseignement !

A Claire : ton arrivée sur Angers fut un cadeau pour nous tous ! Ce n'est pas tant ton expertise sur les Schistosomes qui m'a le plus saisi, c'est probablement ton envie quasi-irrépressible de mettre un jour ton doigt dans une culture de Mucorales !

A tous les autres, merci pour votre aide et votre bienveillance !

Orianne

Même si mon sujet de thèse a changé en cours de route, je tenais à te remercier ici pour ton aide précieuse. Notre travail sera à la base de mon mémoire de DES. Nous aurons beaucoup ri, nous aurons fait des journées à rallonge, mais tu seras restée jusqu'au bout ! Tu resteras également ma première co-interne à mon arrivée sur Angers. Un grand merci à toi. Comme nous disions parfois : « 1 bouchon, 2 tubes » !

Anne

Bientôt notre troisième stage ensemble ! Je n'ai qu'une chose à dire : TMI !

Claire

Te voilà remerciée une troisième fois dans mes remerciements, comme convenu ! C'est un plaisir de t'avoir comme partenaire/rival de Babyfoot tous les midis !

Steven

Une des (nombreuses) belles rencontres que j'ai pu faire en arrivant sur Angers. Tu es devenu mon premier binôme de Babyfoot sur Angers ! Tu es quelqu'un d'incroyablement courageux, de sincèrement bon et d'infiniment beauf... Merci à toi pour tellement de choses ! Hâte de te retrouver au prochain semestre !

A mes amis Brestois

Justine et Nathanaël (et Clémence maintenant), vous êtes une famille pour moi. Charlotte et Mazé, j'ai hâte de rencontrer la petite Kermaze ! Et à tous les autres, Elise, Paul, Maria, Thomas, Lucie, Steven : c'est toujours un plaisir de vous revoir !

A mes amis Angevins

Baptiste, le dingos du gang des trot-trot, le ptit cœur d'Alice, merci pour tout ! Julie, Alix, Guillaume : merci pour tous ces moments partagés au Gainzbar et ailleurs ! Mélanie : ta passion sera devenue la mienne également ! Merci d'être là et d'être comme tu es. Donna, Julien, Alexis, Benjamin, Elliot, Lucie, Dorian, merci à vous également, j'ai de la chance de vous avoir rencontrés.

A mes frères, Benjamin, Jonathan et Matthieu

Merci à vous trois d'avoir toujours été présents pour moi. Plein de bons moments passés ensemble et tellement d'autres à venir. Je suis fier d'être votre frère.

Alice

Te voilà enfin ! Une page entière de remerciements ne suffirait pas pour toi... 9 années de médecine, et au moins 14 ans d'amitié avant ça. La route est longue, mais la route est belle. Merci d'avoir toujours été là et merci de rendre le monde autour de toi aussi merveilleux.

Adrien

Je n'ai pas besoin de te dire à quel point tu comptes pour moi et comme je suis heureux d'être à tes côtés chaque jour qui passe. Merci pour ta patience avec moi et ton soutien dans mes projets. Je te remercie également pour ta relecture attentive !

Table des Matières

TABLE DES MATIERES	10
LISTE DES ABREVIATIONS	11
INTRODUCTION	12
1. Généralités sur les infections intra-abdominales et les péritonites	12
1.1. Les infections intra-abdominales	12
1.2. Le péritoine et la cavité péritonéale.....	13
1.3. Les péritonites.....	14
2. Flore intestinale et bactériologie des péritonites	17
2.1. La flore intestinale.....	17
2.2. Microbiologie des péritonites.....	18
3. Prise en charge des péritonites	19
3.1. Prise en charge diagnostique	19
3.2. Prise en charge thérapeutique	21
4. Augmentation de la résistance aux antibiotiques	24
5. Prise en charge des liquides péritonéaux au laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers	26
6. Présentation du panel FilmArray Biofire® BCID2.....	28
6.1. Principe du test.....	28
6.2. Cibles du panel FilmArray BioFire® BCID2.....	29
6.3. Étapes techniques du test	30
6.4. Contrôles internes	32
6.5. Interprétation du test.....	33
6.6. Limite de détection	34
6.7. Coût d'un test avec le panel FilmArray BioFire® BCID2.....	35
7. Contexte de l'étude	36
MATERIELS ET METHODES	37
1. Type d'étude	37
2. Échantillons cliniques et collection des données	37
3. Culture bactérienne standard	39
4. Panel FilmArray BioFire® BCID2	39
5. Analyse statistique des résultats	40
RESULTATS	42
1. Population étudiée	42
2. Résultats obtenus en culture standard et en FilmArray	44
2.1. Résultats de la culture standard	44
2.2. Résultats du panel FilmArray BioFire® BCID2	46
2.3. Comparaison des résultats concernant les identifications	48
2.4. Marqueurs de résistance aux antibiotiques	51
3. Analyse des résultats discordants (FN et FP)	52
3.1. Trois Faux Positifs pour les identifications.....	52
3.2. 22 Faux Négatifs hors panel	53
3.3. 17 Faux Négatifs dans le panel	54
3.4. Deux Faux Positifs pour les gènes de résistance	59
DISCUSSION	60
CONCLUSION	65
BIBLIOGRAPHIE	66
TABLE DES FIGURES	70
TABLE DES TABLEAUX	71
ANNEXES.....	72

Liste des abréviations

ADN	Acide Désoxyribo-Nucléique
APACHE	Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation
BCID2	Blood Culture Identification 2
BHR	Bactérie Hautement Résistante
BLSE	Bêta-lactamase à spectre étendu
BMR	Bactérie Multi-Résistante
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CNIL	Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés
CRP	Protéine C-Réactive
EBLSE	Entérobactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu
EPC	Entérobactérie productrice de carbapénémase
ERV	Entérocoques Résistant à la Vancomycine
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
IGS II	Index de Gravité Simplifié II
IIA	Infection Intra-Abdominale
IVD	In Vitro Diagnostic
MICI	Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin
MPA	Mannheim Peritonitis Index
PCR	Polymerase Chain Reaction
PIA	Peritonitis Index Altona
PLP	Protéine Liant les Pénicillines
RFE	Recommandation Formalisée d'Expert
RIHN	Référentiel des actes Innovants Hors Nomenclature
SMART	Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends
SFAR	Société Française d'Anesthésie et Réanimation
SFM	Société Française de Microbiologie
Tf	Température de Fusion
UFC	Unité Formant Colonie
USI	Unité de Soins Intensifs

INTRODUCTION

1. Généralités sur les infections intra-abdominales et les péritonites

1.1. Les infections intra-abdominales

Les infections intra-abdominales (IIA) sont fréquentes et représentent une des premières causes de choc septique avec les infections respiratoires (1,2). La mortalité globale des IIA est de 11 à 63% selon les études (3-7). Les péritonites compliquées de choc septique représentent environ 40% des IIA, avec une mortalité encore plus élevée, comprise entre 40 et 63% (7-10).

Les infections intra-abdominales (IIA) se répartissent en deux catégories en fonction de l'atteinte du péritoine (11) :

- Les IIA non compliquées, où l'infection ne concerne qu'un seul organe intra-abdominal et ne s'étend pas au péritoine. Le traitement repose principalement soit sur une antibiothérapie, soit sur la résection chirurgicale de l'organe sous couvert d'une antibioprophylaxie per-opératoire ;
- Les IIA compliquées, où l'infection s'étend au-delà de l'organe atteint, causant une péritonite localisée ou généralisée. Dans ce cas, le traitement repose sur une collaboration médico-chirurgicale, avec un contrôle chirurgical de la source infectieuse, associé à une antibiothérapie, probabiliste initialement.

1.2. Le péritoine et la cavité péritonéale

Le péritoine est une membrane séreuse semi-perméable constituée d'une monocouche de cellules mésothéliales qui contribue à la protection de la cavité abdominale et au maintien des organes intra-abdominaux. Il est constitué de deux feuillets continus : le feuillet pariétal qui tapisse la paroi abdominale et le feuillet viscéral qui tapisse les organes abdominaux (12).

L'espace virtuel entre ces deux couches est appelé cavité péritonéale. La **Figure 1**, adaptée par H.Azaïs du Larousse médicale (13,14), représente en vues transversale et sagittale la cavité abdominale contenant les différents organes intra-abdominaux et le péritoine délimitant la cavité péritonéale.

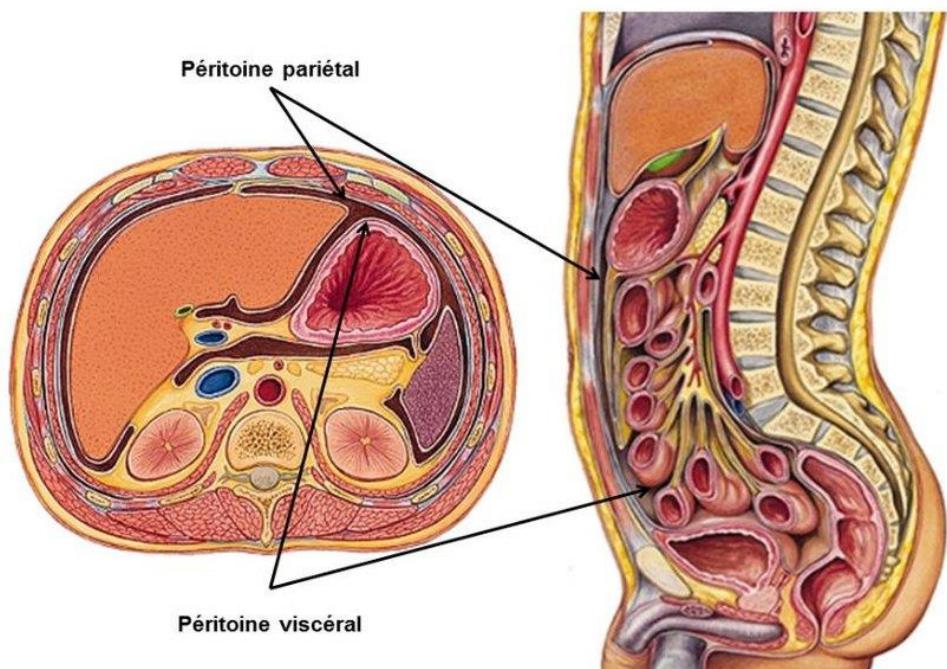


Figure 1 : Représentation schématique du péritoine et de la cavité péritonéale

La cavité péritonéale est remplie d'environ 50 mL d'un liquide normalement stérile, le liquide péritonéal, qui contient principalement de l'eau, des électrolytes, des leucocytes et des anticorps. Ce liquide péritonéal possède deux fonctions majeures (15,16) :

- Rôle de lubrifiant, permettant un mouvement libre entre les différents organes intra-abdominaux ;
- Lutte contre les infections, principalement grâce au drainage permanent du liquide péritonéal vers les vaisseaux lymphatiques et le canal thoracique.

Le liquide péritonéal, produit par les cellules mésothéliales, est constamment résorbé par la surface de la membrane péritonéale. En situation pathologique, le déséquilibre entre la production et la résorption peut entraîner une accumulation de ce liquide dans la cavité péritonéale (12,17).

1.3. Les péritonites

Une péritonite est une inflammation du péritoine (18), le plus souvent d'origine infectieuse, et notamment bactérienne. La classification de Hambourg (19) permet de classer ces péritonites infectieuses en trois catégories selon l'origine de l'infection :

- Les **péritonites primaires** : elles se caractérisent par l'absence de foyer infectieux primaire intra-péritonéal et sans solution de continuité du tube digestif (20). Elles sont le plus souvent mono-microbiennes (près de 90% des cas), par translocation ou par voie hématogène. Les principales causes sont l'infection du liquide d'ascite chez le cirrhotique, l'infection à staphylocoque du cathéter de dialyse péritonéale et très rarement, l'infection spontanée du péritoine à pneumocoque (21).

- Les **péritonites secondaires** (22) : elles représentent près de 90% des péritonites. Dans ce cas, l'infection est le plus souvent poly-microbienne, avec à la fois des bactéries aérobies et anaérobies. Elle est liée majoritairement à la diffusion d'une IIA ou à une perforation d'un organe digestif. Le **Tableau 1** liste les principales étiologies des péritonites secondaires (23).
- Les **péritonites tertiaires** : elles correspondent à une péritonite persistante au-delà de 48h malgré un traitement (contrôle de la source et antibiothérapie) bien conduit. Elles sont plus fréquentes chez les patients sévères et les immunodéprimés. Les germes impliqués peuvent correspondre à des bactéries moins virulentes, comme des entérocoques ou des *Staphylococcus epidermidis* potentiellement plus résistants, ou encore à des levures (24,25).

Tableau 1 : Principales étiologies des péritonites secondaires

Infection/Perforation intra-abdominale
Appendicite
Diverticulite sigmoïdienne
Perforation d'ulcère gastro-duodénal
Cholécystite
Infarctus mésentérique
Perforation digestive tumorale ou diastatique en amont d'un obstacle
Maladie de Crohn ou Recto-colite hémorragique, typhoïde...
Post-opératoire
Désunion anastomotique
Contamination per-opératoire
Post-traumatique
Plaie pénétrante
Traumatisme fermé avec perforation ou ischémie digestive
Perforation endoscopique ou corps étranger

D'autres classifications existent également, permettant notamment de distinguer différentes situations :

- Selon le siège de la perforation digestive :
 - **L'étage sus-mésocolique** : comprenant l'estomac, le duodénum et les voies biliaires ;
 - **L'étage sous-mésocolique** : comprenant le jéjunum, l'iléon, l'appendice et le côlon.
- Le caractère communautaire ou nosocomial de l'infection, et notamment les péritonites post-opératoires qui correspondent donc à des péritonites nosocomiales secondaires ou tertiaires.
- Selon des scores de sévérité, tel que :
 - IGS II : L'index de Gravité Simplifié mis à jour (26) ;
 - APACHE : L'Acute Physiologic and Chronic Health Evaluation (27) ;
 - PIA : Peritonitis Index Altona (28) ;
 - MPA : Mannheim Peritonitis Index (28).

2. Flore intestinale et bactériologie des péritonites

2.1. La flore intestinale

Le microbiote intestinal se compose de bactéries, de virus, de bactériophages, de fungi et d'archées (29). Le contingent bactérien contient plus de 1000 espèces bactériennes différentes. Plus de 80% d'entre elles ne sont pas cultivables avec les techniques usuelles, du fait de leur exigence nutritionnelle, des conditions d'anaérobiose et de leur complexe interdépendance (30). Ce microbiote est principalement représenté par 3 phylums bactériens (31) :

- **Bacteroidetes** : dont les genres principaux sont les *Bacteroides* et les *Prevotella* ;
- **Firmicutes** : dont les genres les plus importants sont les *Clostridium* et les *Lactobacillus* ;
- **Actinobacteria** : dans une moindre mesure, dont le principal genre est *Bifidobacterium*.

Les Entérobactéries, de l'embranchement des *Proteobacteria*, sont commensales du tube digestif. Cependant, elles ne constituent qu'une partie minoritaire de cette flore. La **Figure 2** représente la répartition des bactéries de la flore intestinale selon l'étage du tube digestif. Ce dernier abrite 10^{14} micro-organismes, soit environ 10 fois plus que le nombre de cellules d'un corps humain. La quantité de bactéries est croissante le long du tube digestif, d'une densité de 10^2 - 10^3 au niveau de l'estomac, pour être maximale au niveau du côlon, avec une densité de 10^{12} bactéries par gramme de contenu (32).

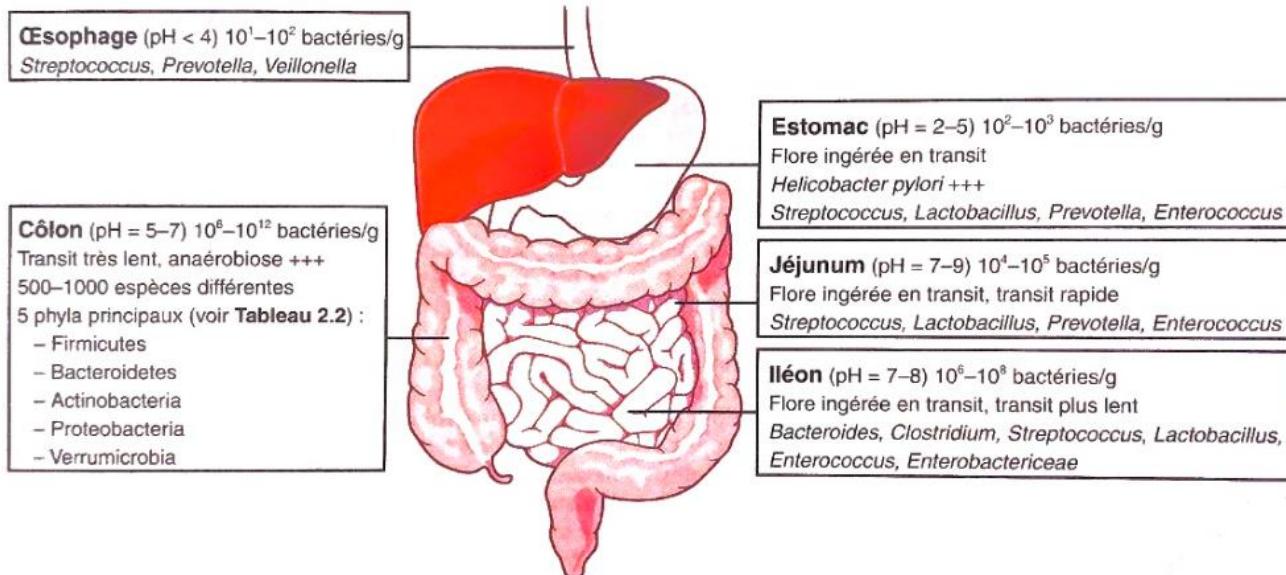


Figure 2 : Répartition et caractéristiques physiologiques du microbiote intestinal

2.2. Microbiologie des péritonites

Les péritonites primaires sont principalement mono-microbiennes, tandis que les secondaires sont habituellement poly-microbiennes. Le **Tableau 2** présente les principaux pathogènes rencontrés lors des péritonites en fonction de leur caractère primaire, secondaire et tertiaire (d'après Marshall et al.) (33).

Tableau 2 : Microbiologie des péritonites d'après Marshall et al.

Primary Peritonitis	Secondary Peritonitis	Tertiary Peritonitis
Gram-negative bacteria	Gram-negative bacteria	Gram-negative bacteria
<i>Escherichia coli</i>	<i>E. coli</i> 32–61%	<i>Pseudomonas</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Enterobacter</i> 8–26%	<i>Enterobacter</i>
	<i>Klebsiella</i> 6–26%	<i>Acinetobacter</i>
	<i>Proteus</i> 4–23%	
Gram-positive bacteria	Gram-positive bacteria	Gram-positive bacteria
<i>S. aureus</i>	<i>Enterococci</i> 18–24%	<i>Enterococci</i>
<i>Enterococci</i>	<i>Streptococci</i> 6–55%	Coagulase-negative
	<i>Staphylococci</i> 6–16%	<i>Staphylococci</i>
	Aerobic bacteria	
	<i>Bacteroides</i> 25–80%	
	<i>Clostridium</i> 5–18%	
	Fungi 2–15%	Fungi
		<i>Candida</i>

Ainsi, les principaux germes isolés dans les péritonites secondaires (qui représentent la majorité des cas de péritonite) sont des entérobactéries, des streptocoques, des entérocoques et des anaérobies (4,34). De plus, la proportion de ces différents pathogènes varie également selon la localisation de la perforation du tube digestif. Une atteinte sus-mésocolique retrouvera davantage de bactéries à Gram positif, comme des entérocoques, et de levures, tandis qu'une atteinte sous-mésocolique fera retrouver principalement des entérobactéries et des anaérobies.

3. Prise en charge des péritonites

La péritonite est une urgence médico-chirurgicale. Des recommandations formalisées d'experts (RFE) de la SFAR (Société Française d'Anesthésie et de Réanimation) datant de 2015 ont été faites afin, notamment, de préciser la prise en charge médicale et chirurgicale des infections intra-abdominales communautaires, et de décrire la prise en charge des infections intra-abdominales associées aux soins (1).

3.1. Prise en charge diagnostique

Le diagnostic de péritonite est clinique. Des examens paracliniques peuvent être utiles pour préciser l'origine de la péritonite et/ou planifier la prise en charge, mais ils ne doivent en aucun cas retarder le traitement.

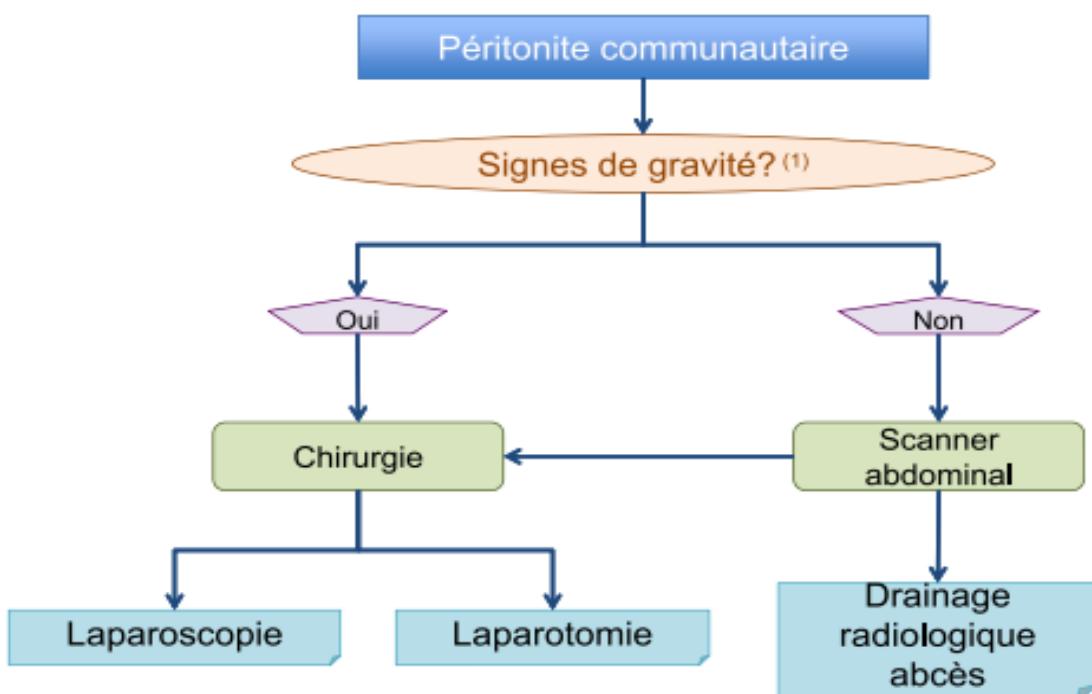
• Diagnostic clinique

Le symptôme le plus fréquent est une douleur abdominale. La douleur peut être généralisée ou localisée à un quadrant de l'abdomen, être de début brutal ou être progressivement croissante. La contracture abdominale est le signe pathognomonique d'une péritonite aiguë ; elle correspond à une contraction rigide, tonique, invincible, permanente et

douloureuse des muscles de la ceinture abdominale. Les signes péritonéaux peuvent être accompagnés de fièvre mais être modérés voire absents chez les personnes âgées ou immunodéprimées (35). Devant une suspicion de péritonite, l'examen clinique recherche également des signes de gravité dont la présence conduit à une intervention en urgence sans autre examen complémentaire.

Les experts ont défini une forme grave de péritonite par l'apparition d'au moins deux des manifestations cliniques ou biologiques suivantes en l'absence d'autre cause (1) :

- Hypotension rapportée au sepsis ;
- Lactacidémie au-dessus des valeurs normales du laboratoire ;
- Diurèse $< 0,5 \text{ mL/kg/h}$ pendant > 2 heures malgré un remplissage adapté ;
- Ratio $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2 < 250 \text{ mmHg}$ en l'absence de pneumopathie ;
- Créatininémie $> 2 \text{ mg/dL (176,8 mmol/L)}$;
- Bilirubinémie $> 2 \text{ mg/dL (34,2 mmol/L)}$;
- Thrombopénie $< 100\,000/\text{mm}^3$.



(1) Signes de gravité définis selon les critères présentées dans le préambule des recommandations

Figure 3 : Algorithme de prise en charge des péritonites communautaires (SFAR)

- **Imagerie**

D'intérêt seulement si disponible rapidement afin d'orienter le geste chirurgical, la tomodensitométrie constitue l'examen de référence. Elle ne doit retarder en aucun cas l'intervention chirurgicale, notamment chez les patients graves. La **Figure 3** présente l'algorithme décisionnel proposé par la SFAR pour la réalisation ou non d'une imagerie dans le cadre d'une péritonite communautaire.

- **Examens biologiques**

Outre la mise en évidence d'un syndrome inflammatoire par l'augmentation de la protéine C-réactive (CRP) et l'hyperleucocytose, l'analyse microbiologique du prélèvement de liquide péritonéal constitue le principal examen de biologie, l'objectif étant de documenter l'infection et d'orienter le choix de l'antibiothérapie.

3.2. Prise en charge thérapeutique

- **Chirurgie**

La chirurgie permet d'affirmer le diagnostic, de traiter la cause et de limiter la survenue de complications par la réalisation d'une toilette péritonéale. Au cours du geste, sont également réalisés les différents prélèvements microbiologiques. L'absence de geste opératoire ou l'allongement du délai de la chirurgie sont associés à une surmortalité (3,36).

- **Prise en charge de réanimation**

Préalable à la chirurgie en cas de choc septique, celle-ci est différée jusqu'à la stabilisation hémodynamique. Elle repose sur un remplissage vasculaire et/ou l'utilisation d'amines vasopressives notamment (37).

• Traitement anti-infectieux probabiliste

Il doit être instauré rapidement, si possible après la réalisation des prélèvements peropératoires, afin de ne pas décapiter les cultures. L'objectif est de couvrir les principaux pathogènes retrouvés dans les péritonites, à savoir les entérobactéries et les anaérobies. Les patients recevant un traitement anti-infectieux non adapté ont une morbi-mortalité significativement supérieure à ceux traités de façon appropriée (38). Les **Figures 4** et **5** présentent les schémas thérapeutiques proposés par la SFAR en 2014 en cas de péritonite communautaire et associée aux soins. Un retard à l'instauration d'une antibiothérapie efficace est associé à une mortalité accrue (39).

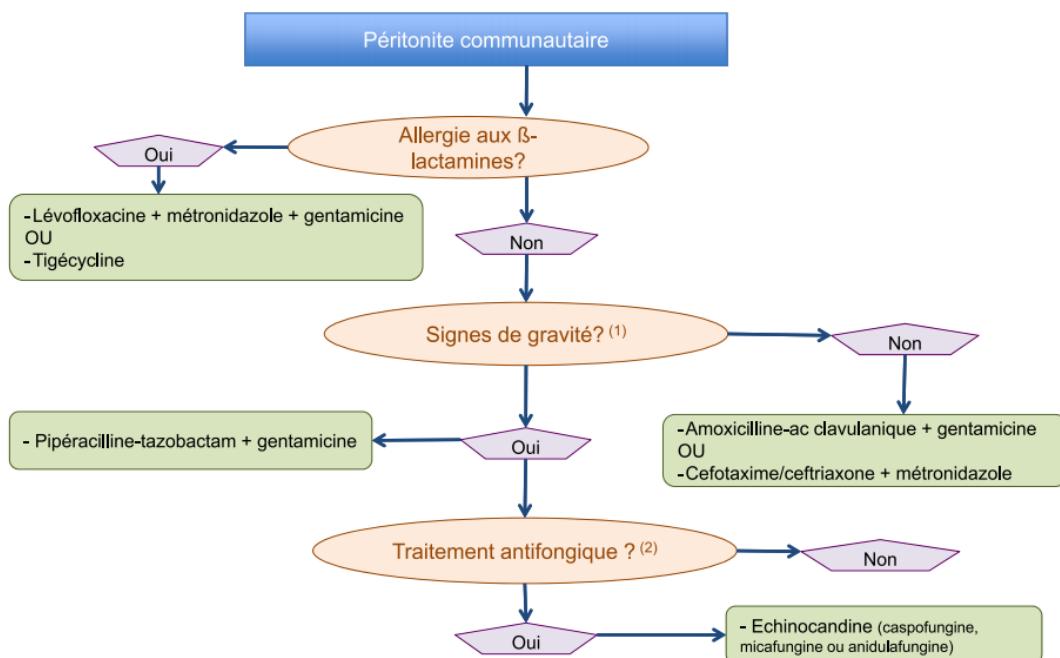
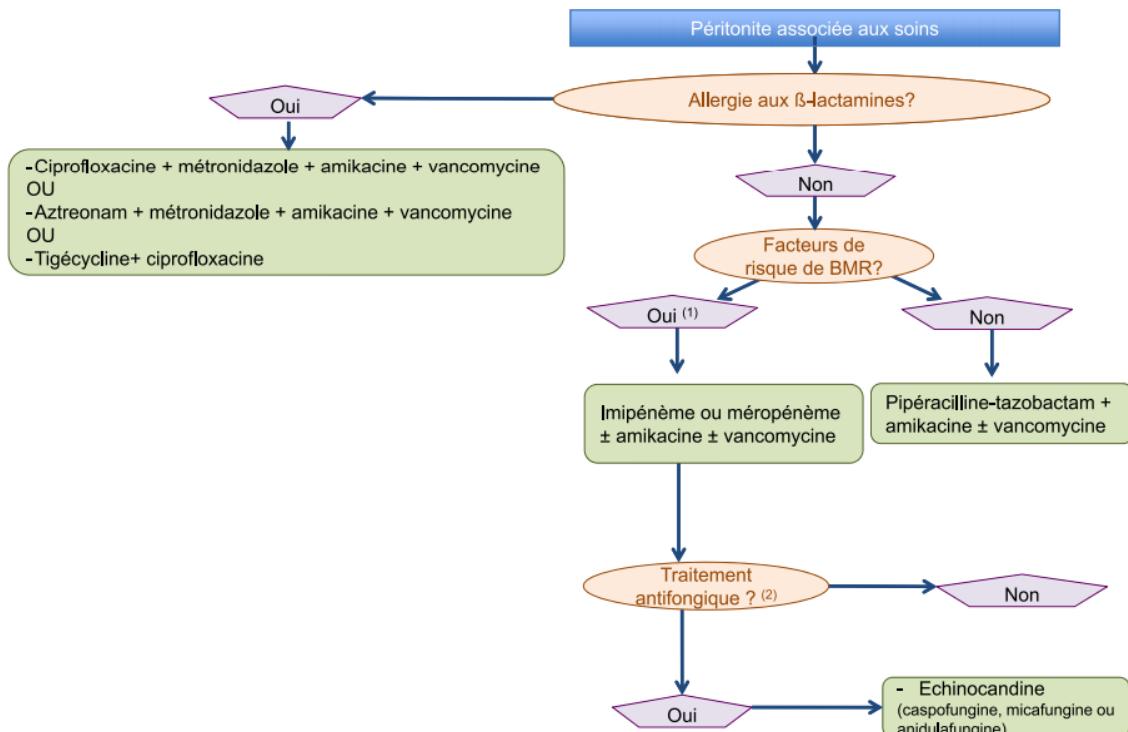


Figure 4 : Schéma thérapeutique proposé par la SFAR en cas de péritonite communautaire

Le rôle pathogène des entérocoques et des levures est encore discuté aujourd'hui dans les péritonites communautaires. Ainsi, en l'absence de signes de gravité, il ne faut probablement pas les prendre en compte dans le spectre du traitement probabiliste sauf terrains particuliers (immunodéprimés, transplantés, MICI, et sujets âgés) (40,41). Les entérocoques sont naturellement résistants aux céphalosporines du fait de leur PLP5 particulière. Par ailleurs,

Enterococcus faecium est résistant à l'Amoxicilline, et donc à l'ensemble des bêta-lactamines, dans environ 50% des cas. Les bêta-lactamines étant les antibiotiques de choix dans le traitement probabiliste des péritonites, *E. faecium* est susceptible d'échapper à cette thérapeutique.



(1) Selon les défis dans la recommandation R42

(2) Selon les critères de traitement définis dans les recommandations R15 (probabiliste) et R41 (probabiliste ou définitif)

Figure 5 : Schéma thérapeutique proposé par la SFAR en cas de péritonite associée aux soins

Concernant le traitement des levures, il faut probablement instaurer un traitement antifongique dans les formes graves si au moins 3 des critères parmi les éléments suivants sont retrouvés : défaillance hémodynamique, sexe féminin, chirurgie sus-mésocolique, antibiothérapie depuis plus de 48 heures (42).

Cependant, il n'existe aucune preuve définitive montrant que toutes les bactéries isolées doivent être prises en compte dans le traitement anti-infectieux des IIA communautaires. Mis à part chez les patients les plus sévères en état de choc septique, la nécessité d'adapter secondairement l'antibiothérapie n'est pas non plus formellement démontrée.

4. Augmentation de la résistance aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques constitue un des trois plus importants problèmes de santé publique du 21^{ème} siècle selon l'OMS (43). On estime que d'ici 2050, l'antibiorésistance causera 300 millions de cas de mort prématurée et entraînera une perte de plus de 100 000 milliards de dollars à l'économie mondiale (44).

Parmi l'ensemble des mécanismes de résistance aux antibiotiques, on en distingue deux types principaux : les mécanismes impliquant des gènes chromosomiques, qui ne sont pas transférables d'une bactérie à l'autre, et ceux impliquant des gènes plasmidiques, qui peuvent être responsables d'épidémies du fait du transfert horizontal de leur gène à d'autres bactéries. Ainsi, les entérobactéries peuvent être porteuses de plasmides avec des gènes codant pour des résistances aux antibiotiques et notamment aux bêta-lactamines. Celles-ci font l'objet d'une surveillance épidémiologique et de mesures de prévention : elles sont appelées entérobactéries productrices de bêta-lactamase de spectre étendu (EBLSE) lorsque la résistance touche au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération ou entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) lorsque la résistance touche les carbapénèmes par production d'une carbapénémase.

Le programme européen de surveillance des résistances aux antibiotiques (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends : SMART) des bactilles à Gram négatif spécifiques aux IIA a retrouvé en 2008 environ 11,6% d'*Escherichia coli* et 17,9% des *Klebsiella pneumoniae* producteurs de BLSE. Entre 2011 et 2013, ce sont 15,6% des *Escherichia coli* et 17,9% des *Klebsiella pneumoniae* qui sont producteurs de BLSE dans les unités de soins intensifs (USI) et 0,2% des *Escherichia coli* et 13,2% des *Klebsiella pneumoniae* qui produiraient une carbapénémase (45,46). Une étude datant de 2018 retrouve sur 3534 germes isolés de liquides péritonéaux environ 4,1% d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (47). Une étude française a retrouvé environ 14% d'entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) chez

des patients atteints de péritonite nosocomiale et traités par antibiotiques avant l'infection péritonéale (48).

Les BLSE sont des enzymes qui confèrent une résistance ou une diminution de l'activité à une large gamme de bêta-lactamines dont les agents à spectre étendu comme les uréidopénicillines, et les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème} et 4^{ème} génération, ainsi que le monobactame (aztréonam). Il en existe plus de 200 différentes : les plus fréquentes sont de type CTX-M, TEM et SHV. Ainsi, sur l'ensemble des BLSE, le travail du réseau SMART 2011-2013 a montré qu'environ 92% des souches d'*Escherichia coli* productrices de BLSE isolées dans les USI étaient de type CTX-M (46).

Les carbapénèmases sont des enzymes qui confèrent une résistance ou une diminution de l'activité vis-à-vis des carbapénèmases. Chez les entérobactéries, la plupart des carbapénèmases sont portées par des plasmides (49). Elles sont responsables d'impasses thérapeutiques du fait de la résistance à la quasi-totalité des bêta-lactamines et des résistances fréquentes associées aux autres familles d'antibiotiques portées par les plasmides (50). Là encore, les carbapénèmases sont très diverses. Les plus fréquentes d'un point de vue clinique sont les KPC, les métallo-enzymes NDM/IMP/VIM et les OXA-48.

La hausse du nombre de BLSE a conduit à une augmentation des antibiothérapies à large spectre et notamment à une augmentation de l'utilisation des carbapénèmases. Le corollaire à cela est une augmentation des souches d'EPC. Ainsi, l'émergence de bactéries multi-résistantes (BMR) et hautement résistantes (BHR) a compliqué la prise en charge des IIA et notamment celle des péritonites. Le retard à l'instauration d'une antibiothérapie efficace, engendré par cette situation, est responsable d'une surmortalité (8). Dans ce contexte, il est primordial de pouvoir adapter l'antibiothérapie (escalade ou désescalade thérapeutique) le plus rapidement possible. La mise en place d'outils de diagnostic microbiologique fiables et rapides pourrait permettre de raccourcir ces délais d'adaptation de l'antibiothérapie (1).

5. Prise en charge des liquides péritonéaux au laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers

La prise en charge des liquides péritonéaux, au laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers, se fait par culture standard sur des milieux différents (**Figure 6**) ensemencés chacun de façon automatisée avec 30 µL de prélèvement par l'automate WASP® (BioMérieux®, Marcy l'étoile, France). Trois milieux différents sont utilisés :

- **Gélose au sang supplémentée en acide nalidixique et colistine** (CNA, BioMérieux®) incubée en anaérobiose, rendue après 5 jours d'incubation. Elle permet l'isolement sélectif des bactéries Gram positif exigeantes, en inhibant la croissance de la plupart des bactéries à Gram négatif (51). L'atmosphère en anaérobiose permet la croissance des germes anaérobies, notamment les *Bacteroides* qui sont des bacilles Gram négatif capables de pousser sur la gélose CNA.
- **Gélose chromogène** (CPSO, BioMérieux®) incubée en aérobiose, rendue après 5 jours d'incubation (52). Elle permet notamment l'isolement et l'identification présumptive des principales entérobactéries et des entérocoques, ainsi que l'isolement des levures et des bacilles à Gram négatif non-fermentants de l'environnement, comme *Pseudomonas aeruginosa*.
- **Gélose sélective BLSE** (BLSE, BioMérieux®), contenant un milieu de Drigalski supplémenté en Céfotaxime et un milieu de Mac Conkey supplémenté en Ceftazidime, incubée en aérobiose et rendue après 24 heures d'incubation. Les milieux de Drigalski et de Mac Conkey sont des milieux d'isolement lactosé, sélectifs des bacilles à Gram négatif non-exigeants, car ils contiennent des inhibiteurs de la croissance des bactéries

à Gram positif. La gélose BLSE est un milieu utilisé pour l'isolement et l'identification présumptive des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), que ce soit par production d'une céphalosporinase de haut niveau ou déréprimée, par production d'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) ou par imperméabilité. Elle permet également l'isolement d'autres bacilles à Gram négatif résistants aux C3G (53).



Figure 6 : Gélose BLSE, Gélose CNA et Gélose CPSE

Les cultures sont interprétées selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie (SFM). Les bactéries d'intérêt sont identifiées par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Vitek MS[®], BioMérieux). Les antibiogrammes sont réalisés par micro-dilution en milieu liquide (Vitek2[®], BioMérieux) ou par diffusion en milieu gélosé, selon le type de germe. Les résultats des antibiogrammes sont interprétés conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM), en collaboration avec l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Concernant les entérobactéries isolées et identifiées sur la gélose BLSE, des techniques complémentaires sont effectuées afin de confirmer et de préciser le mécanisme de résistance aux C3G, principalement pour différencier la production d'une BLSE de celle d'une céphalosporinase.

En 2020, au CHU d'Angers, il y a eu 410 envois de liquides péritonéaux dont 162 positifs en culture microbiologique standard.

6. Présentation du panel FilmArray Biofire® BCID2

6.1. Principe du test

La technologie FilmArray® utilise le principe de la PCR multiplexe permettant la détection de cibles d'ADN multiples contenues dans des échantillons cliniques. Il existe actuellement 5 panels différents : le panel « Respiratory » pour le diagnostic syndromique des infections respiratoires aiguës, le panel « Pneumonia » pour le diagnostic syndromique des infections respiratoires basses, le panel « Gastrointestinal », le panel « Meningitis/Encephalitis » et le panel « Blood Culture Identification » 2 (BCID2).

Le panel BCID2 (version 2 du kit - BioMérieux®) (54) est un test de PCR multiplexe qui s'emploie avec les systèmes BioFire® FilmArray® 2.0 ou BioFire® FilmArray® Torch (**Figure 7**). Le panel FilmArray BioFire® BCID2 permet la détection et l'identification qualitatives simultanées de plusieurs acides nucléiques de bactéries et de levures et de certains déterminants génétiques liés à la résistance aux antibiotiques directement à partir du flacon d'hémoculture positive.



Figure 7 : Systèmes BioFire® FilmArray® 2.0 ou BioFire® FilmArray® Torch

6.2. Cibles du panel FilmArray BioFire® BCID2

Le panel FilmArray BioFire® BCID2 détecte 33 pathogènes (26 bactéries et 7 levures) et permet également la détection de 10 déterminants génétiques de la résistance aux antibiotiques suivants :

- méthicilline avec les cibles *mecA/C* et *mecA/C* avec *MREJ* ;
- vancomycine avec les cibles *vanA* et *vanB* ;
- bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactames et carbapénèmes) avec les cibles *blaCTX-M*, *blaIMP*, *blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA48-like*, *blaVIM* ;
- colistine avec la cible *mcr-1*.

La **Figure 8** présente les 43 cibles détectées par le panel FilmArray BioFire® BCID2.

L'automate ne rapporte les gènes de résistance que dans le cas où au moins une bactérie concernée soit également détectée.

Gram Positive Bacteria				
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Streptococcus</i> spp.		
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> (Group B)		
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>		
	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i> (Group A)		
Gram Negative Bacteria				
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex	<i>Enterobacteriales</i>			
<i>Bacteroides fragilis</i>		<i>Enterobacter cloacae</i> complex		
<i>Haemophilus influenzae</i>		<i>Escherichia coli</i>		
<i>Neisseria meningitidis</i>		<i>Klebsiella aerogenes</i>		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Klebsiella oxytoca</i>		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		<i>Klebsiella pneumoniae</i> group		
		<i>Proteus</i> spp.		
		<i>Salmonella</i> spp.		
		<i>Serratia marcescens</i>		
Yeast				
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida krusei</i>	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>		
<i>Candida auris</i>	<i>Candida parapsilosis</i>			
<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida tropicalis</i>			
Antimicrobial Resistance Genes				
CTX-M	KPC	<i>mecA/C</i>	NDM	<i>vanA/B</i>
IMP	<i>mcr-1</i>	<i>mecA/C</i> and <i>MREJ</i> (MRSA)	OXA-48-like	VIM

Figure 8 : Cibles détectées par le panel FilmArray BioFire® BCID2

La **Figure 9** présente les associations pathogènes/gènes de résistances que l'automate peut rendre avec le panel FilmArray BioFire® BCID2.

BioFire BCID2 Panel		<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	Complexe <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i>	<i>Enterobacteriales</i>	Complexe <i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i>	Groupe <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus</i> spp.	<i>Salmonella</i> spp.	<i>Serratia marcescens</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Résultat du gène de résistance																
<i>vanA/B</i>	×	×															
<i>mecA/C</i>				×	×												
<i>mecA/C et MREJ (MRSA)</i>			×														
<i>mcr-1</i>								×	×	×	×	×	×		×	×	
CTX-M						×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
IMP						×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
KPC						×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
NDM						×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×
OXA-48-like							×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	
VIM							×	×	×	×	×	×	×	×	×	×	×

Figure 9 : Bactéries concernées pour chaque gène de résistance

6.3. Étapes techniques du test

Le temps de réalisation technique est d'environ 5 minutes. La **Figure 10** présente les différentes étapes de la technique :

1. Préparation de la cassette :

- Insérer la cassette sur la station de chargement
- Placer le flacon échantillon dans le puits rouge
- Placer le flacon d'hydratation dans le puits bleu

2. Hydratation de la cassette :

- Dévisser le flacon d'hydratation
- Insérer le flacon dans le port d'hydratation de la cassette

3. Préparation de l'échantillon :

- Ouvrir l'opercule du tampon de l'échantillon
- Verser le tampon dans le flacon échantillon

- c) Prélever 200 µL d'échantillon depuis le flacon d'hémoculture positive
 - d) Ajouter les 200 µL d'échantillon au flacon échantillon
 - e) Refermer le flacon et homogénéiser par retournement
4. Chargement de l'échantillon préparé :
- Dévisser le flacon échantillon
 - Insérer le flacon dans le port d'échantillon de la cassette

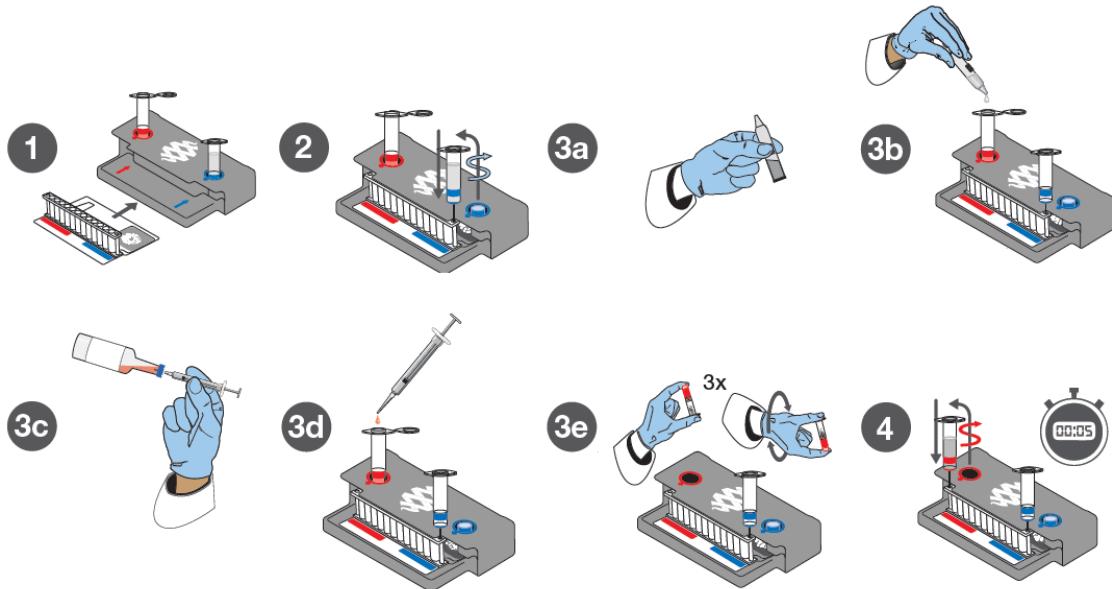


Figure 10 : Étapes techniques du panel FilmArray BioFire® BCID2

La cassette du panel FilmArray BioFire® BCID2 est un système fermé jetable qui contient tous les réactifs nécessaires à l'analyse. La **Figure 11** détaille les différents compartiments de la cassette.

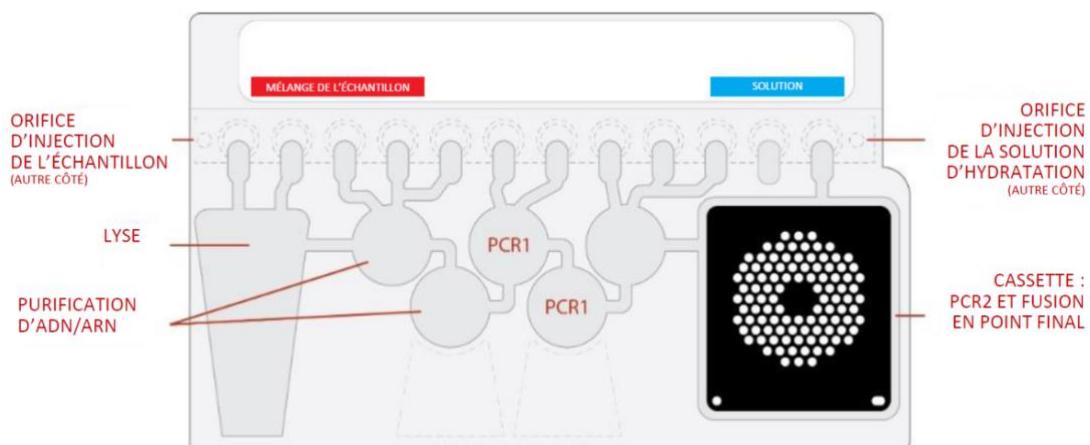


Figure 11 : Détails de la cassette du panel FilmArray BioFire® BCID2

La cassette est ensuite introduite dans le système BioFire® FilmArray® et l'automate réalise l'ensemble des étapes nécessaires à l'analyse, qui dure environ 1 heure :

- Lyse de l'échantillon par agitation (broyage avec billes) en plus de la lyse chimique réalisée par le tampon de l'échantillon ;
- Extraction et purification des acides nucléiques de l'échantillon à l'aide d'une technologie utilisant des billes magnétiques ;
- Réaction de PCR multiplexe nichée :
 - en premier, une seule réaction massivement multiplexée en large volume (PCR1) ;
 - puis en deuxième temps, des réactions de PCR individuelles (PCR2) pour amplifier les séquences présentes dans les produits de PCR1.
- Utilisation des données de la courbe de fusion finale pour détecter et générer un résultat pour chaque cible présente sur la matrice du panel FilmArray BioFire® BCID2.

6.4. Contrôles internes

Chaque cassette contient deux contrôles internes qui doivent être positifs pour que l'analyse soit valide :

- **DNA Process Control** : un contrôle du traitement de l'ADN qui cible un produit de transcription d'ADN provenant de la levure *Schizosaccharomyces pombe* (lyophilisée dans la cassette et réhydratée lors de l'ajout de l'échantillon). Ce contrôle passe par toutes les étapes du processus de test, notamment la lyse, la purification des acides nucléiques, la première PCR, la dilution, la deuxième PCR et la fusion de l'ADN. Un résultat positif de ce contrôle indique le déroulement correct de toutes les étapes effectuées par le panel FilmArray BioFire® BCID2.

- **PCR2 Control** : un contrôle de la deuxième PCR qui détecte une cible d'ADN lyophilisée dans chaque puits de la matrice. Un résultat positif indique que la deuxième PCR s'est déroulée correctement.

6.5. Interprétation du test

Le logiciel BioFire® évalue la courbe de fusion de l'ADN pour chaque puits de la barrette PCR2 pour déterminer si un produit de PCR est présent dans ce puits. Si le profil de fusion indique la présence d'un produit de PCR, le logiciel d'analyse calcule alors la température de fusion (Tf) de la courbe, puis la compare à la plage de Tf attendue pour le test. Si le logiciel détermine que la température de fusion se situe dans la plage de Tf spécifique du test, la courbe de fusion est considérée comme positive, négative le cas échéant.

Une fois les courbes de fusion positives identifiées, le logiciel évalue les répétitions de chaque test pour déterminer le résultat du test. Pour qu'un test soit considéré comme positif, deux courbes de fusion associées doivent être considérées comme positives, et les deux Tf doivent être similaires. Les tests qui ne satisfont pas à ces critères sont considérés comme négatifs.

La **Figure 12** correspond à un exemple de courbes de fusion positives pour la cible *Bacteroides fragilis* : en ordonnée est représentée l'intensité de fluorescence, en abscisse la température de fusion.

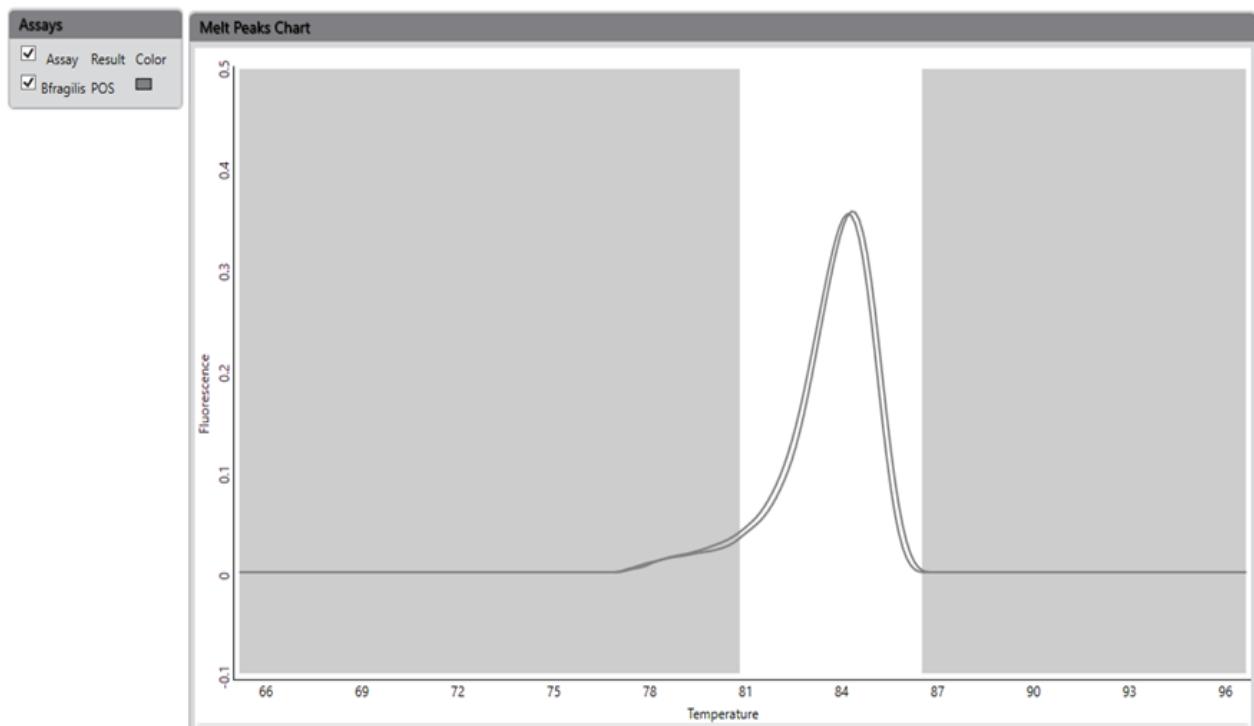


Figure 12 : Exemple de courbes de fusion positives du panel FilmArray BioFire® BCID2

6.6. Limite de détection

Pour rappel, le panel FilmArray BioFire® BCID2 a pour indication l'identification de certaines bactéries/levures (et gènes de résistance) à partir de flacons d'hémoculture positive. La limite de détection a été déterminée par le fournisseur, par dilution en série sur au moins 20 réplicats de chaque pathogène détecté par le panel. Elle a été fixée quand au moins 95% des réplicats étaient détectés. Elles vont de $1,0 \times 10^2$ UFC/mL (pour *Candida glabrata*) à $1,0 \times 10^6$ UFC/mL (pour *Stenotrophomonas maltophilia*). Le fournisseur a également vérifié et confirmé que les marqueurs de résistance aux antibiotiques étaient détectés à la limite de détection des bactéries concernées. Le **Tableau 3** présente, pour chaque cible de pathogène, la limite de détection exprimée en UFC/mL. Les concentrations de bactéries correspondant aux limites de détection sont environ 30 à 200 000 fois plus faibles que les concentrations de bactéries retrouvées dans les flacons d'hémocultures positives.

Tableau 3 : Limite de détection des cibles détectées par le panel FilmArray BioFire® BCID2

BioFire BCID2 Panel Analyte	Organism [AMR Gene] Tested	Isolate ID	LoD Concentration (CFU/mL)
Gram Positive Bacteria			
<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i> [<i>vanB</i>]	ATCC 51299	1.0E+05
<i>Enterococcus faecium</i>	<i>Enterococcus faecium</i> [<i>vanA</i>]	ATCC 7002211	1.0E+05
<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC 15313	1.0E+04
<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Staphylococcus hominis</i>	ATCC 25615	1.0E+05
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> [<i>mecA</i>]	ATCC BAA-38	
	<i>Staphylococcus aureus</i> [<i>mecC</i>]	ATCC BAA-2313	1.0E+04 ^a
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i> [<i>mecA</i>]	ATCC 35984	1.0E+05
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	ATCC 43809	1.0E+04
<i>Streptococcus</i> spp.	<i>Streptococcus mitis</i>	ATCC 49456	1.0E+04
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i>	ATCC 13813	5.0E+04
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	ATCC 6303	5.0E+03
<i>Streptococcus pyogenes</i>	<i>Streptococcus pyogenes</i>	ATCC 49399	5.0E+03
Gram Negative Bacteria			
<i>Acinetobacter calcaceticus-baumannii</i> complex	<i>Acinetobacter baumannii</i> [NDM]	CDC-FDA AR Bank #0033	5.0E+03
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Bacteroides fragilis</i>	ATCC 25285	1.0E+04
<i>Enterobacteriales</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	ATCC 8090	
	<i>Morganella morganii</i>	ATCC 25830	1.0E+05
	<i>Serratia plymuthica</i>	ATCC 183	
<i>Enterobacter cloacae</i> complex	<i>Enterobacter cloacae</i> [VIM]	CDC-FDA AR Bank #0154	1.0E+05
<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i> [<i>mcr-1</i>]	CDC-FDA AR Bank #0350	5.0E+05
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Haemophilus influenzae</i>	ATCC 10211	1.0E+04
<i>Klebsiella aerogenes</i>	<i>Klebsiella aerogenes</i> [OXA-48-like]	CDC-FDA AR Bank #0074	1.0E+05
<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>Klebsiella oxytoca</i> [CTX-M]	GRE 1254054	1.0E+05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> group	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	ATCC 13883	5.0E+04
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Neisseria meningitidis</i>	ATCC 13090	1.0E+03
<i>Proteus</i> spp.	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC 29906	5.0E+05
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> [IMP]	CDC-FDA AR Bank #0092	1.0E+04
<i>Salmonella</i> spp.	<i>Salmonella enterica</i>	ATCC 700720	5.0E+04
<i>Serratia marcescens</i>	<i>Serratia marcescens</i> [KPC]	JMI 697	1.0E+05
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	ATCC 700475	1.0E+06
Yeast			
<i>Candida albicans</i>	<i>Candida albicans</i>	ATCC 90028	1.0E+03
<i>Candida auris</i>	<i>Candida auris</i>	CDC-FDA AR Bank #0381	1.0E+03
<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	ATCC 15545	1.0E+02
<i>Candida krusei</i>	<i>Candida krusei</i>	ATCC 28870	5.0E+03
<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	ATCC 34136	1.0E+04
<i>Candida tropicalis</i>	<i>Candida tropicalis</i>	ATCC 201380	1.0E+04
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	<i>Cryptococcus gattii</i>	ATCC MYA-4877	
	<i>Cryptococcus neoformans</i>	ATCC MYA-4564	5.0E+02

6.7. Coût d'un test avec le panel FilmArray BioFire® BCID2

D'après le référentiel des actes innovants hors nomenclature, le coût d'un test avec le panel FilmArray BioFire® BCID2 est de 270 euros (N156 RIHN).

7. Contexte de l'étude

De plus en plus de nouvelles techniques reposant sur des PCR multiplexes voient le jour pour le diagnostic microbiologique en pratique clinique. Ces panels dits « syndromiques » sont développés en fonction de la pathologie, des principaux germes impliqués ou d'intérêt et du type d'échantillon à analyser. Ces outils permettent en général un rendu de résultat en quelques heures, en comparaison de la culture qui peut mettre plusieurs jours pour l'obtention de résultats.

Parmi les techniques de diagnostic rapide, celle utilisant le panel FilmArray BioFire® BCID2 pourrait être un outil intéressant pour le diagnostic microbiologique des IIA. Ce panel a été commercialisé récemment pour identifier des pathogènes majeurs à partir d'hémocultures positives. Celui-ci pourrait être adapté pour la détection précoce des bactéries pathogènes impliquées dans les IIA, il n'a cependant pas d'indication pour une utilisation en dehors des hémocultures.

L'objectif de la présente étude est d'évaluer les performances du panel FilmArray BioFire® BCID2 dans le diagnostic microbiologique des IIA en comparaison de la culture standard.

MATERIELS ET METHODES

1. Type d'étude

Ce travail non-interventionnel, avec réutilisation secondaire d'échantillons issus du soin, est une étude descriptive, exploratrice et monocentrique. La prise en charge des patients n'a pas été modifiée.

Les examens microbiologiques (examen direct, culture, identification, antibiogrammes...) des liquides péritonéaux ont été réalisés dans le cadre du soin, sans aucune modification de la démarche diagnostique habituelle. En parallèle, le panel FilmArray BioFire® BCID2 a été utilisé sur un aliquot de 200 µL de liquide péritonéal préalablement congelé à -20°C au laboratoire et testé à distance des analyses de routine.

Cette étude a été approuvée par le comité d'éthique du CHU d'Angers, France (référence n°2021-063). Le projet a par ailleurs été enregistré à la CNIL sous la référence ar21-0034v0 le 20/04/2021.

2. Échantillons cliniques et collection des données

Cette étude a été menée de février à août 2021 au laboratoire de Bactériologie-Hygiène du CHU d'Angers. Les liquides péritonéaux des patients hospitalisés du CHU d'Angers ont été collectés. Les critères d'inclusion de cette étude étaient l'hospitalisation pour suspicion d'infection intra-abdominale avec envoi d'un liquide péritonéal au laboratoire de Bactériologie pour analyse microbiologique. Les prélèvements retenus ont été les liquides péritonéaux ayant une culture standard positive à au moins un germe. Les critères d'exclusion étaient les patients sous tutelle, le décès dans les 24 heures suivant l'admission (y compris les prélèvements multi-organes), les patients âgés de moins de dix-huit ans ou l'opposition du patient à la collecte des données.

Au total, 40 échantillons de liquide péritonéal ont été analysés en parallèle par culture bactériologique standard et par le système FilmArray® en utilisant le panel FilmArray BioFire® BCID2. Au cours de cette étude, les données cliniques et biologiques recueillies ont été les suivantes :

- des données démographiques (âge, sexe, poids, taille) ;
- les paramètres nécessaires au calcul du score IGS II à l'admission ;
- la date d'admission au CHU et la date du prélèvement ;
- la présence d'autres prélèvements bactériologiques positifs (hémocultures, LCR, etc.) ;
- la présence de prélèvements péritonéaux antérieurs ;
- si le prélèvement a été effectué sous antibiothérapie ;
- l'antibiothérapie probabiliste, puis secondairement adaptée en fonction des résultats de la culture ;
- l'échec ou non du traitement de l'infection intra-abdominale (reprise chirurgicale, drainage ou décès).

Les données cliniques ont été recueillies sur M-CrossWay v8.2.6R6.0 (Copyright© Maincare Solutions 2015). Les données biologiques sont issues de GLIMS édité par la société MIPS (V8.7.11), le logiciel métier du Pôle de Biologie.

3. Culture bactérienne standard

La culture bactérienne standard a été réalisée selon la démarche décrite dans le chapitre 5 de l'Introduction. Elle constitue dans notre étude le gold-standard pour évaluer les performances diagnostiques du panel FilmArray BioFire® BCID2. Pour cette étude, les germes identifiés ont été évalués de façon semi-quantitative en 5 catégories différentes afin de comparer la sensibilité du test sur les liquides péritonéaux par rapport à son utilisation sur des flacons d'hémoculture positive. Ces catégories sont les germes présents :

- à moins de 5 colonies pour 30 µL : soit moins de $1,7 \times 10^2$ UFC/mL ;
- entre 5 et 10 colonies pour 30 µL : soit entre $1,7 \times 10^2$ et $3,3 \times 10^2$ UFC/mL ;
- entre 10 et 25 colonies pour 30 µL : soit entre $3,3 \times 10^2$ et $8,3 \times 10^2$ UFC/mL ;
- entre 25 et 50 colonies pour 30 µL : soit entre $8,3 \times 10^2$ et $1,7 \times 10^3$ UFC/mL ;
- à plus de 50 colonies pour 30 µL : soit plus de $1,7 \times 10^3$ UFC/mL.

4. Panel FilmArray BioFire® BCID2

L'analyse avec le panel FilmArray BioFire® BCID2 a été réalisée conformément aux instructions du fabricant en utilisant 200 µL de liquide péritonéal. Les échantillons n'ont pas été centrifugés préalablement. Ils ont été conservés à -20°C jusqu'à réalisation du test.

5. Analyse statistique des résultats

Les résultats des deux techniques ont été analysés en utilisant le coefficient kappa de Cohen. Les données ont été traitées avec Python 3.8. L'accord entre la culture et le panel FilmArray BioFire® BCID2 a été considéré comme très bon pour un kappa compris entre 81 et 100% et comme bon pour des valeurs comprises entre 61 et 80% (55).

Nous avons comparé les résultats d'identification bactérienne et fongique entre la culture standard, considérée dans cette étude comme la technique de référence, et le panel FilmArray BioFire® BCID2. Un résultat a été considéré comme un vrai positif (VP) ou un vrai négatif (VN) lorsque les résultats entre la culture et le panel FilmArray BioFire® BCID2 étaient identiques. Un résultat obtenu par culture et non par le panel FilmArray BioFire® BCID2 a été considéré comme un faux négatif (FN). Inversement, un résultat obtenu par le panel FilmArray BioFire® BCID2 et non par la culture a été considéré comme un faux positif (FP). Les pathogènes rendus à la culture standard n'appartenant pas aux cibles du panel FilmArray BioFire® BCID2 ont été considérés comme des faux négatifs (FN). Pour chaque discordant (FP ou FN), l'aliquot qui a servi à réaliser l'analyse avec le panel FilmArray BioFire® BCID2 a été réensemencé pour confirmer la présence ou l'absence du pathogène discordant ; dans certains cas, des techniques complémentaires ont été utilisées.

Du fait de la pertinence de ne pas identifier toutes les bactéries en culture standard, mais seulement celles d'intérêts, certains ajustements dans l'analyse de la concordance ont été faits, notamment :

- Quand une flore aéro-anaérobie a été rendue à la culture, les *Streptococcus spp* détectés par le panel FilmArray BioFire® BCID2 ont été considérés comme vrais positifs (VP) ;
- Les *Bacteroides fragilis* détectés par le panel FilmArray BioFire® BCID2 alors que la culture a rendu un *Bacteroides spp* ou une autre espèce de *Bacteroides*, ont été considérés comme vrais positifs (VP) ;
- La cible *Proteus spp* a été considérée comme vrai positif (VP) si à la culture au moins une identification comprenait *Proteus mirabilis* ;
- Toute entérobactérie rendue en culture et n'ayant pas de cible spécifique avec le panel FilmArray BioFire® BCID2 est considérée comme FN.

La sensibilité (Se) a été calculée par $100 \times [VP/(VP+FN)]$ et la spécificité (Sp) par $100 \times [VN/(VN+FP)]$. La valeur prédictive positive (VPP) a été calculée par $100 \times [VP/(VP+FP)]$ et la valeur prédictive négative par $100 \times [VN/(VN+FN)]$. Les intervalles de confiance à 95% ont été calculés pour chacun des paramètres.

RESULTATS

1. Population étudiée

Un total de 40 prélèvements provenant de 35 patients a été inclus dans l'étude. La **Figure 13** présente la répartition des patients en fonction du service dans lequel ils ont été pris en charge. Ainsi, la majorité des patients ont été hospitalisés soit dans le service de Chirurgie viscérale, soit dans le service de Réanimation chirurgicale du CHU d'Angers.

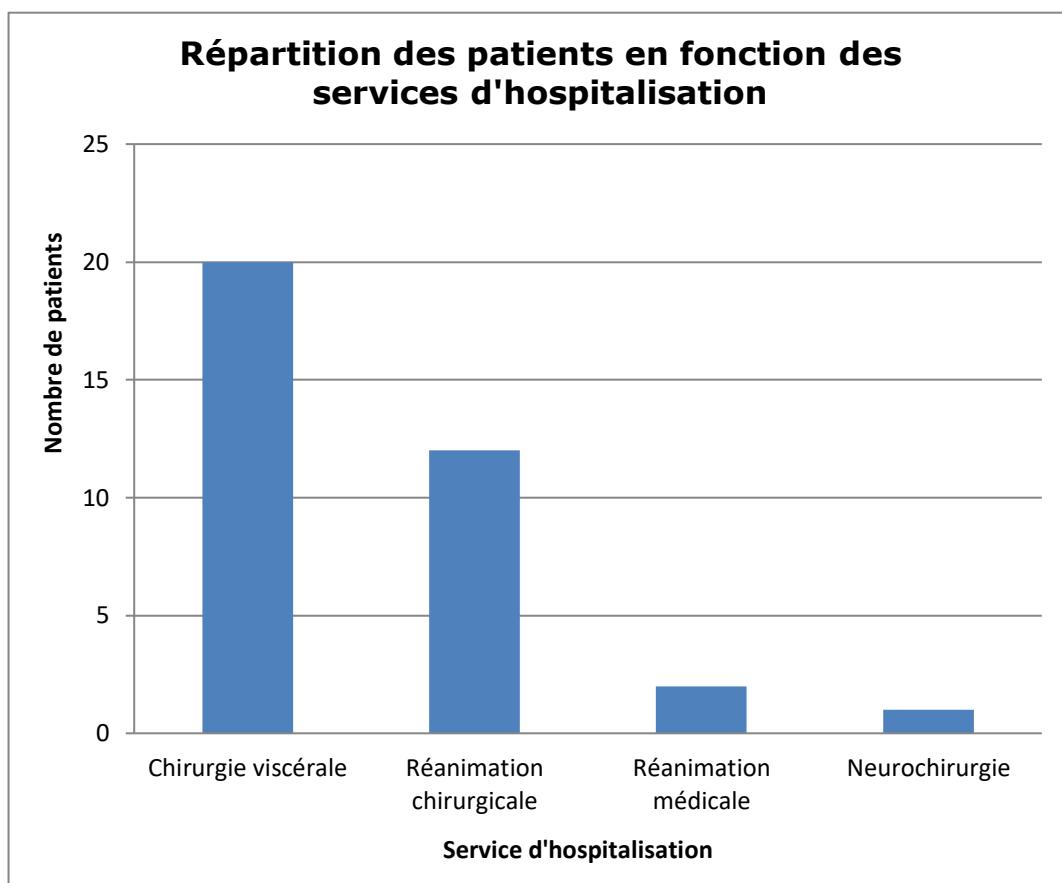


Figure 13 : Répartition des patients en fonction des services d'hospitalisation

Le type de péritonite le plus fréquent était le type 2 (87,5%) suivi du type 3 (10%) et du type 1 (2,5%), comprenant 40% de péritonites nosocomiales et 60% de péritonites communautaires (**Figure 14**).

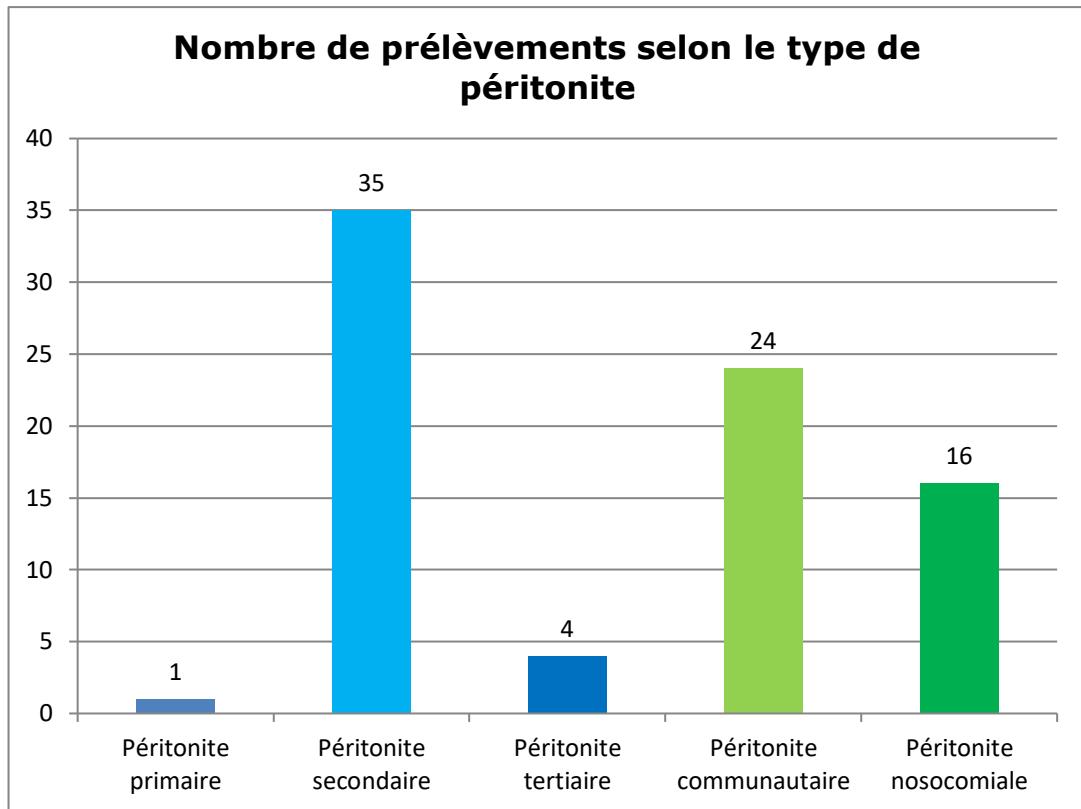


Figure 14 : Nombre de prélèvements selon le type de péritonite

L'âge moyen des patients était de $60 \text{ ans} \pm 20 \text{ ans}$, avec un sex-ratio H/F de 1,69. Le score IGS II moyen avant l'instauration de l'antibiothérapie probabiliste était de 32 ± 15 . Par ailleurs, 50% des patients avaient reçu une antibiothérapie dans les jours précédant le prélèvement de liquide péritonéal. Au total, 9 patients (26%) sur les 35 inclus sont décédés. Le **Tableau 4** résume les caractéristiques de la population étudiée.

Tableau 4 : Caractéristiques de la population étudiée

Caractéristiques de la population étudiée		
	Moyenne	ET
Âge	60 ans	± 20
IMC	26	± 9
IGS II	32	± 15
	N	%
ATB avant prélèvement	20/40	50%
Sexe masculin	22/35	60%
Décès	9/35	26%

2. Résultats obtenus en culture standard et en FilmArray

Un diagramme de flux présentant les résultats de l'ensemble des cibles d'identification de cette étude ainsi qu'un tableau résumant la répartition des pathogènes retrouvés en culture standard en fonction de leur semi-quantification et de leur détection (VP) ou non (FN) par le panel FilmArray BioFire® BCID2 sont présentés en **annexe 1** et **2**.

2.1. Résultats de la culture standard

Au total, sur les 40 prélèvements étudiés, 10 levures et 118 bactéries ont été identifiées par culture standard, dont :

- 24% de bactéries à Gram positif avec une prédominance d'entérocoques (48% des bactéries à Gram positif) représentées principalement par *Enterococcus faecalis* (67% des Entérocoques) ;
- 68% de bactéries à Gram négatif, avec une prédominance d'entérobactéries (57% des bactéries Gram négatif), dont principalement *Escherichia coli* (50% des Entérobactéries) ;
- 8% de levures, avec une majorité de *Candida albicans* (70%) ;
- Les anaérobies représentaient 21% des germes isolés, avec une prédominance du groupe *Bacteroides fragilis* (63% des anaérobies).

Trois bactéries identifiées sur les 50 entérobactéries isolées en culture étaient productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) et 1 d'entre elles productrice d'une carbapénémase de type NDM. La **Figure 15** représente la répartition des germes et gènes de résistance détectés en culture microbiologique standard sur les 40 prélèvements analysés dans l'étude.

Culture microbiologique standard

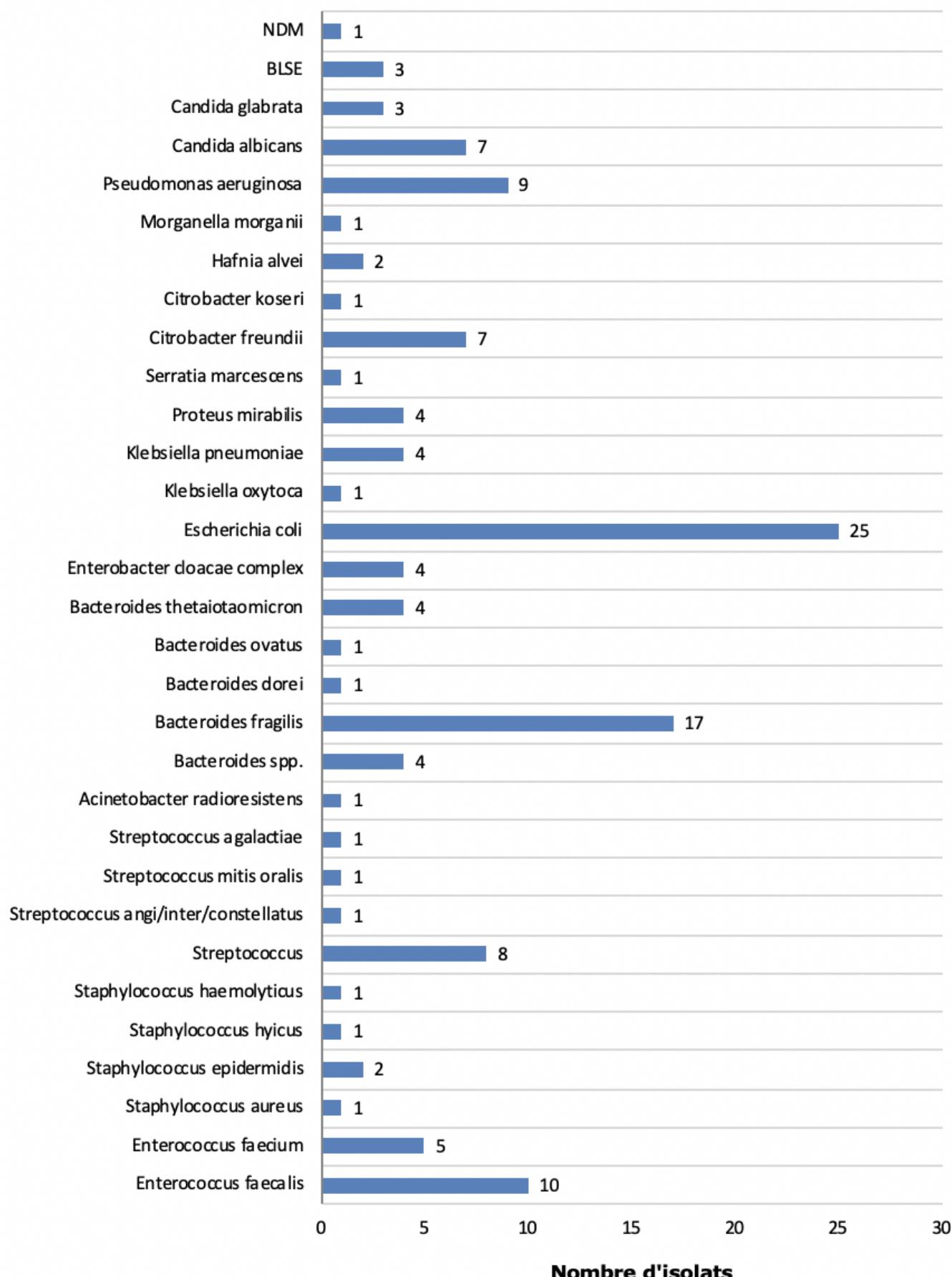


Figure 15 : Répartition des germes/gènes de résistance retrouvés en culture sur les 40 prélèvements analysés

2.2. Résultats du panel FilmArray BioFire® BCID2

La **Figure 16** représente la répartition des pathogènes détectés par le panel FilmArray BioFire® BCID2 sur les 40 échantillons. Un résultat positif a été obtenu par le panel FilmArray BioFire® BCID2 pour l'ensemble des 40 liquides péritonéaux (100%). Au total, 104 bactéries et 10 levures ont été identifiées par ce test de biologie moléculaire, dont :

- 33% de bactéries à Gram positif avec une prédominance de *Streptococcus spp* (55% des bactéries à Gram positif), suivi du genre *Enterococcus spp* (37%) ;
- 58% de bactéries à Gram négatif avec une prédominance d'entérobactéries (52% des bactéries à Gram négatif) dont principalement *Escherichia coli* (63% des entérobactéries) ;
- 9% de levures, avec une majorité de *Candida albicans* (70%) ;
- *Bacteroides fragilis* représentait 20% des germes détectés.

Au total, 6 marqueurs de résistance aux antibiotiques ont été détectés par le panel FilmArray BioFire® BCID2 sur les 40 échantillons :

- 3 CTX-M ;
- 1 NDM ;
- 1 mecA/C ;
- 1 vanA/B.

Panel FilmArray BioFire® BCID2

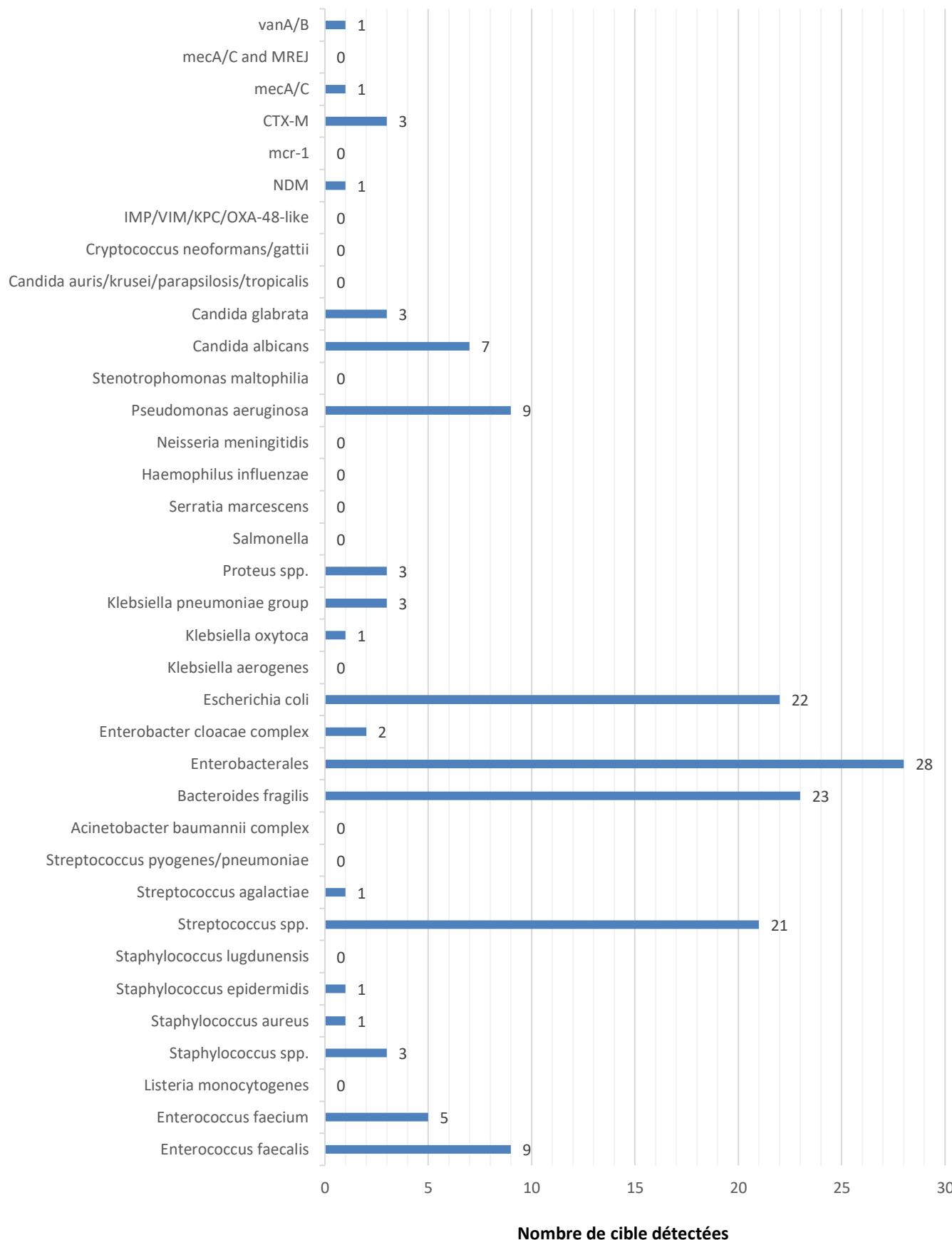


Figure 16 : Répartition des cibles détectées par le panel BioFire® BCID2 sur les 40 prélèvements analysés

2.3. Comparaison des résultats concernant les identifications

Au total, 1342 cibles (identifications bactériennes et fongiques par culture et/ou FilmArray) ont été testées pour les 40 liquides péritonéaux. Parmi elles, 1320 étaient comprises dans le panel FilmArray BioFire® BCID2 (33 cibles « identification » du panel par échantillon × 40 échantillons) et 22 cibles bactériennes hors panel, retrouvées uniquement par culture. La concordance globale entre la culture standard et le panel FilmArray BioFire® BCID2 était de 1300/1342, soit 97% :

- Il y avait 139 cibles avec un résultat positif concordant (positif en culture standard et en FilmArray). La VPP était de 97,9% (IC 95% : 94,0% - 99,3%) ;
- Il y avait 1161 cibles avec un résultat négatif concordant (négatif en culture standard et en FilmArray). La VPN était de 96,8% (IC 95% : 95,6% - 97,6%).

Ainsi, à propos du panel FilmArray BioFire® BCID2 :

- La sensibilité globale était de 78,1% (IC 95% : 71,5% - 83,5%) ;
- La spécificité globale de 99,7% (IC 95% : 99,2% - 99,9%).

L'accord entre les résultats de la culture standard et le panel FilmArray BioFire® BCID2 était considéré comme très bon avec un coefficient kappa de 85,3% (IC 95% : 83,4% - 87,2%).

Le **Tableau 5** présente les résultats de l'ensemble des pathogènes présents dans le panel cible par cible. Le **Tableau 6** présente le tableau de contingence et résume les données globales de performance du panel.

Tableau 5 : Résultats du panel FilmArray BioFire® BCID 2 en comparaison de la culture standard

	Culture	BCID2	Sensibilité			Spécificité			VPP			VPN		
	N	N	VP/(VP+FN)	%	IC%	VN/(VN+FP)	%	IC%	VP/(VP+FP)	%	IC%	VN/(VN+FN)	%	IC%
Enterococcus faecalis	10	9	9/10	90	59,6 - 98,2	30/30	100	88,6 - 100	9/9	100	70,1 - 100	30/31	96,8	83,8 - 99,4
Enterococcus faecium	5	5	5/5	100	56,5 - 100	35/35	100	90,1 - 100	5/5	100	56,5 - 100	35/35	100	90,1 - 100
Listeria monocytogenes	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Staphylococcus spp.	5	3	3/4	75	30,1 - 95,4	36/36	100	90,4 - 100	3/3	100	43,9 - 100	36/37	97,3	86,2 - 99,5
Staphylococcus aureus	1	1	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100
Staphylococcus epidermidis	2	1	0/2	0	0 - 65,8	38/39	97,4	86,8 - 99,6	0/1	0	0 - 79,4	38/40	95	83,5 - 98,6
Staphylococcus lugdunensis	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus spp.	8	21	21/21	100	84,5 - 100	19/19	100	83,2 - 100	21/21	100	84,5 - 100	19/19	100	83,2 - 100
Streptococcus agalactiae	1	1	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100
Streptococcus pyogenes	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Streptococcus pneumoniae	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bacteroides fragilis	17	23	23/23	100	85,7 - 100	17/17	100	81,6 - 100	23/23	100	85,7 - 100	17/17	100	81,6 - 100
Enterobacterales	31	28	28/31	90,3	75,1 - 96,7	9/9	100	70,1 - 100	28/28	100	87,9 - 100	9/12	75	46,8 - 91,1
Enterobacter cloacae complex	4	2	1/4	25	4,6 - 69,9	36/37	97,3	86,2 - 99,5	1/2	50	9,5 - 90,6	36/39	92,3	79,7 - 97,4
Escherichia coli	25	22	22/25	88	70,0 - 95,3	15/15	100	79,6 - 100	22/22	100	85,1 - 100	15/18	83,3	60,8 - 94,2
Klebsiella aerogenes	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Klebsiella oxytoca	1	1	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100	1/1	100	20,7 - 100	39/39	100	91,0 - 100
Klebsiella pneumoniae group	4	3	3/4	75	30,1 - 95,4	36/36	100	90,4 - 100	3/3	100	43,9 - 100	36/37	97,3	86,2 - 99,5
Proteus spp.	4	3	3/4	75	30,1 - 95,4	36/36	100	90,4 - 100	3/3	100	43,9 - 100	36/37	97,3	86,2 - 99,5
Salmonella	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Serratia marcescens	1	0	0/1	0	0 - 79,4	39/39	100	91,0 - 100	0/0	/	/	39/40	97,5	87,1 - 99,6
Haemophilus influenzae	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Neisseria meningitidis	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Pseudomonas aeruginosa	9	9	9/9	100	70,1 - 100	31/31	100	89,0 - 100	9/9	100	70,1 - 100	31/31	100	89,0 - 100
Stenotrophomonas maltophilia	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida albicans	7	7	6/7	85,7	48,7 - 97,4	33/34	97,1	85,1 - 99,5	6/7	85,7	48,7 - 97,4	33/34	97,1	85,1 - 99,5
Candida glabrata	3	3	3/3	100	43,9 - 100	37/37	100	90,6 - 100	3/3	100	43,9 - 100	37/37	100	90,6 - 100
Candida auris	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida krusei	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida parapsilosis	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Candida tropicalis	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cryptococcus neoformans/gattii	0	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Tableau 6 : Tableau de contingence et données globales de performance du panel FilmArray BioFire® BCID2

		Culture Standard			
		+	-	VP + FP	VN + FN
Panel FilmArray BioFire® BCID2	+	VP 139	FP 3	142	
	-	FN 39	VN 1161		1200
		VP + FN 178	VN + FP 1164	Total 1342	
Se	78,1	IC95	71,5	83,5	
Sp	99,7	IC95	99,2	99,9	
VPP	97,9	IC95	94,0	99,3	
VPN	96,8	IC95	95,6	97,6	
Coefficient Kappa	85,3	IC95	83,4	87,2	

Sur les 33 cibles « identification » de germes proposés par le panel FilmArray BioFire® BCID2, 18 ont pu être analysées car présentes en culture standard. Sur ces 18 cibles, 12 avaient une sensibilité > 80%, dont 8 avec une sensibilité de 100% (**Tableau 5**). Les cibles avec une sensibilité < 80% étaient *Staphylococcus spp.* (Se = 75%), *Staphylococcus epidermidis* (Se = 0%), *Enterobacter cloacae complex* (Se = 25%), *Klebsiella pneumoniae group* (Se = 75%), *Proteus spp.* (Se = 75%), et *Serratia marcescens* (Se = 0%). Aucune cible n'avait une spécificité < 90%. Trois des cibles n'avaient toutefois pas une spécificité à 100%, il s'agissait de *Staphylococcus epidermidis* (Sp = 97,4%), d'*Enterobacter cloacae complex* (Sp = 97,3%) et de *Candida albicans* (Sp = 97,1%).

2.4. Marqueurs de résistance aux antibiotiques

Du fait d'un faible nombre de détections concernant les cibles de résistance aux antibiotiques, la sensibilité, la spécificité, la VPP et la VPN n'ont pas été calculées. Au total, 4 marqueurs de résistance aux antibiotiques ont été mis en évidence par la culture standard chez 3 patients :

- 1 patient avec un *Escherichia coli* porteur d'une NDM et d'une BLSE ;
- 2 patients avec une *Klebsiella pneumoniae* porteuse d'une BLSE.

Pour ces 3 patients, le panel FilmArray BioFire® BCID2 a retrouvé une NDM et 3 CTX-M. Ainsi, concernant les marqueurs de résistance aux antibiotiques, il n'y a eu aucun faux négatif (FN). Un *vanA/B* et un *mecA/C* ont été détectés en plus avec le panel FilmArray BioFire® BCID2, constituant ainsi 2 faux positifs (FP).

3. Analyse des résultats discordants (FN et FP)

Dans cette étude, 39 FN et 3 FP ont été mis en évidence pour les identifications ainsi que 2 FP pour les marqueurs de résistance aux antibiotiques. Cette partie est dédiée à leur analyse et à l'explication d'au moins une partie d'entre eux.

3.1. Trois Faux Positifs pour les identifications

Les 3 FP rendus par le panel FilmArray BioFire® BCID2 pour les identifications bactériennes et fongiques sont :

- *Candida albicans* (n=1) ;
- *Enterobacter cloacae complex* (n=1) ;
- *Staphylococcus epidermidis* (n=1).

Concernant l'*Enterobacter cloacae complex* et le *Staphylococcus epidermidis*, ceux-ci n'ont pas pu être retrouvés en culture malgré le réensemencement de l'aliquot ayant servi pour effectuer l'analyse en FilmArray. Toutefois, le patient chez qui l'*Enterobacter cloacae complex* a été retrouvé avec le panel FilmArray BioFire® BCID2 était sous traitement antibiotique par Pipéracilline-tazobactam depuis 24 heures au moment du prélèvement.

Concernant *Candida albicans*, l'évaluation en FP peut être nuancée. En effet, la levure a été retrouvée à la culture mycologique sur le même prélèvement adressé au laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU d'Angers. La différence avec la culture bactériologique peut s'expliquer par la quantité de prélèvement ensemencée : en bactériologie, 30 µL sont ensemencés par boite (soit environ 90 µL au total), tandis qu'en mycologie, environ 1 mL est ensemencé, si la quantité le permet.

3.2. 22 Faux Négatifs hors panel

Parmi les 39 FN, 22 pathogènes retrouvés à la culture n'étaient pas inclus dans le panel FilmArray BioFire® BCID2. Sept d'entre eux étaient totalement hors panel et les 15 autres s'intégraient dans une des 3 cibles de genre/famille du panel (*Enterobacteriales*, *Staphylococcus spp* et *Streptococcus spp*), sans identification au rang d'espèce :

- *Acinetobacter radioresistens* (n=1 ; totalement hors panel) ;
- *Bacteroides dorei* (n=1 ; totalement hors panel) ;
- *Bacteroides ovatus* (n=1 ; totalement hors panel) ;
- *Bacteroides thetaiotaomicron* (n=4 ; totalement hors panel) ;
- *Citrobacter freundii* (n=7 ; panel *Enterobacteriales*) ;
- *Citrobacter koseri* (n=1 ; panel *Enterobacteriales*) ;
- *Hafnia alvei* (n=2 ; panel *Enterobacteriales*) ;
- *Morganella morganii* (n=1 ; panel *Enterobacteriales*) ;
- *Staphylococcus haemolyticus* (n=1 ; panel *Staphylococcus spp*) ;
- *Staphylococcus hyicus* (n=1 ; panel *Staphylococcus spp*) ;
- *Streptococcus mitis oralis* (n=1 ; panel *Streptococcus spp*) ;
- *Streptococcus anginosus/intermedius/constellatus* (n=1 ; panel *Streptococcus spp*).

Concernant les 11 FN qui sont des entérobactéries identifiées au rang de genre et d'espèce par culture :

- une souche de *C. freundii*, identifiée en culture sans autre germe associé, n'a été mise en évidence qu'au niveau de la famille *Enterobacteriales* sur le FilmArray ;

- les 10 autres FN identifiés en culture étaient associés à une flore polymorphe avec au moins une autre entérobactérie identifiée au rang d'espèce par le FilmArray.

Concernant les 2 FN (*S. haemolyticus* et *S. hyicus*) pouvant s'intégrer dans la cible de genre *Staphylococcus spp*, ils ont bien été détectés par la cible *Staphylococcus spp*.

Concernant les 2 FN (*S. mitis oralis* et *S. anginosus/intermedius/constellatus*) pouvant s'intégrer dans la cible de genre *Streptococcus spp*, ils ont bien été détectés par la cible *Streptococcus spp*.

3.3. 17 Faux Négatifs dans le panel

Parmi les 39 FN, 17 cibles de pathogènes appartenaient pourtant au panel FilmArray BioFire® BCID2 ; ils se répartissent comme suit :

- *Candida albicans* (n=1) ;
- *Enterobacterales* (n=3) ;
- *Enterobacter cloacae complex* (n=3) ;
- *Enterococcus faecalis* (n=1) ;
- *Escherichia coli* (n=3) ;
- *Klebsiella pneumoniae* (n=1) ;
- *Proteus mirabilis* (n=1) ;
- *Serratia marcescens* (n=1) ;
- *Staphylococcus epidermidis* (n=2) ;
- *Staphylococcus spp* (n=1).

Le panel FilmArray BioFire® BCID2 est adapté aux flacons d'hémoculture positifs qui sont des milieux d'incubation enrichis et donc dans lesquels la charge bactérienne est importante. Dans le dossier d'évaluation du panel FilmArray BioFire® BCID2, la concentration moyenne de germes, exprimée en UFC/mL, dans les flacons d'hémoculture au moment de leur positivité allait de $3,77 \times 10^5$ (pour *Candida tropicalis*) à $6,73 \times 10^8$ (pour *Morganella morganii*). Une des raisons pouvant potentiellement expliquer ces FN serait un défaut de sensibilité de la technique FilmArray pour des pathogènes présents en « trop faible » quantité dans le prélèvement.

Ainsi, si on s'intéresse à la semi-quantification de ces 17 FN (**Tableau 7**), on constate que 13 d'entre eux étaient quantifiés à moins de 25 UFC/30 µL (soit à moins de $8,3 \times 10^2$ UFC/mL). Pour rappel, le **Tableau 3** (Chapitre 6.6 de l'Introduction) rapporte les limites de détection pour chaque cible du dossier d'évaluation du panel FilmArray BioFire® BCID2 sur les flacons d'hémoculture positive. Ainsi, pour ces 13 FN, on constate que leur quantité dans le prélèvement péritonéal est bien en dessous de la limite de détection déterminée par le fabricant.

Tableau 7 : Semi-quantification à la culture standard des 17 FN « On-panel » en FilmArray

N	Semi-quantification (UFC/30µL) (équivalence en UFC/mL)	Identification	Limite de détection
4	> 50 (> 1.7×10^3 UFC/mL)	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Enterococcus faecalis</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Escherichia coli</i>	5.0×10^5 UFC/mL
		<i>Escherichia coli</i>	5.0×10^5 UFC/mL
0	25 – 50 (entre 8.3×10^2 et 1.7×10^3 UFC/mL)	/	/
2	10 - 25 (entre 3.3×10^2 et 8.3×10^2 UFC/mL)	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Enterobacter cloacae complex</i>	1.0×10^5 UFC/mL
7	5 – 10 (entre 1.7×10^2 et 3.3×10^2 UFC/mL)	<i>Enterobacteriales</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Enterobacteriales</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Escherichia coli</i>	5.0×10^5 UFC/mL
		<i>Proteus mirabilis</i>	5.0×10^5 UFC/mL
		<i>Serratia marcescens</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Staphylococcus spp.</i>	1.0×10^5 UFC/mL
4	< 5 (< 1.7×10^2 UFC/mL)	<i>Candida albicans</i>	1.0×10^3 UFC/mL
		<i>Enterobacteriales</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1.0×10^5 UFC/mL
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5.0×10^4 UFC/mL

Concernant les 4 FN « On-panel » semi-quantifiés à plus de 50 UFC/30 µL (soit à plus de $1,7 \times 10^3$ UFC/mL), ils correspondaient à 4 germes dont la limite de détection par le FilmArray était d'au moins $1,0 \times 10^5$ UFC/mL. Notre semi-quantification n'allant pas au-delà de 50 UFC/30 µL, nous ne pouvons pas préciser si ces 4 FN étaient à une concentration en dessous ou au-dessus de la limite de détection.

Le panel FilmArray BioFire® BCID2 est un test de diagnostic *in vitro* marqué CE-IVD (In vitro Diagnostic). Jusqu'ici, l'analyse des performances du panel a été évaluée en comparant les résultats rendus par l'automate à ceux de la culture standard. Pour rappel, un test est considéré comme positif en FilmArray si les deux courbes de fusion associées pour ce test sont considérées positives par l'automate, les critères de positivité étant : a) les 2 courbes présentent la même température de fusion (T_f) qui est spécifique à la cible et b) les 2 courbes ont une intensité de fluorescence suffisante. Les tests qui ne satisfont pas à ces critères sont considérés comme négatifs. Au cours de ce travail, l'analyse des résultats discordants nous a amené à lire les courbes de fusion de chaque cible, notamment pour expliquer les 17 faux négatifs (FN) « On-panel ». Ainsi, nous avons remarqué que pour 12 d'entre eux, bien que ne répondant pas aux critères de positivité de l'automate, leur courbe n'était pas strictement « négative » (**Figure 17**).

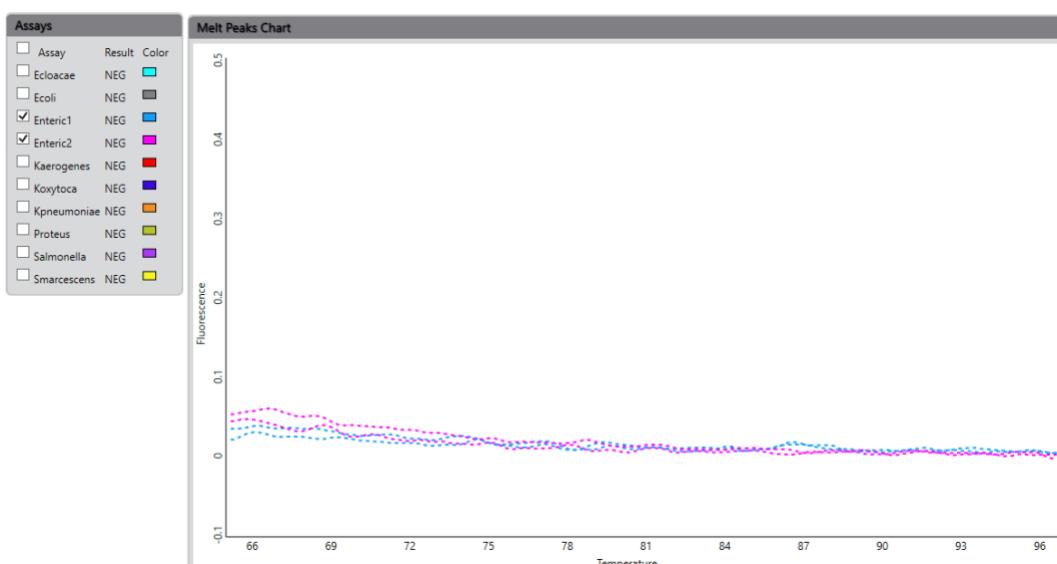


Figure 17 : Exemple de courbes de fusion négatives pour la cible *Enterobacteriales*

Aussi, 3 cas de figure semblent se dégager pour ces 12 FN « On-panel » :

- **2 courbes « légèrement positives »** avec une fluorescence comprise entre 0,1 et 0,2 mais n'atteignant pas le seuil suffisant pour l'automate (**Figure 18**) ;

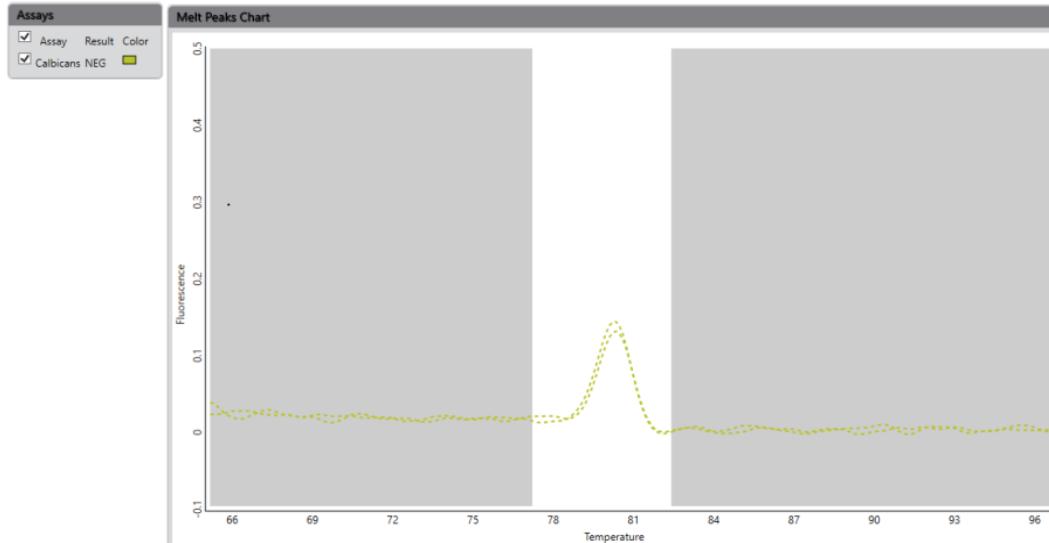


Figure 18 : Exemple de courbes "légèrement positives" avec une fluorescence comprise entre 0,1 et 0,2

- **2 courbes « très légèrement positives »** avec une fluorescence inférieure à 0,1 (**Figure 19**) ;

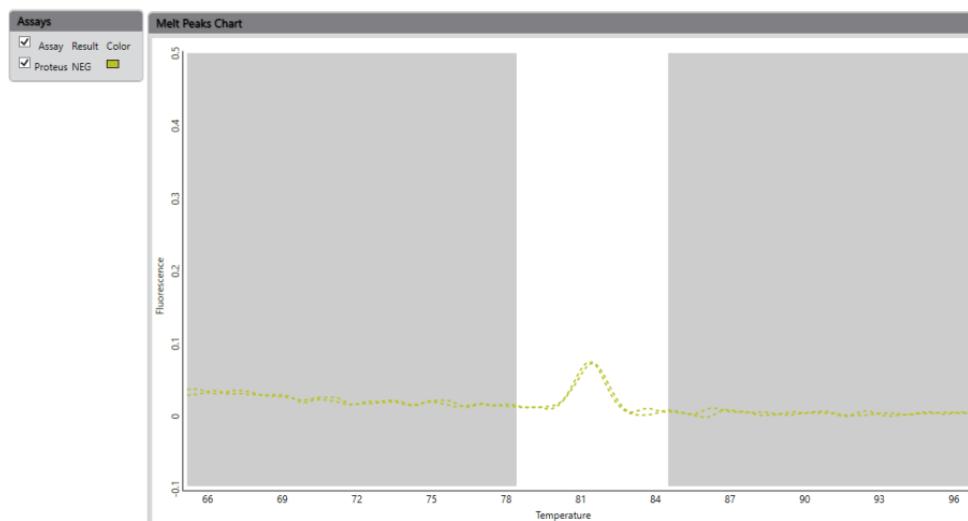


Figure 19 : Exemple de courbes "très légèrement positives" avec une fluorescence inférieure à 0,1

- **1 courbe positive mais l'autre « légèrement positive » avec une fluorescence comprise entre 0,1 et 0,2, n'atteignant pas le seuil suffisant pour l'automate (Figure 20) ;**

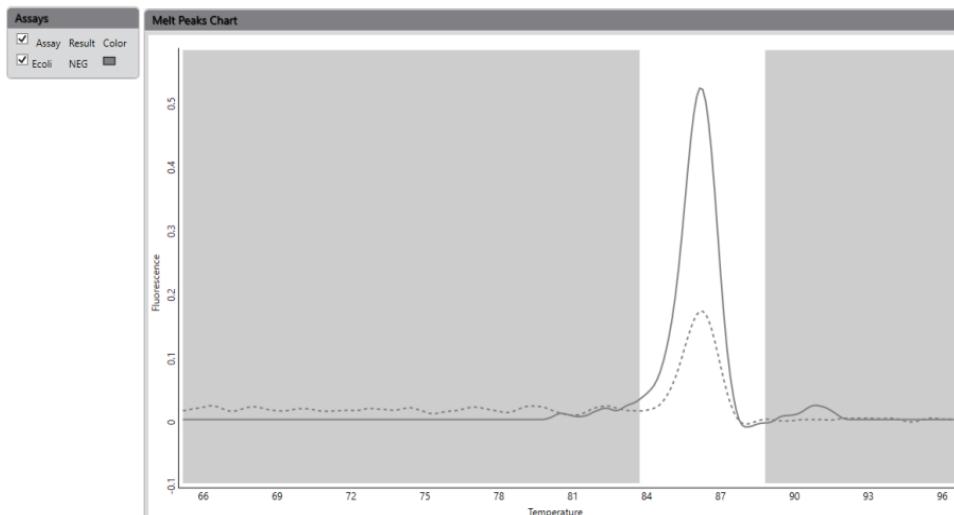


Figure 20 : Exemple avec 1 courbe positive et 1 courbe "légèrement positive"

Le **Tableau 8** récapitule pour les 17 FN « On-panel » la relecture des courbes de fusion, avec pour 12 d'entre eux, l'un des trois cas de figure présentés ci-dessus.

Tableau 8 : Résultats de la relecture des courbes de fusion pour les 17 FN "On-panel"

Semi-quantification	Identification	Relecture des courbes de fusion
>50	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	2 courbes /2 "légèrement positive " < 0,2
	<i>Enterococcus faecalis</i>	2 courbes /2 "légèrement positive " < 0,2
	<i>Escherichia coli</i>	2 courbes /2 "légèrement positive " < 0,2
	<i>Escherichia coli</i>	1 courbe positive et 1 courbe "légèrement positive" < 0,2
10-25	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
5-10	<i>Enterobacteriales</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Enterobacteriales</i>	2 courbes totalement négatives
	<i>Escherichia coli</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Proteus mirabilis</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Serratia marcescens</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2 courbes totalement négatives
	<i>Staphylococcus spp</i>	2 courbes totalement négatives
	<i>Candida albicans</i>	2 courbes /2 "légèrement positive " < 0,2
<5	<i>Enterobacteriales</i>	2 courbes /2 "très légèrement positive " < 0,1
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2 courbes totalement négatives
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 courbes totalement négatives

3.4. Deux Faux Positifs pour les gènes de résistance

Concernant les marqueurs de résistance aux antibiotiques, le panel FilmArray BioFire® BCID2 a conduit à 2 résultats discordants, à savoir :

- **1 cible *mecA/C*** détectée en parallèle d'un *Staphylococcus epidermidis* (cette identification faisant partie des 3 FP obtenus avec le panel – cf. Chapitre 3.1. de la partie Résultats) ;
- **1 cible *vanA/B*** détectée en parallèle d'un *Enterococcus faecalis* et d'un *Enterococcus faecium* : initialement, la culture standard avait seulement rendu l'*Enterococcus faecium*, avec un phénotype sensible pour l'amoxicilline et les glycopeptides. La discordance initiale sur l'*Enterococcus faecalis* ayant fait réensemencer le prélèvement a finalement permis de le retrouver à la culture standard. Toutefois, la mise en évidence d'un gène *vanA/B* n'a pu être faite malgré l'emploi de la technique de référence utilisée par le laboratoire pour cette recherche spécifique.

DISCUSSION

L'émergence de bactéries multi-résistantes (BMR) et hautement résistantes (BHR) aux antibiotiques a compliqué la prise en charge des IIA et notamment celle des péritonites. Le retard à l'instauration d'une antibiothérapie efficace, engendré par cette situation, est responsable d'une surmortalité et de coûts économiques plus importants (8,56,57). Dans ce contexte, il est primordial de pouvoir adapter l'antibiothérapie (escalade ou désescalade thérapeutique) le plus rapidement possible. La mise en place d'outils de diagnostic microbiologique fiables et rapides pourrait permettre de raccourcir ces délais d'adaptation de l'antibiothérapie (1). A notre connaissance, ce travail est le premier à présenter les résultats de l'évaluation des performances du panel FilmArray BioFire® BCID2 comparé à la culture standard dans le diagnostic microbiologique des péritonites. Cette étude montre les bonnes performances du test en comparaison à la culture standard. Elle retrouve une sensibilité globale de 78,1% et une spécificité globale de 99,7% pour l'identification des germes. La concordance globale était de 97%, avec un coefficient Kappa de Cohen de 85,3%. Concernant les levures et les entérocoques, les sensibilités variaient selon l'espèce concernée, de 85,7% à 100% et 90 à 100% respectivement.

Au laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers, les résultats définitifs de la culture sont rendus dans un délai de 5 jours. Les premières identifications sont obtenues en général au bout de 24h et les phénotypes de résistance ou de sensibilité rarement avant 48 heures. L'atout principal de ce panel adapté aux liquides péritonéaux réside dans le gain de temps qu'il apporterait pour la prise en charge du patient (rendu des résultats environ 1 heure après réception du prélèvement). C'est une technique rapide et facile à mettre en œuvre par tout technicien de laboratoire, 24h sur 24, 7j sur 7. Son apport ne permettrait cependant pas la désescalade plus rapide de l'antibiothérapie probabiliste du fait de son caractère non-exhaustif.

En effet, pour les identifications, un résultat de FilmArray négatif pour toutes les cibles ne permet pas d'affirmer l'absence de bactéries puisque ce test ne contient pas de cible pan bactérienne. Par ailleurs, lorsque le FilmArray ne rend un résultat qu'au rang de la famille *Enterobacteriales*, l'information n'est pas suffisante pour adapter une antibiothérapie. De la même manière, le panel ne possède pas l'ensemble des marqueurs de résistance et ne permet pas la détection par exemple d'une céphalosporinase hyperproduite. Par contre, ce panel permettrait, dans certains cas, une modification plus rapide de l'antibiothérapie probabiliste. Ainsi, la détection d'*E. faecium*, potentiellement résistant à l'Amoxicilline et aux glycopeptides, et celle de levures ou de gènes de résistance conduirait à modifier plus rapidement la thérapeutique anti-infectieuse probabiliste. Enfin, les résultats de notre étude démontrent bien que les liquides péritonéaux prélevés dans le cadre de péritonites ont une concentration importante de germes (cf. **Annexe 2**). L'emploi du panel FilmArray BioFire® BCID2, conçu pour une utilisation sur des flacons d'hémoculture positifs donc riches en bactéries, est donc relativement bien adapté à ces infections intra-abdominales.

A ce jour, un seul panel syndromique de biologie moléculaire existe pour le diagnostic des IIA, il s'agit du système Unyvero® panel IIA (Curetis, Allemagne). Ce panel permet l'identification de 51 cibles (1 cible pan bactérienne, 21 bactéries, 5 levures, 2 gènes de toxines et 22 gènes de résistance aux antibiotiques). La durée du test est cependant plus longue, comprise entre 4 et 5 heures, avec plusieurs étapes techniques fastidieuses nécessitant une intervention humaine. Une étude multicentrique réalisée sur 300 échantillons utilisant ce test a retrouvé une sensibilité moyenne pondérée de 89,3% et une spécificité moyenne pondérée de 99,5 % après la résolution des résultats discordants (58). Une étude sur ce panel Unyvero® IIA a également été menée au laboratoire de Bactériologie du CHU d'Angers. La sensibilité globale retrouvée était de 73,0% et la spécificité de 97,1%, avec plusieurs germes possédant une faible sensibilité, notamment *P. aeruginosa* (66,7% vs 100% pour le panel FilmArray BioFire® BCID2), *Streptococcus spp.* (20%

vs 100%), *E. cloacae complex* (25% vs 25%), *E. faecalis* (20% vs 90%), *C. albicans* (16,7% vs 85,7%), *C. glabrata* (25% vs 100%) et *S. aureus* (0% vs 100%) (59). De plus, sur les 26 échantillons analysés dans cette étude, le taux d'échec par l'automate était important. En effet, 5 échantillons analysés comportaient plusieurs cibles invalides dont 1 avec l'ensemble des cibles non détectées. Avec le panel FilmArray BioFire® BCID2, sur les 40 échantillons testés, aucun n'a été rejeté par l'automate et aucune cible n'était invalide.

Les panels syndromiques de biologie moléculaire sont des technologies coûteuses ne permettant pas de s'abstenir de réaliser une culture ainsi qu'un antibiogramme, afin de déterminer précisément le profil de sensibilité des germes. En effet, la surexpression des gènes de résistance intrinsèques, comme la céphalosporinase AmpC par exemple, n'est pas détectée par le panel alors que ce gène confère à la bactérie une résistance aux C3G. Ainsi, de ce point de vue, le panel FilmArray BioFire® BCID2 ne doit pas être considéré comme un test diagnostic suffisant pour la prise en charge des liquides péritonéaux, mais plutôt comme un outil complémentaire à la culture standard et à l'antibiogramme, afin de permettre un traitement plus rapidement orienté. Son utilisation, restreinte à des contextes cliniques particuliers, devra s'intégrer dans un algorithme décisionnel. Les indications qui pourraient être retenues seraient les formes graves de péritonites et les péritonites nosocomiales où la prise en compte des levures, d'*Enterococcus faecium* et de bactéries BMR/BHR est envisagée. Les recommandations de la SFAR sont en faveur du traitement des levures dans les formes graves de péritonite. Actuellement, la mise en évidence de levures à l'examen direct ou l'utilisation de scores cliniques pour prédire leur présence permettent de décider de l'introduction ou non d'un traitement antifongique probabiliste. La SFAR recommande d'introduire un traitement antifongique si au moins 3 critères parmi la défaillance hémodynamique, le sexe féminin, la chirurgie sus-mésocolique et la présence d'une antibiothérapie depuis plus de 48 heures sont présents. La

probabilité d'isoler une levure serait alors de 71% avec ce score (1,42). Dans cette étude, avec le panel FilmArray BioFire® BCID2, la sensibilité et la spécificité pour l'identification des levures étaient au minimum de 87,5% et 90% respectivement. L'introduction orientée d'un traitement antifongique est d'autant plus importante que son coût est élevé (60). S'agissant des entérocoques, ils possèdent une protéine liant la pénicilline (PLP) particulière, la PLP5, de faible affinité pour les bêta-lactamines. Cette PLP5 est responsable de CMI des pénicillines 10 à 100 fois supérieures à celles retrouvées pour les streptocoques. De même, les céphalosporines sont naturellement inactives sur les entérocoques (61). *E. faecalis* et *E. faecium* sont des bactéries qui colonisent habituellement le tube digestif de l'Homme et sont parmi les agents pathogènes nosocomiaux les plus courants (62). *E. faecalis* représente 80 à 90 % des infections à entérocoques et *E. faecium* 5 à 15 % (63). Les entérocoques peuvent également porter des gènes de résistance à la vancomycine (*vanA* et *vanB*). Une infection par un entérocoque résistant à la vancomycine (ERV - VRE) augmente le risque de décès jusqu'à 75 % contre 45 % pour une infection avec une souche sensible (62). Bien qu'*E. faecalis* soit plus pathogène qu'*E. faecium*, ce dernier montre davantage de résistance, notamment à l'amoxicilline, et est associé à la plupart des infections à VRE (64). Les bêta-lactamines sont les antibiotiques de choix dans le traitement probabiliste des péritonites et *E. faecium* est donc susceptible d'échapper à cette antibiothérapie. Toutefois, ces propos sont à nuancer par le fait que le caractère pathogène des entérocoques dans les IIA n'est pas formellement démontré. Il semble cependant exister une augmentation des complications infectieuses post-opératoires et une augmentation de la formation d'abcès avec un impact sur la morbidité. A l'heure actuelle, un traitement initial prenant en compte les entérocoques n'est justifié que pour les populations ciblées telles que les sujets immunodéprimés ou âgés (1).

Concernant les marqueurs de résistance aux antibiotiques, malgré le faible échantillonnage lié à l'épidémiologie locale, les premiers résultats du panel semblent encourageants, puisqu'aucun faux négatif n'a été mis en évidence. Chez un patient non connu porteur d'une souche bactérienne productrice de carbapénémase, on voit rapidement l'intérêt que pourrait apporter un tel résultat dès le jour de réception du prélèvement. De plus, pour les deux *K. pneumoniae* porteuses d'une BLSE, l'antibiothérapie probabiliste n'était pas adaptée. Le résultat du panel aurait permis d'élargir le spectre aux carbapénèmes ou à une autre molécule active plus rapidement.

La principale limite de ce travail tient au faible échantillonnage et au caractère rétrospectif et monocentrique de cette étude, limitant l'analyse de la performance de détection des marqueurs de résistance aux antibiotiques. Une étude prospective et multicentrique serait nécessaire afin d'inclure suffisamment de patients pour évaluer l'ensemble des cibles proposées par ce panel, et notamment les marqueurs de résistance aux antibiotiques, dans le cadre des IIA. Malheureusement, ce panel étant marqué CE-IVD (In vitro Diagnostic) pour les bactériémies, il n'est pas conçu pour les liquides péritonéaux. Il semble donc peu probable qu'une telle étude puisse voir le jour. Un test appliqué aux liquides péritonéaux pourrait être développé s'il trouve ses indications dans la démarche diagnostique et thérapeutique des IIA.

CONCLUSION

Ce panel de diagnostic rapide commercialisé par BioMérieux a de bonnes performances pour l'identification des bactéries et des levures dans les liquides péritonéaux. L'antibiothérapie probabiliste des péritonites graves nécessitant une hospitalisation dans les services de réanimation est bien souvent à large spectre. Aussi, l'intérêt de rendre un résultat rapide porte préférentiellement sur des pathogènes comme les levures et les entérocoques (en particulier *E. faecium*) qui sont possiblement résistants à l'antibiothérapie probabiliste. Ce travail a montré que les résultats concernant ces germes étaient très bons. Un autre intérêt de ce panel de diagnostic rapide concerne la détection de marqueurs de résistance aux antibiotiques. Malgré un faible échantillonnage lié à l'épidémiologie locale, là encore, les résultats sont prometteurs.

Les résultats de cette étude sont encourageants et permettent d'envisager l'utilisation de ce test au laboratoire de Bactériologie du CHU d'Angers, dans la prise en charge des péritonites graves. Ce test, réalisé en-dehors des indications du fournisseur, serait effectué après discussion avec le clinicien en charge du patient.

Bibliographie

1. Montravers P, Dupont H, Leone M, Constantin J-M, Mertes P-M, Laterre P-F, et al. Guidelines for management of intra-abdominal infections. *Anaesth Crit Care Pain Med.* avr 2015;34(2):117-30.
2. Sakr Y, Jaschinski U, Wittebole X, Szakmany T, Lipman J, Namendys-Silva SA, et al. Sepsis in Intensive Care Unit Patients: Worldwide Data From the Intensive Care over Nations Audit. *Open Forum Infect Dis.* 1 déc 2018;5(12):ofy313.
3. Ballus J, Lopez-Delgado JC, Sabater-Riera J, Perez-Fernandez XL, Betbese AJ, Roncal JA. Surgical site infection in critically ill patients with secondary and tertiary peritonitis: epidemiology, microbiology and influence in outcomes. *BMC Infect Dis.* déc 2015;15(1):304.
4. J. C, R. K. A, S. R. Clinical and microbiological profile in intra-abdominal infection. *Int Surg J.* 26 sept 2019;6(10):3608.
5. Song K-H, Jeon JH, Park WB, Park S-W, Kim HB, Oh M, et al. Clinical outcomes of spontaneous bacterial peritonitis due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* species: A retrospective matched case-control study. *BMC Infect Dis.* déc 2009;9(1):41.
6. Oey RC, Man RA, Erler NS, Verbon A, Buuren HR. Microbiology and antibiotic susceptibility patterns in spontaneous bacterial peritonitis: A study of two Dutch cohorts at a 10-year interval. *United Eur Gastroenterol J.* mai 2018;6(4):614-21.
7. Cheol-In K, Chung DR, Ko KS, Peck KR, Song J-H, The Korean Network for the Study of Infectious Diseases (KONSID). Risk factors for mortality and impact of broad-spectrum cephalosporin resistance on outcome in bacteraemic intra-abdominal infections caused by Gram-negative bacilli. *Scand J Infect Dis.* mars 2011;43(3):202-8.
8. Riché FC, Dray X, Laisné M-J, Matéo J, Raskine L, Sanson-Le Pors M-J, et al. Factors associated with septic shock and mortality in generalized peritonitis: comparison between community-acquired and postoperative peritonitis. *Crit Care.* 2009;13(3):R99.
9. the Abdominal Sepsis Study (AbSeS) group on behalf of the Trials Group of the European Society of Intensive Care Medicine, Blot S, Antonelli M, Arvaniti K, Blot K, Creagh-Brown B, et al. Epidemiology of intra-abdominal infection and sepsis in critically ill patients: "AbSeS", a multinational observational cohort study and ESICM Trials Group Project. *Intensive Care Med.* déc 2019;45(12):1703-17.
10. Nathens AB, Rotstein OD, Marshall JC. Tertiary Peritonitis: Clinical Features of a Complex Nosocomial Infection. *World J Surg.* févr 1998;22(2):158-63.
11. Lopez N, Kobayashi L, Coimbra R. A Comprehensive review of abdominal infections. *World J Emerg Surg.* 2011;6(1):7.
12. Capobianco A, Cottone L, Monno A, Manfredi AA, Rovere-Querini P. The peritoneum: healing, immunity, and diseases. *J Pathol.* oct 2017;243(2):137-47.
13. <https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/péritoine/15278>.
14. Azaïs, Henri. (2016). Traitement des métastases péritonéales microscopiques des cancers épithéliaux de l'ovaire par thérapie photodynamique ciblée utilisant un adressage par acide folique. Données précliniques.
15. Agca B. The antibacterial effect of peritoneal fluid in experimental peritonitis. *Turk J Trauma Emerg Surg [Internet].* 2018 [cité 5 août 2021]; Disponible sur: https://www.journalagent.com/travma/pdfs/UTD-10452-RESEARCH_ARTICLE-AGCA.pdf
16. Ordoñez CA, Puyana JC. Management of Peritonitis in the Critically Ill Patient. *Surg Clin North Am.* déc 2006;86(6):1323-49.

17. Blackburn SC, Stanton MP. Anatomy and physiology of the peritoneum. *Semin Pediatr Surg.* déc 2014;23(6):326-30.
18. Merriam-Webster I. *Merriam-Webster's medical dictionary*. 2016.
19. Wittmann DH. Intraabdominal infections--introduction. *World J Surg.* avr 1990;14(2):145-7.
20. Yamou R, Najih M, Absi M, Ouanani M, Echerrab M, El Alami H, et al. [Primitive peritonitis: real entity but difficult to diagnose]. *Pan Afr Med J.* 2012;12:83.
21. Waisman DC, Tyrrell GJ, Kellner JD, Garg S, Marrie TJ. Pneumococcal Peritonitis: Still with Us and Likely to Increase in Importance. *Can J Infect Dis Med Microbiol.* 2010;21(1):e23-7.
22. Spalding D, Williamson R. Peritonitis. *Br J Hosp Med.* janv 2008;69(Suppl 1):M12-5.
23. Louvet A, Silvain C. *Hépato-gastro-entérologie: chirurgie digestive*. 4e éd. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2018. (Les référentiels des collèges).
24. Weigelt JA. Empiric treatment options in the management of complicated intra-abdominal infections. *Cleve Clin J Med.* 1 août 2007;74(Suppl_4):S29-S29.
25. Nathens AB, Rotstein OD, Marshall JC. Tertiary Peritonitis: Clinical Features of a Complex Nosocomial Infection. *World J Surg.* févr 1998;22(2):158-63.
26. Allyn J, Ferdynus C, Bohrer M, Dalban C, Valance D, Allou N. Simplified Acute Physiology Score II as Predictor of Mortality in Intensive Care Units: A Decision Curve Analysis. *Lazzeri C, éditeur. PLOS ONE.* 14 oct 2016;11(10):e0164828.
27. Knaus WA, Wagner DP, Draper EA, Zimmerman JE, Bergner M, Bastos PG, et al. The APACHE III Prognostic System. *Chest.* déc 1991;100(6):1619-36.
28. Ohmann C, Wittmann DH, Wacha H. Prospective evaluation of prognostic scoring systems in peritonitis. Peritonitis Study Group. *Eur J Surg Acta Chir.* mai 1993;159(5):267-74.
29. Mangiola F, Nicoletti A, Gasbarrini A, Ponziani FR. Gut microbiota and aging. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* nov 2018;22(21):7404-13.
30. Dave M, Higgins PD, Middha S, Rioux KP. The human gut microbiome: current knowledge, challenges, and future directions. *Transl Res.* oct 2012;160(4):246-57.
31. Sebastián Domingo JJ, Sánchez Sánchez C. From the intestinal flora to the microbiome. *Rev Esp Enfermedades Dig [Internet].* 2017 [cité 29 juill 2021];110. Disponible sur: <https://online.reed.es/fichaArticulo.aspx?iarf=684769749239-413272195161>
32. Bactériologie médicale: techniques usuelles. Issy-les-Moulineaux: Elsevier-Masson; 2007.
33. Marshall JC, Innes M. Intensive care unit management of intra-abdominal infection: *Crit Care Med.* août 2003;31(8):2228-37.
34. Augustin P, Kermarrec N, Muller-Serieys C, Lasocki S, Chosidow D, Marmuse J-P, et al. Risk factors for multidrug resistant bacteria and optimization of empirical antibiotic therapy in postoperative peritonitis. *Crit Care.* 2010;14(1):R20.
35. Marco CA, Schoenfeld CN, Keyl PM, Menkes ED, Doehring MC. Abdominal Pain in Geriatric Emergency Patients: Variables Associated with Adverse Outcomes. *Acad Emerg Med.* déc 1998;5(12):1163-8.
36. Torer N, Yorganci K, Elker D, Sayek I. Prognostic factors of the mortality of postoperative intraabdominal infections. *Infection.* août 2010;38(4):255-60.

37. Martin C, Brun-Buisson C. Prise en charge initiale des états septiques graves de l'adulte et de l'enfant. Ann Fr Anesth Réanimation. janv 2007;26(1):53-73.
38. Gauzit R, Péan Y, Barth X, Mistretta F, Lalaude O, for the Top Study Team. Epidemiology, Management, and Prognosis of Secondary Non-Postoperative Peritonitis: A French Prospective Observational Multicenter Study. Surg Infect. avr 2009;10(2):119-27.
39. 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.
40. Dupont H, Friggeri A, Touzeau J, Airapetian N, Tinturier F, Lobjoie E, et al. Enterococci increase the morbidity and mortality associated with severe intra-abdominal infections in elderly patients hospitalized in the intensive care unit. J Antimicrob Chemother. 1 oct 2011;66(10):2379-85.
41. Kaffarnik MF, Urban M, Hopt UT, Utzolino S. Impact of enterococcus on immunocompetent and immunosuppressed patients with perforation of the small or large bowel. Technol Health Care. 1 févr 2012;20(1):37-48.
42. Dupont H, Bourichon A, Paugam-Burtz C, Mantz J, Desmonts J-M. Can yeast isolation in peritoneal fluid be predicted in intensive care unit patients with peritonitis?*: Crit Care Med. mars 2003;31(3):752-7.
43. Antimicrobial resistance - Global report on surveillance 2014 World Health Organization .pdf.
44. Tackling drug-resistant infections, final report and recommendations - The review on antimicrobial resistance chaired by Jim O'Neill May 2016.pdf.
45. Hawser S, Hoban D, Bouchillon S, Badal R, Carmeli Y, Hawkey P. Antimicrobial susceptibility of intra-abdominal Gram-negative bacilli from Europe: SMART Europe 2008. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. févr 2011;30(2):173-9.
46. Lob SH, Biedenbach DJ, Badal RE, Kazmierczak KM, Sahm DF. Antimicrobial resistance and resistance mechanisms of Enterobacteriaceae in ICU and non-ICU wards in Europe and North America: SMART 2011-2013. J Glob Antimicrob Resist. sept 2015;3(3):190-7.
47. Labricciosa FM, Sartelli M, Abbo LM, Barbadoro P, Ansaldi L, Coccolini F, et al. Epidemiology and Risk Factors for Isolation of Multi-Drug-Resistant Organisms in Patients with Complicated Intra-Abdominal Infections. Surg Infect. avr 2018;19(3):264-72.
48. Seguin P, Laviolle B, Chanavaz C, Donnio P-Y, Gautier-Lerestif A-L, Campion J-P, et al. Factors associated with multidrug-resistant bacteria in secondary peritonitis: impact on antibiotic therapy. Clin Microbiol Infect. oct 2006;12(10):980-5.
49. Henriques I, Moura A, Alves A, Saavedra MJ, Correia A. Molecular Characterization of a Carbapenem-Hydrolyzing Class A β -Lactamase, SFC-1, from *Serratia fonticola* UTAD54. Antimicrob Agents Chemother. juin 2004;48(6):2321-4.
50. Thomson KS. Extended-Spectrum- β -Lactamase, AmpC, and Carbapenemase Issues. J Clin Microbiol. avr 2010;48(4):1019-25.
51. Gélose Columbia ANC +5% de sang de mouton, Biomérieux, 2016.pdf.
52. Cornaglia et al. - 2012 - European manual of clinical microbiology.pdf.
53. Gélose BLSE - Isolement sélectif des entérobactéries productrices de BLSE, Biomérieux, 2014.pdf.
54. BioFire® Blood Culture Identification 2 (BCID2) Panel, 2020.pdf.
55. Altman DG. Practical statistics for medical research. Boca Raton, Fla: Chapman & Hall/CRC; 1999. 611 p.

56. Edelsberg J, Berger A, Schell S, Mallick R, Kuznik A, Oster G. Economic Consequences of Failure of Initial Antibiotic Therapy in Hospitalized Adults with Complicated Intra-Abdominal Infections. *Surg Infect.* juin 2008;9(3):335-47.
57. Mosdell DM, Morris DM, Voltura A, Pitcher DE, Twiest MW, Milne RL, et al. Antibiotic Treatment for Surgical Peritonitis: *Ann Surg.* nov 1991;214(5):543-9.
58. Ciesielczuk H, Wilks M, Castelain S, Choquet M, Morotti M, Pluquet E, et al. Multicenter performance evaluation of the Unyvero IAI cartridge for detection of intra-abdominal infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* nov 2018;37(11):2107-15.
59. Jérémy D. INTEREST OF THE INTRA-ABDOMINAL CURETIS® PANEL IN THE MANAGEMENT OF PERITONITIS IN INTENSIVE CARE UNITS. :64.
60. Pagès A, Iriart X, Molinier L, Georges B, Berry A, Massip P, et al. Cost Effectiveness of Candida Polymerase Chain Reaction Detection and Empirical Antifungal Treatment among Patients with Suspected Fungal Peritonitis in the Intensive Care Unit. *Value Health.* déc 2017;20(10):1319-28.
61. Quincampoix JC, Mainardi JL. Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. :9.
62. Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. *Microbiology.* 1 juin 2009;155(6):1749-57.
63. Sood S, Malhotra M, Das BK, Kapil A. Enterococcal infections & antimicrobial resistance. *Indian J Med Res.* août 2008;128(2):111-21.
64. Crank C, O'Driscoll T. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect Drug Resist.* juill 2015;217.

Table des Figures

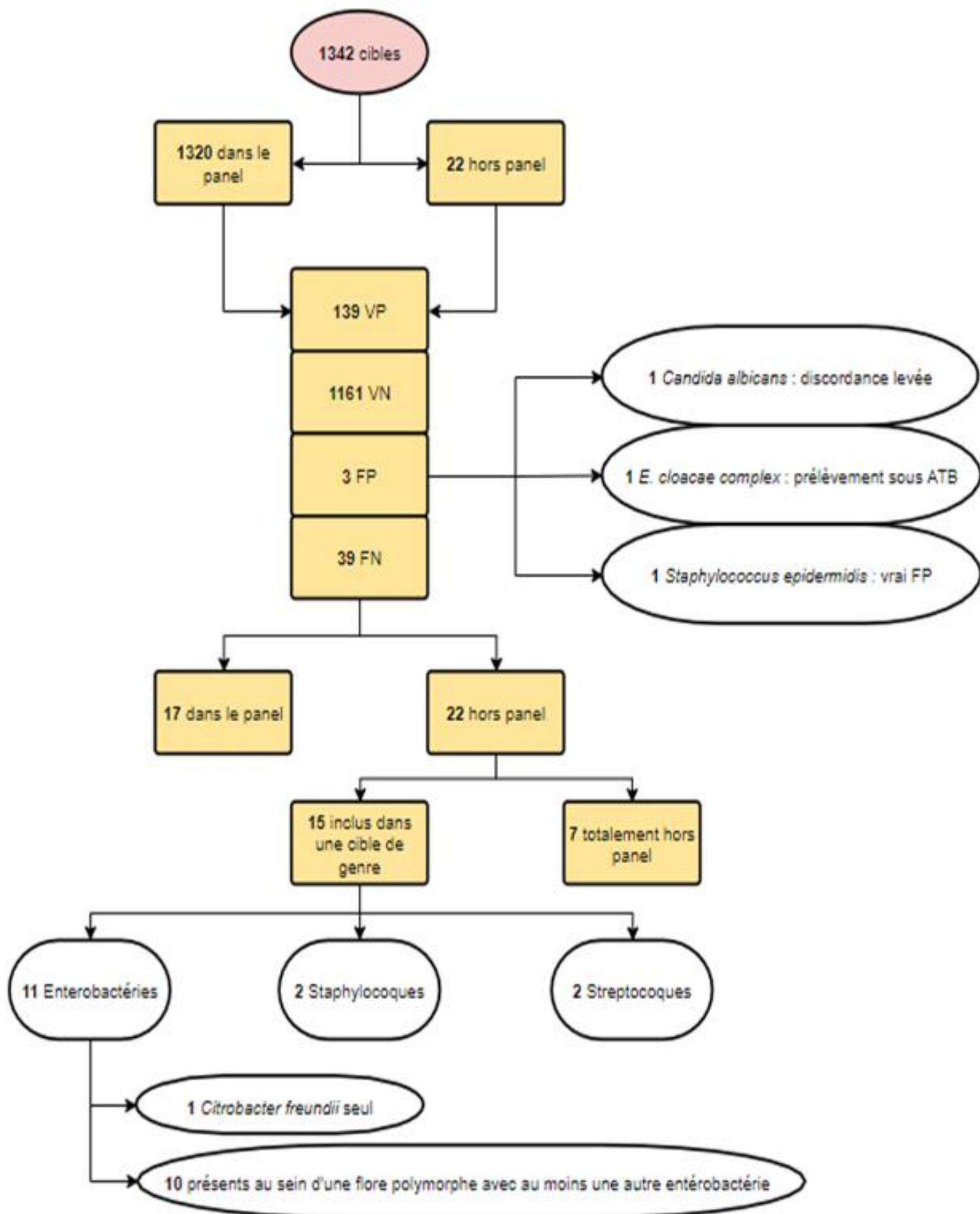
Figure 1 : Représentation schématique du péritoine et de la cavité péritonéale	13
Figure 2 : Répartition et caractéristiques physiologiques du microbiote intestinal	18
Figure 3 : Algorithme de prise en charge des périctonites communautaires (SFAR)	20
Figure 4 : Schéma thérapeutique proposé par la SFAR en cas de périctonite communautaire	22
Figure 5 : Schéma thérapeutique proposé par la SFAR en cas de périctonite associée aux soins.....	23
Figure 6 : Gélose BLSE, Gélose CNA et Gélose CPSE.....	27
Figure 7 : Systèmes BioFire® FilmArray® 2.0 ou BioFire® FilmArray® Torch	28
Figure 8 : Cibles détectées par le panel FilmArray BioFire® BCID2	29
Figure 9 : Bactéries concernées pour chaque gène de résistance.....	30
Figure 10 : Étapes techniques du panel FilmArray BioFire® BCID2.....	31
Figure 11 : Détails de la cassette du panel FilmArray BioFire® BCID2.....	31
Figure 12 : Exemple de courbes de fusion positives du panel FilmArray BioFire® BCID2.....	34
Figure 13 : Répartition des patients en fonction des services d'hospitalisation	42
Figure 14 : Nombre de prélèvements selon le type de périctonite	43
Figure 15 : Répartition des germes/gènes de résistance retrouvés en culture sur les 40 prélèvements analysés	45
Figure 16 : Répartition des cibles détectées par le panel BioFire® BCID2 sur les 40 prélèvements analysés	47
Figure 17 : Exemple de courbes de fusion négatives pour la cible <i>Enterobacteriales</i>	56
Figure 18 : Exemple de courbes "légèrement positives" avec une fluorescence comprise entre 0.1 et 0.2	57
Figure 19 : Exemple de courbes "très légèrement positives" avec une fluorescence inférieure à 0.1	57
Figure 20 : Exemple avec 1 courbe positive et 1 courbe "légèrement positive"	58

Table des Tableaux

Tableau 1 : Principales étiologies des péritonites secondaires	15
Tableau 2 : Microbiologie des péritonites d'après Marshall <i>et al.</i>	18
Tableau 3 : Limite de détection des cibles détectées par le panel FilmArray BioFire® BCID2	35
Tableau 4 : Caractéristiques de la population étudiée	43
Tableau 5 : Résultats du panel FilmArray BioFire® BCID 2 en comparaison de la culture standard	49
Tableau 6 : Tableau de contingence et données globales de performance du panel FilmArray BioFire® BCID2	50
Tableau 7 : Semi-quantification à la culture standard des 17 FN « On-panel » en FilmArray	55
Tableau 8 : Résultats de la relecture des courbes de fusion pour les 17 FN "On-panel"	58

Annexes

Annexe 1 : Diagramme de flux des cibles d'identification



Annexe 2 : Répartition des 128 pathogènes en fonction de leur semi-quantification à la culture et de leur détection ou non par le FilmArray BioFire® BCID2

UFC/30 µL		Total	VP	FN "On-panel"	FN "Off-panel"
< 5	N	12	5	4	3
	%	9,4	3,9	3,1	2,4
5-10	N	11	2	7	2
	%	8,6	1,5	5,5	1,6
10-25	N	13	9	2	2
	%	10,1	6,9	1,6	1,6
25-50	N	11	10	0	1
	%	8,6	7,8	0	0,8
> 50	N	81	63	4	14
	%	63,3	49,3	3,1	10,9
Total	N	128	89	17	22
	%	100	69,4	13,3	17,3

NICOL Thomas**Evaluation du panel FilmArray BioFire® BCID2 sur les liquides péritonéaux**

La morbi-mortalité des IIA compliquées de péritonite est particulièrement importante chez les patients sévères pris en charge dans les services de réanimation. De plus, un retard à l'instauration d'une antibiothérapie efficace, du fait notamment de l'augmentation des résistances aux antibiotiques dans ce type d'infection, est responsable d'une surmortalité et d'un coût économique plus important. Le panel FilmArray BioFire® BCID2, normalement conçu pour une utilisation sur des flacons d'hémoculture positive, pourrait, de par les cibles de pathogènes et de marqueurs de résistance aux antibiotiques qu'il propose, permettre une adaptation du traitement anti-infectieux probabiliste plus précoce dans le cadre de ces IIA. Quarante liquides péritonéaux provenant de 35 patients hospitalisés pour péritonites au CHU d'Angers ont été analysés en comparant le panel FilmArray BioFire® BCID2 à la culture microbiologique standard. La concordance globale était de 97%, avec un coefficient Kappa de Cohen de 85,3% (IC 95% : 83,4%-87,2%). La sensibilité était de 78,1% (IC 95% : 71,5%-83,5%) et la spécificité de 99,7% (IC 95% : 99,2%-99,9%). Concernant les levures et les entérococques, principaux pathogènes non couverts par l'antibiothérapie probabiliste, les sensibilités variaient de 85,7% à 100% et de 90 à 100% respectivement. Enfin, s'agissant des gènes de résistance, les 3 souches de profil BLSE ainsi que la souche possédant le gène NDM, retrouvées à la culture, ont été détectées avec le panel FilmArray BioFire® BCID2.

Ce travail a montré que les performances globales du panel FilmArray BioFire® BCID2 sur les liquides péritonéaux étaient excellentes. Il serait à présent intéressant de continuer ce travail afin d'obtenir des résultats sur un effectif plus important, afin notamment d'étudier les performances sur des germes plus rares inclus dans ce panel et sur plus de gènes de résistances aux antibiotiques.

Mots-clés : péritonite, PCR multiplexe, panel syndromique, FilmArray BioFire® BCID2, résistance aux antibiotiques

FilmArray BioFire® BCID2 panel evaluation on peritoneal fluids

The morbi-mortality of IAI complicated with peritonitis is particularly important in severe patients managed in intensive care units. In addition, a delay in the initiation of effective antibiotic therapy due to the increase in antibiotic resistance in this type of infection is responsible for a higher mortality rate and economic cost. The FilmArray BioFire® BCID2 panel, normally designed to be used on positive blood culture bottles, could, due to the pathogen and antibiotic resistance marker targets it offers, allow an earlier adaptation of probabilistic anti-infectious treatment in the context of these IAIs.

Forty peritoneal fluids from 35 patients hospitalized for peritonitis at the University Hospital of Angers were analyzed by comparing the FilmArray BioFire® BCID2 panel to standard microbiological culture. The overall agreement was 97%, with a Cohen's Kappa coefficient of 85.3% (95% CI : 83.4%-87.2%). The sensitivity was 78.1% (95% CI : 71.5%-83.5%) and the specificity was 99.7% (95% CI : 99.2%-99.9%). For yeasts and enterococci, the main pathogens not covered by probabilistic antibiotic therapy, sensitivities ranged from 85.7% to 100% and from 90 to 100% respectively. Finally, with regard to resistance genes, the 3 ESBL strains as well as the strain with the NDM gene, found in culture, were detected with the FilmArray BioFire® BCID2 panel.

Overall, this work has shown that the performance of the FilmArray BioFire® BCID2 panel on peritoneal fluids is excellent. It would therefore be interesting to continue this work in order to obtain results on a larger number of patients, in particular to study the performance on rarer pathogens included in this panel and on more antibiotic resistance genes.

Keywords : peritonitis, multiplex PCR, syndromic panel, FilmArray BioFire® BCID2, antimicrobial resistance