

2021-2022

**Thèse**  
pour le  
**Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie**

**Mise au point sur les  
méthodes de diagnostic rapide  
dans les bactériémies :  
Intérêt dans la pratique**

Focus on rapid diagnostic methods in  
bloodstream infections : Interest in practice

**Anne DONNARS** |

Née le 09 octobre 1995 à Angers  
(49)

Sous la direction de M. le Professeur Matthieu EVEILLARD |

Mme. le Professeur Véronique MARCHAIS | Présidente  
M. le Professeur Matthieu EVEILLARD | Directeur  
M. le Docteur Rafael MAHIEU | Membre  
Mme. le Docteur Hélène PAILHORIE | Membre

Soutenue publiquement le :  
27 octobre 2022



**FACULTÉ  
DE SANTÉ**  
UNIVERSITÉ D'ANGERS

# ENGAGEMENT DE NON-PLAGIAT

Je, soussignée, Anne DONNARS  
déclare être pleinement consciente 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'étudiante le **27/ 09 / 2022**

A handwritten signature in black ink, appearing to be 'A. Donnars', written on a white background.

## LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

---

**Doyen de la Faculté** : Pr Nicolas Lerolle

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

**Directeur du département de médecine** : Pr Cédric Annweiler

### PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

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



# FACULTÉ DE SANTÉ

UNIVERSITÉ D'ANGERS

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



# FACULTÉ DE SANTÉ

UNIVERSITÉ D'ANGERS

## MAÎTRES DE CONFÉRENCES

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



# FACULTÉ DE SANTÉ

UNIVERSITÉ D'ANGERS

PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
POIROUX Laurent	Sciences infirmières	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
RIQUIN Elise	Pédopsychiatrie ; addictologie	Médecine
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education Thérapeutique	Pharmacie
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Médecine Générale	Médecine
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	Médecine Générale	Médecine
VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie

## AUTRES ENSEIGNANTS

<b>PRCE</b>		
AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSE Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine
<b>PAST</b>		
CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
DILÉ Nathalie	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	Officine	Pharmacie
SAVARY Dominique	Médecine d'urgence	Médecine
<b>PLP</b>		
CHIKH Yamina	Economie-gestion	Médecine

## **A Madame le Professeur Véronique Marchais**

Vous m'avez suivie durant mes années à la faculté de Pharmacie d'Angers, merci de me faire aujourd'hui l'honneur de présider mon jury de thèse.

## **A Monsieur le Professeur Matthieu Eveillard**

Cette même année vous avez été à la fois mon directeur de recherche en Master 2 et mon directeur de thèse. Merci pour votre encadrement et votre disponibilité mais aussi pour la patience dont vous avez fait preuve malgré des délais parfois serrés.

## **A Madame le Docteur Hélène Pailhories**

Dès mon premier stage d'internat dans le service de bactériologie, vous avez suscité mon intérêt pour la biologie moléculaire et cela a perduré, ce travail en est la preuve. Merci d'avoir accepté de participer à mon jury de thèse.

## **A Monsieur le Docteur Rafael Mahieu**

Merci de me faire l'honneur de participer à mon jury et d'évaluer mon travail de thèse. Merci également pour les échanges enrichissants que nous avons pu avoir dans le cadre de mon Master 2.

## **A l'ensemble de l'équipe du laboratoire de bactériologie**

A Madame le Professeur Marie Kempf, merci d'avoir été présente quand je me suis interrogée sur mon parcours en tant qu'interne et de m'avoir poussée à en faire plus pendant mes années d'internats.

Merci à l'ensemble des biologistes de bactériologie (Pr. Kempf, Pr. Eveillard, Dr. Lemarié, Dr, Pailhories et Dr. Chenouard) pour votre enseignement et votre encadrement durant mes stages en bactériologie.

Merci à l'équipe de bactériologie pour votre accueil et pour toutes les réponses que vous avez apportées à mes questions.

# REMERCIEMENTS

## **A mes co-internes**

Ceux de la première heure : Christine, TomF, Madame Pheng, Stivne, que d'aventures dans ce bureau des internes de microbiologie

Mes binômes de sport et de lecture : Suzette et Odey

Ma vieille co-interne : Clairette

A celui qui grogne Maax et celle qui pleure de rire Randouile

A tous les autres, les petits nouveaux et les plus vieux

Et à ceux qui n'en sont pas vraiment, les petits SMITologues en particulier un, RobOne qui m'a aidé à survivre à cette année de M2 !

**A toutes mes amies** qui n'y connaissent rien en biologie mais qui ont été là quand même pendant toutes mes années d'études pour rigoler, boire des verres et se vider la tête.

**A ma famille** pour m'avoir supportée et entourée quand j'en avais besoin, mes parents, mes deux sœurs, mes chers grands-parents et Iris.

## **A Quentin**

Merci d'être à mes côtés depuis plus de 4 ans, de me soutenir dans mes projets, de me dire que je m'y suis encore prise trop tard et de m'encourager à en faire plus. Je mesure la chance que j'ai de t'avoir dans ma vie.

# PLAN

<b>INTRODUCTION GENERALE .....</b>	<b>12</b>
<b>PREMIERE PARTIE .....</b>	<b>13</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>BACTERIEMIES, SEPSIS et CHOC SEPTIQUE .....</b>	<b>15</b>
1. Définition.....	15
2. Épidémiologie des bactériémies .....	17
3. Recommandations pour l'instauration de l'antibiothérapie.....	18
4. Diagnostic des bactériémies .....	19
4.1. Prélèvement .....	19
4.2. Incubation.....	20
4.3. Examen direct et culture .....	20
4.4. Identification et antibiogramme.....	20
<b>ARTICLE 1 : Soumis à Annales Pharmaceutiques Françaises .....</b>	<b>23</b>
1. Introduction.....	26
2. Méthode de recherche bibliographique .....	27
3. Méthodes de diagnostic rapide.....	28
3.1. Méthodes basées sur les acides nucléiques après hémoculture.....	28
3.1.1. Verigene ® (Luminex Corporation, Austin, TX, USA) .....	29
3.1.2. BioFire® BCID2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) .....	31
3.1.3. Autres méthodes basées sur les acides nucléiques .....	32
3.2. Méthodes basées les acides nucléiques directement sur sang total .....	33
3.3. Méthodes basées sur l'hybridation in situ .....	34
4. Synthèse pour la pratique .....	35
4.1. Conditions essentielles pour une utilisation optimale .....	35
4.2. Les limites de l'utilisation en routine .....	36
4.2.1. Délai et organisation.....	36
4.2.2. Identification .....	36
4.2.3. Sensibilité aux antibiotiques .....	37
4.3. Impact pour le patient .....	38
4.4. Considérations médico-économiques .....	40
5. Conclusion .....	41
6. Références.....	42
<b>PERSPECTIVES.....</b>	<b>47</b>
<b>1. Les méthodes en développement .....</b>	<b>47</b>
1.1. Les systèmes de tests accélérés de la sensibilité aux antibiotiques .....	47
1.2. Séquençage haut débit.....	48
2. Et après ? .....	51
2.1. Amélioration des techniques existantes .....	51
2.2. Émancipation de l'hémoculture.....	52
<b>DEUXIEME PARTIE.....</b>	<b>54</b>
<b>SYNTHESE DE L'ARTICLE.....</b>	<b>54</b>
<b>ARTICLE 2 : accepté sous réserves de révisions dans <i>Diagnostic Microbiology &amp; infectious diseases</i>.....</b>	<b>57</b>
<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>79</b>
<b>REFERENCES.....</b>	<b>80</b>
<b>ANNEXE 1 – RECAPITULATIF DES CIBLES DE CHAQUE PANEL.....</b>	<b>85</b>

## Liste des abréviations

BC	Blood Culture
BCID	Blood Culture IDentification
BLSE	BétaLactamase de Spectre Étendu
CHU	Centre Hospitalo-Universitaire
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CRP	Protéine Réactive C
ECDC	European Centre for Disease Prevention and Control
ED	Examen Direct
EUCAST	EUropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
FDA	Food and Drug Administration
FISH	Hybridation In Situ en Fluorescence
FP	Fungal Pathogen
FR	Fréquence Respiratoire
GP	Gram Positif
GN	Gram Négatif
IA	Intelligence Artificielle
IDSA	Infectious Disease Society of America
PAS	Pression Artérielle Systolique
PCR	Réaction de Polymérisation en Chaîne
qSOFA	quick SOFA
SHEA	Society of Healthcare Epidemiology of America
SIQ	Septic Indication Quantifier
SOFA	Sequential Organ Failure Assessment

## Liste de définitions

Sensibilité	Proportion de vrais positifs parmi les échantillons positifs
Spécificité	Proportion de vrais négatifs parmi les échantillons négatifs
Concordance	Proportion de résultats identiques dans les mêmes conditions de réalisation

# INTRODUCTION GENERALE

Les bactériémies sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées. Ces infections nécessitent une prise en charge diagnostique et thérapeutique rapide avec l'instauration d'une antibiothérapie probabiliste de manière à limiter leurs conséquences et améliorer le pronostic pour les patients. Cette antibiothérapie probabiliste doit être adaptée le plus rapidement possible après documentation, sur la base de l'identification de la bactérie ou des bactéries responsables et idéalement avec les résultats du ou des antibiogrammes. Les hémocultures sont la méthode de référence pour le diagnostic de ces bactériémies (1).

Au cours des 10 dernières années, plusieurs systèmes d'identification rapide des bactéries présentes dans les hémocultures ont été développés. Le présent travail est divisé en deux parties : une revue de la littérature récente sur ces systèmes de diagnostic rapide, puis une étude réalisée cette année au CHU d'Angers.

Après avoir envisagé des généralités sur les bactériémies, nous présenterons, dans une première partie, une mise au point sur les différents systèmes de diagnostic rapide utilisant des méthodes moléculaires (article 1) et des perspectives concernant leur avenir.

Dans une deuxième partie, nous présenterons une étude évaluant l'intérêt de la solution diagnostique BCID2<sup>®</sup> (bioMérieux) pour la réduction des délais nécessaires pour l'initiation ou l'adaptation d'une antibiothérapie dans la prise en charge des bactériémies (article 2).

# **PREMIERE PARTIE**

## **INTRODUCTION**

Les méthodes de diagnostic en microbiologie sont en constante évolution. L'arrivée de la spectrométrie de masse il y a quelques années a bousculé les pratiques dans les laboratoires. Le remplacement de l'identification biochimique des bactéries par les systèmes MALDI-TOF a permis de réduire le délai d'obtention de l'identification, passant de plusieurs heures à quelques minutes (2). Le délai de rendu de l'ensemble des résultats pour une hémoculture reste cependant long (parfois plusieurs jours), étant toujours dépendant de la vitesse de croissance des bactéries. La recherche s'est donc portée sur des systèmes d'identification plus rapides et faciles d'utilisation en pratique clinique. Ces dernières années ont donc vu apparaître des techniques de biologie moléculaire pour s'ajouter au panel de tests déjà disponibles.

A l'heure actuelle, des PCR (Réaction de Polymérisation en Chaîne) simplexes ou multiplexes, qu'elles soient commercialisées prêtes à l'emploi ou mises au point dans les laboratoires (PCR « maison »), sont utilisées tous les jours en diagnostic clinique. Ces tests restent longs à réaliser avec la nécessité d'avoir un personnel qualifié et des locaux adaptés (3)(4). En bactériologie, les PCR dites spécifiques sont généralement réalisées après orientation clinique sur un ou quelques pathogènes. Les nouvelles générations de tests dits de « diagnostic rapide » se veulent plus faciles d'utilisation sous forme de tests unitaires automatisés. Il se définissent par la possibilité d'obtenir un résultat en moins d'une journée de travail (5). Ils mettent en avant une approche syndromique : les panels de cibles sont

choisis en fonction du site infectieux et des connaissances épidémiologiques. De nombreux panels sont disponibles : panel méningé, panel pulmonaire et panel hémoculture notamment. Le marché des tests diagnostiques évolue perpétuellement avec des kits commercialisés qui sont rapidement remplacés par les générations suivantes.

Chaque nouvelle approche en matière de diagnostic nécessite d'être évaluée et comparée aux méthodes de références. Ces nouveaux tests n'y ont donc pas échappé. Depuis leur apparition, de nombreux travaux s'y sont intéressés et des études sur les différents panels disponibles ont été réalisées. Ces études avaient différents objectifs : identification des caractéristiques intrinsèques des différents kits, performances en utilisation en routine, impact sur les délais d'identification, de prise en charge, impact pour le patient, balance coût/efficacité... Tout cela dans le but de définir si ces technologies ont une place dans la prise en charge des patients.

Ces technologies sont particulièrement attrayantes dans le cas des bactériémies puisque ce sont des infections graves qui peuvent rapidement mettre en jeu le pronostic vital. Elles nécessitent un diagnostic, une documentation microbiologique et une prise en charge rapides. Le délai de mise en place d'une antibiothérapie adaptée conditionne l'évolution du patient (6). L'identification du microorganisme est ainsi centrale dans la prise en charge du patient et les tests de diagnostic rapide pourraient prendre une place importante dans la stratégie diagnostique des bactériémies. Il n'y a pas actuellement de consensus sur l'utilisation de ces tests en routine clinique. En 2016 l'IDSA (*Infectious Disease Society of America*) et la SHEA (*Society of Healthcare Epidemiology of America*) recommandent toutefois leur utilisation dans le diagnostic des bactériémies si elle est couplée avec un conseil antibiotique, ce qui suppose l'implication des infectiologues (7).

# BACTERIEMIES, SEPSIS et CHOC SEPTIQUE

## 1. Définition

Les bactériémies se définissent par la présence de bactéries dans le sang. Elles sont une cause majeure de décès dans le monde (8). Leur incidence est en augmentation, notamment en lien avec la proportion toujours plus importante des patients présentant des comorbidités et le vieillissement général de la population (9)(10).

Les bactériémies peuvent être classées dans deux catégories selon leur origine :

- **Primaires** : l'origine de l'infection n'est pas identifiée, le microorganisme est directement introduit dans le sang
- **Secondaires** : décharge bactérienne faisant suite à une infection préexistante, que ce soit d'un organe ou d'un matériel infecté

Ce sont des infections qui peuvent être communautaires ou liées aux soins.

D'un point de vue clinique et biologique, elles se manifestent par la présence de signes peu spécifiques : fièvre, frissons, hypotension artérielle, et par l'apparition de marqueurs d'inflammation : hyperleucocytose, élévation de la CRP. L'absence de spécificité des signes d'appels clinico-biologiques peut retarder le diagnostic.

La gravité d'une bactériémie tient au fait qu'elle peut initialement ou dans un second temps, se compliquer d'un sepsis voire en choc septique et conduire au décès (11). Les sepsis et chocs septiques répondent à des définitions précises qui ont été revues en 2016. Elles s'appuient sur des critères cliniques et biologiques présentés dans le tableau 1 (12).

La stratégie de prise en charge varie selon la gravité du tableau clinique, nécessitant dans les cas graves la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste dès que les prélèvements bactériologiques ont été réalisés. L'identification rapide et fiable de l'agent en cause est donc une étape critique pour la suite de la prise en charge du patient. Cette étape peut conditionner la mise en place et/ou l'adaptation du traitement antibiotique. Or, le délai de mise en place d'une antibiothérapie efficace a été identifié comme étant un facteur prédictif fort de morbi-mortalité (13)(14)(6).

	SEPSIS	CHOC SEPTIQUE
Définition	Réponse inappropriée de l'hôte face à une infection, entraînant une dysfonction d'organe mettant en jeu le pronostic vital	Définition du sepsis + Défaillance circulatoire, cellulaire ou métabolique
Critères clinico-biologiques	qSOFA $\geq 2$ (hors réanimation) parmi : FR $\geq 22$ /min Altération de la conscience PAS $\leq 100$ mmHg  SOFA* $\geq 2$ (réanimation)	Critères du sepsis + Hypotension persistante malgré un remplissage adapté nécessitant l'utilisation d'amines vasopressives + Lactates sériques $\geq 2$ mmol/L

**Tableau 1** : Définitions du sepsis et du choc septique revues en 2016 (12)

\*Le calcul du score SOFA inclus des paramètres explorant la fonction respiratoire, neurologique, rénale, cardiovasculaire, hépatique et d'hémostase. SOFA = Sequential Organ Failure Assessment ; qSOFA = quick SOFA ; FR = Fréquence Respiratoire ; PAS = Pression Artérielle systolique

## 2. Épidémiologie des bactériémies

L'épidémiologie des bactériémies en France diffère selon l'origine communautaire ou nosocomiale de l'infection, d'après Bertrand et al. dans leur étude de 2005 (15):

- **Bactériémies communautaires :**
  - o 55% : bacilles à Gram négatif (entérobactéries majoritairement)
  - o 40% : bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus* et streptocoques)
- **Bactériémies nosocomiales :**
  - o 40% : bacilles à Gram négatif
  - o 50% : bactéries à Gram positif (*S. aureus* et Staphylocoques à coagulase négative)

Les bactériémies à germes anaérobies et les fongémies à levures sont minoritaires. Les hémocultures poly-microbiennes sont moins fréquentes mais sont associées à une symptomatologie plus sévère et sont certainement sous estimées à l'heure actuelle (16).

D'après le rapport de surveillance des résistances aux antibiotiques de l'ECDC (17), en France en 2020 pour les souches rapportées issues d'infections invasives :

- 9,5% des isolats d'*Escherichia coli* et 27,8% des isolats de *Klebsiella pneumoniae* étaient résistants aux céphalosporines de troisième génération,
- 0,5% des *K. pneumoniae* et 12,6% des *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistants aux carbapénèmes,
- 12,1% des isolats de *S. aureus* étaient résistants à la méticilline,
- 0,6% des *Enterococcus faecium* étaient résistants à la vancomycine.

La prévalence des bactéries résistantes en France ne fait pas partie des plus élevées en Europe, toujours d'après l'ECDC (17). Les stratégies probabilistes d'antibiothérapie (hors secteurs de réanimation ou patients présentant des facteurs de risques) ne couvrent donc pas ces situations en première intention. Une identification rapide de la présence de résistances chez l'agent à l'origine de la bactériémie est donc importante pour assurer une antibiothérapie efficace et maximiser les chances de survie du patient.

### **3. Recommandations pour l'instauration de l'antibiothérapie**

Aux Etats-Unis, les recommandations *Surviving Sepsis Campaign* (6) mettent en avant plusieurs mesures clés de la prise en charge des bactériémies, des sepsis et des chocs septiques. Elles recommandent notamment le traitement sans délai des sepsis et chocs septiques avec une antibiothérapie qui doit être instaurée dans l'heure qui suit le diagnostic (13,18,19). Un traitement à large spectre, permettant de couvrir toutes les possibilités envisagées (bactéries, levures, virus) et composé d'une ou plusieurs molécules, doit être administré chez les patients graves. Ces recommandations préconisent tout de même de prélever des hémocultures avant toute administration d'antibiothérapie. En l'absence de ce prélèvement, la documentation de l'infection devient plus complexe. Il y a un risque de stérilisation rapide des cultures même si les flacons d'hémoculture contiennent généralement des résines échangeuses d'ions qui captent les antibiotiques. En conséquence il deviendra plus difficile de s'orienter sur la cause du sepsis et le traitement restera empirique avec tous les risques que cela comporte. Il est conseillé de prélever au moins 2 paires d'hémocultures après piqûre unique et de prélever des hémocultures différentielles en cas de doute sur une infection sur matériel endovasculaire.

Un axe important de ces mesures porte sur la désescalade thérapeutique dès que la documentation bactérienne et surtout le profil de sensibilité aux antibiotiques sont disponibles. La désescalade thérapeutique a fait ses preuves dans plusieurs études observationnelles comme permettant une diminution de la sélection de résistances, de la survenue d'effets indésirables, mais aussi une augmentation de la survie des patients et une réduction des coûts (20,21). C'est avec le même objectif que, lorsque l'état du patient le permet, il peut être préconisé d'attendre les résultats de cultures bactériologiques pour mettre en place un traitement adapté directement.

## **4. Diagnostic des bactériémies**

### **4.1. Prélèvement**

En cas de suspicion clinique de bactériémie, une ponction sanguine pour examen bactériologique est réalisée. Il existe des recommandations qui encadrent la réalisation du prélèvement pour limiter le risque de contamination du milieu de culture (22)(23). La ponction doit impérativement être réalisée après une désinfection soigneuse et idéalement avant toute antibiothérapie (24). Le prélèvement peut être réalisé sur veine périphérique ou sur matériel (chambre implantable, cathéter, ...). Il est recommandé de prélever un minimum de 2 paires d'hémocultures en une seule ponction pour limiter le risque de contamination et garantir une sensibilité suffisante (22). Des hémocultures peuvent également être prélevées simultanément sur veine périphérique et sur matériel, cathéter ou site implantable, pour identifier l'origine de la bactériémie avec le calcul du différentiel des délais de positivité.

## **4.2. Incubation**

Les flacons d'hémocultures sont placés dans des systèmes d'incubation automatisés (BACTEC®, Becton-Dickinson ou BACT/ALERT®, bioMérieux) qui détectent la croissance bactérienne avec l'augmentation de la concentration en dioxyde de carbone dans le milieu. Cette détection est basée sur la réflectométrie dans le cas du BACT/ALERT® et par la fluorimétrie dans le cas du BACTEC®. La durée d'incubation classique d'une hémoculture est de cinq jours. Cette durée peut être étendue à 10, 14 ou même 21 jours en fonction du contexte clinique et en particulier pour le diagnostic d'endocardite infectieuse. Cependant, la prolongation de cette durée d'incubation est remise en question aujourd'hui (25).

## **4.3. Examen direct et culture**

Un examen direct (ED) est réalisé systématiquement sur l'ensemble des flacons d'hémoculture positifs. Le résultat de cet ED est une première information disponible pour le prescripteur. Il peut alors instaurer ou adapter le traitement antibiotique et s'orienter sur la porte d'entrée. Le prélèvement est également mis en culture pour isolement du ou des micro-organismes.

## **4.4. Identification et antibiogramme**

L'identification est généralement obtenue dans les 24h suivant la mise en culture ou moins si le service de bactériologie fonctionne 24h/24 (26). Elle est réalisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF en quelques minutes ou par identification biochimique

automatisée en quelques heures selon l'équipement du laboratoire. L'identification par spectrométrie de masse présente l'avantage de pouvoir identifier une très grande diversité de micro-organismes (bactéries, levures, champignons filamenteux) en s'appuyant sur une base de données qui peut être incrémentée (comme cela a été le cas avec *Candida auris*) et avec un très faible coût par échantillon. Sa technologie basée sur le profil protéique des bactéries rend parfois difficile voire impossible la différenciation d'espèces très proches (4).

Dans le même temps, un antibiogramme adapté à l'identification est réalisé pour l'étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques de la bactérie. L'antibiogramme est nécessaire pour pouvoir réduire le spectre de l'antibiothérapie puisqu'il reflète le comportement de la bactérie et l'expression de ses mécanismes de résistance. C'est la réduction de son délai d'obtention compris généralement entre 10 et 48h (suivant la méthode utilisée et l'espèce bactérienne) que l'approche génotypique des tests de diagnostic rapide cherche à obtenir, le plus souvent en identifiant des gènes portés par des bactéries multirésistantes (carbapénémases, bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), gène *mecA*, gènes *vanA* et *vanB*) (4).

Ces étapes représentent une trame générale de la prise en charge des flacons d'hémoculture positifs. En effet chaque laboratoire présente une stratégie plus précise qui lui est propre. Par exemple, certains laboratoires testent des pools d'antibiotiques directement à partir du flacon d'hémoculture positif selon les résultats de l'examen direct, ce qui peut alors permettre de connaître la sensibilité à quelques antibiotiques sélectionnés en même temps que l'identification de la bactérie. Il est également possible d'obtenir une identification par spectrométrie de masse directement à partir des hémocultures après pré-traitement (7)(27) avec un certain succès pour les bactéries à Gram négatif mais avec une concordance plus

faible pour les bactéries à Gram positif. Un laboratoire commercialise un kit mais il n'est actuellement pas validé par la FDA. Le spectromètre de masse peut également donner des informations sur la présence de résistances à l'échelle protéique grâce au spectre obtenu lors de l'analyse ou en étudiant les différences de spectre d'un antibiotique après une courte incubation en présence de la bactérie (identification d'une hydrolyse des céphalosporines de troisième génération et des carbapénèmes) (27).

# ARTICLE 1 : Soumis à *Annales Pharmaceutiques Françaises*

## Annales Pharmaceutiques Françaises Etat des lieux des techniques de diagnostic rapide des bactériémies --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Revue courte / Short Review
Keywords:	bactériémies; diagnostic moléculaire rapide; antibiothérapie probabiliste; hémocultures
Corresponding Author:	Matthieu Eveillard, PharmD, PhD FRANCE
First Author:	Matthieu Eveillard, PharmD, PhD
Order of Authors:	Matthieu Eveillard, PharmD, PhD Anne Donnars
Manuscript Region of Origin:	Europe
Abstract:	<p>Résumé</p> <p>Notre objectif était de réaliser une mise au point sur les technologies de diagnostic rapide pour les bactériémies et d'évaluer l'intérêt de leur utilisation dans la pratique. Les différentes méthodes disponibles actuellement ont été présentées en fonction de la technologie utilisée. Il est possible également de classer ces méthodes suivant qu'elles ne permettent que des identifications (bactérienne et/ou gènes résistance aux antibiotiques) ou également une étude de la sensibilité à certains antibiotiques. Les performances de ces techniques sont très bonnes par rapport à la culture lorsque les hémocultures sont mono-microbiennes. Elles sont cependant meilleures pour les identifications (&gt; 90%) que pour la sensibilité aux antibiotiques (&gt; 80%). De nombreuses études ont montré l'impact positif de ces méthodes sur la réduction du délai de mise en place d'un traitement antibiotique adapté. Cependant, cette réduction de délai nécessite une organisation adéquate du laboratoire de bactériologie et l'existence d'une politique de maîtrise de l'antibiothérapie dans l'établissement. Parallèlement, l'impact sur l'évolution du patient en termes de durée d'hospitalisation ou de mortalité n'a pas été clairement démontré. Enfin, peu d'études médico-économiques ont été réalisées. Or, le coût de ces technologies est conséquent et leur stratégie d'utilisation doit être économiquement viable.</p>
Suggested Reviewers:	
Opposed Reviewers:	
Secondary Full Title:	Focus on rapid methods for the diagnosis of bacteremia
Secondary Abstract:	<p>Our objective was to make a focus on the methods for rapid diagnosis of bacteremia. We also aimed to evaluate the interest of using them in the laboratory practice. The different methods currently available have been presented according to their technologic approach. It is also possible to classify these methods according to the data provided, only bacterial and/or resistance gene identification or also bacterial susceptibility to antibiotics. In case of mono-microbial blood cultures, the performances recorded with these methods are very good as compared to the subcultures on agar media. Nevertheless, they are better for identifications (&gt; 90%) than for susceptibility to antibiotics (&gt; 80%). Numerous studies demonstrated the positive impact of these methods for decreasing the time necessary to the prescription of an appropriate antimicrobial treatment. However, it is noteworthy that an appropriate organization of the laboratory and a strategy of antimicrobial stewardship in the hospital are necessary. Concurrently, the impact on the patient outcome has not been clearly demonstrated. Lastly, few medico-economic studies have been reported. However, as these methods have a substantial cost, their utilization strategy must be economically viable.</p>
Secondary Keywords:	bloodstream infections; rapid molecular diagnosis; probabilistic antimicrobial therapy; blood cultures

Powered by Editorial Manager® and Prodxion Manager® from Aries Systems Corporation

# Etat des lieux sur les techniques de diagnostic rapide des bactériémies à partir d'hémocultures

## Focus on rapid methods for the diagnosis of bacteremia

Anne Donnars, Matthieu Eveillard\*

*Laboratoire de bactériologie, Département de biologie des agents infectieux, Centre Hospitalier Universitaire d'Angers*

\* E-mail : [MaEveillard@chu-angers.fr](mailto:MaEveillard@chu-angers.fr)

**Mots clés :** bactériémies ; diagnostic moléculaire rapide ; antibiothérapie probabiliste ; hémocultures

**Keywords:** bloodstream infections; rapid molecular diagnosis; probabilistic antimicrobial therapy; blood cultures

### POINTS ESSENTIELS

- Plusieurs techniques proposées
- Bonnes performances en termes de sensibilité, spécificité et concordance
- Démonstration de la réduction du délai de prise en charge thérapeutique adaptée
- Impact sur l'évolution du patient non démontré
- Peu de données médico-économiques

## **Résumé**

Notre objectif était de réaliser une mise au point sur les technologies de diagnostic rapide pour les bactériémies et d'évaluer l'intérêt de leur utilisation dans la pratique. Les différentes méthodes disponibles actuellement ont été présentées en fonction de la technologie utilisée. Il est possible également de classer ces méthodes selon qu'elles ne permettent que des identifications (bactériennes et/ou de gènes de résistance aux antibiotiques) ou également une étude de la sensibilité à certains antibiotiques. Les performances de ces techniques sont très bonnes par rapport à la culture lorsque les hémocultures sont mono-microbiennes. Elles sont cependant meilleures pour les identifications (> 90%) que pour la sensibilité aux antibiotiques (> 80%). De nombreuses études ont montré l'impact positif de ces méthodes sur la réduction du délai de mise en place d'un traitement antibiotique adapté. Cependant, cette réduction de délai nécessite une organisation adéquate du laboratoire de bactériologie et l'existence d'une politique de maîtrise de l'antibiothérapie dans l'établissement. Parallèlement, l'impact sur l'évolution du patient en termes de durée d'hospitalisation ou de mortalité n'a pas été clairement démontré. Enfin, peu d'études médico-économiques ont été réalisées. Or, le coût de ces technologies est conséquent et leur stratégie d'utilisation doit être économiquement viable.

## **Summary**

Our objective was to make a focus on the methods for rapid diagnosis of bacteremia. We also aimed to evaluate the interest of using them in the laboratory practice. The different methods currently available have been presented according to their technologic approach. It is also possible to classify these methods according to the data provided, only bacterial and/or resistance gene identification or also bacterial susceptibility to antibiotics. In case of

mono-microbial blood cultures, the performances recorded with these methods are very good as compared to the subcultures on agar media. Nevertheless, they are better for identifications (> 90%) than for susceptibility to antibiotics (> 80%). Numerous studies demonstrated the positive impact of these methods for decreasing the time necessary to the prescription of an appropriate antimicrobial treatment. However, it is noteworthy that an appropriate organization of the laboratory and a strategy of antimicrobial stewardship in the hospital are necessary. Concurrently, the impact on the patient outcome has not been clearly demonstrated. Lastly, few medico-economic studies have been reported. However, as these methods have a substantial cost, their utilization strategy must be economically viable.

## 1. Introduction

Les bactériémies sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées, les hémocultures sont la méthode de référence pour leur diagnostic [1]. Ces infections nécessitent une prise en charge diagnostique et thérapeutique rapide avec l'instauration d'une antibiothérapie probabiliste de manière à limiter leurs conséquences et améliorer le pronostic des patients [2]. En effet, le délai de mise en place d'une antibiothérapie efficace a été identifié comme un facteur prédictif fort de morbi-mortalité [3-5]. Cette antibiothérapie probabiliste doit être adaptée le plus rapidement possible après documentation sur la base de l'identification de la bactérie ou des bactéries responsables et idéalement avec les résultats du ou des antibiogrammes.

L'identification du microorganisme tient ainsi une place centrale dans la prise en charge du patient et les tests de diagnostic rapide pourraient prendre une place importante dans la stratégie diagnostique des bactériémies. Ces tests reposent sur une approche

syndromique, les panels de cibles bactériennes et de gènes de résistance étant choisis en fonction de leur fréquence d'identification dans ce type d'infections [6,7]. Il se définissent par la possibilité d'obtenir un résultat en moins d'une journée de travail [6]. Il n'y a pas actuellement de consensus sur l'utilisation de ces tests en routine clinique. En 2016, les recommandations conjointes de l'IDSA (Infectious Disease Society of America) et la SHEA (Society of Healthcare Epidemiology of America) considéraient que leur utilisation dans le diagnostic des bactériémies devait être associée avec un conseil antibiotique, ce qui suppose l'implication de spécialistes des maladies infectieuses [8].

L'objectif de ce travail était de réaliser un état des lieux des technologies de diagnostic rapide basées sur des méthodes de biologie moléculaire disponibles pour les bactériémies et d'évaluer l'intérêt de leur utilisation dans la pratique.

Cette mise au point abordera successivement la présentation des différentes méthodes de diagnostic moléculaire rapide disponibles pour les bactériémies, une synthèse pour la pratique au laboratoire et l'exposé de perspectives pour ces méthodes à l'avenir.

## **2. Méthode de recherche bibliographique**

Les bases de données PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov>) et EMBASE (<https://www.embase.com>) ont été interrogées avec les équations de recherche < Bloodstream infections > AND < PCR > et < Bloodstream infections > AND < Rapid molecular diagnosis >, en ciblant les revues de la littérature publiées pendant les trois dernières années (de janvier 2019 à juillet 2022). Les revues qui concernaient des méthodes n'étant plus utilisées ont été éliminées. Cette recherche a permis d'identifier 12 articles de revues (tableau 1). Elle a été complétée par une recherche manuelle à partir des références

bibliographiques citées dans les revues analysées. Ces références concernaient des études principalement de nature observationnelle, descriptives ou comparatives.

### **3. Méthodes de diagnostic rapide**

De nombreuses publications récentes [7-13] ont concerné les technologies de diagnostic rapide actuellement disponibles sur le marché. Plusieurs approches ont été développées pour accélérer l'identification des bactéries et/ou l'obtention de données sur leur sensibilité à certains antibiotiques. Elles se basent sur des technologies différentes et n'interviennent pas au même moment dans la stratégie diagnostique.

#### **3.1. Méthodes basées sur les acides nucléiques après hémoculture**

Ces méthodes sont celles que l'on retrouve en plus grand nombre dans les systèmes commercialisés (Tableau 2).

Ces systèmes basés sur des réactions de polymérisation en chaîne (PCR) passent par une phase d'amplification spécifique de l'ADN bactérien cible suivie d'une détection par des sondes fluorescentes [10]. Les avancées technologiques des dernières années ont permis l'émergence de PCR dites multiplexes. Elles permettent de combiner la détection d'un ensemble de cibles : microorganismes au rang de genre et/ou d'espèce mais aussi des gènes de résistance selon les amorces sélectionnées.

Les PCR multiplexes ont une bonne spécificité et une bonne sensibilité sur les prélèvements mono-microbiens mais perdent en performance pour les échantillons polymicrobiens [14]. Elles sont en effet limitées par la taille de leur panel (nombre de cibles) et

par l'impossibilité de mettre en évidence plusieurs bactéries du même genre, sauf si les deux sont présentes au rang d'espèces dans le panel. Certains systèmes (ex : ePLEX® GN et ePlex® GP) qui intègrent des cibles pan-bactéries Gram positif et pan-bactéries Gram négatif respectivement en plus d'une cible Pan-Candida) ont incorporé une cible pan-bactérienne pour indiquer la présence de bactéries même si celles-ci n'appartiennent pas au panel de ces systèmes [9].

Nombre de ces tests comportent des cibles pour des gènes de résistance dans leur panel. Ceci permet de détecter de manière précoce certaines résistances qui peuvent avoir un impact majeur sur le traitement antibiotique. Cependant, le profil génotypique n'est pas parfaitement corrélé à l'expression phénotypique de la bactérie et cela pose des questions d'interprétation de ces résultats. Un exemple est la détection d'*Escherichia coli* et d'un gène *bla*-CTX-M codant pour une bêta-lactamase à spectre élargi mais phénotypiquement sensible à certaines céphalosporines de troisième génération injectables [10]. Il est donc important de connaître en amont la gestion de ces possibles discordances en cas d'utilisation de ces panels.

Le risque de contamination est plutôt bien maîtrisé dans les nouvelles techniques puisque comme pour le panel BioFire® BCID2, l'ensemble de la réaction est automatisée et se tient dans une poche hermétique [15].

### **3.1.1. Verigene® (Luminex Corporation, Austin, TX, USA)**

Le kit Verigene® est utilisé sur les flacons d'hémoculture positifs. Il nécessite une première étape d'examen microscopique après coloration de Gram pour orienter le choix de la cassette à utiliser [9-11]. Il permet l'identification en 2,5h de 22 bactéries (espèce ou

genre), 8 marqueurs d'antibiorésistance pour 4 classes d'antibiotiques. La présence ou l'absence de marqueurs de résistance est interprétée indépendamment des bactéries retrouvées par le panel. Il est donc possible d'identifier uniquement un gène de résistance ou que le gène de résistance identifié ne soit pas corrélé à la bactérie identifiée ou à une des bactéries identifiées [12]. Ceci peut éventuellement avoir un intérêt dans certains cas, par exemple avec la possibilité de détecter le gène *mecA/C* en présence d'un staphylocoque à coagulase négative non inclus dans le panel au rang d'espèce et présentant une résistance à la méticilline.

La nécessité de passer par un examen direct après coloration de Gram pour orienter le choix de la cassette peut être limitant, notamment si l'hémoculture est poly-microbienne. De même, une mauvaise réalisation de la coloration ou une erreur de lecture pourront entraîner l'utilisation de la mauvaise cassette.

#### **a. Panel Gram positif**

Les publications retrouvent une sensibilité supérieure à 95% [9] et une concordance de 89,6 à 96,4% au rang d'espèce [11] pour les hémocultures mono-microbiennes. Il est estimé que pour 28% des hémocultures poly-microbiennes, toutes les cibles ne sont pas détectées [9] et que la concordance avec la culture diminue à 62,5% [11].

Une identification croisée entre *Streptococcus pneumoniae* et les streptocoques du groupe mitis est documentée et doit justifier de recontrôler l'identification systématiquement. Le kit présente également une mauvaise sensibilité pour les *Enterococcus spp.* (60%) [9].

Sur le plan de l'impact pour le patient, les études retrouvent une diminution du délai d'optimisation de l'antibiothérapie allant de 12,5 à 27h par rapport à la culture et une réduction de la durée d'administration d'une antibiothérapie inutile de 18 jusqu'à 37h en cas

de contamination du flacon d'hémoculture lors du prélèvement. Elles ne mettent cependant pas en évidence de réduction de la durée d'hospitalisation ou de la mortalité [9].

## **b. Panel Gram négatif**

Les études retrouvent une sensibilité de 98% et une spécificité de 100% pour les identifications bactériennes. Pour les gènes de résistance, la sensibilité varie de 94,3 à 100% selon la cible [9]. La concordance globale avec la culture est de 90,5% pour le cas des hémocultures mono-microbiennes et chute à 53,6% pour les hémocultures polymicrobiennes [11]. Le kit présente une mauvaise sensibilité pour *Klebsiella oxytoca* [16] et *Klebsiella pneumoniae* (69,2%) [11].

Les études ont rapporté une diminution du délai d'optimisation de l'antibiothérapie de 11 à 14h par rapport à la culture. Elles ne mettent cependant pas en évidence de réduction de la durée d'hospitalisation ou de la mortalité [9].

### **3.1.2. BioFire® BCID2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France)**

Le système BCID2® (Blood Culture IDentification 2), version plus récente du BCID® de bioMérieux et présentant un panel élargi est utilisé à partir des hémocultures positives mais ne nécessite pas d'examen direct au préalable [9]. Son panel regroupe 26 bactéries à Gram positif et à Gram négatifs (genre ou espèce), 7 levures et 10 gènes de résistance [12]. Contrairement au système Verigene®, les gènes de résistance sont interprétés en fonction des cibles bactériennes identifiées [12]. Le résultat est disponible en 1h environ avec une sensibilité globale de 96% et au moins une cible détectée positive au rang de genre ou

d'espèce dans 88,1% des hémocultures positives [3,11]. Les études relèvent une concordance diminuée en cas d'hémocultures poly-microbiennes [12].

Une revue de 20 études [12] portant sur des systèmes Verigene® et BioFire® BCID a montré que leurs sensibilités et spécificités étaient globalement similaires.

Pour le système BCID2 ®, plusieurs études concluent à une diminution du délai d'obtention de l'identification bactérienne et de l'adaptation de l'antibiothérapie mais elles sont discordantes quant à l'impact sur la durée de séjour et la mortalité [9].

### **3.1.3. Autres méthodes basées sur les acides nucléiques**

#### **a. ePLEX®, GenMark Diagnostic, Carlsbad, CA, USA**

Le test est réalisé après examen microscopique direct sur hémoculture positive. Deux cassettes sont disponibles : l'une pour les bactéries à Gram négatif avec 21 cibles bactériennes et 6 cibles pour des gènes de résistance et l'autre pour les bactéries à Gram positif avec 20 cibles bactériennes et 4 cibles pour les gènes de résistance. Une troisième permet d'identifier des levures. Ce système possède une concordance de 89 à 96% avec la culture suivant les études [11,13]. Le panel « Gram négatif a la particularité de détecter le gène codant pour l'OXA-23 d'*Acineto baumannii* complex en plus du gène codant pour l'OXA-48 des entérobactéries [13].

#### **b. IC-GPC®, iCubate, Huntsville, AL, USA.**

Ce panel s'intéresse uniquement aux bactéries à Gram positif avec une identification en 4 à 5h. La sensibilité et la spécificité sont d'environ 95% pour l'identification bactérienne

et les gènes de résistance. Ce système présente de moins bonnes performances pour l'identification de *Streptococcus pneumoniae* [9].

### **c. Unyvero Blood Culture (BCU®), Curetis, OpGen, Rockville, MD, USA**

Ce test propose un panel syndromique permettant d'identifier 36 pathogènes et 16 gènes de résistance en 5h [13]. Une étude multicentrique a objectivé une sensibilité de 96,8% et une spécificité de 99,8% par rapport à la culture [17].

## **3.2. Méthodes basées les acides nucléiques directement sur sang total**

Le système T2 ® de T2 Biosystems (Lexington, Massachusetts, USA) a deux tests disponibles : T2Candida et T2Bacteria qui identifient les micro-organismes à partir de sang total (un panel T2Résistance est en développement mais non commercialisé à ce jour). L'identification est basée sur une première étape de lyse mécanique des cellules du sang suivie d'une amplification des séquences ciblées par PCR. Les séquences amplifiées sont séparées dans différents canaux, dans lesquels se déroule l'étape d'hybridation via des sondes de révélation spécifiques d'une amorce. Ces sondes sont couplées à des nanoparticules magnétiques pour la révélation. Finalement l'identification bactérienne est basée sur la détection du signal magnétique émis en 3 à 5h [10].

L'avantage indéniable de cette méthode est sa réalisation directement à partir du sang du patient sans passer par une étape d'enrichissement. Le panel est limité puisqu'il ne possède que 6 cibles d'identification et qu'il ne permet pas de rechercher des gènes de

résistance. La culture standard (flacon pour hémoculture et subculture sur milieu gélosé) reste donc nécessaire en parallèle [8,10].

### **3.3. Méthodes basées sur l'hybridation in situ**

Un test basé sur l'hybridation in situ est actuellement commercialisé : l'Accelerate Pheno® (Accelerate Diagnostics, Tucson, Arizona, USA). Il se présente sous forme de tests unitaires entièrement automatisés. Il associe identification et étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques à partir d'une hémoculture positive [8-11]. L'identification se fait par hybridation in situ couplée à de la fluorescence (FISH) et permet d'obtenir l'information sur le genre ou l'espèce de la bactérie en 1h. Le test possède 14 cibles bactériennes, 2 cibles fongiques et un système de détection des hémocultures poly-microbiennes [2,11].

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée par microscopie. C'est l'étude morpho-cinétique de la croissance de bactéries isolées en présence d'une concentration donnée d'antibiotique qui permet d'obtenir des CMI pour 7 familles d'antibiotiques en 7h environ. Le profil de sensibilité est interprété selon les recommandations de l'EUCAST [9-11]. La littérature retrouve une adéquation avec les méthodes d'étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques comprise entre 80,9 et 100% [11-13].

Le risque de contamination est limité puisque la méthode utilisée pour l'identification ne nécessite pas d'amplification préalable.

Cette technologie étant encore récente, peu d'études sont disponibles. Quelques études tendent à montrer une réduction significative du délai d'obtention de l'identification et de l'antibiogramme. En revanche, l'impact pour le patient est encore mal connu [11].

## 4. Synthèse pour la pratique

### 4.1. Conditions essentielles pour une utilisation optimale

A travers les différentes revues analysées, plusieurs points semblent importants pour une utilisation optimale des techniques de diagnostic rapide à l'échelle du laboratoire mais également de l'hôpital. Ces techniques n'ayant de réel intérêt que si elles peuvent être réalisées en temps réel, trois points semblent essentiels [9-12,18] : un fonctionnement 24h/24 et 7j/7 du laboratoire, une communication des résultats au prescripteur dès leur disponibilité et une politique efficace d'adaptation de l'antibiothérapie.

De plus, le choix du système de diagnostic doit prendre en compte la faisabilité de sa mise en place dans la routine des analyses microbiologiques et doit être confronté aux autres solutions de diagnostic disponibles dans le laboratoire. La structure doit disposer de personnel formé et disponible pour réaliser les tests sans impacter le flux de travail en place dans le laboratoire [9]. Il n'est pas possible pour tous les laboratoires, notamment les laboratoires dont le volume d'activité est très élevé, de faire ces examens sur l'ensemble des hémocultures positives. Il paraît donc nécessaire d'établir des algorithmes pour déterminer les cas dans lesquels ces tests auront un impact possible ou probable [9].

Le choix du panel le plus adapté doit également reposer sur les caractéristiques épidémiologiques locales (espèces bactériennes le plus souvent rencontrées, phénotypes de résistance, prévalence des bactéries multi-résistantes).

## **4.2. Les limites de l'utilisation en routine**

### **4.2.1. Délai et organisation**

Ces méthodes rapides proposent des résultats en quelques heures, avec peu de temps technique. Toutefois, à ce jour la majorité d'entre elles sont à réaliser sur des hémocultures positives. On se place donc déjà dans un délai de plusieurs heures ou plusieurs jours dans certains cas par rapport au début de la symptomatologie.

Du point de vue de l'organisation dans le laboratoire, les kits utilisés sont unitaires et les tests ne peuvent donc pas être réalisés en série. Cette procédure se prête bien à la réalisation au fur et à mesure de l'arrivée des hémocultures positives. D'après certains auteurs, le laboratoire doit être en capacité de réaliser ces tests 24h/24 et 7j/7, en plus de la prise en charge de l'ensemble des autres analyses [9,18]. Il faut cependant considérer que la nuit, la continuité de fonctionnement devient plus délicate. En effet, le personnel est généralement réduit, au laboratoire comme dans les services cliniques. Ainsi, il est permis de s'interroger sur la pertinence de l'implantation de ces techniques la nuit. L'absence de médecin dans certains services limitant les possibilités d'adaptation de l'antibiothérapie en temps réel [19,20].

### **4.2.2. Identification**

Les panels ne peuvent pas être exhaustifs et leur nombre de cibles est limité rendant les faux négatifs inévitables. De plus, comme évoqué précédemment, certaines techniques souffrent d'un manque de sensibilité pour certaines cibles de pathogènes. Ces limites ne permettent pas pour le moment de se passer de l'identification par des méthodes d'étude du métabolisme bactérien ou par spectrométrie de masse après culture [9-11,13,18].

### 4.2.3. Sensibilité aux antibiotiques

La mise à disposition anticipée d'un antibiogramme à partir d'une hémoculture a un intérêt majeur dans la prise en charge du patient [21]. Cependant, l'étude génotypique de la sensibilité aux antibiotiques présente de nombreuses limites. Les deux principales sont l'absence de concordance parfaite entre génotype et phénotype de résistance et la multitude de supports de la résistance aux antibiotiques

L'absence de concordance entre phénotype et génotype entraîne des possibilités de discordances dans les résultats. Il faut donc établir une stratégie pour leur interprétation en pratique clinique, en se basant sur la littérature [2]. En cas de faux positif pour un gène de résistance, il existe un risque d'escalade thérapeutique inutile et de mise en place dans le service de mesures de prévention complémentaires pour limiter les risques de dissémination de bactéries multi-résistantes le cas échéant. Ces mesures éventuelles engendrent des coûts supplémentaires, qu'ils soient financiers ou organisationnels. Au contraire, un faux négatif pourra retarder une adaptation thérapeutique dans le sens d'un élargissement du spectre d'activité [22].

La diversité des supports de résistance bactériens, en particulier chez les bactéries à Gram négatif, rend difficile une comparaison de ces systèmes aux méthodes phénotypiques et rend par conséquent hasardeux le remplacement de ces dernières [12]. Les techniques actuelles d'identification de gènes de résistance permettent donc une escalade plus rapide de l'antibiothérapie mais ne permettent pas encore une désescalade sécurisée [11]. Par exemple, pour certaines entérobactéries (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*...) produisant naturellement une céphalosporinase, l'absence du gène *bla*CTX-M qui code pour la bêta-lactamase à spectre étendu la plus fréquente en France actuellement ne permet pas

d'être assuré de leur sensibilité aux céphalosporines de troisième génération. En effet, la production d'une céphalosporinase déréprimée confère un profil de résistance équivalent mais n'est pas détectée par ces systèmes.

### **4.3. Impact pour le patient**

L'impact de ces technologies pour les patients est difficile à mettre en évidence en pratique du fait de l'intervention d'autres paramètres dans la prise en charge de l'infection et dans l'évolution de l'état du patient. Cependant, en raison des surcoûts liés à ces technologies et aux conséquences organisationnelles de leur utilisation évoquées précédemment, il apparaît nécessaire d'évaluer leur intérêt en termes de délai d'adaptation de l'antibiothérapie et de prise en charge du patient. Les résultats de certaines études conduites sur le sujet sont parfois contradictoires. Il semble cependant que le délai soit significativement plus court dans les études qui associent un conseil antibiotique à une solution diagnostic rapide [9-11,23].

Le jugement clinique et les habitudes d'antibiothérapie dans l'hôpital peuvent affecter l'interprétation des résultats. Ceci peut expliquer en partie les discordances observées dans les résultats des différentes études [9]. La nouveauté de ces analyses et le manque d'information des praticiens prescripteurs pourraient induire un manque de confiance dans les résultats obtenus, d'où une absence de prise en compte ou une réticence à prendre en compte des résultats avec pour conséquence un retard à l'adaptation de l'antibiothérapie [19,24].

Pour estimer l'impact potentiel des systèmes de diagnostic rapide, il est important d'évaluer si une antibiothérapie optimale sera définie dès l'identification bactérienne connue ou après obtention de l'antibiogramme. Pour les bacilles à Gram négatif, la multiplicité des mécanismes de résistance possibles et le nombre limité de cibles pour les gènes de résistance rendent difficiles des désescalades sécurisées avec la seule identification [9,23]. Pour les bactéries à Gram positif, les mécanismes de résistance sont plus limités et généralement pris en considération dans les panels des différents systèmes. Avec une bonne connaissance de la technique utilisée et de ses limites, il semble donc moins hasardeux de décider d'une désescalade thérapeutique avec la seule identification. Par exemple, l'absence de gène de résistance *mecA* ou *mecC* chez *Staphylococcus aureus* pourra orienter sur l'utilisation d'une bêtalactamine plutôt que d'un antibiotique actif sur les staphylocoques multi-résistants comme les glycopeptides ou le linézolide [23].

La présence de cibles fongiques permettant d'identifier des fongémies est très intéressante pour la prise en charge de certains patients immunodéprimés ou hospitalisés en réanimation. En effet, ce diagnostic n'est pas toujours envisagé en première intention et la positivité d'une cible fongique peut permettre d'ajouter un antifongique au traitement déjà en place. De plus l'identification rapide de *Candida auris* (pathogène émergent présentant de nombreuses résistances aux antifongiques) avec certains panels peut permettre la mise en place sans délai de précautions pour limiter la diffusion de cette levure à d'autres patients et l'addition d'une thérapie antifongique adaptée [23].

Finalement, si la capacité de ces tests à donner une identification plus rapide et des indications sur l'adaptation du traitement est mise en évidence dans plusieurs études (quand certaines conditions sont réunies), l'effet sur le patient (durée de séjour, mortalité) reste généralement peu démontré. La rapidité de la mise à disposition des résultats offre

cependant une réponse aux recommandations [2] qui préconisent l'instauration d'un traitement empirique large dans l'heure en cas de sepsis, mais d'attendre les résultats microbiologiques quand l'état clinique du patient le permet. Elles recommandent également une désescalade la plus précoce possible pour limiter la sélection de clones bactériens résistants [10]. Dans une étude réalisée chez des patients en sepsis et choc septique en unité de soins intensifs, une désescalade thérapeutique est apparue comme un facteur protecteur chez les patients, avec une diminution de la mortalité à 90 jours [10,25]. Or les méthodes qui se basent sur l'identification de gènes de résistance ne permettent pas de désescalade en toute sécurité.

#### **4.4. Considérations médico-économiques**

Peu d'études médico-économiques ont été réalisées sur le sujet à l'heure actuelle. Une étude sur l'implémentation du diagnostic rapide des bactériémies pour les patients des urgences mettait tout de même en évidence une balance coût-efficacité neutre ou en faveur d'une méthode de diagnostic rapide dans le cas d'une utilisation optimale avec une adaptation de l'antibiothérapie efficace [10,26]. Cependant, toutes ces technologies ont un coût important et il a été estimé que pour un hôpital de 500 lits, l'utilisation d'un test multiplexe pour chaque hémoculture positive entraînerait une augmentation de 500 000 dollars/an uniquement en réactifs [9].

## 5. Conclusion

Outre les bactériémies, différentes solutions de diagnostic rapide sont aujourd'hui disponibles pour d'autres syndromes infectieux comme les pneumonies, les infections ostéo-articulaires, les méningites et les gastro-entérites.

Concernant les hémocultures, la recherche est déjà en cours pour les prochaines générations de tests avec deux axes principaux en développement : les systèmes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques directement à partir des hémocultures et la métagénomique avec le séquençage haut débit. Le séquençage du génome entier ouvre des pistes intéressantes comme la mise au point de systèmes couplant ce séquençage avec des algorithmes produits à l'aide de bases de données de résistances phénotypiques sur un nombre de souches important. Il a été montré que de tels systèmes pouvaient prédire les phénotypes de résistance avec des concordances voisines de 90% [27].

Les limites soulevées par les différentes techniques évoquées dans ce travail permettent de mettre en évidence les besoins auxquels devront répondre les méthodes de demain. L'intégration dans la routine de travail passera idéalement par des techniques substitutives et non pas additionnelles comme c'est le cas actuellement [9]. Ces techniques pour être substitutives nécessiteront une amélioration des tests existants avec en particulier un élargissement des panels et/ou l'émancipation de l'hémoculture avec une analyse réalisée directement sur le sang.

## 6. Références

1. Halperin AV, del Castillo Polo JA, Cortes-Cuevas JL, Cardenas Isasi MJ, Ampuero Morisaki M, Birch R et al. Impact of automated blood culture systems on the management of bloodstream infections: results from a crossover diagnostic clinical trial. *Microbiol Spetr* 2022: e01436-22.
2. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock. *Crit Care Med* 2021; 49: e1063-143.
3. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parillo JE, Sharma S et al. Duration of hypotension before initiation of antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589-96.
4. Humphries R, Di Martino T. Effective implementation of the Accelerate Pheno™ system for positive blood cultures. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74 (Suppl. 1): 40-3.
5. Van Heuverswyn J, Valik JK, van der Werff SD, Hedberg P, Giske C, Nauc  r P. Association between time to appropriate antimicrobial treatment and 30-day mortality in patients with bloodstream infections: a retrospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2022. doi: 10.1093/cid/ciac727.
6.   zenci V, Rossolini GM. Rapid microbial identification and antimicrobial susceptibility testing to drive patient care: an evolving scenario. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74 (Suppl. 1): i2-i5.
7. Rubinstein ML, Wolk DM, Badady NE, Johnson JK, Atkinson B, Makim R et al. Mapping the evidence on rapid diagnosis of bloodstream infections: a scoping review. *J Appl Lab Med* 2021; 6: 1012-1024.
8. Sullivan KV, Dien Bard J. New and novel rapid diagnostics that are impacting infection prevention and antimicrobial stewardship. *Curr Opin Infect Dis* 2019; 32: 356-64.
9. She RC, Bender JM. Advances in rapid molecular blood culture diagnostics: healthcare impact, laboratory implications and multiplex technologies. *J Appl Lab Med* 2019; 3: 617-30.

10. Eubank TA, Long SW, Perez KK. Role of rapid diagnostics on diagnosis and management of patients with sepsis. *J Infect Dis* 2020; 222 (Suppl. 2): S103-9.
11. Briggs N, Campbell S, Gupta S. Advances in rapid diagnostics for bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2021; 99: 115219.
12. De Angelis G, Grossi A, Menchinelli G, Boccia S, Sanguinetti M, Posteraro B. Rapid molecular tests for detection of antimicrobial resistance in Gram-negative organisms from positive blood cultures: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2020; 26: 271-80.
13. Jacobs MR, Colson JD, Rhoads DD. Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing systems. *Exp Rev Mol Diagn* 2021; 21: 563-78.
14. Doualeh M, Payne M, Litton E, Raby E, Currie A. Molecular methodologies for improved polymicrobial sepsis diagnosis. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 4484.
15. Poritz MA, Blaschke AJ, Byington CL, Meyers L, Nilsson K, Jones DE et al. FilmArray, an automated nested multiplex PCR system for multi-pathogen detection: development and application to respiratory tract infection. *PLoS One* 2011; 6: e26047.
16. Siu GKH, Chen JHK, Ng TK, Lee RA, Fung KSC, To SWC et al. Performance evaluation of the Verigene Gram-positive and Gram-negative blood culture test for direct identification of bacteria and their resistance determinants from positive blood cultures in Hong Kong. *PLoS One* 2015; 10: e0139728.
17. Burrack-Lange SC, Personne Y, Huber M, Winkler E, Weile J, Knabbe C et al. Multicenter assessment of the rapid Unyvero blood culture molecular assay. *J Med Microbiol* 2018; 67: 1294-301.
18. Cendejas-Bueno E, Romero-Gomez MP, Mingorance J. The challenge of molecular diagnosis of bloodstream infections. *World J Microbiol Biotechnol* 2019; 35: 65.
19. Seng P, Drancourt M, Gouriet F, La Scola B, Fournier P, Rolain JM et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 543-51.

20. Scheer CS, Fuchs C, Gründling M, Vollmer M, Bast J, Bonhert JA et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2019; 25: 326-31.
21. Anton-Vasquez V, Hine P, Krishna S, Chaplin M, Planche T. Rapid versus standard antimicrobial susceptibility testing to guide treatment of bloodstream infection. *Cochrane Database Syst Rev* 2021; 5: CD013235.
22. Dupuis C, Bouadma L, Ruckly S, Perozziello A, Van-Gysel D, Mageau A et al. Sepsis and septic shock in France: incidences, outcomes and costs of care. *Ann Intensive Care* 2020; 10: 145.
23. Wu S, Huang G, de ST Maurice A, Lehman D, Graber CJ, Goetz MB et al. The impact of rapid species identification on management of bloodstream infections. *Mayo Clinic Proc* 2020; 95: 2509-24.
24. Fihman V, Faury H, Moussafeur A, Hyguet R, Galy A, Gallien S et al. Blood cultures for the diagnosis of infective endocarditis: what is the benefit of prolonged incubation? *J Clin Microbiol* 2021; 10: 5824.
25. Garnacho-Montero J, Guittiérrez-Pizarraya A, Escoresca-Ortega A, Corcia-Palomo Y, Fernandez-Delgado E, Herrera-Melero I et al. De-escalation of empirical therapy is associated with lower mortality in patients with severe sepsis and septic shock. *Intensive Care Med* 2014; 40: 32-40.
26. Zacharioukadis IM, Zervou FN, Shehadeh F, Mylonakis E. Cost-effectiveness of molecular diagnostic assays for the therapy of severe sepsis and septic shock in the emergency department. *PLoS One* 2019; 14: e0217508.
27. Peresky MW, Hussain T, Wallace M, Patel S, Andleeb S, Burnham CAD et al. Evaluation of machine learning and rules-based approaches for predicting antimicrobial resistance profiles in Gram-negative bacilli from whole genome sequence data. *Front Microbiol* 2016; 7: 1887.

## Tableau 1 – Revues sélectionnées

**Table 1 – Selected reviews**

Titres	Auteurs	Journal	Date
Advances in rapid molecular blood culture diagnostics: healthcare Impact, laboratory implications, and multiplex technologies	She et Bender.	The Journal of Applied Laboratory Medicine	2019
Rapid microbial identification and antimicrobial susceptibility testing to drive better patient care: an evolving scenario	Özenci et Rossolini.	Journal of Antimicrobial Chemotherapy	2019
The challenge of molecular diagnosis of bloodstream infections	Cendejas-Bueno et al.	World Journal of Microbiology and Biotechnology	2019
New and novel rapid diagnostics that are impacting infection prevention and antimicrobial stewardship	Sullivan et Dien Bard.	Current Opinion in Infectious Diseases	2019
Rapid molecular tests for detection of antimicrobial resistance determinants in Gram-negative organisms from positive blood cultures: a systematic review and meta-analysis	De Angelis et al.	Clinical Microbiology and Infection	2020
Role of rapid diagnostics in diagnosis and management of patients with sepsis	Eubank et al.	Journal of Infectious Diseases	2020
The impact of rapid species identification on management of bloodstream infections: what's in a name?	Wu et al.	Mayo Clinic Proceedings	2020
Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing systems	Jacobs et al.	Expert Review of Molecular Diagnostics	2021
Advances in rapid diagnostics for bloodstream infections.	Briggs et al.	Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases	2021
Rapid versus standard antimicrobial susceptibility testing to guide treatment of bloodstream infection.	Anton-Vazquez et al.	Cochrane Database Systematic Review	2021
Mapping the evidence on rapid diagnosis of bloodstream infections: a scoping review.	Rubinstein et al.	The Journal of Applied Laboratory Medicine	2021
Molecular methodologies for improved polymicrobial sepsis diagnosis	Doualeh et al.	International Journal of Molecular Sciences	2022

**Tableau 2 – Différentes techniques de diagnostic rapide des bactériémies**

**Table 2 – Various methods of rapid diagnosis for bacteremia**

Systèmes	Panels	Matrices	Sensibilités	Spécificités	Concordances
Méthode basée sur les acides nucléiques					
Verigene	BC-GP®	Hémoculture positive	> 95%	-	88 – 100%
	BC-GN®		98%	100%	-
BioFire®	BCID2		96%	-	93%
ePLEX	BC-GP®		-	-	89 – 96%
	BC-GN®				
	BC-FP®				
iCubate	IC-GPC®		95%	95%	-
Curetis	BCU®		96,8%	99,8%	96%
Méthode basée sur l'hybridation <i>in situ</i>					
Accelerate Pheno®		Hémoculture positive	80,9 – 100%	-	86 – 100%
Méthode basée sur la résonance magnétique					
T2Biosystem	T2Bacteria®	Sang total	> 90%	> 90%	-
	T2Candida®				

# PERSPECTIVES

## 1. Les méthodes en développement

La recherche est déjà en cours pour les prochaines générations de tests avec plusieurs axes en développement :

- Systèmes de tests de sensibilité aux antibiotiques accélérés directement à partir des hémocultures
- Métagénomique et séquençage à haut débit

### 1.1. Les systèmes de tests accélérés de la sensibilité aux antibiotiques

Leur principe se base sur l'ensemencement, après examen direct, du flacon d'hémoculture positif directement sans passer par une étape isolement de la bactérie. L'objectif est d'obtenir en même temps l'identification du microorganisme en cause et son profil de sensibilité à un panel d'antibiotiques (28).

Parmi les tests en développement on retrouve l'AS<sup>®</sup>Star (Q-linea AB, Sweden). D'après les informations du fabricant, il permet l'étude de la sensibilité aux antibiotiques par micro-dilution à partir d'une hémoculture positive après examen direct. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) sont obtenues en 6h. Une fois l'identification connue, le rapport final avec l'interprétation des CMI peut être obtenu. Cette technologie annonce plus de 95% d'adéquation avec la culture (méthode de référence) (28).

Une autre méthode en développement est le système dRAST® (QuantMatrix, Seoul, Republic of Korea). Il analyse la formation des colonies par microscopie en présence d'antibiotiques. Il se compose d'un support de 96 puits inoculés directement avec l'hémoculture positive. Douze essais sont réalisables simultanément et le résultat est délivré en 6h (28).

Et enfin le système Reveal AST ® (Specific Diagnostics, CA). Il se base sur la détection de métabolites organiques volatiles produits par le microorganisme. C'est via ce principe qu'il peut identifier, détecter la croissance et connaître la sensibilité aux antibiotiques de la bactérie en cause. Il se compose de 70 indicateurs chimiques colorimétriques dans une matrice composée de nanopores. La matrice est placée sur un support au-dessus de puits de micro-dilution dans lesquels l'échantillon est incubé. Le résultat est disponible en 4h à partir des hémocultures positive ou d'un isolement (28)(29).

## **1.2. Séquençage haut débit**

Le séquençage, auparavant exclusivement réservé à la recherche, arrive peu à peu dans l'arsenal des techniques disponibles en routine clinique et notamment en bactériologie.

En effet, l'approche universelle avec le séquençage de l'ensemble du matériel génétique présent directement dans le sang du patient semble être une piste intéressante. L'absence d'hypothèse préalable permettant de s'affranchir des limites de l'approche multiplexe en terme de nombre de cibles (4). Les nouvelles techniques de séquençage en temps réel comme l'Oxford Nanopore® pourraient trouver leur place puisqu'elles sont

rapides à mettre en place et relativement simples d'utilisation (28). Cette approche, en rendant accessible la totalité de la séquence génétique de la bactérie, permettrait de mettre en évidence la présence de gènes de résistance en même temps que l'identification bactérienne (4).

Cependant, cette approche présente de nombreuses limites à l'heure actuelle. La première limite concerne les problèmes de logistique. L'ensemble du support numérique du laboratoire doit être repensé pour supporter un nombre important de données et les systèmes d'interprétation nécessaires (28). Un système de contrôle de la qualité doit également être mis en place pour pouvoir sortir cette technologie de la recherche et lui permettre de s'implanter dans la routine clinique. La deuxième limite porte sur l'identification de l'ensemble des séquences présentes dans l'échantillon qui entraîne inévitablement un risque de faux positif en cas de contamination. En développement, le score Septic Indication Quantifier (SIQ) vient en réponse à cette problématique avec la volonté de différencier les bactéries potentiellement impliquées dans la bactériémie et les contaminants probables via une analyse statistique des séquences dans une base de données : SIQ-Data base (4). Cependant, il n'est pas encore possible de distinguer les bactériémies transitoires des infections et les organismes viables des organismes non viables à l'heure actuelle (4) (16). Enfin, si l'acquisition des séquences est un processus relativement bien maîtrisé de même que l'identification des bactéries par intégration des séquences dans des bases de données taxonomiques (ex : BLAST®), l'interprétation reste complexe puisqu'on manque de données sur la corrélation génotype/phénotype, sur l'interaction potentielle des gènes entre eux et sur les nouvelles mutations/résistances (3,24). Il paraît donc nécessaire de développer nos connaissances sur l'interprétation de ces séquences en matière de résistances.

Une autre piste porte sur le « machine learning » et la création d'un cloud de partage de données phénotypiques associées à leur prédiction de résistances en fonction de la souche identifiée (30,31). Le principe du Machine Learning est basé sur l'entraînement d'un système sur un jeu de données dont il connaît la question et la réponse (par exemple : la séquence et le profil de sensibilité aux antibiotiques). Le système est ensuite confirmé sur un autre jeu de données dont seule la question lui est communiquée mais dont la réponse n'est connue que de l'opérateur. Si le système est validé (concordance entre la question et la réponse), il peut alors être utilisé sur des données dont la réponse n'est pas connue. L'analyse couplerait donc une identification sur des bases de données ouvertes de la séquence puis une analyse par un système d'intelligence artificielle (IA). Cette IA pourrait relier un motif génétique à un profil de sensibilité (et donc des traitements utilisables) et non plus un gène à une résistance. La création d'un cloud de partage de données de séquences corrélées à des phénotypes de résistances pourrait permettre l'entraînement de l'IA sur un large jeu de données . En effet, la qualité de l'IA dépend du jeu de données de départ. Ainsi, si le jeu de données est insuffisant, une résistance qui n'est pas assez fréquente ne pourra pas être identifiée (30).

Des tests sont déjà disponibles (4): SeptiTest, iDETECT Dx Blood, Karius NGS Plasma Test et microbiome analysis services. Cependant, ils ne sont pas utilisés en routine, notamment du fait de leur coût et de la technicité requise. Les prélèvements sont donc envoyés sur des plateformes extérieures, ce qui allonge le délai de rendu des résultats. On perd donc leur utilité principale : la rapidité du diagnostic.

## 2. Et après ?

Les limites soulevées par les différentes techniques évoquées dans ce travail permettent de mettre en évidence les besoins auxquels devront répondre les méthodes de demain. L'intégration dans la routine du laboratoire passera idéalement par des techniques substitutives et non pas additionnelles comme c'est principalement le cas actuellement (3).

### 2.1. Amélioration des techniques existantes

Si des systèmes rapides, faciles d'utilisation, peu coûteux et présentant des paramètres intrinsèques satisfaisants sont toujours souhaitables, d'autres paramètres peuvent entrer en ligne de compte (32).

En ce qui concerne les techniques déjà existantes, leur amélioration pourrait se porter sur des panels ajustables en fonction de l'épidémiologie locale en termes de résistance et d'espèces bactériennes. La présence systématique d'une cible universelle pourrait également être envisagée afin d'éviter les faux négatifs (actuellement peu de panels en intègrent).

Puisque l'apparition de nouvelles espèces et de nouveaux mécanismes de résistance aux antibiotiques ne manqueront pas de survenir, les futures techniques devront impérativement pouvoir s'adapter aux évolutions épidémiologiques si elles veulent s'implanter durablement.

L'amélioration de la détection des hémocultures poly-microbiennes doit également être envisagée. Les tests actuels ne sont pas très performants pour les mettre en évidence par rapport à la culture. Il arrive fréquemment que des bactéries Gram positif soient associées à des bactéries Gram négatif dans ce contexte. Des panels distincts Gram positif et

Gram négatif comme ceux proposés par Verigene peuvent alors être mis en défaut. Il faut donc envisager de mettre en place des stratégies diagnostiques qui tiennent compte des situations à risque de bactériémies poly-microbiennes (immunodépression, infection des voies biliaires, présence d'un corps étranger, ...) (16). La réalisation des deux panels systématiquement ou l'utilisation de panels qui comprennent des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif peuvent être proposés. Cependant, même ces systèmes combinés sont moins performants lorsque plusieurs espèces bactériennes sont présentes. Des systèmes plus adaptés doivent donc être développés.

## **2.2. Émancipation de l'hémoculture**

Une étude récente (18) a montré qu'un délai inférieur à 12h sans antibiothérapie ou avec une antibiothérapie inadaptée n'avait pas d'impact significatif sur la survie du patient dans les bactériémies. Le risque augmente ensuite progressivement au-delà de 12h puis à 24 et 48h. Or, le délai pour que les hémocultures soient positives dépasse bien souvent les 12h.

Une étude récemment réalisée au CHU d'Angers (voir article de la deuxième partie) portant sur l'intérêt du système BCID2® pour la première hémoculture positive (hors contamination) des patients du CHU, a montré que 46,2% (103/223) de ces hémocultures avaient un délai supérieur à 12h pour se positiver. Ainsi, la technique de diagnostic rapide était mise en œuvre au-delà de cette fenêtre des 12 premières heures déjà évoquée. Si on part du principe que les hémocultures qui se positivent en 10h ou moins permettent d'obtenir un diagnostic d'espèce et/ou des gènes de résistance en utilisant une technique de diagnostic

rapide, ces résultats seraient disponibles en moins de 12h pour le clinicien dans 38% des cas (85/223) seulement.

Il semblerait donc plus intéressant de développer des techniques directement sur sang total pour éliminer le délai nécessaire à l'enrichissement en flacon d'hémoculture. Des méthodes applicables directement sur sang prélevé permettraient également, si elles étaient quantitatives, de mettre en place un suivi de la charge bactérienne et donc de suivre l'efficacité du traitement antibiotique instauré (32).

Après cette mise au point sur les techniques rapides disponibles et en développement dans le diagnostic des bactériémies, nous allons nous intéresser à une étude réalisée au CHU d'Angers qui portait sur l'implémentation de ce type de système en pratique clinique. L'étude s'est portée sur le panel BioFire BCID2® plus complet que sa version précédente (BCID®), avec plus de cibles pour les gènes de résistances des bactéries à Gram négatifs notamment. Elle visait à déterminer la place de ce panel dans la stratégie de prise en charge des hémocultures positives à l'échelle du CHU et son impact sur l'adaptation de l'antibiothérapie.

## DEUXIEME PARTIE

Cette deuxième partie présente l'étude de l'impact du système BioFire® BCID2 sur la prise en charge des patients atteints de bactériémie réalisée au CHU d'Angers.

### SYNTHESE DE L'ARTICLE

Notre objectif était d'évaluer l'intérêt du système de diagnostic rapide BCID2® sur la mise en place d'une antibiothérapie adaptée, soit par son instauration en cas d'absence de traitement préalable, soit par l'adaptation d'une antibiothérapie probabiliste.

Une étude mono-centrique prospective quasi-expérimentale de type avant / après a été réalisée. La première période (P1) s'est déroulée suivant le fonctionnement habituel du laboratoire et l'utilisation du système BCID2® est intervenue pendant la deuxième période (P2). Chaque période a duré six mois. Le temps moyen nécessaire pour l'obtention des résultats de l'identification bactérienne après l'examen microscopique sur le flacon d'hémoculture positif a été comparé entre ces deux périodes. Les proportions de traitements appropriés prescrits avant l'examen microscopique, après l'examen microscopique et après l'identification bactérienne ont été comparées entre P1 et P2. Une comparaison directe de ces proportions a été réalisée par le test du Chi-2 ou le test exact de Fisher. De plus, une comparaison a été réalisée par une analyse de Kaplan-Meier (comparaison de la décroissance de la proportion d'antibiothérapies non adaptées dans chaque période dans les cas où l'antibiothérapie probabiliste n'est pas adaptée). Les variables continues ont été comparées

par le test non paramétrique de Mann-Whitney. L'étude a été approuvée par le Comité d'éthique du CHU d'Angers (N° 2020/108).

Au total, 156 hémocultures positives ont été incluses au cours de P1 et 162 au cours de P2. Les caractéristiques des patients étudiés n'étaient pas significativement différentes entre les deux groupes. Le système BCID2<sup>®</sup> a identifié 94,4% des bactéries isolées en culture. Dans huit des neuf cas où la bactérie isolée en subculture à partir d'hémocultures mono-microbiennes n'a pas été identifiée par le système, cette bactérie n'appartenait pas au panel. Une concordance totale a été retrouvée pour ce qui concerne les gènes de résistance recherchés par le système BCID2<sup>®</sup>.

Pour les hémocultures mono-microbiennes, en excluant les hémocultures considérées comme contaminées, le temps nécessaire pour identifier les bactéries présentes dans les hémocultures positives a été de  $18,7 \pm 6,8$ h pendant P1 vs.  $3,2 \pm 8,5$ h pendant P2 pour les hémocultures à bacilles à Gram négatif ( $p < 0,001$ ) et de  $18,4 \pm 8,3$ h pendant P1 vs.  $11,8 \pm 17,8$ h pendant P2 pour les hémocultures à bactéries à Gram positif ( $p < 0,001$ ). En revanche, ce temps était similaire entre P1 et P2 pour les hémocultures poly-microbiennes.

Pour les hémocultures mono-microbiennes, le délai entre les résultats de l'examen direct et l'identification bactérienne par le BCID2<sup>®</sup> a été  $< 2$ h dans plus de 90% des cas. Nous avons donc considéré que dans la deuxième période, les deux résultats étaient communiqués en même temps. La proportion d'adaptation de traitement pour la mise en place d'une antibiothérapie optimale après examen direct (P1) ou après identification par le BCID2<sup>®</sup> (P2) était de 26,0% vs. 61,4% respectivement ( $p < 0,001$ ) pour les hémocultures mono-microbiennes à bacilles à Gram négatif et de 50,0% vs. 87,5% respectivement ( $p < 0,001$ ) pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram positif.

En ne prenant en considération que les cas où le traitement probabiliste n'était pas adapté, la comparaison des courbes de décroissance de la proportion d'antibiothérapies non adaptées au cours du temps a montré une différence significative pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram positif ( $p < 0,04$ ) et une tendance vers la significativité ( $p = 0,10$ ) pour les hémocultures mono-microbiennes à bactéries à Gram positif.

Indépendamment des performances du système déjà documentées antérieurement, cette étude montre l'intérêt du panel BCID2<sup>®</sup> pour réduire les délais d'initiation et/ou d'adaptation de l'antibiothérapie dans les bactériémies mono-microbiennes, qu'elles soient à bacilles à Gram négatif ou à bactéries à Gram positif. Les limites de ce système sont, outre l'absence de données sur la sensibilité aux antibiotiques, l'absence de détection des céphalosporinases déréprimées, enzymes fréquemment produites par chez certaines entérobactéries comme par exemple *Enterobacter cloacae* ou *Citrobacter freundii*. Une autre limite est son coût élevé.

# ARTICLE 2 : accepté sous réserves de révisions dans

## *Diagnostic Microbiology & infectious diseases*

### Diagnostic Microbiology & Infectious Disease

#### BIOFIRE® Blood Culture IDentification 2 (BCID2) Panel for early adaptation of antimicrobial therapy in adult patients with bloodstream infections: a real-life experience

--Manuscript Draft--

Manuscript Number:	
Article Type:	Original article
Keywords:	Rapid diagnostics; bacterial identification; blood cultures; antimicrobial therapy; multiplex PCR
Corresponding Author:	Matthieu Eveillard University Hospital Centre Angers Angers, FRANCE
First Author:	Anne Donnars
Order of Authors:	Anne Donnars rafael mahieu Charles Declerck Rachel Chenouard carole Lemarié Hélène Pailhonès Jim Requin Marie Kempf Matthieu Eveillard
Abstract:	Our objective was to assess the effectiveness of a multiplex PCR panel for blood culture identification (BCID2) on the implementation of appropriate antimicrobial therapy. We conducted a monocentric pre/post study comparing the time to result from direct microscopic examination (DE) to bacterial identification (BI) in positive blood cultures between two different periods: P1 without BCID2 and P2 with BCID2. Appropriate treatments prescribed before DE and after DE / BCID2 and after BI / BCID2 were compared using direct proportion comparison and survival analysis. For mono-microbial bloodstream infections, the proportion of appropriate antimicrobial treatment after DE was 50% in P1 vs. 87.5% after BCID2 in P2 ( $P < .001$ ) for Gram-negative bacteria and 33.0% in P1 vs. 64.4% in P2 ( $P < .01$ ) for Gram-positive bacteria. The survival curves were significantly different for Gram-positive bacteria ( $P = 0.04$ ) and the log-rank test tended to significance ( $P = .10$ ) for Gram-negative bacteria.
Suggested Reviewers:	Hélène Marchandin, PhD University Hospital Centre Montpellier helen.marchandin@umontpellier.fr Expert in molecular diagnosis  Laurence Armand Lefèvre, PharmD, PhD Public Assistance Hospitals Paris laurence.armand@aphp.fr Expert in molecular diagnosis  Roxanne Rule University of Pretoria roxyrule@gmail.com Published about rapid diagnostic methods  Linoj Samuel Henry Ford Health System lsamuel2@hfhs.org Published in the domain of molecular diagnostic and resistance to antibiotics

# **BIOFIRE® Blood Culture IDentification 2 (BCID2) Panel for early adaptation of antimicrobial therapy in adult patients with bloodstream infections: a real-life experience**

Anne Donnars<sup>a</sup>, Rafael Mahieu<sup>b,c</sup>, Charles Declerck<sup>b</sup>, Rachel Chenouard<sup>a</sup>, Carole Lemarié<sup>a</sup>, Hélène Pailhoriès<sup>a</sup>, Jim Requin<sup>b</sup>, Marie Kempf<sup>a,c</sup>, Matthieu Eveillard<sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> Laboratoire de Bactériologie, Département de Biologie des Agents Infectieux, CHU Angers, F-49000 Angers, France

<sup>b</sup> Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Angers, F-49000 Angers, France

<sup>c</sup> Univ Angers, Nantes Université, CHU Angers, Inserm, CNRS, INCIT, F-49000 Angers, France

## **Abstract**

Our objective was to assess the effectiveness of a multiplex PCR panel for blood culture identification (BCID2) on the implementation of appropriate antimicrobial therapy. We conducted a monocentric pre/post study comparing the time to result from direct microscopic examination (DE) to bacterial identification (BI) in positive blood cultures between two different periods: P1 without BCID2 and P2 with BCID2. Appropriate treatments prescribed before DE and after DE / BCID2 and after BI / BCID2 were compared using direct proportion comparison and survival analysis. For mono-microbial bloodstream infections, the proportion of appropriate antimicrobial treatment after DE was 50% in P1 vs. 87.5% after BCID2 in P2 ( $P < .001$ ) for Gram-negative bacteria and 33.0% in P1 vs. 64.4% in P2 ( $P < .01$ ) for Gram-

positive bacteria. The survival curves were significantly different for Gram-positive bacteria ( $P = 0.04$ ) and the log-rank test tended to significance ( $P = .10$ ) for Gram-negative bacteria.

## **Keywords**

Rapid diagnostics; bacterial identification; blood cultures; antimicrobial therapy; multiplex PCR

## **1. Introduction**

Being able to rapidly and accurately determine the pathogens involved in bacterial infections is a critical step in clinical management [1]. Indeed, timely administration of appropriate antibiotics has been well documented as a strong predictor of sepsis survival [2] and increased mortality of bloodstream infections (BSIs) is often related to delayed, insufficient, or inappropriate anti-infective treatment [3-5].

To decrease the time necessary for initiating appropriate antimicrobial therapy, some laboratories have implemented a 24h/7d organization for bacterial identifications and antimicrobial susceptibility testing. This system allows to obtain earlier appropriate treatment and an increase rate of narrow-spectrum antibiotic prescription [6,7]. However, such systems are expensive and demand a complete and sometimes complicated reorganization of the laboratory at the time of implementation of changing.

Recently, new rapid diagnosis tests and particularly molecular approaches have emerged to provide pathogen identification and to identify the presence of some resistance genes or resistance profiles within a short time [8,9]. Multiplex PCR are increasingly used in clinical practice for diagnosing central nervous system infections, particularly meningitis [10] and pneumonia whether they are community- or hospital-acquired [11]. These multiplex PCR

have good analytical performance. Concerning BSIs, the new version of the BIOFIRE Blood Culture Identification (BCID2) Panel was recently evaluated [12]. The panel identifies 33 pathogens and 10 antibiotic resistance genes with a few minutes of hands-on time. The sensitivity and the specificity for detecting in-panel targets were 98.8% and 99.6% for pathogens and 100% for resistance genes [12]. In another study including 180 positive blood cultures, BCID2 Panel results were concordant with the standard of care in 88.3% of positive samples [13]. A retrospective simulation study of time to effective, optimal and de-escalation therapy with BCID2 Panel demonstrated its usefulness for shortening the time of optimal and de-escalation therapy [14]. However, few data concerning the evaluation of the impact of BCID2 Panel on the decrease of time of accurate antimicrobial treatment in the real life are available.

Our objective was to assess the effectiveness of BCID2 panel for the early implementation of appropriate antimicrobial therapy.

## **2. Material and methods**

### ***2.1. Study design***

We conducted a prospective quasi-experimental pre/post study in a 1500-bed French university hospital. The first period ("pre", P1) took place from July to November 2021 and the second period ("post", P2) from December 2021 to April 2022. During P1, positive blood cultures were processed as usual in our laboratory: Gram staining microscopic examination (direct examination), culture on blood agar plates, identification of colonies and antimicrobial susceptibility testing (AST). During P2, multiplex PCR with BCID2 Panel was performed immediately after direct examination (figure 1).

## **2.2. Microbiological methods**

Blood cultures were incubated in the BACT/ALERT® VIRTUO system (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Colonies isolated from blood-agar subcultures were identified by using matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (Vitek MS®, bioMérieux). AST were performed with the Vitek2 ® system (bioMérieux, France). Alternatively, AST could be performed by using Sensititre ® broth microdilution plates (ThermoFisher, Waltham, USA) or the disk-diffusion method depending on the nature of microorganisms or the need for testing additional antibiotics. AST results were interpreted according to the EUCAST breakpoint tables (2021) ([https://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)). When the BACT/ALERT® VIRTUO system detect a positive blood culture, the result of direct examination is usually transmitted within the following hour.

## **2.3. Inclusion criteria**

All bacteraemia identified in adults (age  $\geq 18$ ) hospitalized in medical wards and intensive-care units during P1 or P2 were prospectively included if blood cultures were detected positive from 8 AM to 5 PM. When a series of positive blood culture vials were recovered with the same bacteria for a same patient, only the first positive vial was considered. Two series concerning the same patient and growing with the same microorganism were considered as different episodes of BSIs when they were separated by a minimum of three days.

## **2.4. Definitions**

Positive blood cultures with bacteria belonging to the skin microbial community, especially coagulase-negative staphylococci (CNS), were differentiated into “contamination” or “sepsis” according to the decision to start or not an antibiotic treatment by the clinician in charge of the patient.

For each positive BSI, the time to reach the most appropriate treatment (MAT) was recorded. MAT could be empirical or could be prescribed after the communication of results of direct examination, identification or AST. MAT had to be active on the bacteria isolated from blood culture and associated with the minimal ecological impact on commensal flora. Finally, MAT was defined according to the pathogen identified. For instance, if an active antibiotic was prescribed after obtaining the results of direct examination, the time from direct examination to initiation of this antibiotic was recorded, unless this antibiotic was replaced by another antibiotic with a narrower spectrum after the communication of identification or the results of AST. In this case, the time from direct examination to the initiation of the MAT was recorded. The infected sites at the origin of bacteraemia were recorded.

## **2.5. Recording of the time of results transmission and antimicrobial prescription**

The time of results (hours) of Gram-stain examination, BCID2 Panel, identification with Vitek MS® system and AST were recorded. Theoretically, it can be considered that the results of Gram-strain examination and BCID2 Panel are available at less than two hours apart. Therefore, turnaround times from Gram-stain examination / BCID2 Panel to

identification with Vitek MS® and AST were calculated. Concurrently, those results were transmitted by phone to the clinical wards and the antimicrobial treatments prescribed for the patients were recorded at each of these steps. It is noteworthy that when the results of Gram-stain examination and BCID2 Panel were transmitted, the empirical treatment was recorded, when the result of BCID2 Panel and/or Vitek MS® was transmitted, the treatment adapted according to the direct examination was recorded. Lastly, the treatment adapted according to the result of Vitek MS® was recorded when the results of AST were transmitted by phone or by using the patient's records (figure 2). Concurrently, the time from direct examination to the MAT as defined previously was recorded.

## **2.6. Ethical considerations**

The study has been approved by the ethical committee of the Angers university hospital (N° 2020/108).

## **2.7. Data acquisition and statistical analyses**

Data have been collected in Excel software. Statistical analyses were performed with XLSTAT (Addinsoft, Bordeaux, France). Proportions were compared with the chi-square test or the exact Fisher test as appropriate. Continuous variables were compared with the Mann-Whitney test as distributions were not normal. Survival curves corresponding to the proportions of non-accurate treatments along time were compared with the log-rank test. Tests were two-sided and a  $P < 0.05$  was considered significant.

### **3. Results**

#### ***3.1. Characteristics of patients***

Overall, 318 suspicion of BSI were included with 156 positive blood cultures during P1 and 162 during P2. There was no significant difference between 2 periods P1 and P2 concerning the mean age of patients ( $67.1 \pm 13.5$  vs.  $69.5 \pm 13.4$ ), the gender ( proportion of men: 70.5% vs. 62.3%) or the distribution of wards in which patients had been hospitalized at the time of blood culture sampling (38.5% vs. 35.2% in the emergency room, 16.7% vs. 21.0% in intensive care units and 44.8% vs. 43.8% in medical wards).

#### ***3.2. Origin of sepsis***

There was no significant difference concerning the distributions of the infected sites at the origin of sepsis, with a predominance of the digestive tract (28.0% in P1 vs. 35.8% in P2), urinary tract (26.0% in P1 vs. 15.4% in P2) and positive blood cultures associated to intra-venous or intra-arterial catheters (18.0% in P1 vs. 26.0% in P2).

#### ***3.3. Concordance between BioFire BCID2 Panel results and bacteria identified in culture***

The distributions of bacteria identified in culture are similar between the two periods and presented in figure 3. Although the proportion of CNS and the proportion of contaminated blood cultures were higher in P1, these differences were not significant. Overall, BCID2 Panel identified the bacteria isolated in subculture on solid media in 94.4% of positive blood cultures included in the study. The BCID2 Panel results were negative for nine

mono-microbial positive blood cultures. For eight of the mono-microbial positive blood cultures, bacteria isolated were not included in the BCID2 panel (i.e. *Corynebacterium* sp., *Micrococcus luteus*, *Enterococcus hirae*, *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Acinetobacter johnsonii*, *Aeromonas* sp., *Prevotella* sp., *Moraxella* sp.). In addition, one *Staphylococcus epidermidis* was not identified by BCID2. Concurrently, one isolate of *Enterococcus durans*, one isolate of *Clostridium perfringens* and a *Strenotrophomonas maltophilia*, species which are not included in the BCID2 Panel, were not identified by BCID2 in poly-microbial blood cultures. Four extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) were isolated in subcultures. CTX-M genes were identified by BCID2 for all of them. Similarly, the *mecA/C* and *MREJ* markers were identified for the only methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolated from a positive blood culture during P2.

### ***3.4. Time between direct microscopic examinations to identifications.***

The turnaround times from direct examination to identification are presented on figure 4. It is noteworthy that most of bacterial identifications (Vitek MS®) occurred between 12 and 24 h after direct examination in P1 and < 2 h after direct examination in P2 (BCID2 Panel and/or Vitek MS®). The proportion of bacterial identifications with BCID2 Panel occurring < 2 h after direct examination was > 90% for mono-microbial blood cultures with Gram-negative bacteria. The exceptional very short times recorded from Gram-stain examination to bacterial identification in P1 (figure 4) corresponded to positive blood cultures detected during the night for which the results of Gram-stain examination was only communicated in the morning to the clinician, a few hours before bacterial identification by Vitek MS® . If excluding contaminated blood cultures, the time necessary for identifying

bacteria was  $18.7 \pm 6.8$  h in P1 vs.  $3.2 \pm 8.5$  h in P2 for mono-microbial blood cultures with Gram-negative bacteria ( $P < .001$ ),  $18.4 \pm 8.3$  h in P1 vs.  $11.8 \pm 17.8$  h in P2 for mono-microbial blood cultures with Gram-positive bacteria ( $P < .001$ ) and  $22.0 \pm 12.1$  h vs.  $25.4 \pm 25.8$  h (not significant) for poly-microbial blood cultures. For mono-microbial blood cultures, the high level of standard errors can be explained by difficulties sometimes encountered for identifying certain Enterobacteriaceae when they were not included in the panel or when bacteria were not included in the BCID2 Panel.

### ***3.5. Modification of antimicrobial prescriptions***

There was no significant difference concerning the proportion of initial treatments (or absence of treatment) modified with the blood culture results and concerning the proportion in the different categories of modifications implemented . An absence of modification was recorded for 56.8% of patients in P1 and 51.9% of patients in P2. The proportions of patients for whom the initial treatment was switched to a narrower antimicrobial spectrum or to a wider antimicrobial spectrum were 19.9% and 9.6% in P1 and 12.3% and 12.3% in P2 respectively. An initiation of antimicrobial therapy after blood culture results concerned 17.8% of patients in P1 and 22.2% of patients in P2. Lastly, initial antimicrobial therapy was discontinued for 2.7% of patients in P1 and 1.2% of patients in P2.

### ***3.6. Time to prescribe the MAT***

If considering that the results of direct examination and BCID2 are concomitant, for mono-microbial blood cultures with Gram negative bacteria, the proportion of switches to the MAT after the transmission of the results of direct examination (P1) or direct examination

and BCID2 result (P2), was 26.0% (13/50) in P1 vs. 61.4% (35/57) in P2 ( $P < .001$ ). If only considering the episodes in which the empirical treatment was not appropriate, the proportion of switches to the MAT after the transmission of the results of direct examination was 50% (13/26) in P1 vs. 87.5% (35/40) in P2 ( $P < .001$ ). The survival curves corresponding to the proportions of non-appropriate treatments along time were not significantly different but the log-rank test tended to significance ( $P = .10$ ) (figure 5a). For mono-microbial blood cultures with Gram-positive bacteria, the proportion of switches to the MAT after the transmission of the results of direct examination (P1) or DE and BCID2 Panel result (P2) was 33.0% (13/39) in P1 vs. 64.4% (29/45) in P2 ( $P < .01$ ). If only considering the episodes in which the empirical treatment was not appropriate, the proportion of switches to the MAT after the transmission of the results of direct examination was 40.6% (13/32) in P1 vs. 90.6% (29/32) in P2 ( $P < .001$ ). Contrarily to mono-microbial positive blood cultures with Gram-negative bacteria, the survival curves for Gram-positive bacteria were significantly different ( $P = .04$ ) (figure 5b).

It is noteworthy that BCID2 Panel allowed an early treatment change for the patients for whom CTX-M or *mecA/C* markers have been identified.

If considering that the results of BCID2 are concomitant with direct microscopic examination, and if only considering the episodes in which the empirical treatment was not appropriate, the proportion of MAT after direct examination was significantly higher in P2 than in P1 when the blood culture had been sampled in the emergency room (91.3% (21/23) vs; 42.1% (8/19),  $P < .001$ ) or in medical wards (93.1% (27/29) vs. 52.9% (18/34),  $P < .001$ ). Conversely, the difference was not significant in intensive-care units (93.3% (14/15) in P2 vs. 80% 4/5 in P1) but the number of included patients was low.

## 4. Discussion

In this study, we demonstrated that using BioFire BCID2 Panel concurrently to direct microscopic examination for positive blood cultures had a significant impact for timely administration of appropriate antibiotics, which has been well documented as a strong predictor of sepsis survival [15].

The diagnostic accuracy of BCID2 Panel has been demonstrated in several studies [16-19], According to Sparks et al. [17], BCID2 Panel identified micro-organisms in 92,9% of blood cultures where mono-microbial growth was detected. Other authors recorded a percent agreement at 97% for BCID2 Panel [16]. On the basis of 180 positive blood cultures, Berinson et al. [13] recorded an 88.3% concordance of BCID2 Panel results with culture. The concordance was higher when only considering samples growing mono-bacterial. In the present study, the percent agreement between BCID2 Panel and culture was close to these results. Like these studies, MRSA and ESBL-PE were detected by BCID2 Panel with the *mecA/C* and *MREJ* and the ESBL-PE markers. These detections allowed a decrease of the turnaround time from blood culture collection to the time of implementation of accurate antimicrobial therapy.

Other systems or techniques can be used for reducing the turnaround time for identification. Mitchell and Alby [20] recently assessed the interest of both the Vitek MS® and Bruker Biotype ® MALDI-TOF mass spectrometers to identify bacteria from positive blood culture vial after only 4 h of growth on agar media compared identification from overnight growth using the Vitek MS®. They also tested AST after this limited growth compared to overnight growth. Concerning bacterial identifications, agreements were 84% for the Vitek MS® and 88% for the Bruker Biotype®. Concerning rapid AST, the categorical agreement was 99.1%. Other authors [21] assessed the utility of performing directly

identifications and AST from a positive blood culture with a single form of Gram-negative bacteria after a treatment consisting in successive centrifugations and settlings. However, this method seems to require more extended hands-on-time. Certain systems like Accelerate Pheno® have good performance in reducing significantly the turnaround time for positive blood culture identification and AST [19,22]. Indeed, bacterial identifications are available in 90min and AST results are available in approximately 7 h with only few minutes of hands-on-time. A recent review [23] of performance of Accelerate Pheno® reported an overall diagnostic accuracy for identification ranging from 87.9% to 100% and an AST categorical agreement higher than 91%. Concerning antimicrobial resistance patterns, the interest of this system as compared to BCID2 Panel is identifying all resistances to third-generation cephalosporins including unrepressed cephalosporinases that could be produced by certain Enterobacteriaceae or *Pseudomonas aeruginosa* [24]. Concurrently, other systems providing rapid results of blood culture identification and AST like Reveal rapid AST and QuantaMatrix QMAC-dRAST have been developed and demonstrated good performances [25, 26].

For choosing between these different systems and methods, it seems relevant to assess their effectiveness in terms of antimicrobial therapy improvement. Few studies reported the impact of BioFire BCID2 Panel in reducing the time for accurate antimicrobial therapy. A recent retrospective study [14] comparing BCID and BCID2 Panels demonstrated that the median time to optimal therapy and the median time to de-escalation were significantly shortened with BCID2 Panel. However, this study was designed on the basis of simulations and not on the basis of real life. In our study, the large majority of antimicrobial therapies were considered as accurate as soon as bacterial identification and therefore before obtaining the AST results. Therefore, according to our results, by reducing the turnaround time from the time of direct examination to organism identification, BCID2 Panel has an interesting impact on the timely administration of appropriate antibiotics. This impact has

been recorded for Gam-negative bacteria and for Gram-positive bacteria isolated from mono-microbial positive blood cultures. Interestingly, BCID2 Panel has an impact on sepsis identified in patients hospitalized in medical wards and emergency rooms. As the number of patients hospitalized in intensive care units and included in the study was low, it was not possible to conclude about the impact of the BCID Panel on the sepsis identified in such wards. A recent study [27] demonstrated that using BCID Panel in the intensive care unit setting allowed for modification of empirical antimicrobial therapy to more appropriate agents in 32% of patients.

Our study presents several limits. First, it was conducted in only one centre and was not randomized. In addition, the two periods were not exactly similar because the first period mainly took place in autumn, whereas the second mainly took place in winter. Another limit was the size of the population of blood cultures included in the study, which was not powered enough to allow certain sub-population analyses, especially patients hospitalized in intensive care units. The exact hours of appropriate antimicrobial treatments were not recorded. Therefore, the determination of the time necessary for the appropriate prescription was only estimated according to the time of direct examination, identification and AST.

Performance of BioFire BCID2 Panel had already been highlighted by several reports. The interest of the present study is to assess this system in terms of prompt antimicrobial therapy, particularly outside the intensive care setting. Future studies should address more specifically the utility of a prompt identification of Gram-positive cocci recovered from blood cultures sampled in the emergency rooms. Indeed, differentiating *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci could be interesting for an anticipated patient discharge or for recalling a patient already discharged to home. Lastly, because of the high proportion of

appropriate treatments before obtaining the AST results, it could be interesting to compare the interest of BCID2 with more costly systems that allow the transmission of AST results within 7 h following the detection of a positive blood culture.

## **Financial disclosure**

BioMérieux Company provided BIOFIRE BCID2® kits used during the second period of the study.

## **References**

- [1] Peri AM, Stewart A, Hume A, Irwin A, Harris PNA. New microbiological techniques for the diagnosis of bacterial infections and sepsis in ICU including point of care. *Curr Infect Dis Rep* 2021;23:12.
- [2] Humphries R, Di Martino T. Effective implementation of the Accelerate Pheno TM system for positive blood cultures. *J Antimicrob Chemother* 2019;74:i40-3.
- [3] Loonen AJM, Wolffs PFG, Bruggeman CA, van den Brule AJC. Developments for improved diagnosis of bacterial bloodstream infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2014;33:1687-702.
- [4] Bearman GMI, Wenzel RP. Bacteremias: a leading cause of death. *Arch Intern Med* 2005;36:646-59.
- [5] Kang CI, Kim SH, Park WB, Lee KD, Kim HB, Kim EC, et al. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant Gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy and outcome. *Antimicrob Agents Chemother* 2005;49:760-6.
- [6] Eveillard M, Lemarié C, Cottin J, Hitoto H, Mahaza C, Kempf M, et al. Assessment of the usefulness of performing bacterial identification and

antimicrobial susceptibility testing 24 h a day in a clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2010;16:1084-9.

[7] Pailhoriès H, Lemarié C, Kouatchet A, Lasocki S, Sargentini C, Kempf M, et al. The impact of performing bacterial identifications and antimicrobial susceptibility testing on bronchoalveolar fluid cultures 24 h a day in a microbiology laboratory. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2014;80:216-21.

[8] Timbrook TT, Morton JB, McConeghy KW, Caffrey AR, Mylonakis E, LaPlante KL. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2017;64:15-23.

[9] Peker N, Couto N, Sinha B, Rossen JW. Diagnosis of bloodstream infections from positive blood cultures and directly from blood samples: recent developments in molecular approaches. *Clin Microbiol Infect* 2018;24:944-55.

[10] Tansaril GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire ® FilmArray ® meningitis / encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2020;26:281-90.

[11] Maataoui N, Chemali L, Patrier J, Tran Dinh A, Le Fevre L, Lortat-Jacob B, et al. Impact of rapid multiplex PCR on management of antibiotic therapy in COVID-19-positive patients hospitalized in intensive-care unit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2021;40:2227-34.

[12] Holma T, Torvikoski J, Friberg N, Nevalainen A, Tarkka E, Antikainen J, et al. Rapid molecular detection of pathogenic microorganisms and antimicrobial resistance markers in blood cultures: evaluation and utility of the next-generation FilmArray blood culture identification 2 panel. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2022;41:363-71.

[13] Berinson B, Both A, Berneking L, Christner M, Lütgehetmann M, Aepfelbacher M, et al. Usefulness of BioFire FilmArray BCID2 for blood culture processing in clinical practice. *J Clin Microbiol* 2021;59:e0054321.

[14] Kanda N, Hashimoto H, Suzuki T, Nakamura K. Performance of the new FilmArray blood culture identification 2 panel and its potential impact on clinical use in patients with Gram-negative bacteremia. *J Infect Chemother* 2022;28:1037-40.

- [15] Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34:1589-96.
- [16] Graff KE, Palmer C, Anarestani T, Velasquez D, Hamilton S, Pretty K, et al. Clinical impact of the expanded BioFire Blood Culture Identification 2 panel in a U.S. children's hospital. *Microbiol Spectr* 2021;9:00042921.
- [17] Sparks R, Balgahom R, Janto C, Polkinghorne A, Bradley J. Evaluation of the BioFire Blood Culture Identification 2 panel and impact on patient management and antimicrobial stewardship. *Pathology* 2021;53:889-95.
- [18] Cortazzo V, D'Inzeo T, Giordano L, Menchinelli G, Liotti FM, Fiori B, et al. Comparing BioFire FilmArray BCID2 and BCID panels for direct detection of bacterial pathogens and antimicrobial genes from positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2021;19:e03163-20.
- [19] Sze DTT, Lau CCY, Chan TM, Ma ESK, Tang BSF. Comparison of novel rapid diagnosis of blood culture identification and antimicrobial susceptibility testing by Accelerate Pheno system and BioFire FilmArray Blood Culture Identification 2 panels. *BMC Microbiol* 2021;18:350.
- [20] Mitchell SL, Alby K. Performance of microbial identification by MALDI-TOF MS and susceptibility testing by VITEK 2 from positive blood cultures after minimal incubation on Solid media. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017;36:2201-6.
- [21] Wen H, Xie S, Liang Y, Liu Y, Wei H, Sun Q, et al. Direct identification, antimicrobial susceptibility testing, and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase and carbapenemase detection in Gram-negative bacteria isolated from blood cultures. *Infect Drug Resist* 2022;15:1587-99.
- [22] Ullberg M, Özenci V. Identification and antimicrobial susceptibility testing of Gram-positive and Gram-negative bacteria from positive blood cultures using the Accelerate Pheno <sup>TM</sup> system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2020;39:139-49.
- [23] Cenci E, Paggi R, De Socio GV, Bozza S, Camilloni B, Pietrella D, et al. Accelerate Pheno <sup>TM</sup> blood culture detection system: a literature review. *Future Microbiol* 2020;15:1595-605.

- [24] Pantel A, Monier J, Lavigne JP. Performance of the Accelerate Pheno <sup>TM</sup> system for identification and antimicrobial susceptibility testing of a panel of multidrug-resistant Gram-negative bacilli directly from positive blood cultures. *J Antimicrob Chemother* 2018;73:1546-52.
- [25] Rosselin M, Prod'homme G, Greub G, Croxatto A. Performance evaluation of the Quantamatrix QMAC-dRAST system for rapid antibiotic susceptibility testing directly from blood cultures. *Microorganisms* 2022;10:1212. doi/10.3390/microorganisms10061212.
- [26] Tibbets R, George S, Burwell R, Rajeev L, Rhodes PA, Singh P, et al. Performance of the Reveal rapid antibiotic susceptibility testing system on Gram-negative blood cultures at a large urban hospital. *J Clin Microbiol* 2022;60. doi/10.1128/jcm.00098-22.
- [27] Rule R, Paruk F, Becker P, Neuheff M, Chausse J, Said M. Clinical utility of the Biofire FilmArray Blood Culture Identification panel in the adjustment of empiric antimicrobial therapy in the critically ill septic patient. *PLoS One* 2021;16:e0254389.

## **Author contribution statement**

AD: data collection, data analysis and article writing

RM: study design, data analysis and article reviewing

CD: data collection

RC: data collection and article reviewing

CL: data collection and article reviewing

HP: data collection and article reviewing

JR: study design

MK: data collection and article reviewing

ME: study design, data collection, data analysis and article writing

## **Figure legends**

Figure 1: Study design

Figure 2: Recording the time elapsed from Gram-stain examination to identification, antimicrobial susceptibility testing and antimicrobial prescription.

Figure 3: Distribution of bacteria identified after subculture onto blood agar plates

Figure 4: Turnaround times from Gram-stain examination to identification

Figure 5a: Evolution of the proportion of non-appropriate treatments along time in the two periods (mono-microbial Gram-negative bacilli)

Figure 5b: Evolution of the proportion of non-appropriate treatments along time in the two periods (mono-microbial Gram-positive bacteria).

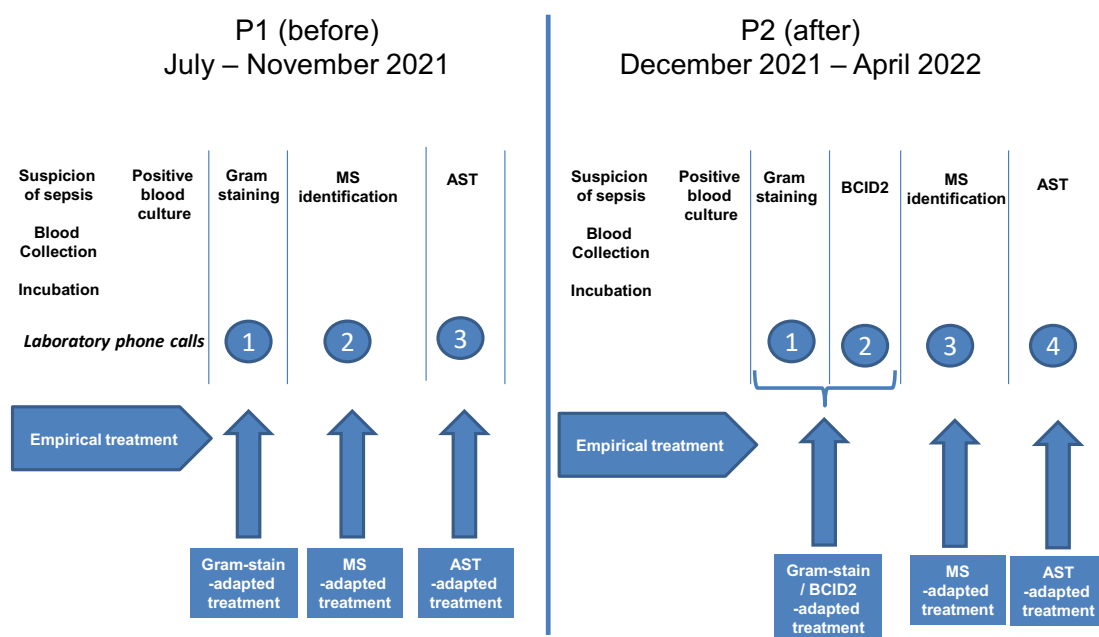
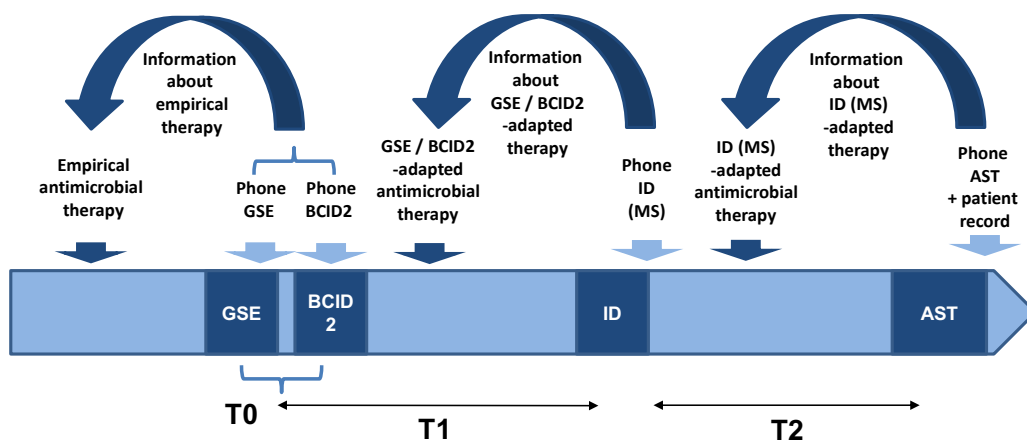


Figure 1: study design



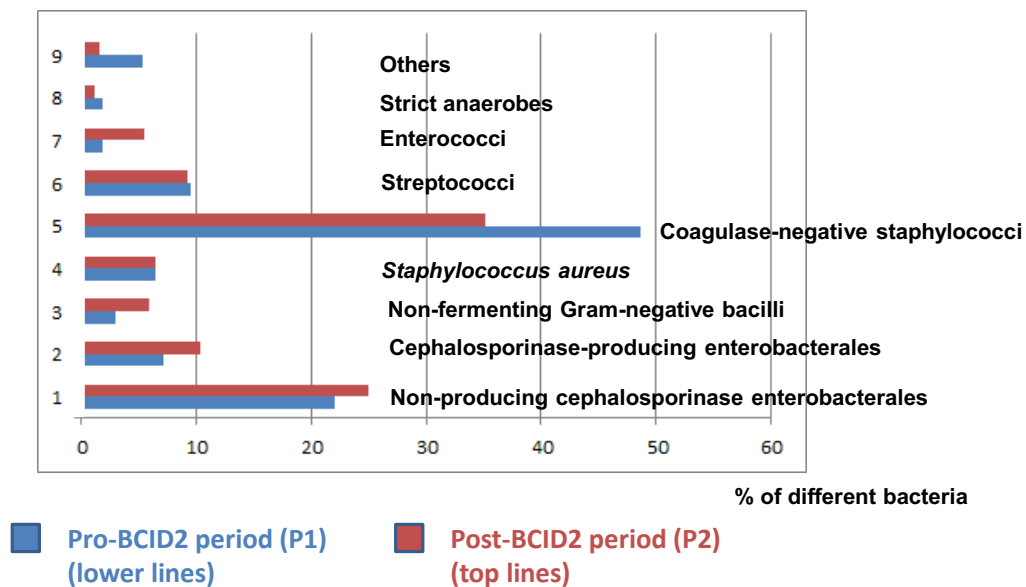
GSE: Gram-stain examination

ID: identification (Mass spectrometry : MS)

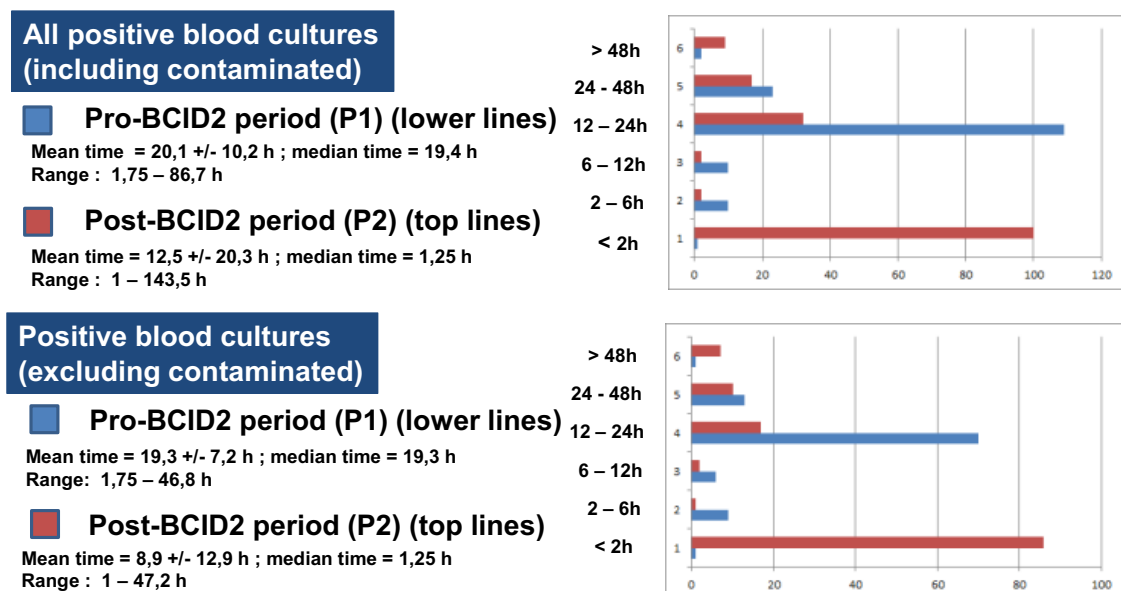
AST: antimicrobial susceptibility testing

T0: time of GSE, beginning for recording the time elapsed for BCID2 (theoretically < 2h), ID / MS, AST and the prescription of the most appropriate treatment as defined for the study

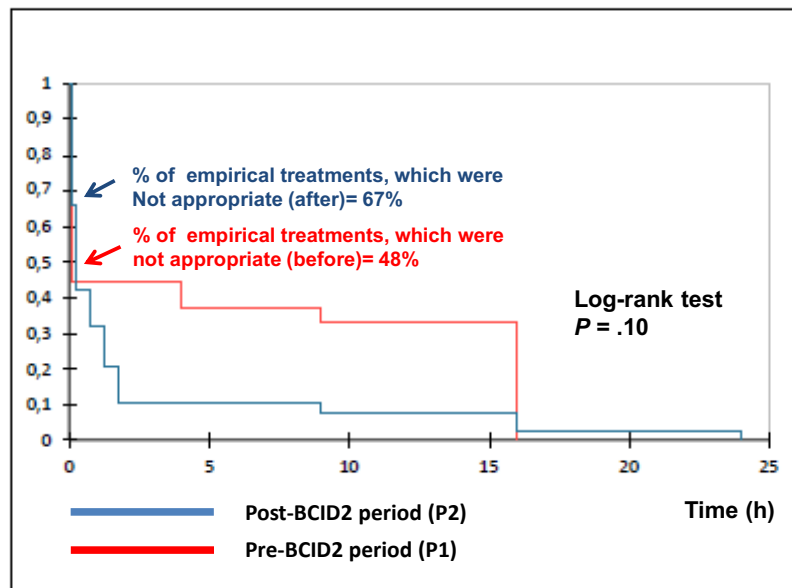
Figure 2: recording the time elapsed from Gram-stain examination to identification, antimicrobial susceptibility testing and antimicrobial prescriptions



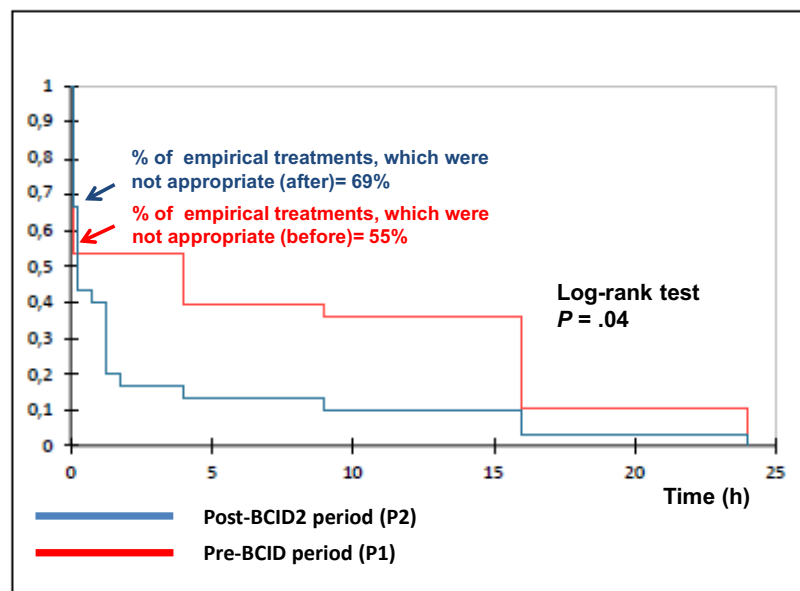
**Figure 3: Distribution of bacteria identified after subculture onto blood agar plates**



**Figure 4: Turnaround times from Gram-stain examination to identification**



**Figure 5a: Evolution of the proportion of non-appropriate treatments along time in the two periods (mono-microbial Gram-negative bacilli)**



**Figure 5b: Evolution of the proportion of non-appropriate treatments along time in the two periods (mono-microbial Gram-positive bacteria)**

## CONCLUSION GENERALE

Ces méthodes de diagnostic rapide ont montré leur impact en pratique clinique, surtout lorsque les conditions pour leur utilisation optimale sont réunies. Cependant, à l'heure actuelle, ces techniques ne permettent pas encore de remplacer la culture et l'étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques. Il reste donc encore difficile de proposer une interprétation de la sensibilité aux antibiotiques à partir d'un profil génotypique.

Plusieurs méthodes prometteuses sont en développement comme les méthodes de test accéléré de la sensibilité aux antibiotiques sur hémocultures positives. D'après les travaux récents sur le délai d'adaptation de l'antibiothérapie dans les bactériémies (18), la prochaine grande étape pourrait être de se passer du délai d'enrichissement en flacon.

Les études devront également jouer leur rôle pour statuer sur l'efficacité de toutes ces nouvelles technologies. Parallèlement, concernant l'impact pour l'évolution du patient, le peu de données disponibles et les données contradictoires présentées, rendent nécessaire la réalisation d'études supplémentaires (3).

Les avancées récentes ont changé la manière d'envisager la microbiologie : l'identification par spectrométrie de masse, la robotisation de l'ensemencement, l'incubation et l'arrivée de la biologie moléculaire. Le séquençage à haut débit et l'intelligence artificielle pourraient encore faire évoluer cette discipline et en particulier la prise en charge des bactériémies dans un futur proche.

## Références

1. Halperin AV, del Castillo Polo JA, Cortes-Cuevas JL, Cardenas Isasi MJ, Ampuero Morisaki M, Birch R, et al. Impact of automated blood culture systems on the management of bloodstream infections: results from a crossover diagnostic clinical trial. Vignoli R, éditeur. Microbiol Spectr 2022; e01436-22.
2. Seng P, Drancourt M, Gourié F, La Scola B, Fournier P, Rolain JM, et al. Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. Clin Infect Dis 2009; 49: 543-51.
3. She RC, Bender JM. Advances in rapid molecular blood culture diagnostics: healthcare impact, laboratory implications, and multiplex technologies. J Appl Lab Med 2019; 3: 617-30.
4. Eubank TA, Long SW, Perez KK. Role of rapid diagnostics in diagnosis and management of patients with sepsis. J Infect Dis 2020;222 (Supplement\_2): S103-9.
5. Özenci V, Rossolini GM. Rapid microbial identification and antimicrobial susceptibility testing to drive better patient care: an evolving scenario. J Antimicrob Chemother 2019; 74 (Supplement\_1): i2-5.
6. Evans L, Rhodes A, Alhazzani W, Antonelli M, Coopersmith CM, French C, et al. Surviving Sepsis Campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock 2021. Crit Care Med 2021; 49: e1063-143.
7. Sullivan KV, Dien Bard J. New and novel rapid diagnostics that are impacting infection prevention and antimicrobial stewardship: Current Opin Infect Dis 2019; 32: 356-64.
8. Timsit JF, Ruppé E, Barbier F, Tabah A, Bassetti M. Bloodstream infections in critically ill patients: an expert statement. Intensive Care Med 2020; 46: 266-84.
9. Dupuis C, Bouadma L, Ruckly S, Perozziello A, Van-Gysel D, Mageau A, et al. Sepsis and septic shock in France: incidences, outcomes and costs of care. Ann Intensive Care 2020;

10:145.

10. Pandolfi F, Guillemot D, Watier L, Brun-Buisson C. Trends in bacterial sepsis incidence and mortality in France between 2015 and 2019 based on National Health Data System (Système National des données de Santé (SNDS)): a retrospective observational study. *BMJ Open* 2022; 12: e058205.
11. Santella B, Folliero V, Pirofalo GM, Serretiello E, Zannella C, Moccia G, et al. Sepsis—A retrospective cohort study of bloodstream infections. *Antibiotics* 2020; 9: 851.
12. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA* 2016; 315: 801.
13. Kumar A, Roberts D, Wood KE, Light B, Parrillo JE, Sharma S, et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med* 2006; 34: 1589-96.
14. Humphries R, Di Martino T. Effective implementation of the Accelerate Pheno™ system for positive blood cultures. *J Antimicrob Chemother* 2019; 74 (Supplement\_1): i40-3.
15. Bertrand X, Costa Y, Pina P. Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies : données de l'observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA) 1998–2003. *Med Mal Infect* 2005; 35: 329-34.
16. Doualeh M, Payne M, Litton E, Raby E, Currie A. Molecular methodologies for improved polymicrobial sepsis diagnosis. *Int J Mol Sci* 2022; 23: 4484.
17. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 - 2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe 2022.
18. Van Heuverswyn J, Valik JK, van der Werff SD, Hedberg P, Giske C, Naclér P. Association between time to appropriate antimicrobial treatment and 30-day mortality in

patients with bloodstream infections: a retrospective cohort study. *Clin Infect Dis* 2022; ciac727.

19. Klein Klouwenberg PMC, Cremer OL, van Vught LA, Ong DSY, Frencken JF, Schultz MJ, et al. Likelihood of infection in patients with presumed sepsis at the time of intensive care unit admission: a cohort study. *Crit Care* 2015;19: 319.

20. Weiss E, Zahar JR, Lesprit P, Ruppe E, Leone M, Chastre J, et al. Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of  $\beta$ -lactams. *Clin Microbiol Infect* 2015; 21: 649.e1-649.e10.

21. Weiss CH, Persell SD, Wunderink RG, Baker DW. Empiric antibiotic, mechanical ventilation, and central venous catheter duration as potential factors mediating the effect of a checklist prompting intervention on mortality: an exploratory analysis. *BMC Health Serv Res* 2012; 12: 198.

22. Giavarina D, Lippi G. Blood venous sample collection: Recommendations overview and a checklist to improve quality. *Clin Biochem* 2017; 50: 568-73.

23. Simundic AM, Bölenius K, Cadamuro J, Church S, Cornes MP, van Dongen-Lases EC, et al. Joint EFLM-COLABIOCLI Recommendation for venous blood sampling. *Clin Chem Lab Med* 2018; 56: 2015-38.

24. Scheer CS, Fuchs C, Gründling M, Vollmer M, Bast J, Bohnert JA, et al. Impact of antibiotic administration on blood culture positivity at the beginning of sepsis: a prospective clinical cohort study. *Clin Microbiol Infect* 2019; 25: 326-31.

25. Fihman V, Faury H, Moussafeur A, Huguet R, Galy A, Gallien S, et al. Blood Cultures for the Diagnosis of Infective Endocarditis: What Is the Benefit of Prolonged Incubation? *J Clinical Microbiol* 2021; 10: 5824.

26. Eveillard M, Lemarié C, Cottin J, Hitoto H, Mahaza C, Kempf M, et al. Assessment of the usefulness of performing bacterial identification and antimicrobial susceptibility testing 24 h a

- day in a clinical microbiology laboratory. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 1084-9.
27. Briggs N, Campbell S, Gupta S. Advances in rapid diagnostics for bloodstream infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2021; 99: 115219.
28. Jacobs MR, Colson JD, Rhoads DD. Recent advances in rapid antimicrobial susceptibility testing systems. *Exp Rev Mol Diagn* 2021; 21: 563-78.
29. Lim SH, Mix S, Xu Z, Taba B, Budvytiene I, Berliner AN, et al. Colorimetric sensor array allows fast detection and simultaneous identification of sepsis-causing bacteria in spiked blood culture *J Clin Microbiol* 2014; 52: 592-8.
30. Pesesky MW, Hussain T, Wallace M, Patel S, Andleeb S, Burnham CAD, et al. Evaluation of machine learning and rules-based approaches for predicting antimicrobial resistance profiles in Gram-negative bacilli from whole genome sequence data. *Front Microbiol* 2016. doi: 10.3389/fmicb.2016.01887/full
31. Nguyen M, Long SW, McDermott PF, Olsen RJ, Olson R, Stevens RL, et al. Using machine learning to predict antimicrobial MICs and associated genomic features for nontyphoidal *Salmonella*. *J Clin Microbiol* 2019; 57: e01260-18.
32. Cendejas-Bueno E, Romero-Gomez MP, Mingorance J. The challenge of molecular diagnosis of bloodstream infections. *World J Microbiol Biotechnol* 2019; 35: 65.

## **Table des tableaux**

**Tableau 1** : Définitions du sepsis et du choc septique revues en 2016

## Annexe 1 – Récapitulatif des cibles de chaque panel

GRAM POSITIF	Verigene BC-GP®	FilmArray BCID2®	ePLEX BC-GP®	iCubate®	Unyvero BC®	Accelerate-Pheno®	T2Biosystem
<i>Staphylococcus aureus</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	X	X	X	X			
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	X	X	X			X	
<i>Staphylococcus spp.</i>	X	X	X		X	X	
<i>Streptococcus pyogenes</i>	X	X	X		X		
<i>Streptococcus agalactiae</i>	X	X	X		X		
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	X	X	X	X	X		
<i>Streptococcus anginosus group</i>	X		X				
<i>Streptococcus spp.</i>	X	X	X		X	X	
<i>Enterococcus faecalis</i>	X	X	X	X	X	X	
<i>Enterococcus faecium</i>	X	X	X	X		X	X
<i>Enterococcus spp</i>			X		X		
<i>Listeria monocytogenes</i>		X	X		X		
<i>Listeria spp.</i>	X		X				
<i>Bacillus cereus group</i>			X				
<i>Bacillus subtilis group</i>			X				
<i>Corynebacterium spp.</i>			X		X		
<i>Cutibacterium acnes</i>			X		X		
<i>Lactobacillus</i>			X				
<i>Micrococcus</i>	X		X				
Pan Gram-Négatif et Pan-Candida			x				

GRAM NEGATF	Verigene BC-GN®	FilmArray BCID2®	ePLEX BC-GN®	iCubate®	Unyvero BC®	Accelerate-Pheno®	T2Biosystem
<i>A. baumannii</i> complex		X	X	X	X	X	
<i>Acinetobacter</i> spp.	X						
<i>Haemophilus influenzae</i>		X	X		X		
<i>Neisseria meningitidis</i>		X	X		X		
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Citrobacter sakazakii</i>			X				
<i>Citrobacter</i> spp.	X		X		X	X	
<i>Enterobacter cloacae</i> complex		X	X	X	X		
<i>Enterobacter</i> spp.	X		X			X	
<i>Escherichia coli</i>	X	X	X	X	X	X	X
<i>Klebsiella aerogenes</i>		X		X	X		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	X	X	X	X	X		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	X		X		X		X
<i>Klebsiella variicola</i>					X		
<i>Klebsiella</i> sp.						X	
<i>Morganella morganii</i>			X				
<i>Proteus mirabilis</i>			X				
<i>Proteus</i> spp.	X	X	X	X		X	
<i>Salmonella</i> spp.		X	X				
<i>Serratia marcescens</i>	X	X	X	X	X	X	
<i>Serratia</i> spp.			X				
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		X	X		X		
<i>Enterobacteriaceae</i>		X					
<i>Bacteroides fragilis</i>		X	X				

GRAM NEGATF (suite)	Verigene BC-GN®	FilmArray BCID2®	ePLEX BC-GN®	iCubate®	Unyvero BC®	Accelerate- Pheno®	T2Biosystem
<i>Fusobacterium necrophorum</i>			X				
<i>Fusobacterium nucleatum</i>			X				
Pan Gram-positif et Pan-Candida			X				

GENES DE RESISTANCE	Verigene BC®	FilmArray BCID2®	ePLEX BC®	iCubate®	Unyvero BC®
mecA	X		X	X	X
mecC			X		X
mecA/C		X			
mecA/C et MREJ		X			
vanA	X		X	X	X
vanB	X		X	X	X
Van A/B		X			
CTX-M	X	X	X	X	X
KPC	X	X	X	X	X
NDM	X	X	X	X	X
VIM	X	X	X		
IMP	X	X	X		X
OXA	X	X	X		
mrc-1		X			
ermA					X
aac(6')/aph(2'')					
aacA4					

FUNGI	FilmArray BCID2®	ePLEX BC-FP®	Unyvero BC®	Accelerate-Pheno®
<i>Candida albicans</i>	X	X	X	X
<i>Candida auris</i>	X	X		
<i>Candida dubliniensis</i>		X	X	
<i>Candida famata</i>		X		
<i>Candida glabrata</i>	X	X	X	X
<i>Candida guilliermondii</i>		X		
<i>Candida keyfr</i>		X		
<i>Candida krusei</i>	X	X	X	
<i>Candida lusitanae</i>		X		
<i>Candida parapsilosis</i>	X	X	X	
<i>Candida tropicalis</i>	X	X	X	
<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	X			
<i>Cryptococcus gattii</i>		X		
<i>Cryptococcus neoformans</i>		X		
<i>Rhodotorula</i>		X		
<i>Pan Candida</i>		X	X	
<i>Fusarium</i>		X		
<i>Aspergillus spp.</i>			X	



## **Mise au point sur les méthodes de diagnostic rapide dans les bactériémies : Intérêt dans la pratique**

### **RÉSUMÉ**

Les bactériémies sont des infections graves qui peuvent rapidement mettre en jeu le pronostic vital. Elles nécessitent un diagnostic, une documentation microbiologique et une prise en charge rapide. A ce titre, les méthodes de diagnostic en microbiologie sont en constante évolution et des méthodes de diagnostic rapide ont été développées. L'objectif principal de ce travail a été de réaliser une revue récente de la littérature sur les méthodes de diagnostic rapide des bactériémies et d'évaluer l'intérêt de leur utilisation dans la pratique. Une étude évaluant l'intérêt de la solution diagnostique BCID2® (bioMérieux) pour la réduction des délais nécessaires pour l'initiation ou l'adaptation d'une antibiothérapie dans la prise en charge des bactériémies a été présentée à titre d'illustration dans un second temps.

Ces méthodes de diagnostic rapide permettent de raccourcir le délai d'obtention de l'identification lorsque les conditions d'utilisation optimale sont respectées mais sont, pour la plupart, limitées par la nécessité de passer par une étape d'enrichissement en flacon d'hémoculture. Le panel restreint, l'absence d'exhaustivité et les problèmes de sensibilité parfois rencontrés ne permettent pas pour le moment de se passer de l'identification par les méthodes conventionnelles après culture. Finalement si la capacité de ces tests à donner une identification plus rapide et des indications sur l'adaptation du traitement est démontrée dans plusieurs études, l'effet sur le patient (durée de séjour, mortalité) reste généralement peu démontré.

Si cette technologie n'est pas parfaite à l'heure actuelle, les perspectives sont multiples : amélioration des technologies déjà commercialisées, séquençage haut-débit, intelligence artificielle, antibiogramme accéléré... Les avancées des 10 à 20 dernières années comme l'identification par spectrométrie de masse, la robotisation de l'ensemencement, l'incubation et l'arrivée de la biologie moléculaire ont changé la manière d'envisager la microbiologie. Le séquençage à haut débit et l'intelligence artificielle pourraient encore faire évoluer cette discipline et en particulier la prise en charge des bactériémies dans un futur proche.

**Mots-clés : Bactériémie, Diagnostic rapide, PCR, antibiothérapie**

## **Focus on rapid diagnostic methods in bloodstream infections : Interest in practice**

### **ABSTRACT**

Bloodstream infections are very serious and life-threatening conditions. They need to be diagnosed, microbiologically documented and treated rapidly. For this reason, microbiological diagnosis methods evolve constantly and rapid diagnosis methods have been developed. The main objective of this work was to propose a recent literature review about this method in blood stream infections in order to assess their utility in daily use. An evaluation study of the BCID2® panel (bioMérieux) at Angers University Hospital about identification delay and antimicrobial therapy stewardship delay in bloodstream infections was secondly presented.

Rapid diagnostic methods allow decreasing the time necessary for bacterial identification when optimal using conditions are gathered but for most of them, the necessity for enrichment through blood-culture is a limit. Low target number, lack of exhaustiveness and sensitivity issue sometime encountered do not allowed stopping bacterial identification by conventional methods after culture. Finally, if several studies assess the usefulness of these tests in decreasing time to identification, the effects on patient outcome (length of stay, mortality) are still sparsely established.

These tests are not perfect currently but perspectives are interesting: improvement of actual methods, next generation sequencing and artificial intelligence, accelerated susceptibility testing, ... Recent advances have already modified the panel of microbiological methods with mass spectrometry identification, robotization and molecular biology breakthrough. Next generation sequencing and artificial intelligence could potentially revolutionize microbiology and particularly the management of bloodstream infections in the future.

**Keywords : Bloodstream infection, rapid diagnosis, PCR, antibiotherapy**