

2017-2018

Mémoire du Diplôme d'Études Spécialisées

Conformément aux dispositions du décret 90-810
du 10 septembre 1990 tient lieu de :

Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie

**PERFORMANCE DE L'EXTENSION D'UTILISATION DU
KIT FILMARRAY® PANEL BCID POUR L'ANALYSE DES
LAVAGES BRONCHO-ALVÉOLAIRES**

--

**PERFORMANCE OF THE EXTENDED USE OF THE
FILMARRAY® BCID PANEL KIT FOR
BRONCHOALVEOLAR LAVAGE ANALYSIS**

Sansot Maxime

Né le 18 avril 1989 à Champigny-sur-Marne (94)

Sous la direction de Mme Pailhoriès Hélène et de Mr Eveillard Matthieu

Membres du jury

Professeur Eveillard Matthieu | Président

Docteur Pailhoriès Hélène | Directeur

Professeur Lasocki Sigismond | Membre

Docteur Lemarié Carole | Membre

Docteur Kouatchet Tchamba Achille | Membre

Soutenue publiquement le :
vendredi 05 octobre 2018

ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné **Maxime Sansot** 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 **01 / 09 / 2018**

LISTE DES ENSEIGNANTS DE L'UFR SANTÉ D'ANGERS

Directeur de l'UFR : Pr Nicolas Lerolle

Directeur adjoint de l'UFR 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
BARON-HAURY Céline	Médecine générale	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BEYDON Laurent	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
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
CAILLIEZ Eric	Médecine générale	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; 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
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
COUTURIER Olivier	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
DINOMAS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FANELLO Serge	Épidémiologie ; économie de la santé et prévention	Médecine
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
GRANRY Jean-Claude	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
HAMY Antoine	Chirurgie générale	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 Gérard	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	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-vénéréologie	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
MERCIER Philippe	Anatomie	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie mycologie	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	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
ROHMER Vincent	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
SAINT-ANDRE Jean-Paul	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
SAULNIER Patrick	Biophysique pharmaceutique et biostatistique	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SUBRA Jean-François	Néphrologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENIER Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANGOULVANT Cécile	Médecine Générale	Médecine
ANNAIX Véronique	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
BAGLIN Isabelle	Pharmaco-chimie	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et biostatistique	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELLANGER William	Médecine générale	Médecine
BELONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie et pharmacocinétique	Pharmacie
BIERE Loïc	Cardiologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVAILLER Alain	Immunologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine générale	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FLEURY Maxime	Immunologie	Pharmacie
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médecine
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
LACOEUILLE Franck	Biophysique et médecine nucléaire	Médecine
LANDREAU Anne	Botanique et Mycologie	Pharmacie
LEGEAY Samuel	Pharmacologie	Pharmacie
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Valorisation des substances naturelles	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale Nanovectorisation	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique et bromatologie	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et santé au travail	Médecine
PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistique	Pharmacie
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SIMARD Gilles	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
TANGUY-SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine

AUTRES ENSEIGNANTS

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

PAST

CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
LAFFILHE Jean-Louis	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Physiologie	Pharmacie

ATER

FOUDI Nabil (M)	Physiologie et communication cellulaire	Pharmacie
HARDONNIERE Kévin	Pharmacologie - Toxicologie	Pharmacie
WAKIM Jamal (Mme)	Biochimie et biomoléculaire	Médecine

AHU

BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LEROUX Gaël	Toxico	Pharmacie
BRIOT Thomas	Pharmacie Galénique	Pharmacie
CHAPPE Marion	Pharmacotechnie	Pharmacie

CONTRACTUEL

VIAULT Guillaume	Chimie	Pharmacie
------------------	--------	-----------

REMERCIEMENTS

A mes juges,

A monsieur le professeur **Matthieu EVEILLARD**

Professeur des universités – Praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-hygiène, CHU d'Angers

Après m'avoir enseigné la bactériologie médicale sur les bancs de la FAC puis dans le laboratoire de bactériologie, vous me faites l'honneur de présider ce jury. Soyez assuré de mon plus profond respect et de ma plus grande gratitude.

A mon directeur de thèse, madame le docteur **Hélène PAILHORIES**

Maître de conférence des universités – Praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-hygiène, CHU d'Angers

Je te remercie de m'avoir fait confiance en me proposant ce travail. Merci pour ta disponibilité sans faille ainsi que pour tes corrections ultra-rapides. J'espère pouvoir collaborer encore avec toi à l'avenir. Je témoigne ma plus haute considération.

A monsieur le professeur **Sigismond LASOCKI**

Professeur des universités – Praticien hospitalier, réanimation chirurgicale, CHU d'Angers.

Vous me faites l'honneur de faire partie du jury. Soyez assuré de mon profond respect et de ma grande reconnaissance.

A monsieur le docteur **Achille KOUATCHET TCHAMBA**

Praticien hospitalier, réanimation médicale, CHU d'Angers

C'est un honneur pour moi de vous compter parmi les membres de ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de ma plus grande considération.

A madame le docteur **Carole LEMARIE**

Praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-hygiène, CHU d'Angers

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Soyez assuré de mon profond respect et de ma reconnaissance.

A madame le professeur **Marie KEMPF**

Professeur des universités – Praticien hospitalier, laboratoire de bactériologie-hygiène, CHU d'Angers

Je vous remercie pour votre accueil dans le service de bactériologie ainsi que d'avoir rendu possible ce travail. Je vous témoigne mon plus profond respect.

REMERCIEMENTS

A mes parents,

Je vous remercie de tout le soutien que vous m'avez apporté durant toutes ces années. Merci Papa d'avoir été exigeant tout en étant bienveillant avec moi ; et merci de m'avoir orienté dans cette voie. Merci maman d'avoir toujours cru en moi et de m'avoir toujours suivi dans mes décisions. Je vous dédie ce travail.

A ma sœur, **Cassandra**

On a eu beau se chamailler plus jeunes, ce travail tient un peu de toi. Merci pour ton soutien sœurlette.

A mes co-internes et amis,

Partenaires de boulot, de glande, de stress. Tous ces moments passés avec me feront revivre, j'en suis sûr, la nostalgie de mon internat. Merci à **Benjamin, Camille, Corentin, Coralie, Charlotte, Etienne, Marion, Maeva, Guillaume R, Guillaume D, Tommy, Steve, Matthieu, Ludivine** et tous ceux que j'oublie.

A mes amis,

Mes potes de fac, **Sofiane, Samuel, Joachim**, on s'est quand même bien marré. Merci pour ses moments de franche rigolades. C'est aussi grâce à vous que je me suis placé correctement à l'internat.

A **Camille**

Je n'ai pas besoin de te dire à quel point tu comptes pour moi. Tu m'aides tous les jours à faire de moi l'homme que je suis. Je suis heureux d'être à tes côtés chaque jour. Je te remercie pour ta relecture très pertinente

A **Alice**

Ma fille, je te dédie aussi ce travail, car tu as su écouter mes états d'âmes à ta façon. Tu es et tu seras toujours ma fierté.

Plan

PLAN

LISTE DES ABREVIATIONS

GENERALITES

- 1. Généralités sur les infections nosocomiales dans les services de réanimation en France.**
- 2. Les pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM).**
 - 2.1. Définition et Physiopathologie
 - 2.1.1. Définition
 - 2.1.2. Physiopathologie
 - a) Physiologie des défenses des voies aériennes contre des agents infectieux.
 - b) Physiopathologie des PAVM
 - 2.2. Epidémiologie et impact des PAVM.
- 3. Diagnostic des PAVM.**
 - 3.1. Place des scores de diagnostic
 - 3.2. Deux approches du diagnostic bactériologique
 - 3.2.1. Approche non invasive
 - 3.2.2. Approche invasive
 - 3.2.3. Comparaison des deux approches
- 4. Bactériologie des PAVM**
- 5. Prise en charge des PAVM**
- 6. Prévention des PAVM.**
- 7. Etat des lieux de l'approche syndromique dans le diagnostic des PAVM**
 - 7.1. Approche syndromique dans les infections respiratoires
 - 7.1.1. Curetis®
 - 7.1.2. FilmArray® Panel pneumonie
 - 7.1.3. FilmArray® Panel BCID

ARTICLE

- 1. Introduction**
- 2. Material and Method**
 - 2.1. Type of study
 - 2.2. Organization of the study
 - 2.3. FilmArray® tests
 - 2.4. Conventional microbiological techniques
 - 2.5. Analysis of the results
 - 2.6. Statistics
- 3. Results**
 - 3.1. Study population
 - 3.2. Results obtained from culture and FilmArray® BCID
 - 3.2.1. Culture
 - 3.2.2. FilmArray®
 - 3.2.3. Comparison
- 4. Discussion**

SYNTHÈSE

BIBLIOGRAPHIE

TABLE DES MATIERES

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES TABLEAUX

Liste des abréviations

ATS	American thoracic society
BLSE	Bêta lactamase à spectre élargi
BMR	Bactérie multi résistante
CDC	Center for diseases control
CHU	Centre hospitalo-universitaire
IDSA	Infectious diseases society of America
FDA	Food and drug administration
IN	Infection nosocomiale
IST	Infection sexuellement transmissible
IV	Intra veineux
LBA	Lavage broncho-alvéolaire
LRT	Low respiratory tract
mCPIS	Modified clinical pneumonia infection score
NHSN	national healthcare safety network
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAVM	Pneumonie acquise sous ventilation mécanique
PCR	Polymerase chain reaction
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SCN	Staphylocoque à coagulase négative
SDRA	Syndrome de détresse respiratoire aigüe
SFAR	Société française d'anesthésie réanimation
USI	Unité de soins intensifs
VM	Ventilation mécanique
VPN	Valeur prédictive négative
VPP	Valeur prédictive positive

Généralités

1. Généralités sur les infections nosocomiales dans les services de réanimation en France

Une infection nosocomiale (IN) se définit par l'apparition d'une infection au minimum 48 heures après le début de l'hospitalisation. Ce délai d'apparition des symptômes de 48 heures varie en fonction des pays et correspond au temps d'incubation de l'agent pathogène présent initialement dans l'écologie hospitalière.

Les données de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales effectuée en France en mai-juin 2017 (« Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017 » 2017), révèlent qu'un patient hospitalisé sur vingt développe une infection nosocomiale et près d'un patient sur sept reçoit un traitement antibiotique. Les patients développant une infection nosocomiale sont à risque accru de complications infectieuses par rapport à la population générale, de par leur âge (plus de la moitié à plus de 65 ans), de leur comorbidité (un patient sur dix présente une immunodépression) mais aussi des actes médicaux effectués (un patient sur six a bénéficié d'une intervention chirurgicale et un patient sur trois est exposé à au moins un dispositif invasif : cathéter vasculaire, sonde urinaire ou ventilation mécanique).

Les sites d'infections nosocomiales sont, par ordre de fréquence, les infections urinaires (environ 25% des IN) suivies des infections sur site opératoire (16% des IN), les pneumonies (16% des IN) et les bactériémies (10% des IN).

Les services de réanimation sont les plus impactés par les infections nosocomiales puisque la prévalence d'IN est d'environ 24% pour une prévalence globale d'environ 5% (« Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017 » 2017). En effet, les patients hospitalisés en réanimation présentent des risques accrus de développer une IN par deux catégories de facteurs. Les facteurs endogènes sont propres au patient de réanimation (immunodépression, défaillances viscérales, pathologies chroniques sous-jacentes) qui font le lit du développement d'une IN. Les facteurs exogènes comme la mise en place de dispositifs respiratoires, de cathéters vasculaires et des sondes urinaires sont des dispositifs invasifs.

Les données de la surveillance des infections nosocomiales en réanimation effectuée 2015 par le réseau Réa-Raisin (Raisin 2017), rapportent qu'un patient sur dix a présenté une IN

(hors infection urinaire). Parmi ces IN, les pneumonies sont les sites les plus fréquemment observés (8%), suivies des bactériémies (3.6%) et des infections/bactériémies liées aux cathéters veineux centraux (1%). Dans près de 90% des cas la pneumopathie est associée à l'intubation.

2. Les pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM)

2.1. Définition et Physiopathologie

2.1.1. Définition

Les pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) correspondent à l'apparition d'une infection du parenchyme pulmonaire au minimum 48 heures après l'intubation (American Thoracic Society 2005). Elles représentent approximativement 90% des pneumonies nosocomiales en réanimations. En effet, le risque de pneumopathie est multiplié par 6 à 20 par cette même ventilation mécanique (Sandiumenge et al. 2003).

2.1.2. Physiopathologie

a) Physiologie des défenses des voies aériennes contre des agents infectieux

La flore buccale chez les non-fumeurs est constituée à majorité de Streptocoques α -hémolytiques dont le pneumocoque, d'*Haemophilus influenzae*, de cocci Gram négatif tels que *Neisseria sp.*, *Branhamella sp.* et de bactéries anaérobies constituant la flore de Veillon. Sous la glotte, les voies aériennes sont normalement stériles (Laurenzi, Potter, et Kass 1961). Ceci est dû à plusieurs moyens de défense contre les microorganismes (tableau 1).

Moyen de défense contre les microorganismes
Réflexe contre la toux
Mucus
Clairance mucociliaire
Macrophages alvéolaires
Leucocytes
Immunoglobulines
Complément
Lactoferrine
Membrane basale

Tableau 1 : Moyen de défenses des voies respiratoires contre les microorganismes. (Mason et Nelson 1992; Zhang et al. 2000)

b) Physiopathologie des PAVM

Lorsque qu'un patient est hospitalisé en réanimation, sa flore buccale est rapidement modifiée au profit de bactéries comme des entérobactéries, ou bien *Staphylococcus aureus* (Scannapieco, Stewart, et Mylotte 1992).

Le mode principal de colonisation bactérienne des voies aériennes basses est par un mécanisme endogène. En effet, lors de l'intubation, les tuyaux nécessaires à la ventilation du patient entraînent une irritation de l'épithélium pharyngé ce qui altère la clairance muco-ciliaire.

Les patients intubés sont sédatisés voire curarisés ce qui abolit le réflexe de toux.

De plus, même si le ballonnet est convenablement pressurisé, il existe une jonction directe entre les voies aériennes supérieures, non stériles, et les voies aériennes inférieures stériles.

Ces trois paramètres rendent possible une colonisation bactérienne, trachéale puis des voies aériennes distales (de Latorre et al. 1995; Ewig et al. 1999). Un mode de contamination par aspiration de germes directement en provenance des tubulures par une contamination exogène demeure rare (figure 1) (Estes et Meduri 1995; Jongerden et al. 2011).

Tous les patients colonisés ne feront pas un épisode de PAVM. Des facteurs liés à l'hôte tels que l'âge, le sexe, une immunodépression sous-jacente, un choc ou une chirurgie, altèrent les moyens de contrôler cette colonisation.

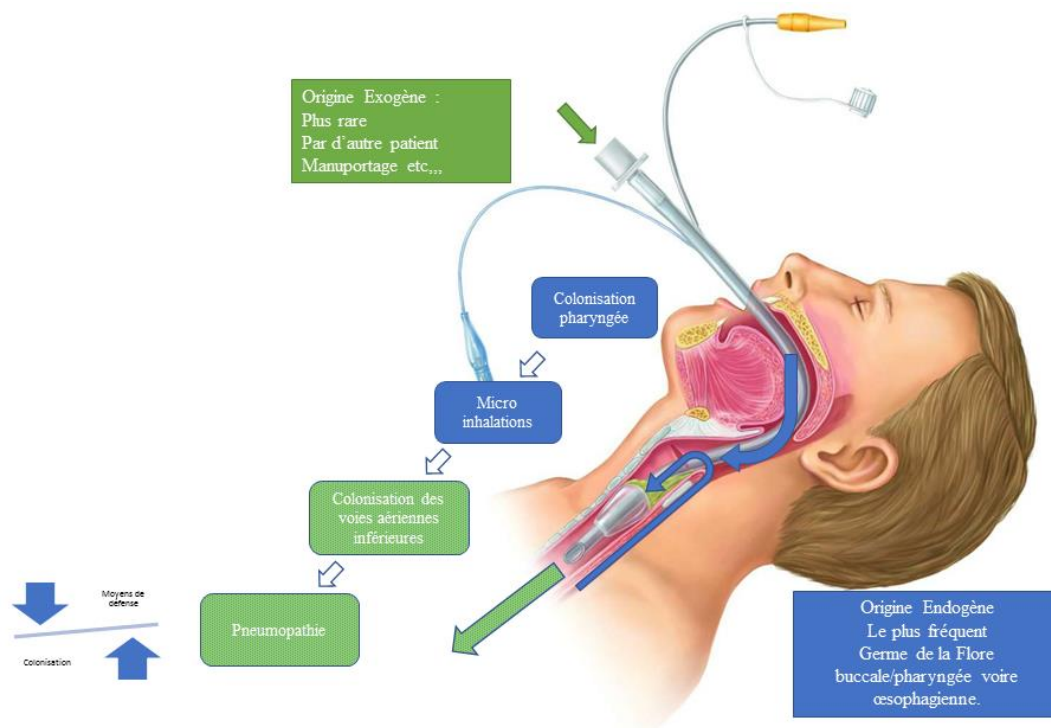


Figure 1 : Physiopathologie des PAVM

2.2. Épidémiologie et impact des PAVM

Il est estimé que 9 à 27 % des patients intubés développeront une PAVM (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017). L'incidence précise est difficile à établir devant l'hétérogénéité des critères diagnostiques employés dans les études. Elle est de 18,3 PAVM / 1000 jours de ventilation mécanique dans la cohorte de Koulenti *et al.* (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017), tandis que le réseau de surveillance des infections nosocomiales en réanimation (REA-RAISIN) rapporte une incidence de 15,1 pour 1000 jours de ventilation en France en 2015 (Raisin 2017). Durant la période de ventilation mécanique, le risque de développer une PAVM n'est pas linéaire. De 3% par jour les cinq premiers jours, il diminue puis stagne à 1% par jour au-delà de la deuxième semaine de ventilation (American Thoracic Society 2005).

De nombreux articles rapportent une augmentation de la mortalité liée aux PAVM. Il est cependant difficile de savoir si cette surmortalité est le fait d'une pneumonie ou si cette dernière n'est que le reflet de la gravité de la pathologie ainsi que du terrain sous-jacent. L'American Thoracic Society (ATS) évalue la mortalité directement attribuable à une PAVM dans une fourchette de 20 à 30% (American Thoracic Society 2005). Dans l'étude observationnelle européenne de Koulenti *et al.*, les 465 patients développant une PAVM présentaient une surmortalité de 12% par rapport aux patients ne présentant pas de PAVM (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017). En partant de la base OUTCOMEREA constituée de 4500 patients, Bekaert *et al.* montrent une mortalité attribuable à la PAVM d'environ 4,4% au 30^{ème} jour d'intubation et 5,9% au 60^{ème} jour (Bekaert et al. 2011). Dans une méta-analyse portant sur 6284 patients, Melsen *et al.* rapportent une mortalité globale attribuable aux PAVM de 13%. Ils montrent également une corrélation étroite entre la mortalité attribuable et la durée de ventilation (Melsen et al. 2013).

La survenue d'une PAVM allonge les durées de ventilation mécanique (21,8 contre 10,3 jours), de séjour en réanimation (20,5 contre 11,6) ainsi que d'hospitalisation (32.6 contre 19,5 jours, $p < 0.001$) (Kollef, Hamilton, et Ernst 2012). Ces allongements de temps de ventilation et de séjour aboutissent à un surcoût évalué, à partir d'une cohorte de plus de 88 000 patients aux Etats-Unis, à près de 40 000 dollars par patient par rapport à un groupe contrôle ($p < 0,001$) (Kollef, Hamilton, et Ernst 2012). Même si ces chiffres, portant sur des réanimations nord-américaines, ne peuvent être transposés tels quels dans les réanimations françaises, ils témoignent néanmoins d'un réel impact économique de ces infections.

3. Diagnostic des PAVM

Le diagnostic de référence – l’analyse histopathologique du parenchyme pulmonaire n’est pas applicable en routine. Le diagnostic des PAVM est donc basé, en pratique clinique, sur un faisceau de critères cliniques, radiologiques et biologiques.

3.1. Place des scores de diagnostic

Les signes cliniques sont nombreux bien que peu spécifiques pris isolément. Ils peuvent comporter : une température élevée, des aspirations trachéales abondantes et purulentes, une dégradation de l’hématose et/ou de la mécanique ventilatoire, la présence d’un foyer auscultatoire. L’association à une hyperleucocytose et à une anomalie à la radiographie du thorax, rend le diagnostic probable.

Au début des années 1990, Pugin *et al.* ont établi un score diagnostic nommé CPIS (Clinical Pulmonary Infection Score) (Pugin *et al.* 1991). Ce score modifié en 2002 en omettant la culture semi-quantitative des sécrétions trachéales (Luna *et al.* 2003) (tableau 2), attribue une pondération aux différents signes cliniques afin d’optimiser le diagnostic des PAVM et de réserver l’introduction d’une antibiothérapie aux patients ayant un score supérieur à 6. La performance du (CPIS) dans le diagnostic de la pneumonie dépend du comparateur utilisé. Ses sensibilité et spécificité varient de 60 à 80 % par comparaison à des prélèvements bactériologiques obtenus par un lavage broncho-alvéolaire (Pugin *et al.* 1991; Schurink *et al.* 2004).

La variation du CPIS au cours du temps a montré une certaine utilité dans le suivi de l’évolution de la pneumonie (Luna *et al.* 2003) et dans la désescalade antibiotique (Singh *et al.* 2000 ; Luyt, Chastre, et Fagon 2004). En revanche, le CPIS initial n’a que peu d’utilité pour le pronostic du patient en comparaison aux scores de gravité (Larsson, Itenov, et Bestle 2017).

Afin d’harmoniser la surveillance des PAVM, le Centers for Disease Control and Prevention (CDC) associé au National Healthcare Safety Network (NHSN) a développé, en 2013, un nouvel algorithme de diagnostic rétrospectif, basé sur des critères plus objectifs, reproductibles, et potentiellement automatisables. Cependant, les études de validation de l’algorithme ne permettent pas d’utiliser ce score en pratique courante pour la surveillance et

le diagnostic des PAVM (Boyer et al. 2015; Klein Klouwenberg et al. 2014; Lilly et al. 2014; Muscedere et al. 2013).

Paramètre	Valeur	Points
Température (°C)	≥ 36.5 and ≤ 35.4	0
	≥ 38.5 and ≤ 38.9	1
	≥ 39.0 and ≤ 36.0	2
Leucocytes sanguins par mm ³	≥ 4 and ≤ 11	0
	< 4 or < 11	1
Sécrétions trachéales	Peu abondant	0
	Modérément abondant	1
	Abondant	2
	Purulent	+1
Oxygénation PaO ₂ /FiO ₂ , mmHg	> 240 ou présence d'un SDRA	0
	≤ 240 et absence de SDRA	1
Radiographie thoracique	Pas d'infiltrat	0
	Infiltrat diffus	1
	Infiltrat localisé	2

Tableau 2 : Score CPIS modifié.

3.2. Deux approches du diagnostic bactériologique

La documentation bactériologique est un élément essentiel dans le diagnostic et la prise en charge du patient atteint de PAVM. Deux approches existent concernant le choix de l'échantillon pour l'analyse bactériologique.

3.2.1. Approche non invasive

La première approche est dite « non invasive » puisqu'elle qui repose sur l'association de critères cliniques ainsi que d'une culture semi-quantitative d'aspirations trachéales (avec un seuil de significativité à 10^5 UFC/ml). Dans la cohorte EU-VAP/CAP, l'aspiration trachéale est le prélèvement privilégié dans 52% des 825 cas (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017; Despoina Koulenti et al. 2009). L'Infectious diseases society of America (IDSA) recommande d'employer des méthodes non-invasives avec cultures semi-quantitatives pour le diagnostic des PAVM (Kalil et al. 2016).

3.2.2. Approche invasive

La deuxième approche repose sur la réalisation de prélèvements distaux ciblés par fibroscopie. Il s'agit principalement de lavages broncho-alvéolaires (LBA) avec un seuil de significativité à 10^4 UFC/ml. Pour augmenter la qualité du prélèvement, il est recommandé d'utiliser un volume de lavage suffisant (environ 120 ml) et de jeter le premier aliquot récupéré afin d'éviter une contamination du prélèvement. Les recommandations européennes pour la prise en charge des PAVM sont de privilégier les prélèvements invasifs (Torres et al. 2017).

3.2.3. Comparaison des deux approches

Les approches invasives et non invasives apportent une sensibilité et une spécificité comparables (tableau 3). La recherche de germes ainsi que le compte de cellules infectées par coloration de Gram et la formule leucocytaire par coloration de May-Günwald-Giemsa (MGG) permettent aux prélèvements invasifs comme les LBA d'apporter une information supplémentaire augmentant la valeur prédictive positive de l'examen direct (Timsit et al. 2001; Veber et al. 2000; Jaeger et al. 1999).

L'aspiration trachéale, beaucoup plus facile à réaliser et nécessitant moins de matériels que les méthodes invasives, bénéficie d'une très bonne sensibilité. L'examen direct de ce prélèvement lui confère une bonne valeur prédictive négative (VPN), peu influencé par un traitement antibiotique préalable selon Blot et al. (Blot et al. 2012).

Type de prélèvement	Sensibilité	Spécificité
Aspiration trachéale qualitative	(57% - 88%)	(14% - 33%)
Aspiration trachéale quantitative > 10 ⁵ UFC/mL	76 +/- 9%	75 +/- 28%
Prélèvement distal protégé >10 ³ UFC/mL	(63% - 100%)	(66% - 96%)
LBA sous fibroscopie > 10 ⁴ UFC/mL	73 +/- 18%	82 +/- 19%

Tableau 3: Sensibilité et spécificité des prélèvements à visée diagnostique des PAVM
(American Thoracic Society 2005; Francioli et al. 1997).

Plusieurs études ont tenté de comparer les deux approches. Au début du XXème siècle, Fagon et al. ont rapporté une supériorité de l'approche invasive, diminuant la mortalité ainsi que la consommation d'antibiotiques (Fagon et al. 2000). A l'inverse, une méta-analyse n'a pas permis de trouver une différence significative sur la mortalité et sur la consommation d'antibiotiques entre les cultures quantitatives et qualitatives, mais aussi entre les stratégies invasives et non invasives (Berton, Kalil, et Teixeira 2014).

4. Bactériologie des PAVM

Traditionnellement (Trouillet et al. 1998), les PAVM à début précoce (2 à 4 jours après la ventilation) sont associées à une plus grande proportion de germes habituellement communautaires tels *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*/*Moraxella catarrhalis*, et une plus faible fréquence *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les PAVM tardives (plus de 5 jours d'intubation) sont associées à une plus grande diversité de germes avec notamment des bactéries multi-résistantes (BMR) telles que *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et/ou à l'imipénème et d'autres bactéries non fermentantes comme *Acinetobacter baumanii* et *Stenotrophomonas maltophilia*. Enfin des entérobactéries multi-résistantes productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) voire des carbapénèmases peuvent être impliquées dans les PAVM.

Bactéries, %	PAVM précoce (<5 jours)	PAVM tardive (>5 jours)
<i>Staphylococcus aureus</i> meticillino sensible	27.6 %	11.4 %
<i>Staphylococcus aureus</i> meticillino-résistant	12.4 %	16.1 %
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17.9 %	26.1 %
<i>Acinetobacter baumanii</i>	11.0 %	26.5 %
Enterobactéries	42.1 %	43.6 %
<i>Haemophilus influenzae</i> / <i>Brannhamella catarrhalis</i>	13.8 %	3.8 %
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	9.0 %	2.4 %
autre	6.9 %	6.2 %
Culture polymicrobienne	34.5 %	30.3 %

Tableau 4: Germes isolés chez des patients atteints de PAVM précoces et PAVM tardive
D'après Koulenti et al. (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017).

	Bactérie	n (%)
Cocci à Gram positif	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	45 (5,2)
	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline	84 (9,7)
	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (SARM)	49 (5,6)
	Staphylocoque à coagulase négative (SCN)	32 (3,7)
	<i>Enterococcus sp.</i>	7 (0,8)
	Autre streptocoques	27 (3,1)
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	227 (26,2)
Bacilles à Gram négatifs	<i>Escherichia coli</i>	66 (7,6)
	<i>Haemophilus influenzae</i>	63 (7,3)
	<i>Klebsiella sp.</i>	38 (4,4)
	<i>Enterobacter sp.</i>	37 (4,3)
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	35 (4,0)
	<i>Acinetobacter sp.</i>	24 (8,2)
	<i>Citrobacter freundii</i>	16 (2,4)
	<i>Serratia marcescens</i>	21 (2,4)
	<i>Proteus mirabilis</i>	14 (1,6)
	<i>Morganella morganii</i>	13 (1,5)
	autre	70 (8,1)

Tableau 5: Principaux germes retrouvés au cours des PAVM sur les 868 bactéries isolées lors de la cohorte Outcomrea (1997-2008). D'après Bekaert et al. (Bekaert et al. 2011)

Les bactéries les plus fréquemment isolées dans les PAVM en Europe sont les entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017; Bekaert et al. 2011). (Tableau 4 et 5).

5. Prise en charge des PAVM

Devant une suspicion de PAVM, l'introduction d'une antibiothérapie probabiliste est capitale, l'évolution clinique favorable étant liée à la précocité de mise en route du traitement (Kuti, Patel, et Coleman 2008).

Des études ont montré que l'initiation d'une antibiothérapie probabiliste précoce conditionne le bon pronostic d'une PAVM (Iregui et al. 2002). Cependant l'initiation d'une antibiothérapie probabiliste est à mettre en balance avec l'utilisation d'antibiotiques à large spectre, ayant une influence sur l'écologie bactérienne (sélection de bactéries multi-résistantes) (Iregui et al. 2002).

Il est admis que la désescalade du spectre de l'antibiothérapie est cruciale pour limiter l'émergence d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques (Kollef 2008). Des études ont montré l'impact positif d'un rendu de résultat rapide pour les prélèvements bactériologiques sur la désescalade thérapeutique (Jamal et al. 2014; Pailhoriès et al. 2014).

Le choix de l'antibiothérapie probabiliste, initiale se fait en tenant compte de 3 critères clés : les facteurs de risque de BMR liés au patient, la gravité du tableau clinique et l'épidémiologie bactérienne locale. Il existe plusieurs recommandations en fonctions des pays (tableau 6,8 et figure 2).

Antibiothérapie couvrant le SARM	Antibiothérapie anti pseudomonas : β-lactamines	Antibiothérapie anti pseudomonas : autre classe d'antibiotique
Vancomycine Ou Linézolide	Piperacilline – tazobactam Ou Cefepime Ceftazidime Ou Imipénème Meropénème Ou Aztréonam	Ciprofloxacine Levofloxacine Ou Amikacine Gentamicine Tobramycine Ou Colistine

Tableau 6: Antibiothérapie probabiliste adapté des recommandations de l'IDSA (Kalil et al. 2016).

Les recommandations américaines encouragent l'utilisation systématique d'une antibiothérapie active contre *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et d'autre bacille à Gram négatifs par une monothérapie avec une β -lactamine ou une fluoroquinolone (tableau 6). L'utilisation d'un antibiotique actif contre le SARM sera réservée uniquement chez des patients hospitalisés dans des services de réanimation dont leur taux de SARM est supérieur à 10% des *S.aureus* isolés. L'utilisation d'une bithérapie (une β -lactamine associée à une fluoroquinolone ou à un aminoside) contre *Pseudomonas sp.* n'est recommandée que pour les patients présentant au moins un facteur de risque de BMR (tableau 7) ou lorsque le pourcentage de résistance des bacilles à Gram négatif isolés dans le service aux antibiotiques couramment utilisés en monothérapie est supérieur à 10%.

Facteurs de risques de BMR

Antibiothérapie IV dans les 90 jours avant l'épisode
Choc septique
SDRA avant l'épisode
Plus de 5 jours d'hospitalisation
Prise en charge d'une insuffisance rénale aigüe

Tableau 7 : Facteurs de risque de BMR d'après les recommandations de l'IDSA

Pour le choix de l'antibiothérapie probabiliste, les recommandations européennes (Torres et al. 2017) considèrent qu'il est nécessaire, dans un premier temps, d'évaluer les facteurs de risque de BMR. Ces facteurs de risques sont définis par : une hospitalisation dans un service avec un taux de BMR élevé (>25%), une antibiothérapie récente, une hospitalisation prolongée récente (>5 jours d'hospitalisation) et/ou une colonisation par une BMR. Elles recommandent aussi l'évaluation du risque de mortalité. En effet un risque de mortalité $\leq 15\%$ est associé à de meilleurs résultats cliniques, en utilisant une monothérapie pour le traitement d'une infection grave (Kumar et al. 2010).

Enfin, la société française d'anesthésie et de réanimation (SFAR) a adapté les recommandations européennes en 2018 (tableau 8) (Leone et al. 2018).

Les recommandations américaines, européennes et françaises diffèrent dans leur présentation mais fournissent des orientations similaires avec un accent mis sur l'utilisation d'une monothérapie en absence de facteurs de risques.

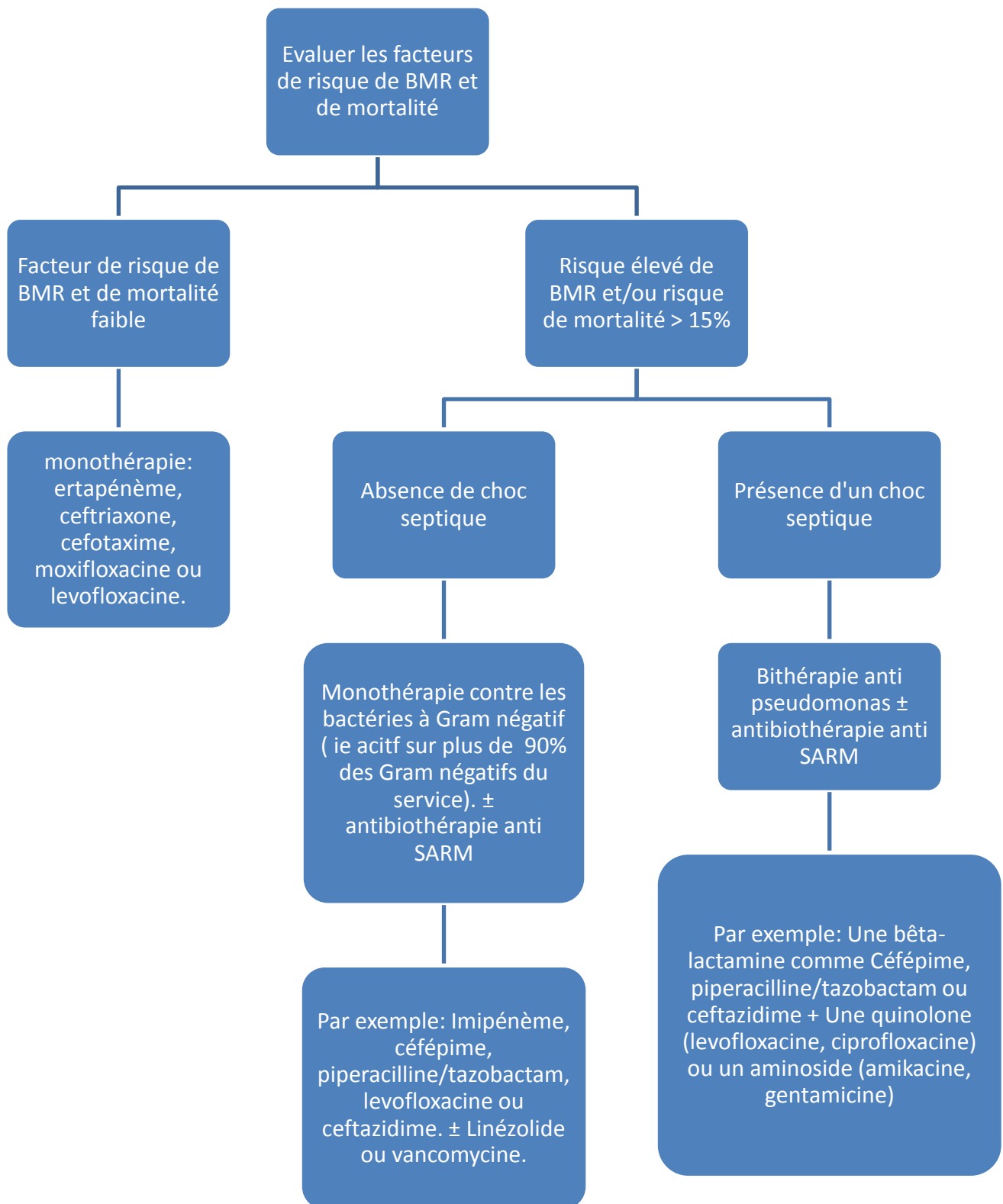


Figure 2 : Algorithme d'antibiothérapie probabiliste, adapté des recommandations européenne (Torres et al. 2017).

Cadre nosologique	Classe thérapeutique	Antibiotique
Pneumonie précoce < 5 jours En absence de choc septique ou de facteurs de risque de BMR	Bêta-lactamine inactive contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Amoxicilline/Acide clavulanique Ou Cefotaxime Ou Levofloxacine
Pneumonie précoce < 5 jours Et choc septique en absence de facteurs de risque de BMR	Bêta-lactamine inactive contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + Aminoside Ou Fluoroquinolone	Amoxicilline/Acide clavulanique Ou Cefotaxime + Gentamicine ou Amikacine ou Tobramycine Ou Levofloxacine ou ofloxacine
Pneumonie tardive ≥ 5 jours Ou autre facteur de risque de BMR ou de bacilles Gram négatif non fermentants	Bêta-lactamine active contre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> + Aminoside Ou Fluoroquinolone	Ceftazidime Ou Céfépime Ou Pipéracilline-tazobactam Ou Méropénème + Amikacine Ou Ciprofloxacine Vancomycine Ou Linézolide
Facteurs de risque de SARM	Ajout d'un antibiotique actif contre le SARM	

Tableau 8: antibiothérapie probabiliste des PAVM, d'après les recommandations de la SFAR (Leone et al. 2018).

L'antibiothérapie devra ensuite être réévaluée après les résultats des cultures et des antibiogrammes des prélèvements respiratoires (Kalil et al. 2016; Torres et al. 2017; Leone et al. 2018). La durée totale de l'antibiothérapie recommandée est de 7 jours (Leone et al. 2018; Torres et al. 2017; Kalil et al. 2016).

6. Prévention des PAVM

De nombreux facteurs de risque de PAVM liés à la physiopathologie de l'infection ont été identifiés. Un certain nombre d'études ont évalué des mesures de prévention. Parmi ces mesures il est important de citer l'utilisation de gants et de casaques ainsi que l'hygiène des mains. Concernant la ventilation mécanique, l'usage unique des circuits est de rigueur. Afin d'éviter le risque d'inhalation, la position semi-assise est à privilégier et la pression du ballonnet de la sonde d'intubation doit être maintenue entre 25 et 30 cmH₂O (O'Grady, Murray, et Ames 2012).

7. Etat des lieux de l'approche syndromique dans le diagnostic des PAVM

Depuis quelques années, de nouvelles méthodes dans le diagnostic en microbiologie se sont développées par approche « syndromique ». Cette approche se base sur des techniques de PCR multiplexes directement à partir d'un échantillon.

Les panels utilisés sont élaborés en fonction du type de prélèvement à analyser et avec une approche probabiliste des agents responsables du syndrome. Par exemple, un panel destiné au diagnostic des infections sexuellement transmissibles (IST) permettra d'identifier les principaux agents pathogènes responsables d'une IST à partir d'un prélèvement d'urine ou urétraux ou vaginaux chez un patient présentant des symptômes typiques d'IST.

Cette approche permet un diagnostic rapide portant sur plusieurs agents pathogènes sur un seul échantillon. Le fait que plusieurs types d'agents pathogènes soient identifiés permet un rapprochement des disciplines (virologie, bactériologie et parasitologie-mycologie) au profit du patient. De plus, certains panels incluent la détection de gènes de résistance de bactéries à des antibiotiques, enjeu majeur de santé publique au XXIème siècle.

7.1. Approche syndromique dans les infections respiratoires

Il existe de nombreux fournisseurs de trousse et d'automate pour le diagnostic des infections respiratoires « hautes » ou des pneumopathies aiguës communautaires avec des panels essentiellement viraux.

Deux fournisseurs ont développé à ce jour un panel pour les infections respiratoires « basses ». Il s'agit des systèmes Curetis® Unyvero (Curetis, Holzgerlingen, Allemagne) avec son panel LRT (Low Respiratory Tract infection) et FilmArray® BioFire avec le panel pneumonie.

7.1.1. Curetis®

Le panel LRT du système Curetis® Unyvero a été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) en 2018 pour le diagnostic d'infection respiratoire basse à partir d'aspirations endo-trachéales et de LBA. Le panel LRT se compose de 19 cibles bactériennes et 10 marqueurs de résistance (Tableau 9). Il est important de noter qu'il s'agit uniquement

d'un test qualitatif, il n'y a pas de quantification du ou des agents pathogènes identifiés. Dans une revue des évaluations du panel LRT, Alby *et al.* (Alby et Mitchell 2018) rapportent une sensibilité globale de 92,5% dans étude prospective. En 2014 Jamal *et al.* ont montré le potentiel du panel LRT à partir d'aspirations trachéales et de LBA provenant de 49 patients. Une concordance globale de 70% a été observée (Jamal et al. 2014).

7.1.2. FilmArray® Panel pneumonie

Le panel FilmArray® Pneumonia (FAPP) de BioFire Diagnostics (Salt Lake City, USA) a récemment été autorisé par la FDA à être utilisé pour le diagnostic des pneumopathies. Le FAPP utilise la technique de PCR multiplexe nichée pour détecter les agents pathogènes respiratoires bactériens et viraux courants. Il comprend également une sélection de gènes de résistance aux antibiotiques, tels que le gène *mecA* et les gènes impliqués dans les productions de BLSE et de carbapénèmases (tableau 9). Le test peut être utilisé à partir d'expectorations, d'aspiration endotrachéales, ainsi que des liquides obtenus par endoscopie comme les LBA. Sa capacité à fournir des résultats semi-quantitatifs est unique, bien que cette quantification ne concerne qu'un sous-ensemble de cibles bactériennes (tableau 9).

Le concept derrière les résultats semi-quantitatifs se rapproche de la pratique de laboratoire actuelle qui utilise une culture quantitative. La fonction semi-quantitative est obtenue en utilisant un algorithme de « binning » basé sur la quantité relative d'amplicons de produits de PCR cibles quantifiés en comparaison à une concentration connue d'un étalon interne. La limite de quantification varie de $<10^4$ à $>10^7$ copies/ml, les valeurs inférieures à $10^{3,5}$ copies/ml étant considérées comme un résultat négatif. Ce seuil de négativité est à rapprocher de celui de la culture conventionnelle quantitative de LBA, où seules les colonies ayant une numération $\geq 10^4$ UFC/ml sont considérées comme cliniquement significatives (American Thoracic Society 2005). Les marqueurs de résistance ne sont rapportés que si l'espèce bactérienne qui peut héberger le gène de résistance est présente à une densité supérieure au seuil.

Système	Echantillon	Durée de la technique	Bactéries détectées	Virus détectés	Gènes de résistances	Particularités
Curetis Unyvero	Expectoration Aspiration trachéale LBA	4 heures	<i>Acinetobacter spp.</i> <i>Chlamydophila pneumoniae</i> <i>Citrobacter freundii</i> <i>Enterobacter cloacae</i> complex <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Klebsiella variicola</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Serratia marcescens</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i>	Aucun	KPC NDM Oxa-23 Oxa-24/40 Oxa-48 Oxa-58 VIM CTX-M mecA TEM	
			<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> complex <i>Serratia marcescens</i> <i>Proteus spp.</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter aerogenes</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Moraxella catarrhalis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Legionella pneumophila</i> <i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Chlamydia pneumoniae</i>			
FilmArray FAPP	Aspirations trachéales LBA	1 heure	<i>Enterococcus sp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Acinetobacter baumannii cplx.</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus sp.</i> <i>Serratia marcescens</i>	Influenza A virus Influenza B virus Respiratory syncytial virus Rhinovirus/enterovirus Human metapneumovirus Parainfluenza virus Adenovirus Coronavirus Mers-Cov		Semi quantification
FilmArray BCID	Non validé pour les échantillons respiratoires	1 heure	<i>Enterococcus sp.</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Staphylococcus sp.</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Streptococcus sp.</i> <i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Acinetobacter baumannii cplx.</i> <i>Haemophilus influenzae</i> <i>Neisseria meningitidis</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacteriaceae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Proteus sp.</i> <i>Serratia marcescens</i>	Aucun	mecA vanA/B KPC	Identification de levures du genre <i>Candida</i> .

Tableau 9: comparaison des systèmes de diagnostics rapides pour les infections respiratoires basses

7.1.3. FilmArray® Panel BCID

Le FilmArray® (BioMérieux, Marcy L'étoile, France) est un automate de PCR multiplexe, dont le panel sanguin Blood Culture Identification (BCID) permet l'identification de 27 cibles (19 bactéries, 5 levures et 3 gènes de résistance). La composition du panel FilmArray® BCID (tableau 9) en fait un outil potentiellement utilisable dans le diagnostic des PAVM, pour permettre une adaptation précoce de l'antibiothérapie. En effet les principales bactéries rapportées comme responsables de PAVM que sont les entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae*, sont incluses dans le panel BCID.

L'objectif de ce travail était d'évaluer la performance du panel FilmArray® BCID pour le diagnostic des pathogènes associés aux PAVM sur des liquides de lavages broncho-alvéolaires (LBA) prélevés chez des patients hospitalisés dans deux services de réanimation du CHU d'Angers.

Article

Performance of the extended use of the filmarray® BCID panel kit for bronchialveolar lavage analysis

Maxime Sansot ^a, Eugénie Fradin^b, Rachel Chenouard^a, Marie Kempf ^a, Achille Kouatchet^c,
Sigismond Lasocki^b, Carole Lemarié^a, Matthieu Eveillard^a, Hélène Pailhoriès^{a*}

^a *Laboratoire de bactériologie, CHU Angers, Angers, France*

^b *Réanimation chirurgicale A, CHU Angers, Angers, France*

^c *Réanimation médicale, CHU Angers, Angers, France*

* Corresponding author

Correspondence

H.Pailhoriès. Laboratoire de bactériologie, CHU Angers, 4 rue Larrey, 49933 Angers cedex, France Tel.: +33 2 41356335; fax: +33 41354164. E-mail: Helene.Pailhories@chu-angers.fr

Running title: Rapid diagnosis of nosocomial pneumonia

Keywords: Ventilator associated pneumonia; multiplex PCR; Intensive Care Units; nosocomial infection; diagnosis

Abstract:

Ventilator-associated pneumonia are responsible for an increase in morbidity, mortality, and prolonged hospital stay. A multiplex PCR kit such as the FilmArray® BCID panel could allow early adaptation of antimicrobial therapy, which is crucial for clinical outcomes.

We tested the FilmArray® BCID panel on 50 bronchialveolar lavages (BALs), from patients hospitalized in two intensive care units at the Angers university hospital, compared to the conventional culture-based method.

The sensitivity and the specificity of the FilmArray® BCID panel were 67.2% and 98.9% respectively. They were 88.6% and 98.3% respectively when considering BALs with a positive culture > 10⁴ CFU/mL, and 94.7% and 99.6% respectively if considering BALs with a positive direct examination.

The study underlines the good performance of the FilmArray® BCID panel for BAL fluid analysis. In case of positive direct examination, this test allows reliable results to be obtained at an early stage.

1. Introduction

Ventilator associated pneumonia (VAP) are the main cause of nosocomial infections in intensive care units (ICU) in Europe (American Thoracic Society 2005; Melsen et al. 2013) (European Centre for Disease Prevention and Control, 2018). They are responsible for an increase in morbidity with longer hospital stays and have also been associated with an additional financial charge evaluated at almost \$40,000 per hospitalization in a group of 88,689 patients in the United States (Kollef, Hamilton, et Ernst 2012) In addition, this disease is linked to an increase in mortality, with a reliable mortality varying from 13% to 30% according to studies (Kuti, Patel, et Coleman 2008; Iregui et al. 2002) (American Thoracic Society, 2005; Melsen et al., 2013). Monitoring, diagnosis, prevention, and treatment of VAP are therefore major challenges for treating patients in ICUs.

However, diagnosing VAP is difficult because the clinical signs (fever, change in tracheal secretions, hyperleukocytosis...) are not specific. This means that bacteriological documentation remains essential in order to support the diagnosis and optimize the antimicrobial treatments. In effect, bacteriological analysis is a key element in aiming for adapted antibiotic treatment. However, studies have shown that early introduction of antibiotics determined the success of the treatment of pneumonia (Kuti, Patel, et Coleman 2008; Iregui et al. 2002). In addition, it has been shown that rapid results allow a de-escalation in the antibiotics used to treat VAP (Pailhoriès et al., 2014) and also reduces the use of antibiotics on a large scale (Kollef, 2008). The development of tools to provide a rapid diagnosis of this disease, in comparison with slower conventional bacteriological culture techniques (48-72 hours), may represent a new option to adapt a probabilistic antibiotic treatment as soon as possible. For several years, the multiplex PCR techniques based on a syndrome-specific approach brought about a revolution for the diagnosis in microbiology. These commercial kits make it possible to simultaneously identify several infectious agents (bacteria, yeast, viruses), but also certain resistance genes (Torres, 2016).

The impact of the multiplex PCR kits used on vials of positive blood cultures has been assessed. Positive impacts of these PCR techniques were proven by the antimicrobial therapy de-escalation in sepsis (Pardo et al. 2016; Banerjee et al. 2015). Good performances were also observed with molecular techniques, such as the pneumonia panel in the Curetis®

Unyvero System (Curetis, Holzgerlingen, Germany), for patients who were suspected of having developed a VAP (Jamal et al. 2014).

FilmArray® (bioMérieux, Marcy L'Etoile, France) is an automated multiplex PCR system, in which the blood culture identification (BCID) panel can identify 27 targets (19 bacteria, 5 yeasts and 3 resistance genes). The composition of the FilmArray® BCID panel could be potentially usable in diagnosing VAP in about an hour, to allow an early adaptation of antibiotic treatment. The main bacteria reported as being responsible for VAP (*Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae*) are included in the BCID panel.

The aim of this study is to evaluate the performance of the FilmArray® BCID panel in diagnosing pathogens linked with VAP on bronchoalveolar lavage (BAL) liquids sampled from patients hospitalized in two intensive care units at a university hospital.

2. Material and Method

2.1. Type of study

This prospective, monocentric study has been approved by the ethics committee of the Angers University Hospital (CHU Angers), France (approval no. 2017-61). An informative letter about the study was given to the patient or a family member if the patient was unable to read it.

2.2. Organization of the study

The study was carried out from December 2017 to April 2018 in the bacteriology laboratory at Angers University Hospital. Fifty BALs intended for diagnosis were included. These were collected beforehand in a medical intensive care unit (24 beds) and in a surgical intensive care unit (12 beds). Patients who were eligible for the study had to be intubated and ventilated for at least 48 hours. In addition, the rate of recovery of BALs (volume of saline solution recovered/volume of saline instilled) had to be higher than 10%. Patients with a tracheotomy and who are intubated in the long term were excluded from the study. During the study, clinical and biological data, such as body temperature, number of leukocytes in blood counts, the quantity and appearance of tracheal secretions, the arterial partial pressure of O₂ (PaO₂), and the fraction of inspired oxygen (FiO₂), were collected. Thoracic imagery reports were also taken into account. These data made it possible to establish the mCPIS score defined by Luna et al. (Luna et al, 2003). Patients with a mCPIS score ≥ 6 measured on the day of the BAL sample were considered as being affected by VAP. Lastly, the other data, such as the presence or absence of antibiotic treatment in the days preceding the BAL sample, previous infection during the stay in the ICU, and the period between intubation and the BAL sample, were also collected.

2.3. FilmArray® tests

A FilmArray® BCID test (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) was carried out as recommended the with supplier instructions for blood cultures, using 200 μ L of BAL fluid without centrifugation or treatment.

2.4. Conventional microbiological techniques

The conventional techniques include BAL culture, as well as a direct examination including a Gram stain and a rapid May-Grünwald-Giemsa stain for bacteria and cytologic analysis (RAL 555, RAL-Diagnostics, Montillac, France). Conventional cultures were carried out by inoculating a blood agar with added nalidixic acid and colistin (CNA, Oxoid, Dardilly, France) incubated in anaerobiosis, a chocolate agar (CHOCV, Oxoid) incubated in an atmosphere enriched with 5% CO₂, and a chromogenic agar (UTI, Oxoid) incubated in aerobiosis. Several dilutions of the sample, at 10⁻¹, 10⁻² and 10⁻⁴, were performed for bacterial quantification (CFU/mL). The cultures were interpreted following the recommendations of the European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases (<https://www.escmid.org/>). The bacteria were identified by mass spectrometry (Vitek MS®, bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). The antibiotic susceptibility tests were carried out by microdilutions in a liquid environment (Vitek® 2) or by diffusion in an agar environment according to the variety identified. The results of the antibiotic susceptibility tests were interpreted in accordance with the recommendations of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (<http://www.eucast.org/>).

2.5. Analysis of the results

In this study, we compared exclusively the results concerning bacterial identifications. The results showing a polymorphic flora, potentially a reflection of colonization, were interpreted as negative. The results were compared at the species level; except for the results delivered at the genus level by the FilmArray® BCID test (*Enterococcus* sp. and *Proteus* sp.). Therefore, we limited our comparative analysis to 16 targets (analytes) per sample. A result was considered as true positive (TP) or as true negative (TN) when it totally agreed with the culture. A positive result obtained from the culture and not by the FilmArray® was considered a false negative (FN). In contrast, a result obtained from the FilmArray and not by the culture was considered a false positive (FP). All contradictory results were confirmed by a new test carried out using the FilmArray® BCID. It should be noted that if resistance genes were identified by the FilmArray®, a control was performed on the sample by using the GenXpert® system (Cepheid, Sunnyvale, USA).

The concordance between the two methods was investigated for all BAL fluids. Since the usual positive threshold for the interpretation of BAL fluid cultures is 10^4 CFU/mL (American Thoracic Society, 2005), we targeted the concordance analysis on BALs for which at least one potentially pathogenic bacterium has been isolated in culture at a concentration greater than or equal to this threshold. Finally, we examined the agreement by considering BAL fluids with a positive direct examination. When a polymorphic flora without predominance of one or two bacterial forms was observed, direct examination was considered negative because non-contributory for the diagnosis.

2.6. Statistics

The data were collected by using EPI-INFO 7.2 software (Center for Disease Control, Atlanta, USA). The statistical analyses (Cohen's kappa test) were carried out on the Vassar Stats website (<http://vassarstats.net>). A kappa coefficient between 0.81 and 1 indicated a very strong agreement between the results of the culture and FilmArray®. A kappa coefficient between 0.61 and 0.8 indicated a strong agreement between the two results. Conversely, a kappa coefficient of < 0.61 meant that the two results were not sufficiently in agreement.

The sensitivity (Se) was calculated as $100 * [TP / (TP + FN)]$ and the specificity (Sp) was calculated as $100 * [TN / (TN + FP)]$. The positive predictive value (PPV) was calculated as $100 * [TP / (TP + FP)]$. The negative predictive value (NPV) was calculated as $100 * [TN / (TN + FN)]$. The 95% confidence intervals were calculated according to the Wilson score method.

3. Results

3.1. Study population

Forty-five patients were included in the study, corresponding to 50 BALs. Two BALs were performed for three patients and three BALs for one patient. Twenty-five patients were hospitalized in an intensive care unit and 20 were in a surgical intensive care unit. The average age of the patients was 63 ± 17 years old with a sex ratio (M/F) of 2.46. The most frequent reasons for admission to the intensive care unit were acute respiratory distress syndrome (ARDS) (31%), sepsis (11%), a neurological injury (11%), and multiple trauma (9%). Sixteen (36%) patients had an extrapulmonary infection before their BAL sample. Twenty (45%) patients included in the study had received antibiotic treatment in the three days before the BAL sample. The average mCPIS score was 6.4 ± 1.7 (extremes, 3 to 9). The clinical data is presented in table 1.

Characteristics	Mean	Standard deviation
Age (in years)	62.8	17.3
Sex ratio (M/F)	2.5	
Time delay between mechanical ventilation and 1st sampling (in days)	11.1	
Antibiotic therapy during sampling (in percentage)	50	
mCPIS	6.4	1.7
% BAL obtained	29.1	

Table 1: Characteristics of the study population n = 45

3.2. Results obtained from culture and FilmArray® BCID

3.2.1. Culture

Of the 50 BALs analyzed for the study, 30 (60%) showed a positive direct examination as well as an average percentage of infected cells of 6.5% (0% to 75%), of which 16 BALs (32%) had more than 5% infected cells. Thirty-five BALs (70%) showed a positive culture

including at least one pathogenic bacterium with a count in a range from 10^2 to more than 10^6 CFU/mL. Fifty-four bacteria were identified by using conventional cultures, including 33% of Gram-positive bacteria with a predominance of *Staphylococcus aureus* (72%) and 67% of Gram-negative bacteria with a predominance of *Enterobacteriaceae* (51%) and *Pseudomonas aeruginosa* (30%). Only one strain of *Staphylococcus aureus* in the 13 isolated by culture was resistant to methicillin. A strain of *Klebsiella pneumoniae* produced an extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and a strain of *Pseudomonas aeruginosa* was resistant to ceftazidime and susceptible to imipenem.

3.2.2. FilmArray®

The FilmArray® BCID panel test was positive for 34 (68%) of the 50 BALs analyzed, allowing the identification of 44 bacteria: 39% of Gram-positive bacteria with a predominance of *Staphylococcus aureus* (59%) and 61% of Gram-negative bacteria with *Pseudomonas aeruginosa* (37%), *Haemophilus influenzae* (37%) and *Enterobacteriaceae* (26%). Three *mecA* genes were detected by the FilmArray®. However, only one was confirmed by the GenXpert® system.

3.2.3. Comparison

Overall, 800 analytes were tested on the 50 BALs (16 analytes per sample). Overall agreement between the FilmArray® and conventional culture results was 96.6% (773/800). For the FilmArray®, we observed an overall sensitivity of 67.2% (CI 95%: 53.5% – 78.6%), as well as a specificity of 98.9% (CI 95%: 97.8% – 99.5%). Thirty-nine tests were positive with the FilmArray and by culture. The overall PPV was 82.9% (CI 95%: 68.7% – 91.9%). We observed 734 negative targets with the FilmArray®, corresponding to an absence of growth by culture of bacteria corresponding to these targets. The overall NPV was 97.5% (CI 95%: 96.0% – 98.4%). The level of agreement between the results of the culture and FilmArray® was considered to be good with a kappa coefficient of 0.73 (CI 95%: 0.63 – 0.82). The results of the overall comparison are presented in table 2.

	Culture	FilmArray	Sensitivity			Specificity			PPV			NPV		
			TP/(TP + FN)	%	CISe	TN/(TN + FP)	%	CISp	TP/(TP + FP)	%	CIPPV	TN/(TN + FN)	%	CINVP
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11	10	10/11	90.9	57.1 - 99.5	39/39	100	88.9 - 100	10/10	10	65.6 - 100	39/40	97.5	85.3 - 99.9
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	2	0	0/2											
<i>Acinetobacter.</i>	1	0	0/1											
<i>Haemophilus influenzae</i>	4	10	4/4	100	39.6 - 100	40/46	87.0	73.0 - 95.0	4/10	40	13.7 - 72.6	40/40	100	89.1 - 100
<i>E coli</i>	5	3	3/5	60	17.0 - 100	45/45	100	90.2 - 100	3/3	10	31.0 - 99.3	45/47	95.7	84.3 - 99.3
<i>Hafnia alvei</i>	1	0	0/1											
<i>Enterobacter aerogenes</i>	3	0	0/3											
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	0	0/1											
<i>Serratia marcescens</i>	1	0	0/1											
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2	2/2	100	19.8 - 100	48/48	100	90.8 - 100	2/2	10	19.8 - 100	48/48	100	90.8 - 100
<i>Citrobacter freundii</i>	2	0	0/2											
<i>Citrobacter koseri</i>	1	0	0/1											
<i>Proteus mirabilis</i>	3	2	2/3	66.7	12.5 - 98.2	47/47	100	90.6 - 100	2/2	10	19.8 - 100	47/48	97.9	87.5 - 99.9
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	10	10/13	76.9	46.0 - 93.8	37/37	100	88.3 - 100	10/10	10	65.6 - 100	37/40	92.5	78.5 - 98.0
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4	6	4/4	100	39.6 - 100	44/46	95.7	84 - 99.2	4/6	66.7	24.1 - 94.0	44/44	100	90.0 - 100
<i>Enterococcus sp</i>	1	1	1/1	100	5.5 - 100	49/49	100	91.0 - 100	1/1	10	5.5 - 100	49/49	100	91.0 - 100

Table 2: Performance of the FilmArray BCID compared to conventional cultures

By limiting the comparison of the two methods to BAL fluids with a culture greater than 10^4 CFU/mL, the overall agreement was 97.9% (783/800) with a sensitivity of 88.6% (CI 95%: 72.3% – 96.3%), a specificity of 98.3% (CI 95%: 97.0% – 99.1%), a PPV of 70.5% (CI 95%: 54.6% – 82.8%), and a NPV of 99.5% (CI 95%: 98.5% – 99.8%). A kappa coefficient of 0.77 (CI 95%: 0.67 – 0.88) was obtained for the agreement between the conventional cultures (bacteria $> 10^4$ UFC/mL) and the results of the FilmArray® BCID panel. The sensitivity of identifications obtained for each bacteria was 100% if we do not take into account the bacteria isolated in the culture but not included in the panel (three *Citrobacter sp.* and one *Acinetobacter radioresistans*). The specificity of different bacterial identifications varies between 87% (*Haemophilus influenzae*) and 100% (*Klebsiella pneumoniae*).

The results of the comparison, taking into consideration the threshold of $\geq 10^4$ CFU/mL, are presented in table 3. Among the 17 discrepant results out of the 800 targets tested, 13 corresponded to a positive FilmArray® test and a negative culture test (considered FP). The other four contradictions corresponded to a negative FilmArray® result and a positive culture (considered FN) with bacteria not included in the BCID panel. Of the 13 False Positive results, 5 (3 *Staphylococcus aureus*, 1 *Proteus sp.* and 1 *Enterococcus sp.*) corresponded to bacteria isolated in culture at a concentration of less than 10^4 CFU/mL and 3 (2 *Streptococcus pneumoniae* and 1 *Haemophilus influenzae*) of the 13 False Positive targets were isolated from the samples taken from the patients treated with antibiotics active on those bacteria.

Bacteria	Sensitivity			Specificity			PPV			NPV		
	TP/(TP + FN)	%	CI 95%	TN/(TN + FP)	%	CI 95%	TP/(TP + FP)	%	CI 95%	TN/(TN + FN)	%	CI 95%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10/10	100	65.6 - 100	40/41	97.6	85.6 - 99.9	10/11	91	57.1 - 99.5	40/40	100	89.1-100
<i>Acinetobacter radioresistans</i>	0/1	0										
<i>Escherichia coli</i>	3/3	100	30 - 100	46/47	97	87 - 99	3/4	75	21.9 - 98.7	46/46	100	90.4 - 100
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2/2	100	20-100	48/48	100	91 - 100	2/2	100	19.8 - 100	48/48	100	90.8 - 100
<i>Citrobacter sp.</i>	0/3	0										
<i>Proteus sp.</i>	1/1	100	5.5 - 100	49/50	97.9	87.8 - 99.9	1/2	50	2.7 - 97.3	49/49	100	90.8-100
<i>Haemophilus influenzae</i>	4/4	100	39.6 - 100	40/46	87.0	73.0 - 94.6	4/10	40	13.7 - 72.6	40/40	100	89.1 - 100
<i>Staphylococcus aureus</i>	7/7	100	56.1 - 100	41/43	95.3	82.3 - 99.2	7/9	77.8	40.2 - 96.1	41/41	100	89.3 - 100
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	4/4	100	39.6 - 100	44/46	95.7	83.4 - 99.2	4/6	66.7	24.1 - 94	44/44	100	89.9 - 100
<i>Enterococcus sp</i>	0/0			50/51	98	87.9 - 99.9				49/49	100	90.4 - 100

Table 3: FilmArray® BCID performance compared to > 10⁴ CFU/mL germs in culture.

The figure 1 presents an overview of discrepancies between the FilmArray® and culture tests, limited to BAL fluids for which at least one bacterium has been identified at a concentration greater than 10^4 CFU/mL.

By considering only BALs with positive direct examination, good results were obtained with a sensitivity of 94.7% (CI 95%: 71.9% – 99.7%), a specificity of 97.9% (CI 95%: 94.9% – 99.2%), a PPV value of 78.3% (CI 95%: 55.8% – 91.7%) and a NPV of 99.6% (CI 95%: 72.2% – 96.8%) compared to conventional cultures.

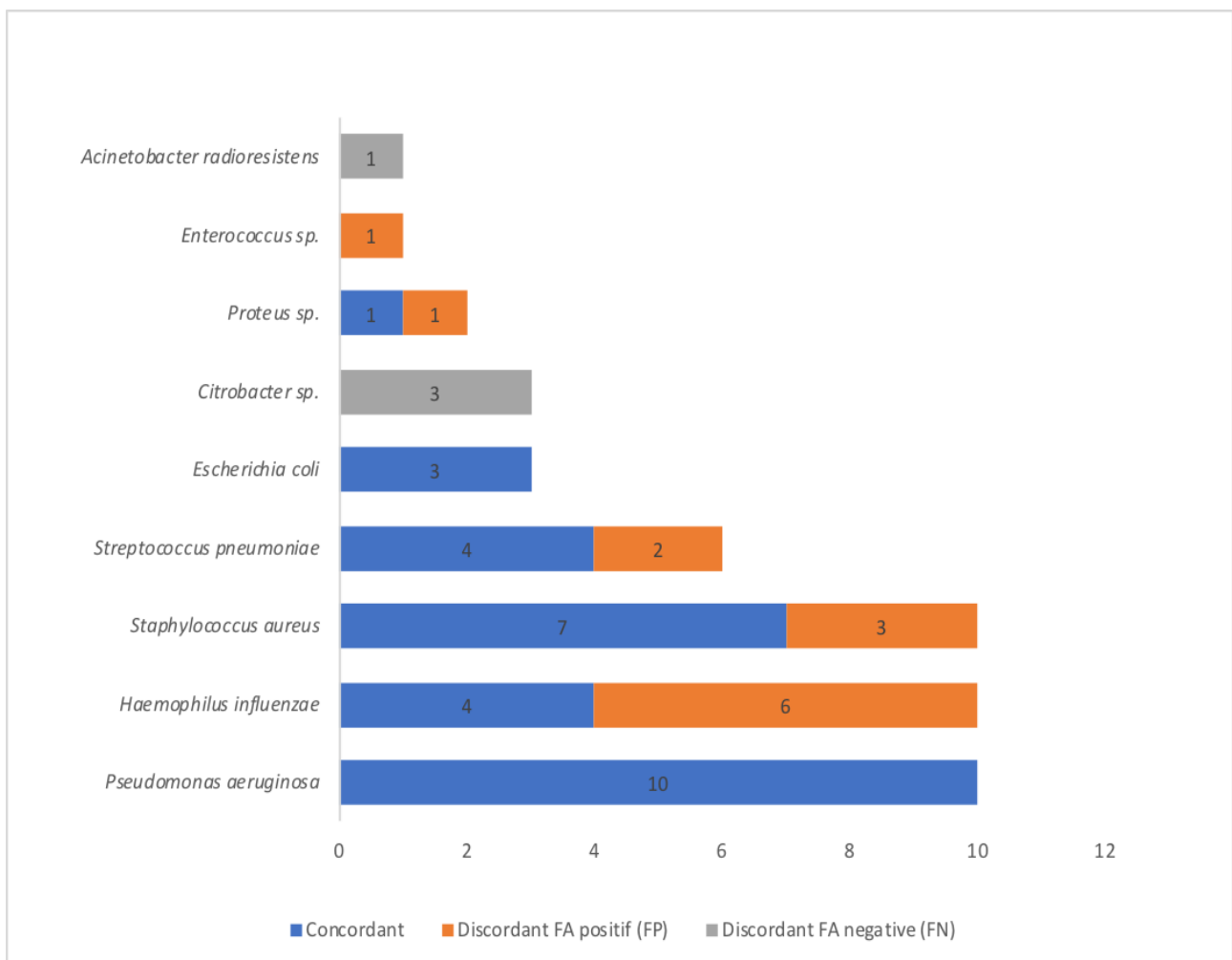


Figure 1: Investigation of discrepancies between FilmArray BCID and culture ($>10^4$ CFU/mL)

4. Discussion

In the context of the development of new molecular diagnostic tools using a syndrome-specific approach, our study aimed to evaluate the performance of the FilmArray® BCID panel with BAL samples in order to contribute to an early diagnosis of VAP. This study shows the good performance of this test in comparison with conventional microbiological cultures. Indeed, our results show an overall sensitivity of 67.2% and a specificity of 98.9%. In another study, Pulido et al. (Pulido et al. 2018) obtained similar results with a sensitivity of 62.9% and a specificity of 100% when using the FilmArray® BCID panel on BAL samples. Micó et al. (Micó et al. 2015) also obtained the same results for their 15 BALs studied with the FilmArray® BCID, with a sensitivity of 70% and a specificity of 80%.

In comparison with these two studies, the originality of our work lies in considering two contributory variables for the diagnosis of pneumonia with the BAL: the threshold of bacterial count $\geq 10^4$ CFU/mL and the positive direct examination. To compare the multiplex PCR techniques to culture-based methods for the diagnosis of VAP, the use of a threshold seems relevant. Indeed, the bacterial quantification with respect to this threshold can contribute to differentiating a colonization and an infection. By applying the usual recognized threshold for interpreting BAL cultures (10^4 CFU/mL), very good performance was recorded with a sensitivity of 88.6%, a specificity of 98.3%, and a negative predictive value of 99.5%. These molecular techniques are expensive, especially since they do not avoid the culture because of the necessity of providing an antibiogram. Thus, the restriction of their use to specific clinical situations and their inclusion in a well-defined diagnostic algorithm appear essential. In this context, considering the direct examination in such an algorithm seems relevant because the result is obtained very quickly and can contribute to the decision of whether or not to perform a FilmArray® BCID test. It was by considering only BALs with positive direct examination that the best performance was obtained compared to conventional cultures. Therefore, our results would encourage the use of positive direct examination to discriminate the BALs eligible for a rapid diagnostic technique in order to limit the costs and optimize the usefulness of the FilmArray®.

The FilmArray® BCID panel presents several limitations for analyzing BALs. The first limitation is related to the composition of panel, which does not include some

Enterobacteriaceae and other bacteria potentially responsible for VAP. This limit is at the origin of the 4 FN identified by considering the threshold of 10^4 CFU/mL of the culture (1 *Acinetobacter radioresistans* and 3 *Citrobacter sp.*). However, the *Enterobacteriaceae* test of the FilmArray® system was not considered in our analysis despite for the 3 *Citrobacter sp.* isolated at more than 10^4 CFU/mL in culture, the *Enterobacteriaceae* test was positive with the FilmArray®. This result leads us to put these three discrepancies into perspective. Regarding the 13 FP results, 3 positive tests (2 *Streptococcus pneumoniae* and 1 *Haemophilus influenzae*) have been recorded from samples of patients treated with antibiotics active on those bacteria. These treatments could explain the absence of culture. Given that the FilmArray® BCID was falsely positive for 5 *Haemophilus influenzae* tests, it seems not possible to consider tests positive for *Haemophilus influenzae* with this system. These 5 false positive results could be related to or to a contamination by the operator at the time of plating. However, the laboratory operates 24/7 (Pailhories et al., 2014) and the analytical phase of the FilmArray® system is conducted in a biological safety area with a laminar flow hood. Thus, these discrepancies could more probably be related to a limit of the FilmArray® technique. Another technical limitation is the low number of targets for resistance genes, with in particular the lack of some targets of major interest if we refer to the European epidemiological data (<https://ecdc.europa.eu/en/home>) (e.g. CTX-M and OXA-48). In addition, we have demonstrated that the detection of the *mecA* gene by the FilmArray® BCID system did not allow to confirm the presence of MRSA. This may be explained by the presence of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in the sample.

Overall, our results tend to demonstrate the good performance of multiplex PCR techniques in the rapid diagnosis of VAP. Although it is well established that the introduction of early probabilistic antibiotic therapy reduces the mortality attributable to VAP as compared to a delayed but adapted antimicrobial therapy (Kuti, Patel, et Coleman 2008; Safdar et al. 2005), the prolonged use of broad-spectrum antibiotics promotes the emergence of multi-resistant bacteria. (Kaki et al. 2011) The studies conducted by Pailhoriès et al. (2014) and Kuti et al. demonstrated that rapid bacteriological documentation during VAP allows the implementation of appropriate antibiotic therapy, often in the form of de-escalation. In addition, the correction of an initially inactive antibiotic therapy is also possible. For example, a positive Gram-negative bacilli examination will trigger a FilmArray® test. Depending on the

outcome, the clinician may adopt either an antibiotic therapy against *Pseudomonas aeruginosa* or an antibiotic therapy targeted against *Enterobacteriaceae*.

BioMérieux has recently developed a new FilmArray® panel for lower respiratory tract infections. This new test should allow semi quantification and include targets of interest for the search for enzymes responsible for bacterial resistance such as ESBL with the CTX-M gene, and the genes coding for the carbapenemases of the OXA48, KPC, NDM, VIM and IMP types. The question is whether it will really add value to the performance of the BCID FilmArray® test applied to BALs, and at what price. Cost-benefit studies will need to be conducted to evaluate it.

Synthèse

Dans un contexte de développement de nouveaux outils de diagnostic moléculaire par approche syndromique, notre étude avait pour but d'évaluer le FilmArray® panel BCID sur des échantillons de LBA, afin de contribuer à un diagnostic précoce des PAVM. Cette étude montre les bonnes performances de ce test en comparaison avec les cultures microbiologiques conventionnelles. En effet, nos résultats montrent une sensibilité globale de 67,2% et une spécificité de 98,9%. Dans une autre étude, Pulido *et al.* (Pulido *et al.* 2018) ont obtenu des résultats similaires avec une sensibilité de 62,9% et une spécificité de 100% en utilisant le FilmArray® panel BCID sur des LBA. Mico *et al.* (Micó *et al.* 2015) ont également obtenu des résultats équivalents sur leur 15 LBA étudiés avec le filmArray® BCID, avec une sensibilité de 70% et une spécificité de 80%.

Par rapport à ces deux études, l'originalité de notre travail réside dans la prise en compte de deux variables contributives pour le diagnostic de pneumonie avec le LBA : le seuil de numération $\geq 10^4$ UFC/mL et l'examen direct. Pour comparer les techniques de PCR multiplexes aux techniques basées sur la culture dans le diagnostic des PAVM, l'utilisation d'un seuil semble pertinente. En effet, la quantification bactérienne par rapport à cette zone seuil peut contribuer à différencier une colonisation d'une infection. En appliquant le seuil usuellement reconnu de 10^4 UFC/mL, nous avons obtenu de très bonnes performances, avec une sensibilité de 88,6%, une spécificité de 98,3%, et une valeur prédictive négative de 99,5%.

Ces techniques moléculaires sont coûteuses, d'autant plus qu'elles ne dispensent pas de la culture car elles ne permettent pas de disposer d'un antibiogramme. Ainsi, la restriction de leur utilisation à des situations cliniques spécifiques, ainsi que leur inclusion dans un algorithme diagnostic bien défini paraissent essentielles. Dans ce contexte, considérer l'examen direct dans un tel algorithme paraît pertinent car le résultat est obtenu très rapidement et peut contribuer à la décision de réaliser un test FilmArray® BCID ou non. C'est en ne prenant en considération que les LBA avec un examen direct positif que les meilleures performances ont été obtenues en comparaison des cultures conventionnelles. Ces résultats seraient donc en faveur de l'utilisation de l'examen direct positif pour discriminer les LBA éligibles à une technique de diagnostic rapide, afin de limiter les coûts et d'optimiser l'utilité du FilmArray®, avec la possibilité pour le clinicien d'obtenir un diagnostic au rang d'espèce en une heure environ, et d'adapter l'antibiothérapie en conséquence.

Nous avons pu identifier certaines limites à l'utilisation du panel FilmArray® BCID. La première tient à la composition du panel qui n'inclue pas certaines entérobactéries ainsi que d'autres bactéries potentiellement retrouvés dans les PAVM. Cette limite dans la composition du panel est à l'origine des 4 FN identifiés en tenant compte du seuil de 10^4 UFC/mL de la culture (1 *Acinetobacter radioresistans* et 3 *Citrobacter* sp.). Il faut cependant signaler que le test *Enterobacteriaceae* du FilmArray® n'a pas été pris en compte dans notre analyse (rang de famille). Or, pour les 3 *Citrobacter* sp. isolés à plus de 10^4 UFC/mL à la culture, le test *Enterobacteriaceae* était positif avec le FilmArray®, ce qui conduit à relativiser ces trois discordances. Concernant les 13 FP, trois tests positifs (2 *Streptococcus pneumoniae* et 1 *Haemophilus influenzae*) avaient été notés à partir de prélèvements de patients traités par des antibiotiques actifs sur les bactéries en question. Une décapitation par les antibiotiques pourrait donc expliquer ces discordances. Enfin, les cinq faux positifs portant sur *Haemophilus influenzae* ne permettent pas de prendre en considération un test positif pour cette bactérie par le FilmArray®. Ces cinq FP pourraient provenir d'un délai trop long entre le prélèvement et l'ensemencement, mais le laboratoire fonctionne 24/24h et 7/7j (Pailhories et al., 2014), ou d'une contamination par l'opérateur au moment de l'ensemencement, mais la phase analytique du filmArray® s'effectue sous poste de sécurité microbiologique à flux laminaire. Ainsi, ces discordances seraient plus probablement liées à une limite technique du FilmArray®. Une autre limite technique est le nombre limité de cibles concernant les gènes de résistance, avec en particulier l'absence de certaines cibles d'intérêt majeur si l'on se réfère à l'épidémiologie européenne (<https://ecdc.europa.eu/en/home>) comme CTX-M et OXA-48. De plus, comme nous avons pu le voir dans cette étude, la détection du gène *mecA* ne peut pas être prise en compte pour affirmer la présence de SARM. Ceci peut s'expliquer par la présence de staphylocoques à coagulase négative résistants à la méticilline dans le prélèvement.

Globalement, nos résultats tendent à montrer les bonnes performances des techniques de PCR multiplexes, dans le diagnostic rapide des PAVM. S'il est bien établi que l'instauration d'une antibiothérapie probabiliste précoce permet de diminuer la mortalité attribuable aux PAVM, (Kuti, Patel, et Coleman 2008 ; Safdar et al. 2005) l'utilisation prolongée d'antibiotiques à large spectre, habituellement utilisées lors de ce type d'antibiothérapie, favorise l'émergence de bactéries multi résistantes. (Kaki et al. 2011) Les travaux de Pailhories et al. (2014) et Kuti et al. (2008) ont montré qu'une documentation

bactériologique rapide lors d'une PAVM permettait la mise en place d'une antibiothérapie adaptée, bien souvent sous la forme d'une désescalade. De plus, la correction d'une antibiothérapie initiale inactive est également possible. Par exemple, un examen positif à bacilles Gram négatif permettra le déclenchement d'un test FilmArray®. En fonction du résultat le clinicien pourra soit adopter une antibiothérapie dirigée contre *Pseudomonas aeruginosa*, soit une antibiothérapie ciblée contre les entérobactéries.

Récemment, bioMérieux a développé un nouveau panel pour le FilmArray® dans le cadre des infections respiratoires basses. Ce nouveau test devrait permettre une semi quantification et inclure des cibles d'intérêts pour la recherche d'enzymes responsables de résistances bactériennes telles que les BLSE avec le gène CTX-M, et les gènes codant pour les carbapénémases de type OXA48, KPC, NDM, VIM et IMP. La question est de déterminer s'il apportera réellement une plus-value par rapport aux performances du test FilmArray® BCID appliqués aux LBA, et à quel prix. Des études coûts-bénéfices devront être réalisées pour l'évaluer.

Bibliographie

- Alby, Kevin, et Stephanie L. Mitchell. 2018. « Lower Respiratory Multiplex Panels for the Detection of Bacterial and Viral Infections ». *Clinical Microbiology Newsletter* 40 (16): 131-36. <https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2018.07.005>.
- American Thoracic Society, America. 2005. « Guidelines for the management of adults with hospital-acquired, ventilator-associated, and healthcare-associated pneumonia ». *Am J Respir Crit Care Med* 171: 388-416. <https://doi.org/10.1164/rccm.200405-644ST>.
- Bekaert, Maarten, Jean-Francois Timsit, Stijn Vansteelandt, Pieter Depuydt, Aurélien Vésin, Maité Garrouste-Orgeas, Johan Decruyenaere, Christophe Clec'h, Elie Azoulay, et Dominique Benoit. 2011. « Attributable Mortality of Ventilator-Associated Pneumonia ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 184 (10): 1133-39. <https://doi.org/10.1164/rccm.201105-0867OC>.
- Berton, Danilo Cortozi, Andre C. Kalil, et Paulo José Zimmermann Teixeira. 2014. « Quantitative versus Qualitative Cultures of Respiratory Secretions for Clinical Outcomes in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia ». *The Cochrane Database of Systematic Reviews*, n° 10 (octobre): CD006482. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD006482.pub4>.
- Blot, Stijn I., Fabio Silvio Taccone, Anne-Marie Van den Abeele, Pierre Bulpa, Wouter Meersseman, Nele Brusselaers, George Dimopoulos, et al. 2012. « A Clinical Algorithm to Diagnose Invasive Pulmonary Aspergillosis in Critically Ill Patients ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 186 (1): 56-64. <https://doi.org/10.1164/rccm.201111-1978OC>.
- Boyer, Anthony F., Noah Schoenberg, Hilary Babcock, Kathleen M. McMullen, Scott T. Micek, et Marin H. Kollef. 2015. « A Prospective Evaluation of Ventilator-Associated Conditions and Infection-Related Ventilator-Associated Conditions ». *Chest* 147 (1): 68-81. <https://doi.org/10.1378/chest.14-0544>.
- « Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2017 ». 2017, 12.
- Estes, R. J., et G. U. Meduri. 1995. « The Pathogenesis of Ventilator-Associated Pneumonia: I. Mechanisms of Bacterial Transcolonization and Airway Inoculation ». *Intensive Care Medicine* 21 (4): 365-83.
- Ewig, S., A. Torres, M. El-Ebiary, N. Fábregas, C. Hernández, J. González, J. M. Nicolás, et L. Soto. 1999. « Bacterial Colonization Patterns in Mechanically Ventilated Patients with Traumatic and Medical Head Injury. Incidence, Risk Factors, and Association with Ventilator-Associated Pneumonia ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 159 (1): 188-98. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.159.1.9803097>.
- Fagon, J. Y., J. Chastre, M. Wolff, C. Gervais, S. Parer-Aubas, F. Stéphan, T. Similowski, et al. 2000. « Invasive and Noninvasive Strategies for Management of Suspected Ventilator-Associated Pneumonia. A Randomized Trial ». *Annals of Internal Medicine* 132 (8): 621-30.
- Francioli, Patrick, Jean Chastre, Martin Langer, Jose Ignacio Santos, Pramod M. Shah, et Antonio Torres. 1997. « Ventilator-Associated Pneumonia—Understanding Epidemiology and Pathogenesis to Guide Prevention and Empiric Therapy ». *Clinical Microbiology and Infection* 3 (avril): S61-76. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.1997.tb00647.x>.
- Iregui, Manuel, Suzanne Ward, Glenda Sherman, Victoria J. Fraser, et Marin H. Kollef. 2002. « Clinical Importance of Delays in the Initiation of Appropriate Antibiotic Treatment for Ventilator-Associated Pneumonia ». *Chest* 122 (1): 262-68.
- Jaeger, A. de, C. Litalien, J. Lacroix, M. C. Guertin, et C. Infante-Rivard. 1999. *Protected Specimen Brush or Bronchoalveolar Lavage to Diagnose Bacterial Nosocomial Pneumonia in Ventilated Adults: A Meta-Analysis*. Centre for Reviews and Dissemination (UK). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK67669/>.
- Jamal, W., E. Al Roomi, L. R. AbdulAziz, et V. O. Rotimi. 2014. « Evaluation of Curetis Unyvero, a Multiplex PCR-Based Testing System, for Rapid Detection of Bacteria and Antibiotic Resistance and Impact of the Assay on Management of Severe Nosocomial Pneumonia ». *Journal of Clinical Microbiology* 52 (7): 2487-92. <https://doi.org/10.1128/JCM.00325-14>.
- Jongerden, Irene P., Anton G. Buiting, Maurine A. Leverstein-van Hall, Ben Speelberg, Shimriet Zeidler, Jozef Kesecioglu, et Marc J. Bonten. 2011. « Effect of Open and Closed Endotracheal Suctioning on Cross-Transmission with Gram-Negative Bacteria: A Prospective Crossover Study ». *Critical Care Medicine* 39 (6): 1313-21. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3182120815>.
- Kalil, Andre C., Mark L. Metersky, Michael Klompas, John Muscedere, Daniel A. Sweeney, Lucy B. Palmer, Lena M. Napolitano, et al. 2016. « Management of Adults With Hospital-Acquired and Ventilator-Associated Pneumonia: 2016 Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America and the

- American Thoracic Society ». *Clinical Infectious Diseases* 63 (5): e61-111. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw353>.
- Klein Klouwenberg, Peter M. C., Maaïke S. M. van Mourik, David S. Y. Ong, Janneke Horn, Marcus J. Schultz, Olaf L. Cremer, Marc J. M. Bonten, et MARS Consortium. 2014. « Electronic Implementation of a Novel Surveillance Paradigm for Ventilator-Associated Events. Feasibility and Validation ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 189 (8): 947-55. <https://doi.org/10.1164/rccm.201307-1376OC>.
- Kollef, Marin H. 2008. « Broad-Spectrum Antimicrobials and the Treatment of Serious Bacterial Infections: Getting It Right Up Front ». *Clinical Infectious Diseases* 47 (Supplement_1): S3-13. <https://doi.org/10.1086/590061>.
- Kollef, Marin H., Cindy W. Hamilton, et Frank R. Ernst. 2012. « Economic Impact of Ventilator-Associated Pneumonia in a Large Matched Cohort ». *Infection Control & Hospital Epidemiology* 33 (3): 250-56. <https://doi.org/10.1086/664049>.
- Koulenti, D., E. Tsigou, et J. Rello. 2017. « Nosocomial pneumonia in 27 ICUs in Europe: perspectives from the EU-VAP/CAP study ». *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 36 (11): 1999-2006. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2703-z>.
- Koulenti, Despoina, Thiago Lisboa, Christian Brun-Buisson, Wolfgang Krueger, Antonio Macor, Jordi Sole-Violan, Emili Diaz, et al. 2009. « Spectrum of Practice in the Diagnosis of Nosocomial Pneumonia in Patients Requiring Mechanical Ventilation in European Intensive Care Units ». *Critical Care Medicine* 37 (8): 2360-68. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181a037ac>.
- Kumar, Anand, Nasia Safdar, Shravan Kethireddy, et Dan Chateau. 2010. « A Survival Benefit of Combination Antibiotic Therapy for Serious Infections Associated with Sepsis and Septic Shock Is Contingent Only on the Risk of Death: A Meta-Analytic/Meta-Regression Study ». *Critical Care Medicine* 38 (8): 1651-64. <https://doi.org/10.1097/CCM.0b013e3181e96b91>.
- Larsson, Johan, Theis Skovsgaard Itenov, et Morten Heiberg Bestle. 2017. « Risk Prediction Models for Mortality in Patients with Ventilator-Associated Pneumonia: A Systematic Review and Meta-Analysis ». *Journal of Critical Care* 37: 112-18. <https://doi.org/10.1016/j.jcrc.2016.09.003>.
- Latorre, F. J. de, T. Pont, A. Ferrer, J. Rosselló, M. Palomar, et M. Planas. 1995. « Pattern of Tracheal Colonization during Mechanical Ventilation ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 152 (3): 1028-33. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.152.3.7663779>.
- Laurenzi, G. A., R. T. Potter, et E. H. Kass. 1961. « Bacteriologic Flora of the Lower Respiratory Tract ». *The New England Journal of Medicine* 265 (décembre): 1273-78. <https://doi.org/10.1056/NEJM196112282652601>.
- Leone, Marc, Lila Bouadma, Bélaïd Bouhemad, Olivier Brissaud, Stéphane Dauter, Sébastien Gibot, Sami Hraïech, et al. 2018. « Hospital-acquired pneumonia in ICU ». *Anaesthesia Critical Care & Pain Medicine* 37 (1): 83-98. <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2017.11.006>.
- Lilly, Craig M., Karen E. Landry, Rahul N. Sood, Cheryl H. Dunnington, Richard T. Ellison, Peter H. Bagley, Stephen P. Baker, et al. 2014. « Prevalence and Test Characteristics of National Health Safety Network Ventilator-Associated Events ». *Critical Care Medicine* 42 (9): 2019-28. <https://doi.org/10.1097/CCM.0000000000000396>.
- Luna, Carlos M., Daniel Blanzaco, Michael S. Niederman, Walter Matarucco, Natalio C. Baredes, Pablo Desmery, Fernando Palizas, Guillermo Menga, Fernando Rios, et Carlos Apezteguia. 2003. « Resolution of Ventilator-Associated Pneumonia: Prospective Evaluation of the Clinical Pulmonary Infection Score as an Early Clinical Predictor of Outcome* ». *Critical Care Medicine* 31 (3): 676-82. <https://doi.org/10.1097/01.CCM.0000055380.86458.1E>.
- Luyt, Charles-Edouard, Jean Chastre, et Jean-Yves Fagon. 2004. « Value of the Clinical Pulmonary Infection Score for the Identification and Management of Ventilator-Associated Pneumonia ». *Intensive Care Medicine* 30 (5): 844-52. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-2125-0>.
- Mason, CM, et S Nelson. 1992. « Normal host defenses and impairments associated with the delayed resolution of pneumonia ». *Semin Respir Infect*, 1992, 7 édition.
- Melsen, Wilhelmina G, Maroeska M Rovers, Rolf HH Groenwold, Dennis CJJ Bergmans, Christophe Camus, Torsten T Bauer, Ernst W Hanisch, et al. 2013. « Attributable mortality of ventilator-associated pneumonia: a meta-analysis of individual patient data from randomised prevention studies ». *The Lancet Infectious Diseases* 13 (8): 665-71. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(13\)70081-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(13)70081-1).
- Muscledere, John, Tasnim Sinuff, Daren K. Heyland, Peter M. Dodek, Sean P. Keenan, Gordon Wood, Xuran Jiang, et al. 2013. « The Clinical Impact and Preventability of Ventilator-Associated Conditions in Critically Ill Patients Who Are Mechanically Ventilated ». *Chest* 144 (5): 1453-60. <https://doi.org/10.1378/chest.13-0853>.

- O'Grady, Naomi P., Patrick R. Murray, et Nancy Ames. 2012. « Preventing Ventilator-Associated Pneumonia: Does the Evidence Support the Practice? » *JAMA* 307 (23): 2534-39. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.6445>.
- Pailhoriès, Hélène, Carole Lemarié, Achille Kouatchet, Sigismond Lasocki, Cyril Sargentini, Marie Kempf, Noémie Coron, Chetaou Mahaza, Marie-laure Joly-Guillou, et Matthieu Eveillard. 2014. « The Impact of Performing Bacterial Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing on Bronchoalveolar Fluid Cultures 24 h a Day in a Microbiology Laboratory ». *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 80 (3): 216-21. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2014.07.009>.
- Pugin, Jérôme, Raymond Auckenthaler, Nabil Mili, Jean-Paul Janssens, P. Daniel Lew, et Peter M. Suter. 1991. « Diagnosis of Ventilator-associated Pneumonia by Bacteriologic Analysis of Bronchoscopic and Nonbronchoscopic "Blind" Bronchoalveolar Lavage Fluid ». *American Review of Respiratory Disease* 143 (5_pt_1): 1121-29. https://doi.org/10.1164/ajrccm/143.5_Pt_1.1121.
- Raisin. 2017. « Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte / 2017 / Maladies infectieuses / Rapports et synthèses / Publications et outils / Accueil ». 8 décembre 2017. <http://invs.santepubliquefrance.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2017/Surveillance-des-infections-nosocomiales-en-reanimation-adulte>.
- Sandiumenge, Alberto, Emili Diaz, Maria Bodí, et Jordi Rello. 2003. « Therapy of ventilator-associated pneumonia ». *Intensive Care Medicine* 29 (6): 876-83. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-1715-1>.
- Scannapieco, F. A., E. M. Stewart, et J. M. Mylotte. 1992. « Colonization of Dental Plaque by Respiratory Pathogens in Medical Intensive Care Patients ». *Critical Care Medicine* 20 (6): 740-45.
- Schurink, Carolina A. M., Christianne A. Van Nieuwenhoven, Jan A. Jacobs, Maja Rozenberg-Arska, Hans C. A. Joore, Erik Buskens, Andy I. M. Hoepelman, et Marc J. M. Bonten. 2004. « Clinical Pulmonary Infection Score for Ventilator-Associated Pneumonia: Accuracy and Inter-Observer Variability ». *Intensive Care Medicine* 30 (2): 217-24. <https://doi.org/10.1007/s00134-003-2018-2>.
- Singh, N., P. Rogers, C. W. Atwood, M. M. Wagener, et V. L. Yu. 2000. « Short-Course Empiric Antibiotic Therapy for Patients with Pulmonary Infiltrates in the Intensive Care Unit. A Proposed Solution for Indiscriminate Antibiotic Prescription ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 162 (2 Pt 1): 505-11. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.2.9909095>.
- Timsit, J.F., C. Cheval, B. Gachot, F. Bruneel, M. Wolff, J. Carlet, et B. Regnier. 2001. « Usefulness of a Strategy Based on Bronchoscopy with Direct Examination of Bronchoalveolar Lavage Fluid in the Initial Antibiotic Therapy of Suspected Ventilator-Associated Pneumonia ». *Intensive Care Medicine* 27 (4): 640-47. <https://doi.org/10.1007/s001340000840>.
- Torres, Antoni, Michael S. Niederman, Jean Chastre, Santiago Ewig, Patricia Fernandez-Vandellos, Hakan Hanberger, Marin Kollef, et al. 2017. « International ERS/ESICM/ESCMID/ALAT Guidelines for the Management of Hospital-Acquired Pneumonia and Ventilator-Associated Pneumonia: Guidelines for the Management of Hospital-Acquired Pneumonia (HAP)/Ventilator-Associated Pneumonia (VAP) of the European Respiratory Society (ERS), European Society of Intensive Care Medicine (ESICM), European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and Asociación Latinoamericana Del Tórax (ALAT) ». *The European Respiratory Journal* 50 (3). <https://doi.org/10.1183/13993003.00582-2017>.
- Trouillet, J. L., J. Chastre, A. Vuagnat, M. L. Joly-Guillou, D. Combaux, M. C. Dombret, et C. Gibert. 1998. « Ventilator-Associated Pneumonia Caused by Potentially Drug-Resistant Bacteria ». *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine* 157 (2): 531-39. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.157.2.9705064>.
- Veber, B., B. Souweine, B. Gachot, S. Chevrete, J. P. Bedos, D. Decre, M. C. Dombret, B. Dureuil, et M. Wolff. 2000. « Comparison of Direct Examination of Three Types of Bronchoscopy Specimens Used to Diagnose Nosocomial Pneumonia ». *Critical Care Medicine* 28 (4): 962-68.
- Zhang, P., W. R. Summer, G. J. Bagby, et S. Nelson. 2000. « Innate Immunity and Pulmonary Host Defense ». *Immunological Reviews* 173 (février): 39-51.

Table des matières

PLAN	9
LISTE DES ABREVIATIONS	10
GENERALITES	1
1. Généralités sur les infections nosocomiales dans les services de réanimation en France.	2
2. Les pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM).	4
2.1. Définition et Physiopathologie	4
2.1.1. Définition	4
2.1.2. Physiopathologie	4
a) Physiologie des défenses des voies aériennes contre des agents infectieux.	4
b) Physiopathologie des PAVM	5
2.2. Epidémiologie et impact des PAVM.	6
3. Diagnostic des PAVM.	7
3.1. Place des scores de diagnostic	7
3.2. Deux approches du diagnostic bactériologique	8
3.2.1. Approche non invasive	9
3.2.2. Approche invasive.....	9
3.2.3. Comparaison des deux approches	9
4. Bactériologie des PAVM	11
5. Prise en charge des PAVM	13
6. Prévention des PAVM.	17
7. Etat des lieux de l'approche syndromique dans le diagnostic des PAVM	18
7.1. Approche syndromique dans les infections respiratoires.....	18
7.1.1. Curetis®.....	18
7.1.2. FilmArray® Panel pneumonie.....	19
7.1.3. FilmArray® Panel BCID	21
ARTICLE	22
1. Introduction	24
2. Material and Method	26
2.1. Type of study	26
2.2. Organization of the study	26
2.3. FilmArray® tests	26
2.4. Conventional microbiological techniques	27
2.5. Analysis of the results	27
2.6. Statistics	28
3. Results.....	29
3.1. Study population	29
3.2. Results obtained from culture and FilmArray® BCID	29
3.2.1. Culture	29
3.2.2. FilmArray®	30
3.2.3. Comparison.....	30
4. Discussion	35
SYNTHESE	38
BIBLIOGRAPHIE	42
TABLE DES MATIERES	45
TABLE DES ILLUSTRATIONS	46
TABLE DES TABLEAUX.....	47

Table des illustrations

Figure 1 : Physiopathologie des PAVM	5
Figure 2 : Algorithme d'antibiothérapie probabiliste, adapté des recommandations européenne (Torres et al. 2017).	15

Table des tableaux

Tableau 1 : Moyen de défenses contre les microorganismes. (Mason et Nelson 1992; Zhang et al. 2000)	4
Tableau 2 : Score CPIS modifié.	8
Tableau 3: Sensibilité et spécificité des prélèvements à visée diagnostique des PAVM (American Thoracic Society 2005; Francioli et al. 1997).	10
Tableau 4: Germes isolés chez des patients atteints de PAVM précoces et PAVM tardive D'après Koulenti et al. (D. Koulenti, Tsigou, et Rello 2017).	11
Tableau 5: Principaux germes retrouvés au cours des PAVM sur les 868 bactéries isolées lors de la cohorte Outcomrea (1997-2008). D'après Bekaert et al. (Bekaert et al. 2011).....	12
Tableau 6: Antibiothérapie probabiliste adapté des recommandations de l'IDSA (Kalil et al. 2016).	13
Tableau 7 : Facteurs de risque de BMR d'après les recommandations de l'IDSA.....	14
Tableau 8: antibiothérapie probabiliste des PAVM, d'après les recommandations de la SFAR (Leone et al. 2018).	16
Tableau 9: comparaison des systèmes de diagnostics rapides pour les infections respiratoires basses	20

SANSOT Maxime

Performance de l'extension d'utilisation du kit FilmArray® panel BCID pour l'analyse des lavages broncho-alvéolaires.

RÉSUMÉ

Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont la première cause d'infection nosocomiale dans les services de réanimation. Elles sont responsables d'une augmentation de la morbi-mortalité ainsi que des durées d'hospitalisation prolongées. Un diagnostic précoce est crucial afin d'introduire une antibiothérapie efficace. Un kit de PCR multiplexe tel que le FilmArray® BCID panel permettrait une adaptation précoce de l'antibiothérapie.

Nous avons testé Le kit Filmarray® panel BCID sur 50 Lavages bronchaloéolaires (LBA), provenant de patients hospitalisés dans 2 services de réanimation au CHU d'Angers, en comparaison des cultures de routine.

Le pourcentage de concordance globale observé entre la culture (bactéries pathogènes $\geq 10^4$ UFC/mL) et le panel BCID était de 97,9 % avec un coefficient Kappa de Cohen de 0.77 (IC 95% : 0,67 – 0,88). Le pourcentage de concordance positive était de 88,6% (IC 95% : 72,3 – 96,3%). Le pourcentage de concordance négative était de 98,3% (IC 95% : 97 – 99,1%). Le kit FilmArray® BCID a montré une sensibilité de 100% et une spécificité de 98%, pour des germes ≥ 104 UFC/mL à la culture et inclus dans le panel. La spécificité variait de 87% pour *Haemophilus influenzae* à 100% pour *Klebsiella pneumoniae*. En tenant compte d'un examen direct positif le test FilmArray® montrait une sensibilité de 94,7% et une spécificité de 97,9% avec une valeur prédictive négative de 99,6% et une valeur prédictive positive de 78,3%.

L'étude montre de bonnes performances du panel BCID pour l'analyse des LBA. Devant un examen direct positif, ce test permet d'obtenir des résultats fiables dans un délai très précoce. La question est de déterminer s'il apportera réellement une plus-value sur la prise en charge du patient. Des études coûts-bénéfices devront être réalisées pour l'évaluer.

Mots-clés : Pneumonie acquise sous ventilation mécanique, PCR multiplex, Approche syndromique, infection nosocomiale

--

Performance of the extended use of the FilmArray® BCID panel kit for bronchoalveolar lavage analysis

ABSTRACT

Ventilator associated pneumonia (VAP) is the main cause of nosocomial infection in intensive care units. They are responsible for an increase in morbidity and mortality as well as prolonged hospital stays. Early diagnosis is crucial in order to introduce effective antibiotic therapy. A multiplex PCR kit such as the FilmArray® BCID panel would allow early adaptation of antimicrobial therapy.

We tested the Filmarray® BCID panel on 50 bronchaloéolar lavages (BAL), from patients hospitalized in 2 intensive care units at the Angers University Hospital, compared to conventional culture based method

The overall agreement observed between the culture (pathogenic bacteria $\geq 10^4$ CFU/mL) and the BCID panel was 97.9% with a Cohen Kappa coefficient of 0.77 (95% CI: 0.67 - 0.88). The percentage of positive agreement was 88.6% (95% CI: 72.3 - 96.3%). The negative agreement percentage was 98.3% (95% CI: 97 - 99.1%). The BCID FilmArray® kit showed 100% sensitivity and 98% specificity, for germs ≥ 104 CFU/mL to culture and included in the panel. Specificity ranged from 87% for *Haemophilus influenzae* to 100% for *Klebsiella pneumoniae*. Considering a positive direct examination, the FilmArray® test showed a sensitivity of 94.7% and a specificity of 97.9% with a negative predictive value of 99.6% and a positive predictive value of 78.3%.

The study shows good performance of the BCID panel for BAL fluid analysis. In front of a positive direct examination, this test allows reliable results to be obtained at a very early stage. The question is whether it will really add value for clinical outcomes by using BCID FilmArray® test applied to LBAs, and at what price. Cost-benefit studies will have to be carried out to evaluate it.

Keywords: Ventilator associated pneumonia, Intensive care units, multiplex PCR, nosocomial infection