

Utilisation d'un appareil de PCR en temps réel (BD MAX™) pour la détection des entéropathogènes dans un laboratoire de microbiologie

Ekaterina Melnik^{1,2}, Denis Daspremont¹, Tatiana Roy¹, Valérie Verbelen¹, Gatien Roussel¹

Use of a molecular multiplex real-time PCR system (BD MAX™) for enteric pathogens detection in microbiology laboratory

The development of molecular biology led to a new diagnostic tactic for gastrointestinal infections: a syndromic approach, which led to the development of numerous multipathogen molecular polymerase chain reaction (PCR) panels. We evaluated the BD MAX™ (BD Diagnostics, USA) system and compared the results with conventional methods used in our microbiology laboratory to determine if this approach could be implemented as a routine analysis. We also highlighted the practical advantages of a multipathogen molecular panel: reduction of the number of needed technologists needed per day to perform microbiological stool analyzes, easier stock management, and complete traceability for each clinical sample of reagents, expiry date, and user. Moreover, the the BD MAX™ system is easy to use, requires minimal training, and the bidirectional connection with the Laboratory Information System enables a more reliable encoding of the results. In some laboratories, molecular panels already replace conventional methods. Some of these panels' performances are very satisfactory and their cost are gradually becoming more affordable. Each microbiology laboratory can therefore consider the integration of a multipathogen molecular PCR panel in their routine work.

KEY WORDS

BD MAX™, diarrheal disease, enteric panels, infectious diarrhea, gastrointestinal, PCR multiplex

Devant l'essor de la biologie moléculaire, une nouvelle approche diagnostique des infections gastro-intestinales, l'approche syndromique, a vu le jour et de nombreux panels de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) multiplex ont été développés. Ce contexte nous a conduits à évaluer le système de biologie moléculaire BD MAX™ (BD Diagnostics, USA) ainsi que l'intégration d'un tel automate dans une routine de laboratoire périphérique. Les résultats obtenus avec ce système ont été comparés aux méthodes conventionnelles utilisées dans notre laboratoire de microbiologie. Nous avons évalué non seulement ses performances mais également les avantages de l'approche syndromique par biologie moléculaire en termes pratiques : diminution du nombre d'équivalents temps plein (ETP) technologie nécessaire par jour pour effectuer les analyses microbiologiques sur les selles, amélioration du temps de rendu des résultats, gestion des stocks facilitée et traçabilité complète pour chaque échantillon clinique des lots de réactifs, leur date de péremption ainsi que l'utilisateur de l'appareil, facilité d'utilisation de l'appareil BD MAX™ nécessitant peu de formation et connexion bidirectionnelle avec le *Laboratory Information System* (LIS) permettant un encodage plus fiable des résultats. Devant le faible rendement et le volume de temps important consacré au poste du diagnostic gastro-intestinal, les panels moléculaires ont déjà remplacé les méthodes conventionnelles dans certains laboratoires. Les performances analytiques de certains de ces panels sont tout-à-fait satisfaisantes et leur prix devient de plus en plus abordable. Chaque laboratoire de microbiologie peut donc envisager l'intégration d'un panel PCR multiplex dans son travail de routine.

What is already known about the topic?

Gastrointestinal infections = leading cause of health care consultations

Syndromic approach with multipathogen molecular PCR panels = very efficient but expensive

Que savons-nous à ce propos ?

Infections gastro-intestinales = motif de consultation très fréquent

Approche syndromique = très performante mais très coûteuse

What does this article teach us?

Practical advantages of the syndromic approach in a peripheral lab: turnaround time of the results, technician's time, integration in the analytical flow, and stock management

Que nous apporte cet article ?

Intégration de l'approche syndromique dans un laboratoire périphérique : temps de rendu des résultats, temps technologique, flux analytique, gestion des stocks

INTRODUCTION

Selon le Centers for Disease Control and Prevention, on dénombre chaque année aux USA 48 millions d'épisodes de gastro-entérite, 128 000 hospitalisations et 3 000 décès (en particulier chez les enfants de moins de 5 ans) [1].

La plupart de ces gastro-entérites sont d'origine virale. Les rotavirus sont responsables de plus de 50% des cas, surtout chez le nourrisson, tandis que les norovirus, souvent liés à une contamination alimentaire, surviennent à tout âge et sont source d'épidémies en collectivité. Dans une proportion bien moindre, on retrouve les adénovirus 40 et 41, les astrovirus et les sapovirus [2]. Parmi les étiologies bactériennes, *Salmonella* spp., *Shigella* spp. et *Escherichia coli* producteur de Shiga-toxines (STEC), *Campylobacter* spp. et *Yersinia enterocolitica* sont les pathogènes les plus fréquents [3]. *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. et *Entamoeba histolytica* sont les causes majeures des infections parasitaires [4] mais restent peu fréquents dans les pays industrialisés.

En bactériologie, la prescription d'une analyse de selles est justifiée devant une atteinte sévère, des signes de diarrhée inflammatoire ou dans certains contextes particuliers (immunodépression, voyage, syndrome cholériforme, hyperéosinophilie, ...). Seuls des renseignements cliniques pertinents permettent d'orienter la recherche vers des pathogènes particuliers. Actuellement, l'absence de ces renseignements cliniques fait de la coproculture l'une des analyses les moins efficaces de la bactériologie : des études ont montré un rendement diagnostique de 1.5% à 5.6% et un coût par culture positive très élevé [5].

L'utilisation des méthodes moléculaires pour la détection des entéro-pathogènes a montré une sensibilité supérieure aux méthodes conventionnelles [6-7], une réduction du temps de rendu des résultats (8) ainsi qu'une réduction globale au niveau des coûts de soins de santé [9].

OBJECTIFS

Au laboratoire de microbiologie de la Clinique Saint-Pierre Ottignies, nous avons évalué le système BD MAX™ pour la recherche moléculaire des entéro-pathogènes (bactéries, parasites et virus) par comparaison aux méthodes conventionnelles utilisées afin de déterminer la place d'un tel automate en routine, tout en mettant en évidence ses avantages mais également ses inconvénients.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

ECHANTILLONS

L'étude a été réalisée rétrospectivement sur une collection de selles molles ou liquides (n = 77) de patients adultes et pédiatriques issues de la routine, accompagnées d'une prescription de recherche de pathogènes gastro-intestinaux (coproculture, recherche virale ou parasitaire). Les techniques conventionnelles ont été réalisées au moment de la réception de l'échantillon, puis les échantillons ont été conservés à - 80°C dans un récipient stérile sans conservateur pour que les panels PCR puissent être réalisés ultérieurement et en même temps. La totalité des échantillons n'a pas été testée avec tous les panels mais une sélection a à chaque fois été réalisée pour challenger le panel de la manière la plus intéressante en fonction des résultats antérieurs obtenus par les techniques conventionnelles.

TECHNIQUES CONVENTIONNELLES

Les échantillons ont été cultivés sur des milieux de culture sélectifs pour la détection de *Salmonella* spp. (gélose XLD/ OSCM II, Thermo Fisher Scientific, USA; bouillon Rappaport Vassiliadis, E&O Laboratories, Ecosse; milieu BPLS Vert Brillant modifié, Thermo Fisher Scientific, USA), *Shigella* spp. (gélose XLD/ OSCM II, Thermo Fisher Scientific, USA),

Yersinia spp. et *Aeromonas* spp. (gélose CIN, BD Diagnostics, USA) et *Campylobacter* spp. (gélose Karmali, Thermo Fisher Scientific, USA). Les cultures ont été incubées à 35°C pendant 48h pour la détection de *Salmonella* spp. et *Shigella* spp., à 29°C pendant 48h pour *Yersinia* spp. et à 42°C pendant 48h en microaérophilie pour *Campylobacter* spp. L'identification des colonies suspectes a été réalisée par Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time Of Flight Mass Spectrometry (MALDI-TOF MS, Bruker Daltonics, Allemagne) et confirmée pour *Shigella* spp. par tests biochimiques (carte ID VITEK², bioMérieux, France).

La recherche virale a été effectuée par immunochromatographie selon les recommandations du fabricant pour la détection simultanée du Rotavirus et Adénovirus (Combi-Strip, CORIS BioConcept, Belgique). En cas de positivité du test pour l'Adénovirus, une recherche de l'Adénovirus 40/41 a été réalisée (40/41 Adeno-Strip, CORIS BioConcept, Belgique). Le Norovirus a été recherché par PCR sur le système GeneXpert[®] Dx (Xpert[®] Norovirus, Cepheid, USA).

La recherche de parasites a été effectuée par examen microscopique après concentration (DiaMondial Paraprep, Diagnostic Mondial Laboratories, Autriche) et par immunochromatographie pour la détection de *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. (GIARDIA/CRYPTOSPORIDIUM QUIK CHEK[™], TechLab, USA).

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE PAR BD MAX[™]

Le système BD MAX[™] (BD Diagnostics, USA) est un appareil de diagnostic *in vitro* automatisé de PCR en temps réel proposant 4 panels pour la recherche d'entéropathogènes :

- « Extended Enteric Bacterial Panel » (EEBP) utilisé conjointement au « Enteric Bacterial Panel » (EBP) et détectant 8 cibles : *Salmonella* spp., *Shigella* spp./*E. coli* entéro-invasif (EIEC), *Campylobacter* spp. (*C. jejuni* et *C. coli*), gènes de Shiga-toxines (*stx1* et *stx2*), *Yersinia enterocolitica*, *E. coli* entéro-toxinogène (ETEC), *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus*) et *Plesiomonas shigelloides*.
- « Enteric Parasite Panel » (EPP) détectant 3 cibles : *Giardia intestinalis*, *Cryptosporidium* spp. (*C. parvum* et *C. hominis*) et *Entamoeba histolytica*.
- « Enteric Viral Panel » (EVP) détectant 5 cibles : Norovirus (GI et GII), Rotavirus A, Adénovirus F40/41, Sapovirus (génogroupes I, II, IV, V) et Astrovirus humain.

Pour chaque échantillon, 10 µL de selles ont été prélevés via une oëse calibrée et déchargés en faisant tourner cette dernière dans un BD MAX[™] Sample Buffer Tube

(SBT). Pour EPP, le SBT a ensuite subi une lyse thermique sur le BD Pre-warm Heater. Les SBT sont ensuite chargés sur le rack (pouvant contenir jusqu'à 12 échantillons) ainsi que les barrettes réactives contenant les différents consommables nécessaires. L'automate réalise la lyse et l'extraction pour transférer ensuite l'échantillon extrait dans une (pour EPP) ou deux (pour EEBP et EVP) des 24 chambres de la cassette PCR. L'appareil peut accueillir deux racks indépendants (pour un maximum de 24 échantillons traités simultanément) et deux cassettes PCR (48 chambres d'amplification)

En cas de résultat invalide, un nouveau test a été réalisé sur le BD MAX[™] à partir de l'échantillon de départ.

Interprétation des résultats et gestion des discordances. Les résultats de 34 EEBP, 30 EPP et 18 EVP ont été comparés aux résultats obtenus par les méthodes conventionnelles utilisées dans notre laboratoire.

En cas de discordance, une autre méthode moléculaire a été réalisée : DiagCORE[®] Gastrointestinal Panel v2 sur l'appareil QIAstat-Dx[®] (QIAGEN, Hilden, Allemagne). Le résultat final retenu a été celui confirmé par au moins deux techniques.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

EXTENDED ENTERIC BACTERIAL PANEL (TABLEAU 1)

Tous les pathogènes cultivés en routine ont été détectés par le BD MAX[™]. Dans 5 panels sur 34 (15%), nous avons observé une détection supplémentaire de *Campylobacter* spp. (n=1), *Shigella* spp./EIEC (n=3), *Vibrio* spp. (n=1), *Plesiomonas shigelloides* (n=1) et ETEC (n=3). Ces échantillons ont été analysés par le QIAstat-Dx[®] et le résultat final retenu a été celui confirmé par au moins deux techniques.

Après traitement des discordances, on obtient un taux de concordance de 100% (tous les pathogènes retrouvés par le BD MAX[™] ont été confirmés par le QIAstat-Dx[®]).

Aucun résultat invalide ne fut observé.

ENTERIC PARASITE PANEL (TABLEAU 2)

Sur les 30 échantillons, nous avons observé une concordance de 100% avec les résultats de la routine (microscopie et/ou test immunochromatographique) sans détection supplémentaire de parasites. 3 résultats invalides ont été observés (10%) pour lesquels un rerun a été effectué et a permis d'obtenir un résultat final.

TABLEAU 1. Résultats des BD MAX™ Enteric Bacterial Panels utilisés conjointement aux Extended Enteric Bacterial Panels.

Enteric Bacterial Panel	<i>Salmonella</i> spp.		<i>Campylobacter</i> spp.		<i>Shigella</i> spp./EIEC		
	BD MAX		BD MAX		BD MAX		
	+	-	+	-	+	-	
Culture	+	9	0	6	0	5	0
	-	0	25	1	27	3	26
Extended Enteric Bacterial Panel	<i>P. shigelloides</i>		<i>Vibrio</i> spp.		<i>Y. enterocolitica</i>		
	BD MAX		BD MAX		BD MAX		
	+	-	+	-	+	-	
Culture	+	0	0	0	0	2	0
	-	1	0	1	0	0	32

Détection supplémentaire	ETEC
	BD MAX
	3

TABLEAU 2. Résultats des BD MAX™ Enteric Parasite Panels.

Enteric Parasite Panel	<i>G. lamblia</i>		<i>Cryptosporidium</i> spp.		<i>E. histolytica</i>		
	BD MAX		BD MAX		BD MAX		
	+	-	+	-	+	-	
Routine	+	12	0	1	0	0	0
	-	0	18	0	29	0	30

ENTERIC VIRAL PANEL (TABLEAU 3)

Tous les virus détectés en routine ont bien été identifiés par le BD MAX™. Une détection supplémentaire de Sapovirus (n=3) et d'Astrovirus (n=1) a été confirmée par le QIAstat. 1 seule discordance a été observée entre les 2 méthodes

moléculaires (échantillon négatif en routine, Sapovirus et Astrovirus détectés par BD MAX™, et Astrovirus seul détecté par QIAstat-Dx®. Aucun résultat invalide ne fut observé.

TABLEAU 3. Résultats des BD MAX™ Enteric Viral Panels.

Enteric Viral Panel	Norovirus		Rotavirus		Adénovirus 40/41		
	BD MAX		BD MAX		BD MAX		
	+	-	+	-	+	-	
Routine	+	4	0	1	0	1	0
	-	0	0	0	10	0	11

Détection supplémentaire	Sapovirus	Astrovirus
	BD MAX	BD MAX
	3	1

ASPECTS PRATIQUES

1.5 ETP technologique sont nécessaires par jour dans notre laboratoire pour effectuer les analyses microbiologiques sur les selles avec les méthodes conventionnelles. 0.5 ETP technologique par jour a été suffisant pour réaliser les panels PCR.

Les méthodes conventionnelles permettent un temps de rendu des résultats de 48 à 96h pour la culture bactérienne, 1h pour les tests antigéniques viraux et 24h pour la recherche parasitaire. L'utilisation des panels PCR permettrait un temps de rendu des résultats de 12h pour un travail par batch et de 2h pour un travail au test par test.

Cinq milieux de culture, 3 tests antigéniques et 1 test PCR sont utilisés en routine et nécessitent une gestion des stocks conséquente. 3 panels PCR peuvent remplacer ces méthodes conventionnelles avec une traçabilité complète pour chaque échantillon clinique des lots de réactifs, leur date de péremption ainsi que l'utilisateur de l'appareil.

La facilité d'utilisation de l'appareil BD MAX™ (moyenne du temps de manipulations = 4 minutes/échantillon) permet également de diminuer le temps de formation nécessaire au technologue.

Cependant, les techniques conventionnelles de culture bactérienne et de recherche microscopique de parasites ne peuvent être complètement abandonnées car elles permettent, si nécessaire, la confirmation de résultats positifs, la réalisation d'un antibiogramme et une recherche plus étendue.

Une connexion bidirectionnelle avec le LIS est possible, permettant ainsi un gain de temps pour l'encodage des résultats, une absence d'erreur de retranscription des résultats et une traçabilité complète des réactifs.

En 2019, notre laboratoire a effectué 577 recherches virales, 4462 coprocultures et 4304 recherches de parasites intestinaux. Le coût des réactifs nécessaires (hors prix de l'automate et des maintenances) pour la réalisation de ces analyses par les panels entériques sur le BD MAX™ aurait été 3 fois supérieur au coût des réactifs des méthodes conventionnelles.

Le tableau 4 résume les avantages et les inconvénients des méthodes conventionnelles et du BD MAX™.

TABEAU 4 : Avantages et inconvénients des méthodes conventionnelles de détection d'entéropathogènes et du BD MAX

	Méthodes conventionnelles	BD MAX
Avantages	<p><u>Culture bactérienne :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - méthode de référence - très spécifique <p><u>Tests immunochromatographiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - rapidité du résultat - facilité d'utilisation <p><u>Microscopie pour recherche de parasites :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - identification d'un éventail plus large de parasites 	<ul style="list-style-type: none"> - temps de rendu des résultats réduit - sensibilité accrue - temps-technologie réduit - facilité d'utilisation - intégration à la routine - peu de volume d'échantillon nécessaire - gestion des stocks simplifiée
Inconvénients	<p><u>Culture bactérienne :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - temps de rendu des résultats long (jusque 96h) - chronophage - gestion des stocks fastidieuse <p><u>Tests immunochromatographiques :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - performances inférieures à la biologie moléculaire - panel de tests restreint - interprétation subjective du résultat (lecture à l'œil nu) <p><u>Microscopie pour recherche de parasites :</u></p> <ul style="list-style-type: none"> - manque de sensibilité - technique fastidieuse - expertise technologique-dépendant 	<ul style="list-style-type: none"> - coût des réactifs élevé - les résultats positifs doivent être remis en culture pour la réalisation de l'antibiogramme - travail par batch : jusque 24 panels par run - absence dans les panels de certains pathogènes (p.ex. <i>Aeromonas</i> spp.)

LIMITES DE L'ÉTUDE

La première limite de cette étude est son aspect rétrospectif : toutes les méthodes conventionnelles ont été réalisées à la réception de l'échantillon alors que les panels PCR ont été réalisés après un certain temps de congélation.

Une autre limite importante est la confirmation des résultats discordants : un autre panel multiplex a été utilisé ne présentant pas tout-à-fait les mêmes cibles au lieu de vérifier la présence de chaque cible par une PCR monoplex.

CONCLUSION

L'objectif principal d'une coproculture est d'isoler un nombre limité d'espèces bactériennes réputées pathogènes. La stratégie actuelle est donc de réaliser

une coproculture standard en recherchant les agents les plus fréquents. Au niveau bactérien, on recherchera essentiellement *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. et *Yersinia* spp. Au niveau viral, le Norovirus, le Rotavirus, l'Adénovirus 40/41 et plus rarement le Sapovirus et l'Astrovirus. En ce qui concerne les parasites, les deux pathogènes les plus fréquents sont *Giardia intestinalis* et *Cryptosporidium* spp. (*Entamoeba histolytica* étant beaucoup plus rarement retrouvé dans nos régions). Les 4 panels entériques BD MAX™ sont de ce point de vue parfaitement adaptés à une utilisation en routine.

Les techniques moléculaires sont une alternative très intéressante de plusieurs points de vue. Tout d'abord parce qu'elles sont plus sensibles [6, 7, 9-11] : malgré un petit échantillonnage, tous les pathogènes retrouvés par les méthodes conventionnelles ont bien été détectés par le BD MAX™ et très peu de résultats invalides ont été

enregistrés (0% pour EEBP, 0% pour EVP et 10% pour EPP). Au total, 15 entéropathogènes (19%) ont été retrouvés en plus (dont 9 bactéries (26%) pour EEBP et 4 virus (22%) pour EVP). Les performances des panels entériques du BD MAX™ ont déjà été largement décrites dans la littérature [12 à 17].

Cependant, une sensibilité augmentée mène à une détection de charge bactérienne plus faible ainsi qu'à la détection de plusieurs pathogènes dans un même échantillon. Devant ces co-infections et des valeurs de Cycle threshold (Ct) élevées, on ne doit pas perdre de vue l'éventualité d'un portage asymptomatique (p. ex. *Salmonella* spp.) [18].

Un autre aspect important est le temps de rendu des résultats, qui peut aller jusqu'à 96 heures avec les cultures conventionnelles, et qui se voit drastiquement diminué avec les techniques moléculaires, ce qui permet une meilleure prise en charge du patient, une prescription antibiotique plus raisonnée et une meilleure gestion de prévention de transmission d'infection.

Le panel parasitaire présente, quant à lui, un avantage plus limité par rapport aux techniques immunochromatographiques (présentant une bonne sensibilité [11], plus rapides et moins coûteuses) au vu de la rareté de l'isolement de *E. histolytica* dans la pratique quotidienne.

Contrairement au panel parasitaire, le panel viral est plus intéressant car il permet de détecter, en plus du Rotavirus et de l'Adénovirus, le Norovirus pour lequel la technique immunochromatographique ne présente pas de bonnes performances et pour la recherche duquel une méthode de biologie moléculaire est nécessaire [19, 20].

En conclusion, bien que l'approche moléculaire présente quelques inconvénients et nécessite un investissement financier important pour le laboratoire, les panels entériques du BD MAX™ semblent pouvoir occuper une place intéressante dans un laboratoire de microbiologie de routine pour diminuer le temps de rendu des résultats, faciliter le flux analytique (travail par batch) et permettre une meilleure prise en charge des patients.

RECOMMANDATIONS PRATIQUES

- Techniques moléculaires : alternative intéressante mais interprétation des résultats pouvant être compliquée.
- Temps de rendu des résultats diminué mais nécessité de continuer les cultures classiques en vue de la réalisation d'un antibiogramme.
- Flux analytique facilité.
- Coût non négligeable.

RÉFÉRENCES

1. Centers for Disease Control and Prevention. 2020. *Foodborne germs and illnesses*. En ligne <https://www.cdc.gov/foodsafety/foodborne-germs.html>
2. Centre Hospitalier Universitaire de Dijon. 2019. *Rapport annuel d'activité Centre National de Référence virus des gastro-entérites*. En ligne <http://www.cnr-ve.org/wp-content/uploads/documents/RAPPORT%20ACTIVITES%202019.pdf>
3. Société française de microbiologie. *Gastro-entérites*. In : *REMIC : Société française de Microbiologie Ed* ; 2018 : p.221-227.
4. Société française de microbiologie. *Infections parasitaires du système digestif*. In : *REMIC : Société française de Microbiologie Ed* ; 2018 : p.229-233.
5. Lee JY, Cho SY, Hae Hwang HS, Ryu JY, Lee J, Song ID, Kim BJ, Kim JW, Chang SK, Choi CH. Diagnostic yield of stool culture and predictive factors for positive culture in patients with diarrheal illness. *Medicine (Baltimore)*.2017; 96 (30): e7641. DOI: 10.1097/MD.00000000000007641
6. Yoo J, Park J, Lee HK, Yu JK, Lee GD, Park KG, Oak HC, Park YJ. Comparative evaluation of Seegene Allplex Gastrointestinal, Luminex xTAG Gastrointestinal Pathogen Panel, and BD MAX Enteric Assays for detection of gastrointestinal pathogens in clinical stool specimens. *Arch Pathol Lab Med*.2019; 143 (8) : 999-1005. DOI: 10.5858/arpa.2018-0002-OA
7. Bruijnesteijn van Coppenraet LES, Dullaert-de Boer M, Ruijs GJHM, van der Reijden WA, van der Zanden AGM, Weel JFL, Schuurs TA. Case-control comparison of bacterial and protozoan microorganisms associated with gastroenteritis: application of molecular detection. *Clin Microbiol Infect*.2015; 21 (6): 592.e9-19. DOI: 10.1016/j.cmi.2015.02.007.
8. Mortensen JE, Ventrola C, Hanna S, Walter A. Comparison of time-motion analysis of conventional stool culture and the BD MAX Enteric Bacterial Panel (EBP). *BMC Clin Pathol*.2015; 15:9. DOI: 10.1186/s12907-015-0010-8.
9. Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Rand KH. A gastrointestinal PCR panel improves clinical management and lowers health care costs. *J Clin Microbiol*.2018; 56:e01457-17. DOI: 10.1128/JCM.01457-17.
10. Kim J, Kim HS, Kim H-S, Kim J-S, Song W, Lee KM, Lee S, Park KU, Lee W, Hong YJ. Evaluation of an immunochromatographic assay for the rapid and simultaneous detection of rotavirus and adenovirus in stool samples. *Ann Lab Med*.2014; 34 (3): 216-222. DOI: 10.3343/alm.2014.34.3.216
11. Elsafi SH, Al-Maqati TN, Hussein MI, Adam AA, Abu Hassan MM, Al Zahrani EM. Comparison of microscopy, rapid immunoassay, and molecular techniques for the detection of *Giardia lamblia* and *Cryptosporidium parvum*. *Parasitol res*.2013; 112 (4): 1641-1646. DOI: 10.1007/s00436-013-3319-1.

12. Stokes W, Simner PJ, Mortensen J, Oethinger M, Stellrecht K, Lockamy E, Lay T, Bouchy P, Pillai DR. Multicenter Clinical Validation of the Molecular BD Max Enteric Viral Panel for Detection of Enteric Pathogens. *J Clin Microbiol.*2019; 57:e00306-19. DOI: 10.1128/JCM.00306-19.
13. Anderson NW, Buchan BW, Ledebor NA. Comparison of the BD MAX Enteric Bacterial Panel to Routine Culture Methods for Detection of *Campylobacter*, Enterohemorrhagic *Escherichia coli* (O157), *Salmonella*, and *Shigella* Isolates in Preserved Stool Specimens. *J Clin Microbiol.*2014; 52: 1222-1224. DOI: 10.1128/JCM.03099-13.
14. Harrington SM, Buchan BW, Doern C, Fader R, Ferraro MJ, Pillai DR, Rychert J, Doyle L, Laines A, Karchmer T, Mortensen JE. Multicenter Evaluation of the BD Max Enteric Bacterial Panel PCR Assay for Rapid Detection of *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Campylobacter* spp. (*C. jejuni* and *C. coli*), and Shiga Toxin 1 and 2 Genes. *J Clin Microbiol.*2015; 53: 1639-1647. DOI: 10.1128/JCM.03480-14.
15. Simner PJ, Oethinger M, Stellrecht KA, Pillai DR, Yogev R, Leblond H, Mortensen JM. Multisite Evaluation of the BD Max Extended Enteric Bacterial Panel for Detection of *Yersinia enterocolitica*, Enterotoxinogenic *Escherichia coli*, *Vibrio*, and *Plesiomonas shigelloides* from Stool Specimens. *J Clin Microbiol.*2017; 55: 3258-3266. DOI: 10.1128/JCM.00911-17.
16. Molling P, Nilsson P, Ennefors T, Ogren J, Floren K, Thulin Hedberg S, Sundqvist M. Evaluation of the BD Max Enteric Parasite Panel for Clinical Diagnostics. *J Clin Microbiol.* 2016; 54: 443-444. DOI: 10.1128/JCM.02100-15.
17. Madison-Antenucci S, Relich RF, Doyle L, Espina N, Fuller D, Karchmer T, Laines A, Mortensen JE, Pancholi P, Veros W, Harrington SM. Multicenter Evaluation of BD Max Enteric Parasite Real-Time PCR Assay for Detection of *Giardia duodenalis*, *Cryptosporidium hominis*, *Cryptosporidium parvum*, and *Entamoeba histolytica*. *J Clin Microbiol.*2016; 54: 2681-2688. DOI: 10.1128/JCM.00765-16.
18. Yalanchili H, Dandachi D, Okhuysen P. Use and interpretation of enteropathogen multiplex nucleic acid amplification tests in patients with suspected infectious diarrhea. *Gastroenterol Hepatol.* 2018; 14 (11): 646-652.
19. Ambert-Balay K, Pothier P. Evaluation of 4 Immunochromatographic Tests for Rapid Detection of Norovirus in Faecal Samples. *J Clin Virol.* 2012; 56 (3): 194-198. DOI: 10.1016/j.jcv.2012.11.001.
20. Henningson A, Nilsson Bowers A, Nordgren J, Quttineh M, Matussek A, Haglund S. Rapid diagnosis of acute norovirus-associated gastroenteritis: evaluation of the Xpert Norovirus assay and its implementation as a 24/7 service in three hospitals in Jonkoping County, Sweden. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.*2017; 36 (10): 1867-1871. DOI: 10.1007/s10096-017-3005-9.

Conflits d'intérêts : aucun.

AFFILIATIONS

1. Laboratoire de microbiologie, Clinique Saint-Pierre, Avenue Reine Fabiola n°9, 1340 Ottignies, Belgique
2. auteur correspondant : ekaterina.melnik@jolimont.be – 065/38.57.65

CORRESPONDANCE

EKATERINA MELNIK
 Clinique Saint-Pierre
 Laboratoire de microbiologie
 Avenue Reine Fabiola 9
 B-1340 Ottignies
 ekaterina.melnik@jolimont.be
 065/38.57.65