

Diagnostic rapide de la résistance bactérienne aux antibiotiques

Laurence Armand-Lefèvre
Service de bactériologie

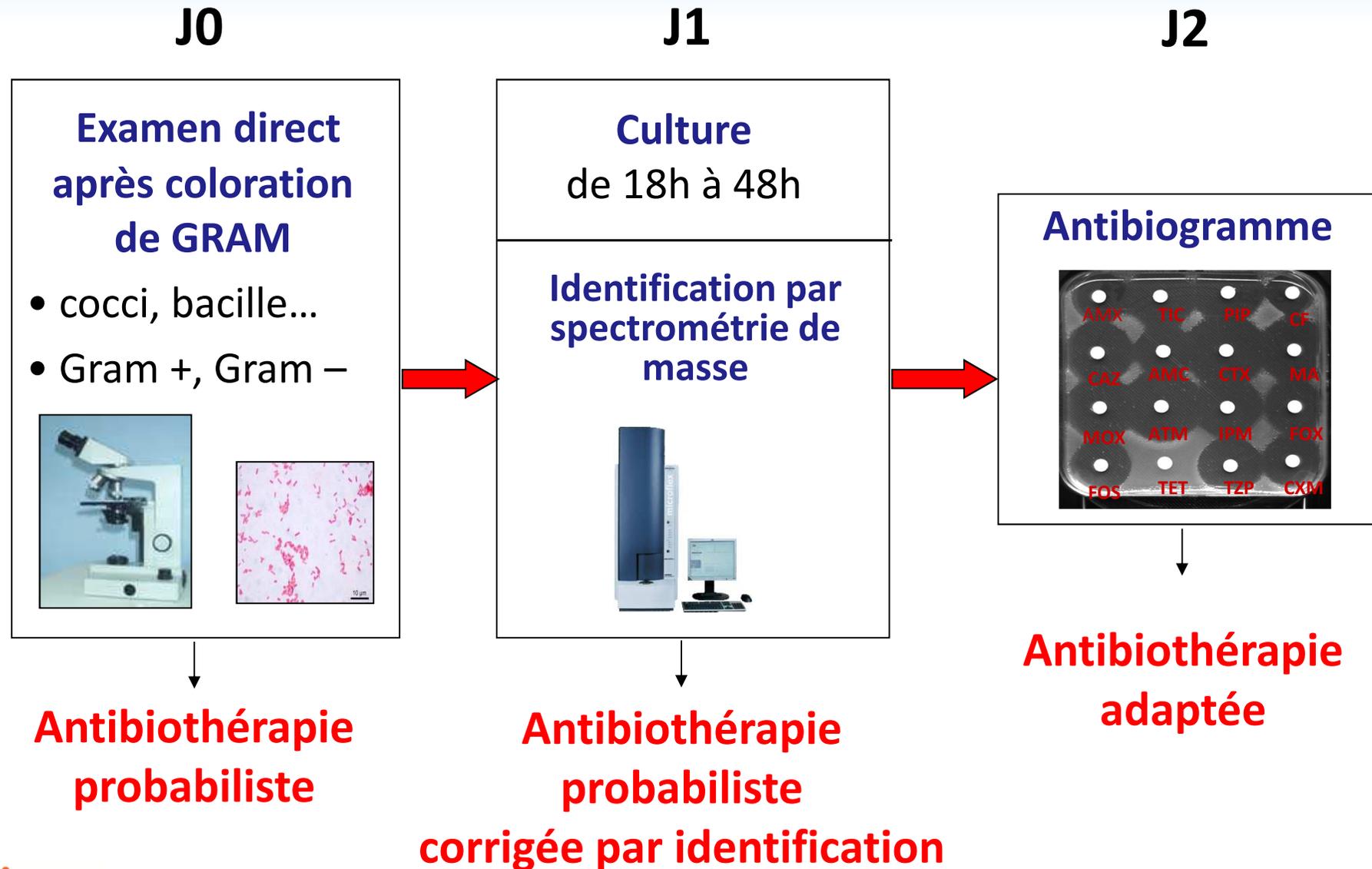
Groupe Hospitalier Bichat - Claude-Bernard
IAME, UMR 1137, Université Paris Diderot



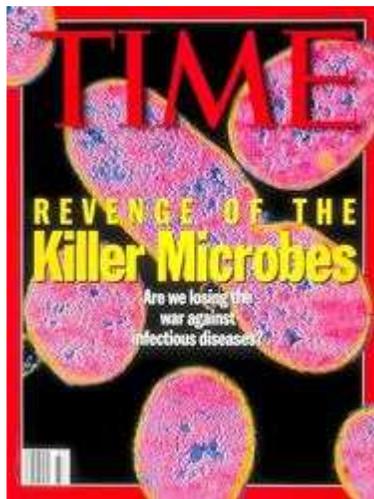
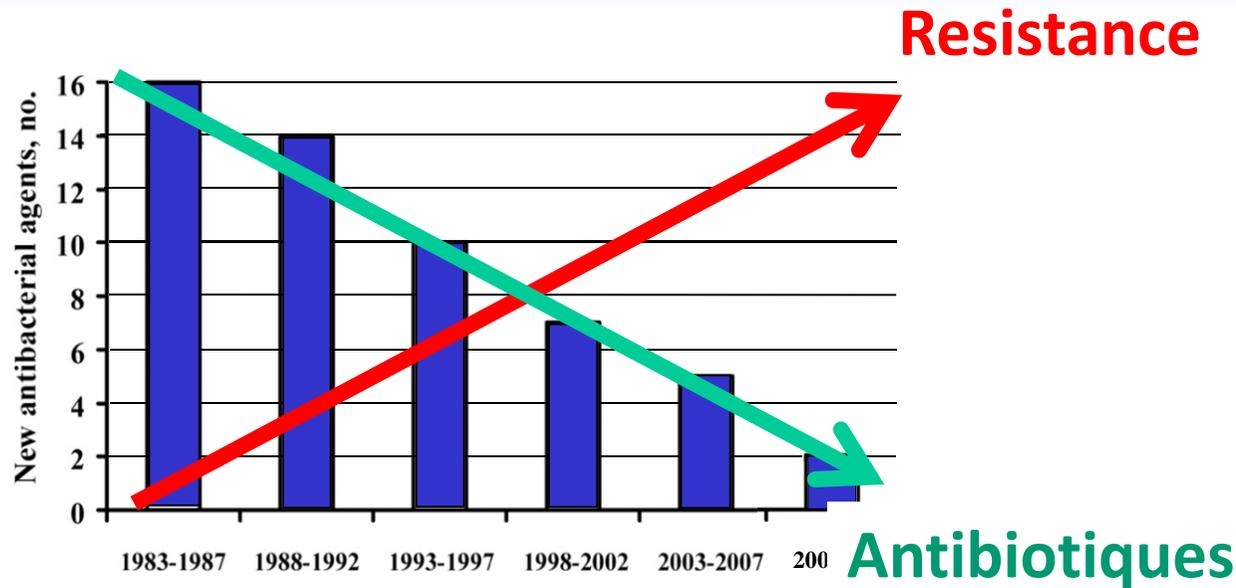
Novembre 2018



Schéma classique du diagnostic microbiologique



Contexte d'augmentation de l'antibio-résistance



Pourquoi diagnostiquer plus vite la résistance ...

Double enjeu

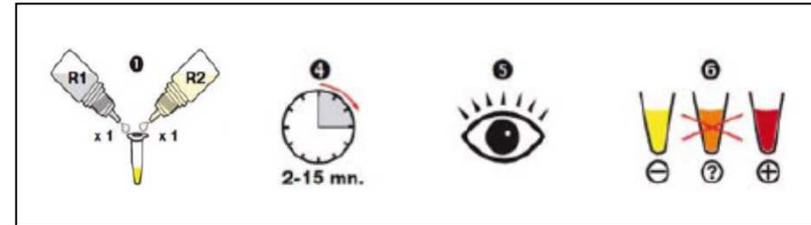
- Mise en route plus rapide d'un traitement adéquat
→ **diminution des échecs de traitement**
- Désescalade plus rapide d'un antibiotique à large spectre vers un antibiotique à spectre plus étroit
→ **diminution de la consommation et de la pression de sélection par les antibiotiques à large spectre**

Qu'est ce qu'on a sous la main ...

Test colorimétrique : β -LACTA™ test (Biorad)

Prédiction de la résistance aux C3G

● Principe :



clivage d'une céphalosporine chromogénique (jaune → rouge) en présence d'une enzyme hydrolysant les C3G (BLSE ou céphalosporinase hyperproduite)

● Test réalisable sur colonies bactériennes (J1) :

- sensibilité de 96% pour *E. coli* et *K. pneumoniae*
- Mais, sensibilité de 67% chez Entérobactéries du groupe 3 hyperproductrices de céphalosporinase

Test colorimétrique : β -LACTA™ test (Biorad)

Prédiction de la résistance aux C3G

Test réalisable directement sur prélèvement

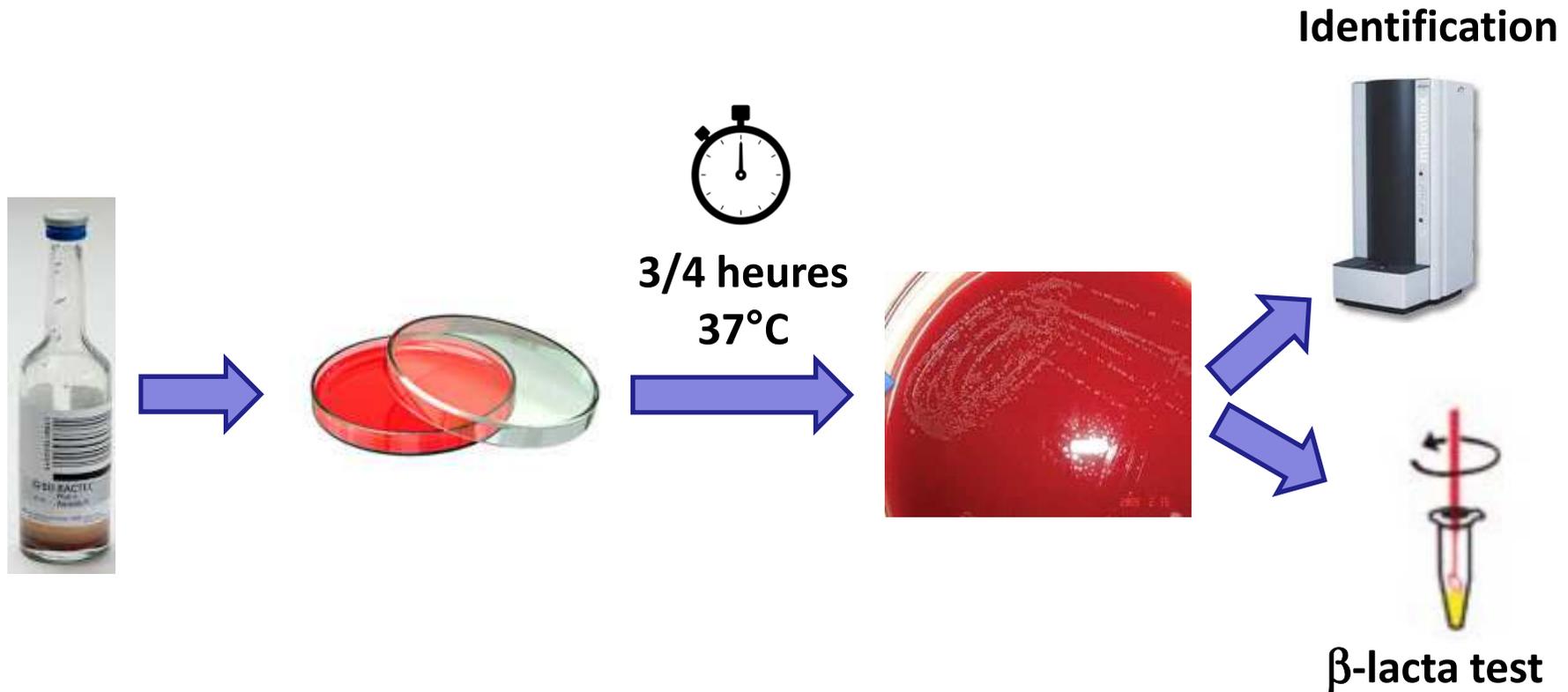
- **Urines**

- Culots urinaires avec EB productrices de BLSE (Sens 94-96% Spé 100%) mais lecture à 30 minutes

- **Hémoculture**

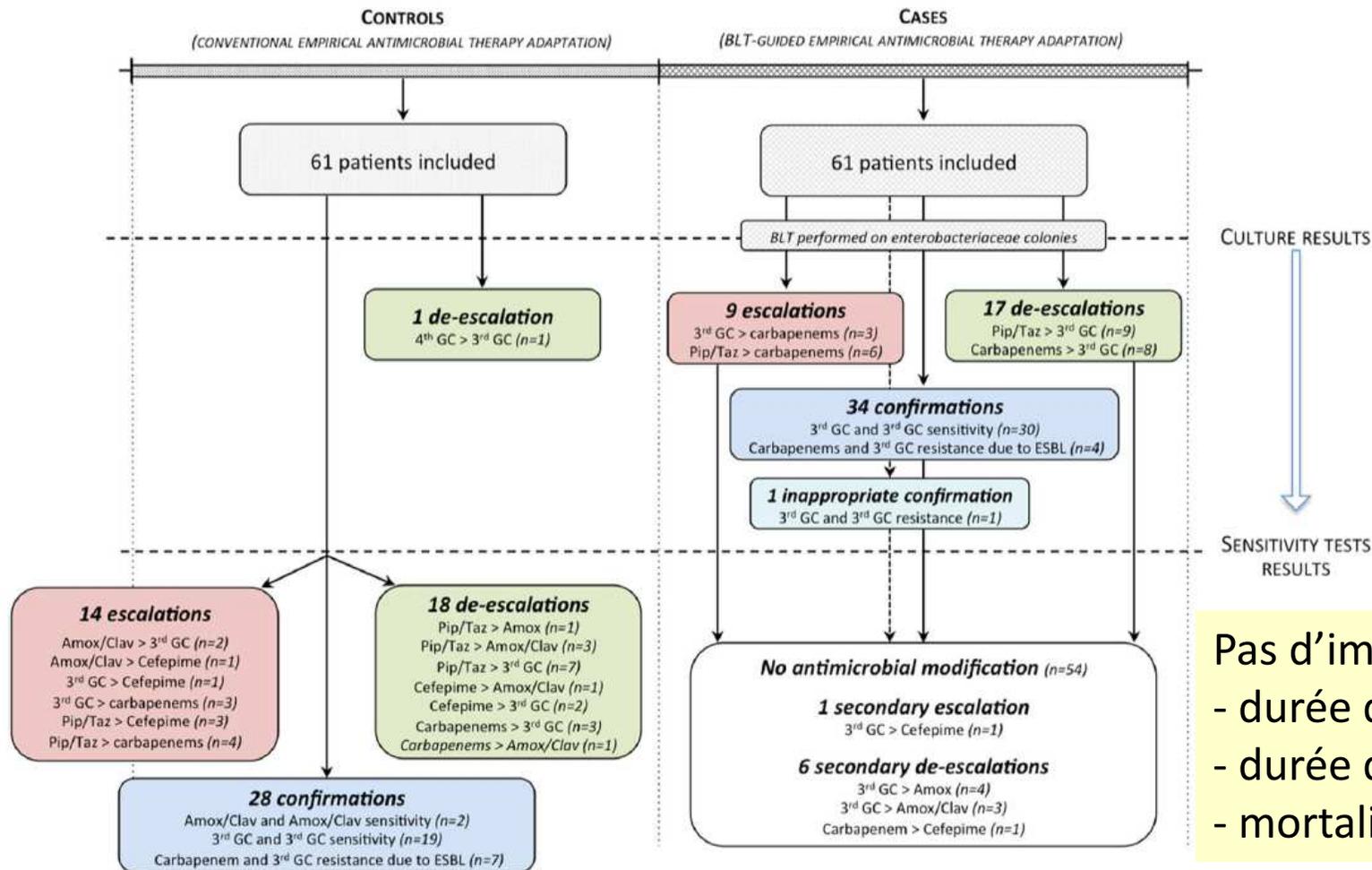
- Hémocultures positives à BGN (Sens 75% Spé 100%)
- Mauvaise prédiction de la résistance aux C3G par hyperproduction de céphalosporinase chromosomique (Sensibilité de 33 à 50%)

β -LACTA™ test (Biorad) hémocultures – culture rapide



β-LACTA™ test (Biorad) - Impact

Evaluation of early antimicrobial therapy adaptation guided by the BetaLACTA® test: a case-control study



Pas d'impact sur :

- durée de séjour,
- durée de ventilation
- mortalité

Antibiogrammes réalisés directement sur prélèvements cliniques

- 88 **LBA** ou **PDP** chez 66 patients suspects de **PAVM**
 - présentant un **BGN** à l'examen direct
 - 3 services de réanimation CHU Bichat-Claude Bernard

- Réalisation d'un **antibiogramme vrai directement** à partir du prélèvement avec **standardisation** de l'inoculum selon l'examen direct



- **Performances**

VPP : prédiction de la résistance : 86,4 à 100%

VPN : prédiction de la sensibilité : 96,4 à 100%

Performance and impact of a rapid method combining mass spectrometry and direct antimicrobial susceptibility testing on treatment adequacy of patients with ventilator-associated pneumonia

- **Impact**, changements potentiels d'antibiothérapie à J1 si l'antibiogramme direct avait été rendu aux cliniciens

Initial antibiotic therapy	n	Change for inadequacy (n)	De-escalation (n)	No change (n)
Amoxicillin-clavulanate acid +/- aminoglycoside	6	0	0	6

Dimerocillin-tazobactam +/-

Inconvénient majeur : passage au référentiel européen en 2015 pour la réalisation des antibiogrammes augmentation de l'inoculum nécessitant au moins 5 à 10 formes bacillaires/champ

Others ²	9	0	0	9
No treatment	1	0	0	1
Total (%)	85 (100%)	9 (10.6%)	26 (30.6%)	50 (58.8%)

41,2%

Nouveaux tests

génomiques

Le multiplex/syndromique sur quels prélèvements ?

- **Les hémocultures positives ?**

Hémocultures positives



ePlex



Verigene

Luminex



PCR multiplex

- Panels Gram+/Gram- ou un seul panel
- Genres/espèces : 9 à 21 cibles
- Temps de préparation < 5 minutes
- Temps analytique : 1h30 à 5h
- Gènes de résistance aux antibiotiques :
Gram+ : mecA, (mecC), vanA/B
Gram- : carbapénémases (KPC, IMP, VIM, OXA, NDM)
+/- BLSE (CTX-M)



FilmArray

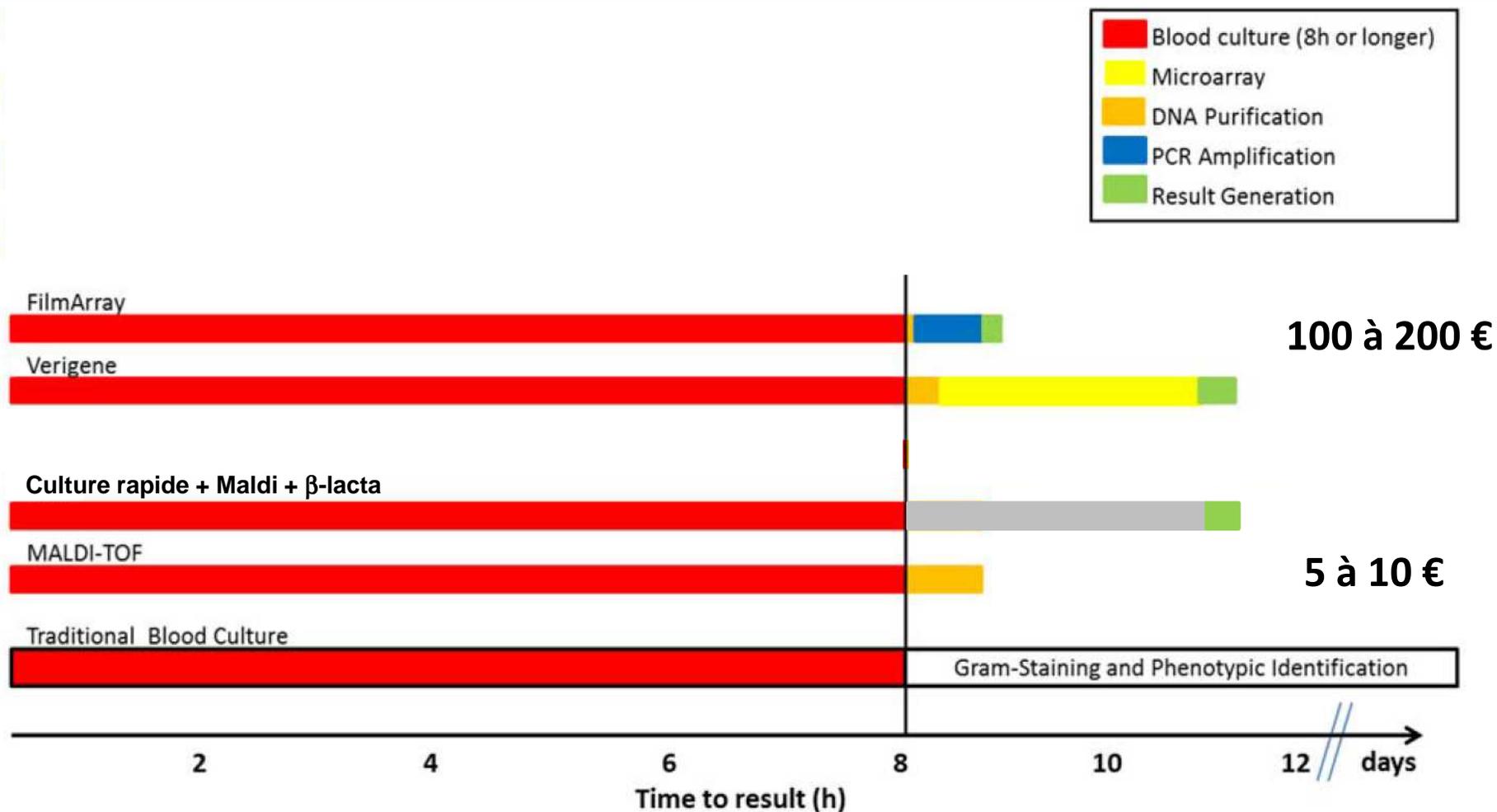


Unyvero

curetis



Comparaison des délais d'identification dans les hémocultures



Le multiplex/syndromique sur quels prélèvements ?

- Les hémocultures positives ?
- **Les pneumopathies ?**

Impact du kit Unyvero HPN dans le diagnostic des PAVM et pneumopathies sévères de réanimation

GROUP	PATHOGEN	GENE	RESISTANCE AGAINST
Gram-positive bacteria	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>ermB</i>	Macrolide/Lincosamide
	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>mecA</i>	Oxacillin
Enterobacteriaceae	<i>Citrobacter freundii</i>	<i>mecC</i> (LGA251)	Oxacillin
	<i>Escherichia coli</i>	<i>tem</i>	Penicillin
	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	<i>shv</i>	Penicillin
	<i>Enterobacter aerogenes</i>	<i>ctx-M</i>	3rd generation Cephalosporins
	<i>Proteus</i> spp.	<i>kpc</i>	Carbapenem
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>imp</i>	Carbapenem
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	<i>ndm</i>	Carbapenem
	<i>Klebsiella variicola</i>	<i>oxa-23</i>	Carbapenem
	<i>Serratia marcescens</i>	<i>oxa-24/40</i>	Carbapenem
	<i>Morganella morganii</i>	<i>oxa-48</i>	Carbapenem
	Non-fermenting bacteria	<i>Moraxella catarrhalis</i>	<i>oxa-58</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>vim</i>	Carbapenem
<i>Acinetobacter baumannii</i> complex		<i>sul1</i>	Sulfonamide
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>		<i>gyrA83</i>	Fluoroquinolone
<i>Legionella pneumophila</i>		<i>gyrA87</i>	Fluoroquinolone
Others / Fungi	<i>Pneumocystis jirovecii</i>		
	<i>Haemophilus influenzae</i>		
	<i>Mycoplasma pneumoniae</i>		
	<i>Chlamydophila pneumoniae</i>		



Temps rendu :
4/5h
Cout : +/- 200 €



Impact du kit Unyvero HPN dans le diagnostic des PAVM et pneumopathies sévères de réanimation



- **Performances sur 71 épisodes de pneumopathies (54 LBA et 17 PDP) chez 63 patients**
 - Sensibilité de 88% au total (57 à 100%)
 - Spécificité de 98% au total (97 à 100%)
- **Impact potentiel sur 33 épisodes : 22 (67%) modifications d'antibiothérapie.**
 - 3 initiations d'antibiothérapie
 - 19 changements :
 - 11 (33%) désescalades,
 - 5 (15%) antibiothérapies adaptées et/ou plus optimales
 - 3 (10%) antibiothérapies moins optimales

Performances du panel pneumonie - FilmArray



The FilmArray® Pneumonia Panel

Investigational Use Only

Sample Type: Sputum, Endotracheal Aspirate, and Bronchoalveolar Lavage



A BIOMÉRIEUX COMPANY



Panel Menu

Bacteria

Semi-Quantitative Bacteria

Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex

Serratia marcescens

Proteus spp.

Klebsiella pneumoniae group

Enterobacter aerogenes

Enterobacter cloacae

Escherichia coli

Haemophilus influenzae

Moraxella catarrhalis

Pseudomonas aeruginosa

Staphylococcus aureus

Streptococcus pneumoniae

Klebsiella oxytoca

Streptococcus pyogenes

Streptococcus agalactiae

Atypical Bacteria

Qualitative Bacteria

Legionella pneumophila

Mycoplasma pneumoniae

Chlamydia pneumoniae

Viruses

Influenza A

Influenza B

Respiratory Syncytial Virus

Human Rhinovirus/Enterovirus

Human Metapneumovirus

Parainfluenza virus

Adenovirus

Coronavirus

Middle East Respiratory

Syndrome Coronavirus

Antimicrobial Resistance Genes

mecA/C and MREJ

KPC

NDM

Oxa48-like

CTX-M

VIM

IMP

Temps rendu : 1h30

Cout : +/- 200 €

Performances du panel pneumonie - FilmArray



- **Performances sur 60 épisodes de pneumopathies (5 ECBC, 4 Asp Bronchiques, 30 LBA et 22 PDP) présentant des germes à l'examen direct**
 - Sensibilité de 96% au total (80 à 100%)
 - Spécificité de 98% au total (97 à 100%)
- **Rendu quantitatif du résultat (10^4 à 10^8)**
 - Faible corrélation entre quantité en culture et FilmArray

Diagnostic génotypique

Avantages/inconvénients

Avantages :

- Vitesse d'exécution rapide < 2h pour certains systèmes
- Impact +++ de l'association **identification** des espèces bactériennes + **gènes de résistance**

Inconvénients :

- On ne trouve que ce que l'on cherche !!! (ce qu'il y a dans le panel)
- Pas de possibilité de connaître les résistances chromosomiques
- Nécessite **des algorithmes associés** aux résultats et des conseils pour les cliniciens
- Ne peut être substitué au diagnostic microbiologique conventionnel
- Cout +++

**Nouveaux tests
phénotypiques**

Accelerate Pheno™



Technologie

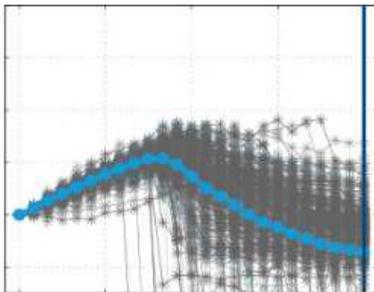
- Identification : FISH (Fluorescence in-situ hybridization)
- Antibiogramme : MCA (morphokinetic cellular analysis)

sur :

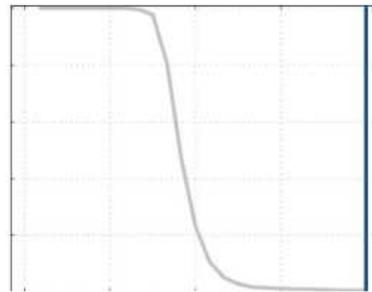
- Hémocultures uniquement

Klebsiella pneumoniae et méropénème

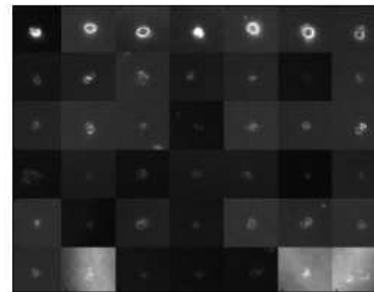
Growth Curve



Time / Effect Curve

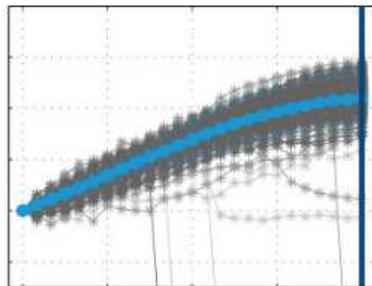


Individual Clone View



CMI = 1 mg/L

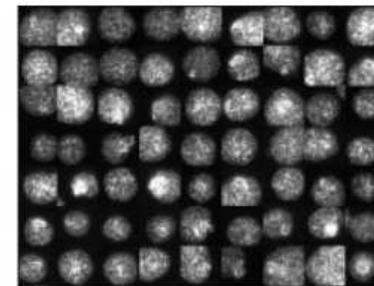
Growth Curve



Time / Effect Curve



Individual Clone View



CMI = 32 mg/L

Accelerate Pheno™



Technologie

- Identification : FISH (Fluorescence in-situ hybridization)
- Antibiogramme : MCA (morphokinetic cellular analysis)

Sur :

- Hémoculture positive uniquement

- Temps préparation : 3 minutes
- temps analytique : identifications en 1h30 ; antibiogramme <7h
- Performances : 95-96% concordance avec méthode de référence
Major Error : 2,3-3%, Very Major Error : 0,4-1,4%

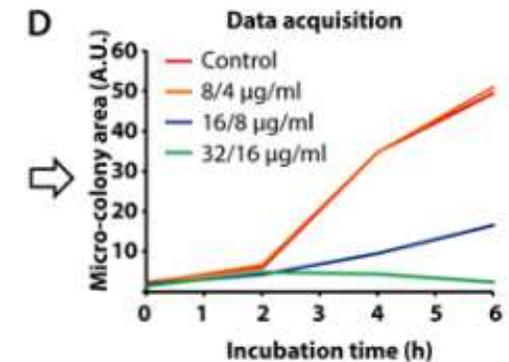
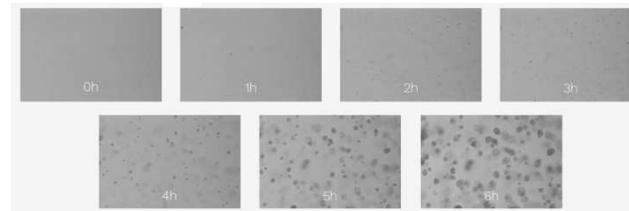
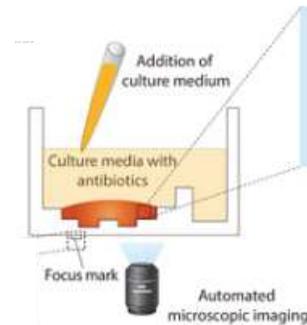
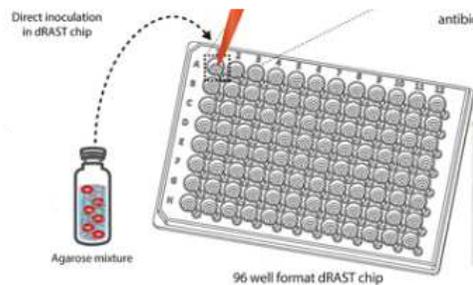


Technologie

- Pas d'identification
- Antibiogramme : canaux microfluidiques d'agarose puis analyse d'images microscopiques

sur :

- Hémocultures uniquement



E

MIC determination



Technologie

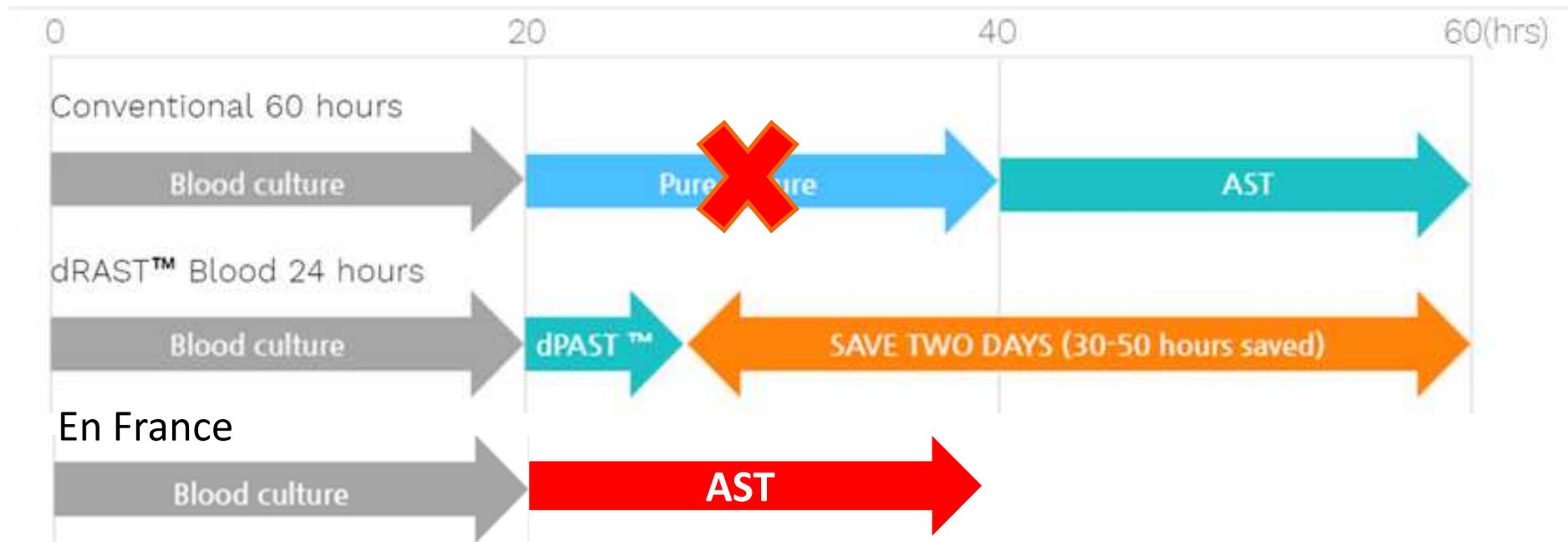
- Pas d'identification
- Antibiogramme : canaux microfluidiques d'agarose puis analyse d'images microscopiques

sur :

- Hémocultures uniquement

- Temps préparation : 3-5 minutes
- temps analytique : antibiogramme : 6h
- Performances : 91% de concordance avec méthode de référence
ME : 2,7%, VME : 1,5% (fournisseur)

Apport de ces « antibiogrammes rapides » dans les hémocultures positives



Tests diagnostiques phénotypiques

Avantages/inconvénients

Avantages :

- Antibiogramme complet avec CMI
- Peut être substitué à l'antibiogramme classique

Inconvénients :

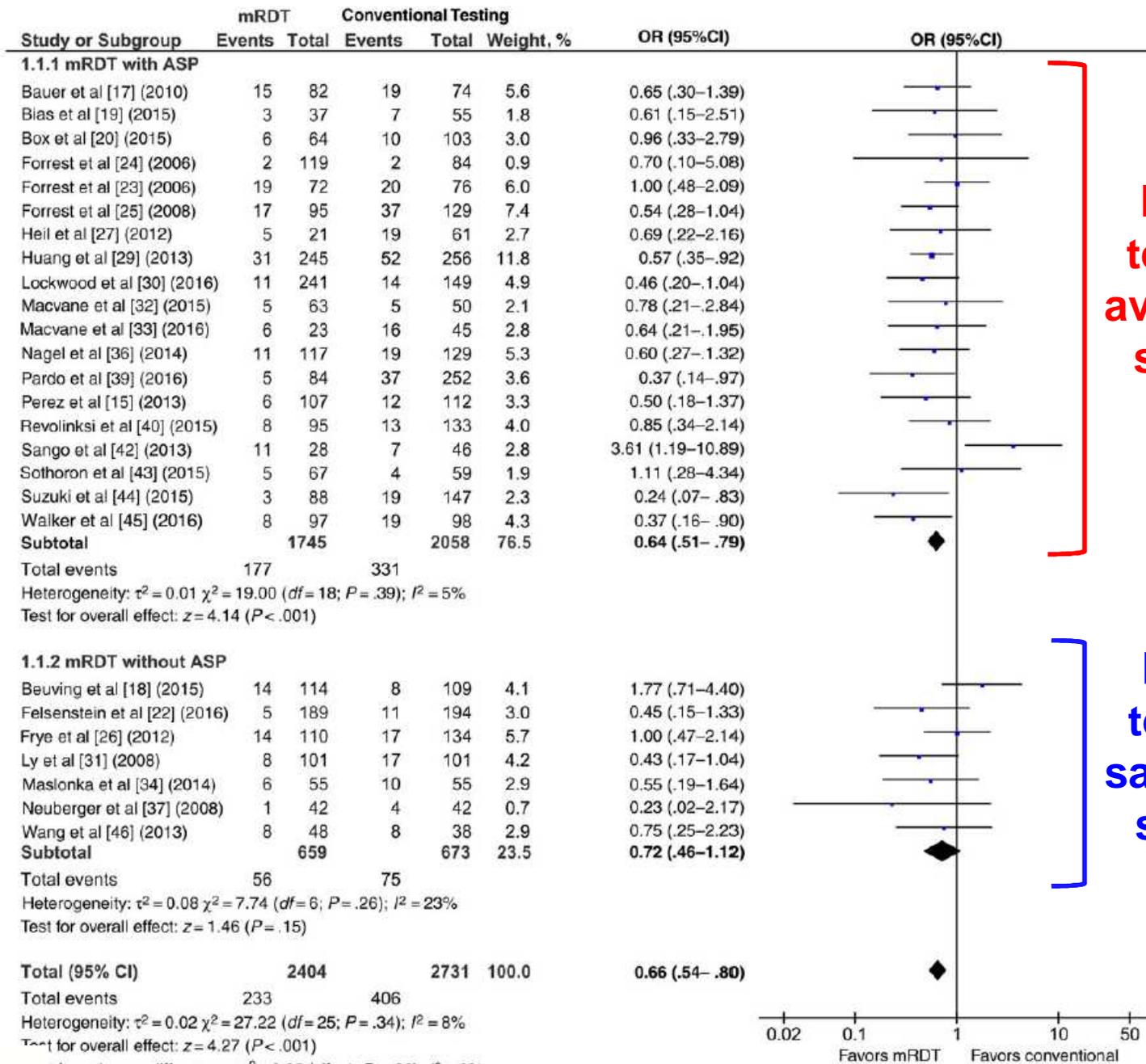
- Uniquement sur cultures microbiennes pures (hémocultures, urines ?)
- Turn around time encore élevé (6-7 heures)
 - > nécessité de **revoir l'organisation** des laboratoires de bactériologie pour profiter de ces performances
- Cout +++

Impact des tests de diagnostics rapides sur les bactériémies

The Effect of Molecular Rapid Diagnostic Testing on Clinical Outcomes in Bloodstream Infections: A Systematic Review and Meta-analysis

Tristan T. Timbrook,^{1,4} Jacob B. Morton,^{1,4} Kevin W. McConeghy,² Aisling R. Caffrey,^{1,2,4} Eleftherios Mylonakis,³ and Kerry L. LaPlante^{1,2,4}

Impact sur la mortalité des tests moléculaires rapides avec et sans « antibiotic stewardship » dans les bactériémies



En conclusion ...

- Utiliser les tests rapides et peu cher (béta-lacta, ...) à **volonté**
- Utiliser les tests syndromiques/multiplex chez les patients les plus graves
 - Besoin d'études médico-économiques pour justifier une utilisation plus large**
- Besoin d'évaluations et d'études médico-économiques pour les nouvelles méthodes d'antibiogrammes rapides comparées aux techniques « locales »
- Rendre les résultats de ces nouvelles techniques avec un accompagnement pour leur interprétation et l'antibiothérapie