

Microbiologie, la clé du bon usage ?

J.L. Mainardi

Unité Mobile de Microbiologie Clinique
Service de Microbiologie
Hôpital Européen Georges Pompidou, Groupe HUPO
Faculté et Université Paris René Descartes

Déclaration de lien d'intérêt

Je déclare avoir les liens d'intérêts suivants :

- Invitation congrès : MSD
- Conseil scientifique: MSD sur la mucoviscidose, BioAster

Facteurs de risque (FR) d'antibiothérapies non nécessaires

- Etude multicentrique, prospective, 17 cliniques privées
- 443 antibiothérapies analysées
- Antibiothérapie non nécessaire: 37%
- En analyse multivariée, FR: diagnostic non spécifique et **l'absence de prélèvement microbiologique réalisé**

Focus

- **Focalisé sur les tests rapides d'identification des espèces bactériennes et de la résistance aux antibiotiques**
 - Propositions du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques (rapporteurs J. Carlet et P. Le Coz Juin 2015)
 - Améliorer l'existant et développer de nouveaux outils de diagnostic pour identifier des bactéries résistantes aux antibiotiques, y compris leur profil de résistance.

Pourquoi être plus rapide ?

- **Individuel** : adapter le plus rapidement possible le traitement antibiotique au microorganisme responsable: clé du bon usage ?
 - Diminution de la mortalité
 - Prévention de l'émergence de la résistance aux antibiotiques
- **Collectif** : détecter rapidement les patients colonisés avec des BMR (isolement)

Avantages de ces nouvelles techniques

- **Faciles à utiliser (pour la plupart)**
- **Résultats rapides (5 min à 4-6 h)**
 - **Identification des microorganismes**
 - **Virulence (toxine)**
 - **Résistance aux antibiotiques**
 - ⇒ Meilleure prise en charge ?
 - Antibiothérapie ciblée et adaptée
 - Isolement (BMR, ...)
 - ⇒ Mais connaître les limites des tests +++

Les tests rapides

- **Identification rapide du microorganisme pour le bon usage des antibiotiques**
 - Par multiplex: approche syndromique
 - Par spectrométrie de masse (bactérie)
- **Test de détection rapide de la résistance aux antibiotiques**
 - Par technique immunochromatographie
 - Par techniques moléculaires
 - Test chromogéniques

Identification rapide des microorganismes

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Par PCR multiplexe: approche syndromique (1)

- Deux situations: pédiatrie et chez les adultes
- Pédiatrie
 - Etudes observationnelles et interventionnelles dans les infections respiratoires basses ou hautes: **réduction de l'utilisation des antibiotiques**

Table 4. Outcomes Before and After Rapid Respiratory Panel (RRP) Implementation Regardless of Whether the Test Result Was Positive or Negative

Variable	Pre-RRP (n = 365)	Post-RRP (n = 771)	P Value
Time to test result, mean (SD), min	1119 (492)	383 (293)	<.001
PCR results received in ED before admission, No. (%)	49 (13.4)	398 (51.6)	<.001
Antibiotic prescribed, No. (%)	268 (73.4)	555 (72.0)	
Antibiotic use, mean (SD), d	3.2 (1.6)	2.8 (1.6)	.003
Inpatient LOS, mean (SD), d	3.4 (1.7)	3.2 (1.6)	.16
ED LOS, mean (SD), min	256 (97)	282 (115)	.002
Time in isolation, mean (SD), h	73 (41)	70 (38)	.27

Table 5. Outcomes Before and After Rapid Respiratory Panel (RRP) Implementation Based on Whether the Test Result Was Positive or Negative

Variable	Viral Negative			Viral Positive		
	Pre-RRP (n = 145)	Post-RRP (n = 169)	P Value	Pre-RRP (n = 216)	Post-RRP (n = 597)	P Value
Time to test result, mean (SD), min	1129 (511)	377 (275)	<.001	1113 (482)	385 (298)	<.001
PCR results received in ED before admission, No. (%)	26 (17.9)	89 (52.7)	<.001	23 (10.7)	300 (51.8)	<.001
ED LOS, mean (SD), min	248 (232)	277 (122)	.03	262 (98)	284 (113)	.02
Antibiotic prescribed, No. (%)	109 (75.2)	136 (80.5)	.26	157 (72.7)	416 (69.7)	.11
Antibiotic use, mean (SD), d	3.1 (1.6)	3.1 (1.7)	.99	3.2 (1.6)	2.7 (1.5)	<.001
Inpatient LOS, mean (SD), d	3.2 (1.6)	3.2 (1.6)	.88	3.5 (1.8)	3.2 (1.6)	.03
Time in isolation, mean (SD), h	60 (36)	43 (36)	.13	82 (43)	74 (38)	.03

Rogers B.B *et al.* Arch Pathol Lab Med 2015; 139:636-641

Par PCR multiplexe: approche syndromique (2)

- Adultes
 - Résultats plus contrastés
 - Les antibiotiques sont poursuivis dans 40% à 63% des cas, malgré l'identification d'un virus et une radio thoracique normale

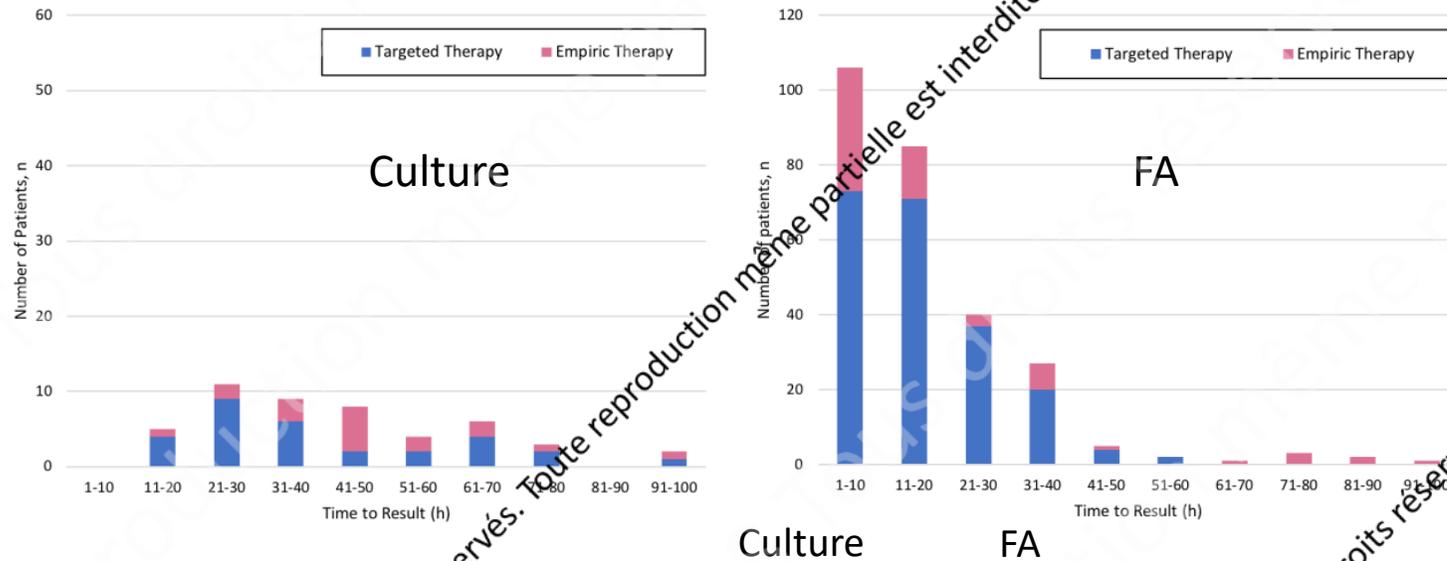
Traitement antibiotique

Variable	Influenza	p
Patients ayant reçu au moins 1 dose d'atb à l'hôpital, n (%)		
Tests conventionnels, n=158	89 (56)	0,92
FilmArray, n=54	30 (56)	
Durée de traitement atb (h), médiane		
Tests conventionnels, n=158	48,1	0,24
FilmArray, n=54	23,7	
Durée de traitement atb (h), médiane		
Tests conventionnels, sous groupe discordant, n=46	58,1	0,17
FilmArray, n=54	23,7	
Patients traités par atb durant l'hospitalisation, n (%)		
Tests conventionnels, sous groupe discordant, n=46	17 (37)	0,15
FilmArray, n=54	13 (24)	

Tableau M. Fartoukh

Par PCR multiplexe: approche syndromique (3)

- infections gastro-intestinales. BioFire FilmArray[®] (FA) versus culture conventionnelle
- 1187 prélèvements de selles; détection de pathogènes: 35.3% by FA VS 6.0% par culture



	Culture	FA	
Patients	166	305	
Patients receiving empirical antibiotic therapy, n (%)	37 (22)	38 (19)	n.s.
Median duration of antibiotics, days (range)	5 (1-28)	5 (1-28)	n.s.
Patients hospitalized, n (%)	20 (12)	47 (15)	n.s.
Cases with apparent resolution of symptoms, n (%)	150 (90)	253 (83)	n.s.

Identification bactérienne par spectrométrie de masse (MALDI-TOF) et hémoculture



Direct Bacterial Identification in Positive Blood Cultures by Use of Two Commercial Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry Systems

Jonathan H. K. Chen,^a Pak-Leung Ho,^{a,c} Grace S. W. Kwan,^a Kevin K. K. Shek,^a Gilman K. H. Siu,^a Vincent C. C. Cheng,^{b,c} Kwok-Yung Yuen,^{a,c} Wing-Cheong Yam^{a,c}

JCM 2013

- **Identification espèce >90% des cas**
- **En 3h**
- **Identifie les mécanismes de résistance naturelle +++**
- **HC plurimicrobienne: identification de l'espèce majoritaire+++**

Pertinence en clinique ?

Effect of direct MALDI-TOF MS on proportion of appropriate treatment.

	Direct MALDI-TOF MS	Standard care
% (n) of episodes with appropriate therapy < 24 h after positive BC ^a	75.3% (67) [*]	64.0% (105) [*]
% (n) of episodes with inappropriate therapy < 24 h after positive BC ^a	4.5% (4) [*]	14.6% (24) [*]
% (n) of episodes without antibiotic therapy < 24 h after positive BC ^a	20.2% (18) (6.7% (6) other interventions ^b , 13.5% (12) contaminated BC)	21.4% (35) (4.3% (7) other interventions ^b , 11.0% (18) contaminated BC, 6.1% (10) not applicable ^c)

^ablood culture, ^bremoval of intravenous catheters, ^cpalliative care or patient died shortly after blood culture was positive.

^{*}p value 0.01.

doi:10.1371/journal.pone.0032589.t004

Vlek *et al.* Plos 2012

- Gain sur le rapidité de l'identification bactérienne
- Gain sur la qualité de l'antibiothérapie
- mais*
- Pas d'évaluation de la mortalité
- Durée d'hospitalisation pas étudiée
- Pas d'évaluation du devenir des patients

Impact of Rapid Organism Identification via Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Combined With Antimicrobial Stewardship Team Intervention in Adult Patients With Bacteremia and Candidemia

Angela M. Huang,^{1,2} Duane Newton,^{5,6} Anjly Kunapuli,^{1,2} Tejal N. Gandhi,³ Laraine L. Washer,^{3,4} Jacqueline Isip,^{1,2} Curtis D. Collins,¹ and Jerod L. Nagel^{1,2}

CID, 2018

Clinical and Treatment-Related Outcomes

Outcome	Preintervention (n = 256)	Intervention (n = 245)	P Value
Clinical outcomes			
30-day all-cause mortality	52 (20.3)	31 (12.7)	.021
Time to microbiological clearance, d	3.3 ± 4.8	3.3 ± 5.7	.928
Length of hospitalization, d ^a	14.2 ± 20.6	11.4 ± 12.9	.066
Length of ICU stay, d ^a	14.9 ± 24.2	8.3 ± 9.0	.014
Recurrence of same BSI	15 (5.9)	5 (2.0)	.038
30-day readmission with same BSI	9 (3.5)	4 (1.6)	.262
Treatment-related outcomes			
Time to effective therapy, h	30.1 ± 67.7	20.4 ± 20.7	.021
Time to optimal therapy, h	90.3 ± 75.4	47.3 ± 121.5	<.001

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Impact of Antimicrobial Stewardship Intervention on Coagulase-Negative *Staphylococcus* Blood Cultures in Conjunction with Rapid Diagnostic Testing

JCM 2014

Jerod L. Nagel,^a Angela M. Huang,^{a,*} Anjly Kunapuli,^a Tejal N. Gandhi,^b Laraine L. Washer,^{b,c} Jessica Lassiter,^a Twisha Patel,^a Duane W. Newton^d

Departments of Pharmacy Services and Clinical Sciences, University of Michigan Health System and College of Pharmacy, Ann Arbor, Michigan, USA^a; Department of Internal Medicine, Division of Infectious Diseases,^b Department of Infection Control and Epidemiology,^c and Clinical Microbiology Laboratories and Department of Pathology,^d University of Michigan Health System and Medical School, Ann Arbor, Michigan, USA; Froedter Hospital and The Medical College of Wisconsin, Milwaukee, Wisconsin, USA^e

MALDI-TOF

TABLE 2 Outcomes for patients with CoNS bacteremia

Characteristic	Preintervention group (n = 46)	AST intervention group (n = 32)	P value
Time to organism identification ^a (h)	83.4 ± 29.5	57.0 ± 32.3	<0.001
Time to effective therapy ^a (h)	37.7 ± 40.1	23.0 ± 10.7	0.064
Time to optimal therapy ^a (h)	58.7 ± 56.4	34.4 ± 29.9	0.030
No. (%) of patients with 30-day all-cause mortality	10 (21.7)	1 (3.1)	0.023
Length of hospitalization ^{a,b} (days)	14 ± 22	15 ± 14	0.954
Length of ICU stay ^{a,b} (days)	28 ± 33	11 ± 11	0.188
No. (%) of patients with recurrent bacteremia	6 (13.0)	0 (0.0)	0.076
No. (%) of patients with 30-day readmission with CoNS bacteremia	2 (4.3)	0 (0.0)	0.51

TABLE 3 Antimicrobial use and outcomes for patients with CoNS colonization

Characteristic	Preintervention group (n = 83)	AST intervention group (n = 85)	P value
Duration of CoNS antibiotic therapy ^a (days)	4.4 ± 4.2	3.0 ± 1.6	0.001
Vancomycin utilization ^a (n)	4.8 ± 6.3	3.0 ± 3.9	0.718
Daptomycin utilization ^a (n)	2.88	0	0.243
No. of vancomycin serum assays obtained ^a	2.0 ± 2.2	0.9 ± 1.4	<0.001
No. (%) of patients with 30-day all-cause mortality	9 (10.8)	10 (11.8)	>0.99
Length of hospitalization ^a (days)	14.6 ± 22.9	15.8 ± 18.6	0.7
No. (%) of patients with recurrent bacteremia	3 (3.6)	2 (2.4)	0.68
No. (%) of patients with 30-day readmission with CoNS bacteremia	2 (2.4)	1 (1.2)	0.618
No. (%) of patients <i>Clostridium difficile</i> colitis	7 (8.4)	4 (4.7)	0.367

- Spectrométrie de masse pas réalisée directement sur les hémocultures

Détection rapide de la résistance aux antibiotiques

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

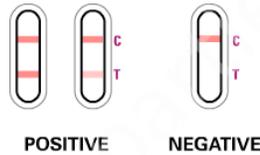
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Immunochromatography tests (ICT):

Détection de la résistance à la méticilline

test Aleré™ PBB2A



- bandelettes avec Ac Anti-PLP2a

- Rapide: 5 minutes - Directement sur colonies
- Indépendant du milieu de culture
- Sensible et spécifique pour *S. aureus*
- Demande peu de technique et d'équipement
- Cout raisonnable
- **Limites: staphylocoques à coagulase négative: mauvaise sensibilité** sauf si induction de la résistance
- **Applicable sur culture de 3-4 heures d'une hémoculture positive**

Détection génotypique des SARM

- Principe : mise en évidence du support génétique (*mecA* et *SSCmec*).
- Techniques « maison » ou « commerciales »
- A partir des colonies et/ou du prélèvement et/ou hémocultures
- Délai : 1 heure
- Avantages : test simple, rapide, sensible
- Limites : coût
- **Attention** : mélange bactérien

Apport pour le bon usage des antibiotiques

- Diminution de la durée de la mise en route d'une antibiothérapie adaptée sur SAMS
- Diminution de la durée d'hospitalisation
- Diminution du coût
- Diminution de la prescription d'antibiotiques en cas de contamination à staphylocoque à coagulase négative

Mais

- **Pas de différence si les référents en antibiothérapie ne sont pas pertinents (messager et éducateur)**
- Peu de valeurs si résultats ne sont pas donnés en temps réel
- Peu d'étude de l'impact sur la mortalité

Review of Rapid Diagnostic Tests Used by Antimicrobial Stewardship Programs

CID 2014

Karri A. Beyer,¹ Katherine K. Perez,^{2,3,4} Graeme N. Forrest,⁵ and Debra A. Goff¹

¹Department of Pharmacy, The Ohio State University Wexner Medical Center, Columbus; Departments of ²Pharmacy, and ³Microbiology and Genomic Medicine, Houston Methodist Hospital, and ⁴Center for Outcomes Research, Houston Methodist Research Institute, Texas; and ⁵Division of Infectious Diseases, Portland Veterans Affairs Medical Center, Oregon

Détection rapide de la résistance aux antibiotiques: les tests chromogéniques

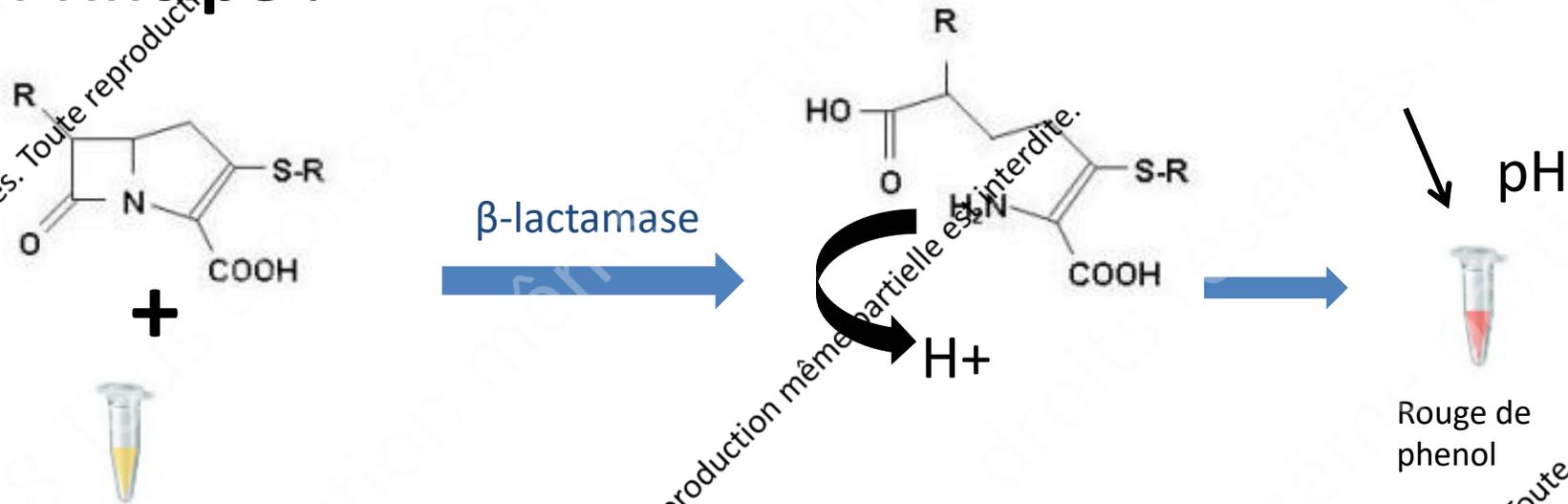
© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Tests chromogéniques: BGN et BLSE/Carbapénèmase

- **Principe :**



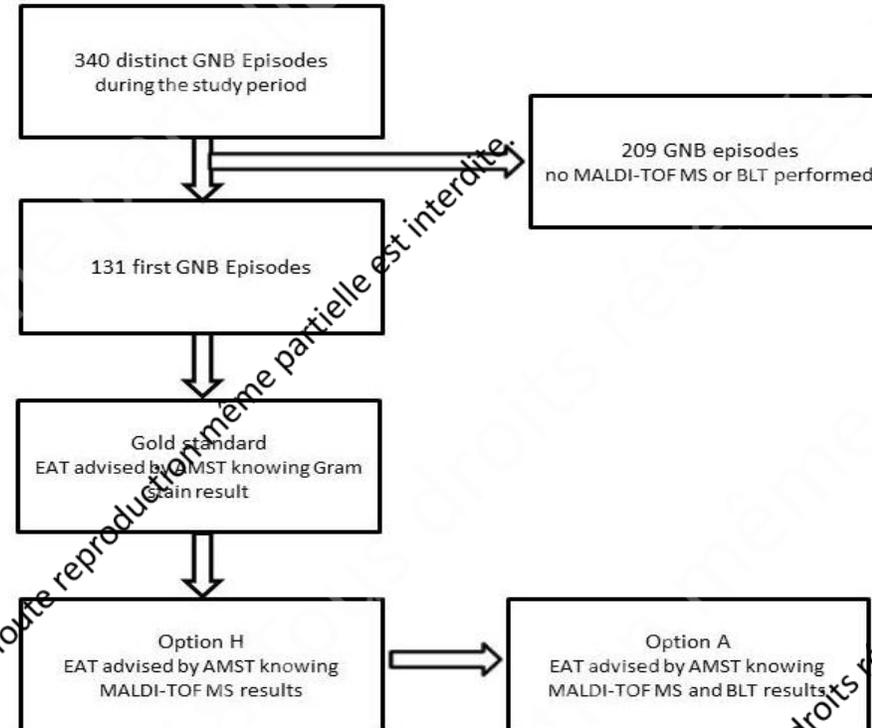
- Détection rapide de la résistance aux β -lactamines (BLSE, carbapénèmases)
- A partir de cultures positives à bacilles à Gram négatif
 - Sensibilité 87 à 98%, spécificité 96 à 100%

β -Lacta test et résistance aux C3G sur hémocultures positives

- Identification par spectrométrie de masse après 3 heures d'incubation d'une hémoculture positive
- 108 hémocultures positives à entérobactéries étudiées
- Détection de la résistance aux C3G: **sensibilité de 84.8%, spécificité de 100%, une valeur prédictive positive de 100% et négative de 94.%**
- Pour détecter les BLSE: sensibilité de 100% et une spécificité de 96.3%, valeur prédictive positive de 90.3% et négative de 100%
- **Impact sur la prise en charge des patients ?**

β LACTA™ et bactériémie à Gram négatif

- 131 cas de bactériémies à Gram négatif-6 mois
- 22% sepsis/choc-15% admission en réanimation
- Comparaison de 3 options



- Objectif principal: modification de l'antibiothérapie entre option H et option A
- Objectifs secondaires: impact sur l'antibiothérapie empirique, prescription de carbapénèmes, spectre

Résultats

EAT	Gold standard	Option H	Option A	P Gold standard versus Option H	P Gold standard versus Option A
Efficient	121 (92.4)	120 (91.6)	123 (93.9)	1	0.8
Escalated Modification	22 (16.8)	5 (3.8)	9 (6.9)		
Adjunction	18 (13.7)	4 (3)	7 (5.3)		
De-escalated Modification	7 (5.3)	1 (0.8)	2 (1.5)		
Suppression	37 (28.2)	18 (13.7)	19 (14.5)		
	19 (14.5)	17 (13)	11 (8.5)		
	21 (16)	2 (1.5)	2 (1.5)		
Carbapenem prescription	9 (6.9)	6 (4.6)	12 (9.2)	0.57	0.65
Effectiveness	8 (89)	6 (100)	11 (92)	1	1
Appropriateness	7 (78)	6 (100)	4 (33)	0.49	0.08

-2 faux négatifs: hyper Case
 - 3 faux positif

- Monocentrique, faible incidence de BLSE: 11 bactériémies à BLSE (8,3%)
- Inclusion des bactériémies du "matin"
- Equipe mobile expérimentée
- Seul le premier épisode pris en compte

β -Lacta test (BLT) et antibiothérapie empirique en réanimation

- Etude cas - contrôle
 - 61 patients prospectifs 'groupe BLT **sur colonie**' vs 61 patients rétrospectifs avec microbiologie 'conventionnelle'
- BLT réalisé sur colonies d'entérobactéries issues de prélèvements cliniques
- Objectif principal: proportion d'antibiothérapie appropriée
- Objectifs secondaires: proportion d'antibiothérapie optimale

- Garnier *et al* Crit care 2017

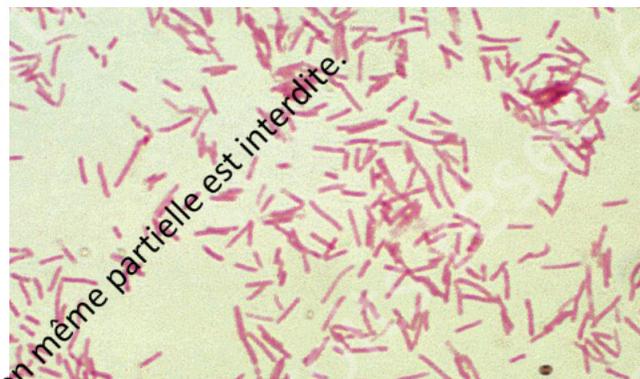
Résultats

- Pas de différence des caractéristiques des patients et des infections dans les deux groupes
- 56% de sepsis sévère ou de choc- 20% BLSE, 5% d'hyperproduction de céphalosporinases

	All patients (n = 122)	Conventional adaptation strategy (n = 61)	BLT-guided adaptation strategy (n = 61)	p
Appropriate empirical antimicrobial therapy, % (n)	80% (98)	77% (49)	84% (51)	0.45
Early escalation, % (n)	7% (9)	0% (0)	15% (9)	<0.01*
Appropriate antimicrobial therapy after culture results, % (n)	88% (107)	77% (47)	98% (60)	<0.01
Delay before antimicrobial therapy escalation (h)	48 (24-60)	50.5 (48-73)	27 (24-28)	<0.01#
Optimal empirical antimicrobial therapy, % (n)	51% (62)	46% (28)	56% (34)	0.33
Early adaptation, % (n)	22% (27)	2% (1)	43% (26)	<0.01*
escalation	7% (9)	0% (0)	15% (9)	
de-escalation	15% (18)	2% (1)	28% (17)	
Optimal antimicrobial therapy after culture results, % (n)	71% (87)	48% (29)	95% (58)	<0.01
Delay before antimicrobial therapy adaptation (h)	49 (31.5-65)	58 (48-72)	28 (24.5-47)	<0.01#
Time to apyrexia (h)	24 (24-72)	24 (24-48)	30 (24-72)	0.19#
Time to leukocytosis <10.000/mm ³ (days)	6 (3-13)	5 (3-12)	6 (3-15)	0.37#
Time to mechanical weaning (days)	5 (3-9)	4.5 (3-9)	5 (4-9)	0.51#
Length of ICU stay (days)	10 (5-16)	11 (6-17)	10 (5-15)	0.48
Mortality, % (n)	15% (18)	16% (10)	13% (8)	0.80

Tests chromogéniques:

directement sur ECBU positif



- 200 ECBU avec BGN à l'examen direct (culture => 10^4 à 10^5 UFC/mL)
 - Sensibilité : 94%
 - Spécificité : 100%Compare à culture + antibiogramme
- Résultats en <30 min

Tests chromogéniques:

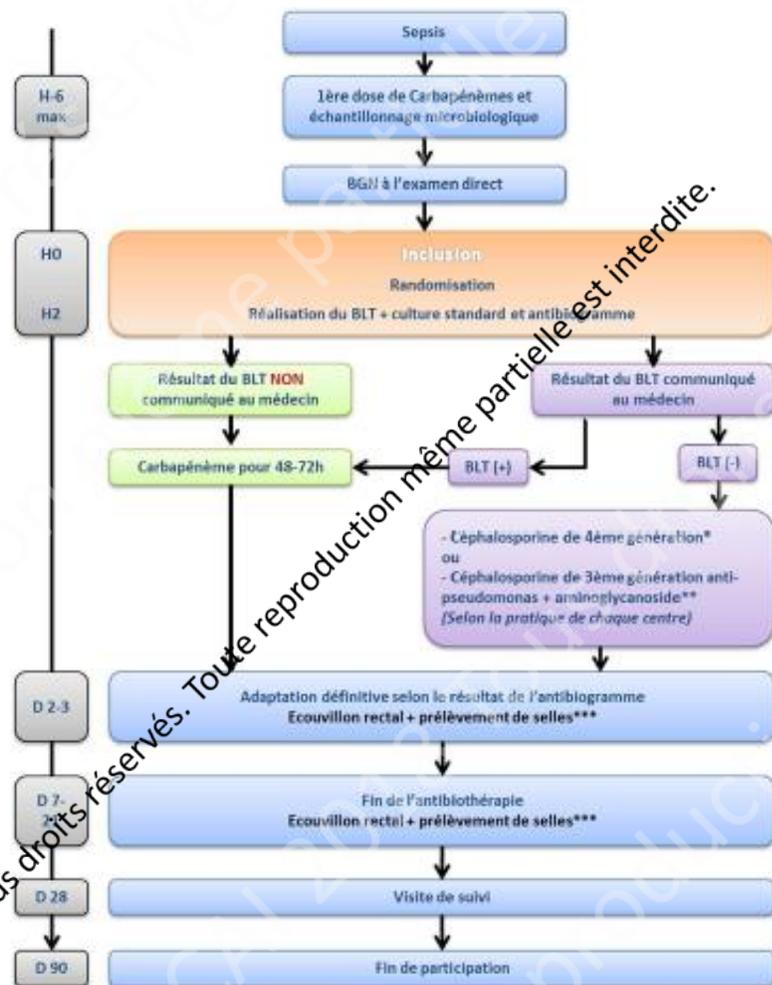
directement sur les aspirations bronchiques

- 2 bactéries ou plus/champ au Gram: 100% de sensibilité pour *K. pneumoniae* CTX –M-15
- Culture = 10^6 UFC/mL: détecte 17 BLSE différentes et à 10^4 UFC/mL toutes sauf OXA-14 de *P. aeruginosa*
- 126 AB d'une cohorte de patients de 7 réanimations:
 - 21 BLT positif (17% - 10 positif au Gram/11 négatif)
 - Les 21 confirmées en culture
- Si la coloration de Gram est positive et/ou 10^4 UFC/mL : 100% de sensibilité et spécificité

BLUE-Carba

N°EudraCT: 216-A00941-50 / P 150940

Utilisation du bêtalacta® test sur le culot bactérien issu de l'examen direct positif à bacille à gram négatif pour la déescalade précoce de l'antibiothérapie probabiliste par carbapénèmes au cours des infections respiratoires, urinaires et bactériémies en réanimation.



* Céfépime

** Ceftazidime + amikacine

*** Prélèvement de selles pour 75 patients/ bras en Ile-de-France

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Conclusion 1

- Test rapides: prennent une place importante dans les laboratoires
- Recommandés dans le rapport Carlet
- SARM: immunochromatographie et tests génotypiques
- ERV: test génotypiques et milieux chromogènes: hygiène
- BLSE et carbapénémases: tests chromogéniques- tests génotypiques
- Quels patients?: **hémocultures** et autres prélèvements importants (patients de réanimation)
- Minimum: SARM et BLSE

Conclusion 2

⇒ Apport pour l'antibiothérapie si dialogue clinico-biologique et/ou intervention des équipes mobiles d'infectiologie+++

⇒ Maintient d'une microbiologie de proximité

⇒ Nécessité d'avoir des études à plus grande échelle

⇒ Nécessité d'avoir des évaluations clinico/économiques

⇒ Ne remplacent pas les cultures ni l'antibiogramme

Backup

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2018 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

Conclusion 3

Hémoculture positive à la coloration de Gram

Cocci à Gram positif en amas

Bacille à Gram négatif

Isolement sur gélose au sang

H3

Identification par MALDI-TOF

Si *S. aureus*: recherche Ac-anti-PLP2A par ICT

Si entérobactéries (ou *P. aeruginosa*): recherche BLSE par test chromogénique