

41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



Automatisation de la méthode DRSA sur la chaîne automatisée BD Kiestra



L. Bulin, M. Daragon, I. Almahmoud, T. Girard, Y. Caspar

Laboratoire de bactériologie, CHU Grenoble Alpes
Ycaspar@chu-grenoble.fr



© RICAI 2021 Tous droits réservés.

41^e

RÉUNION INTERDISCIPLINAIRE DE
CHIMIOTHÉRAPIE ANTI-INFECTIEUSE

LUNDI 13 & MARDI 14
DÉCEMBRE 2021

PALAIS DES CONGRÈS • PARIS



Orateur : Yvan CASPAR, Grenoble

Je déclare les liens d'intérêt potentiels suivants :

Le laboratoire de bactériologie du CHU Grenoble Alpes est un site β -testeur BD-KIESTRA

Financement de User-Meeting BD-KIESTRA

© RICA I 2021 Tous droits réservés.

© RICA I 2021 Tous droits réservés.

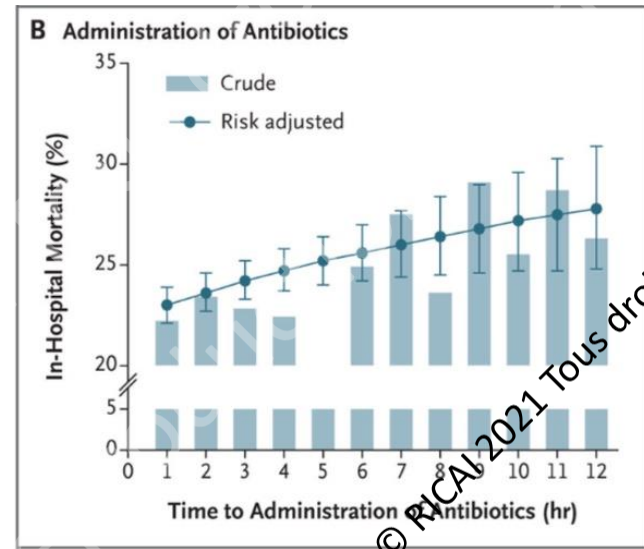
Bactériémies (EU + USA):
≈ 1 800 000 épisodes/an

Mortalité 10 à 20%
157 000 - 270 000 /an



- Sepsis : nécessité de prise en charge rapide (< 3h) :
 - Prélèvement d'hémocultures
 - Remplissage par cristalloïdes
 - Administration rapide d'une antibiothérapie à large spectre
- Surmortalité corrélée au retard d'administration de l'antibiothérapie

Wang et al. *CMI*. 2020
Briggs et al. *DMID*. 2021
Goto et al. *CMI*. 2013



Mortalité hospitalière en fonction du délai avant l'administration d'une antibiothérapie chez les patients en sepsis aux urgences
D'après Seymour et al. *NEJM*. 2017

Augmentation de la résistance aux antibiotiques

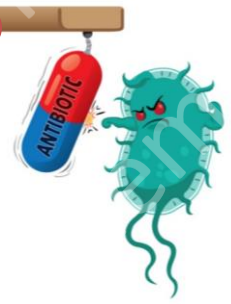


ESKAPE

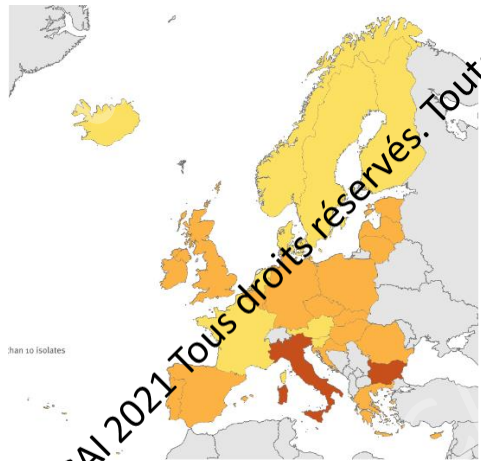
E. faecium, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*,
P. aeruginosa et *Enterobacter* spp.

Cassini et al. *Lancet ID*. 2019

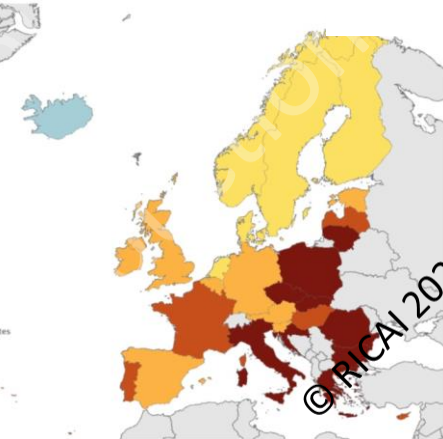
Morbidité importante : 122 années
de vie en bonne santé/100000
habitants en Europe



E. coli
En Europe : 15,1%
En France : 8,8%



K. pneumoniae
En Europe : 31,3%
En France : 30,2%



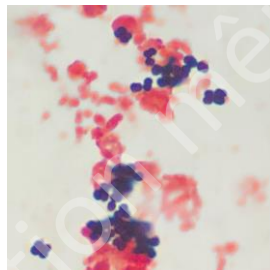
Proportion de souches invasives d'*E. coli* et *K. pneumoniae* résistantes aux C3G en 2019. Données EARS-Net

Diagnostic microbiologique standard des bactériémies

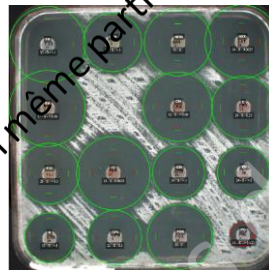
Hémoculture
=
gold
standard



Coloration de Gram



Antibiogramme



**Accélérer la
détection des
résistances**

T₀

24h

24 à 48h



Positivité du flacon



Culture sur gélose

**Accélérer
l'identification des
bactéries**

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

Techniques rapides de détection de résistance dans les bactériémies

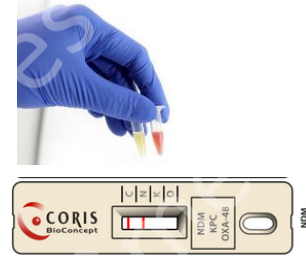
PCR Multiplexes :

- Très rapides
- Détection de 15-35 espèces pathogènes
- Détection de gènes de résistance
- Sensibilité/spécificité $\approx 100\%$
- Coûts \$\$\$



Tests phénotypiques :

- Test colorimétriques/immunochromatographiques
- Très-rapides
- Sur culture précoce ou sur culot bactérien
- Sensibilité variable selon le mécanisme de résistance
- Coûts \$\$ mais un seul type de résistance/test



DRSA

- Antibiogramme diffusion ou microdilution
- MHR-SIR + SIRscan 2000™
- Video-microscopie
- Coût \$\$\$-\$\$\$\$



Détermination rapide de la sensibilité aux antibiotiques (DRSA)

DRSA CASFM-EUCAST à partir de flacon d'hémocultures positifs :

- Méthodologie élaborée en 2018 par l'EUCAST : diffusion en milieu gélosé
- Interprétation des zones d'inhibition à 4h, 6h et 8h (au lieu de 20 ±4h)
- Diamètres critiques spécifiques à chaque temps de lecture
- Intégrée aux recommandations du CA-SFM depuis avril 2020



E. coli
E. faecium
S. aureus
K. pneumoniae
A. baumannii
P. aeruginosa
E. faecalis
S. pneumoniae

T₀

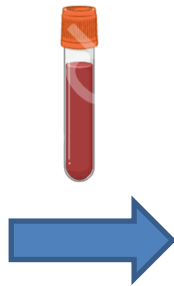
24 à 48h

- Mais obligation de lecture des diamètres d'inhibition à 4h, 6h et 8h ± 5 min et réincubation dans les 10 min

→ Difficile à mettre en œuvre dans la routine d'un laboratoire

Automatisation du protocole DRSA sur la chaine BD Kiestra™

E. faecium
S. aureus
S. pneumoniae
A. baumannii
P. aeruginosa
E. faecalis
E. coli
S. pneumoniae

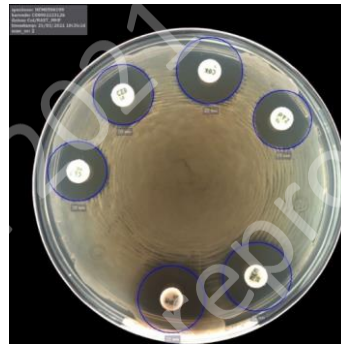


Identification rapide par MALDI-TOF sur culot d'hémoculture (200µL saponine 5% + 1 mL HC)

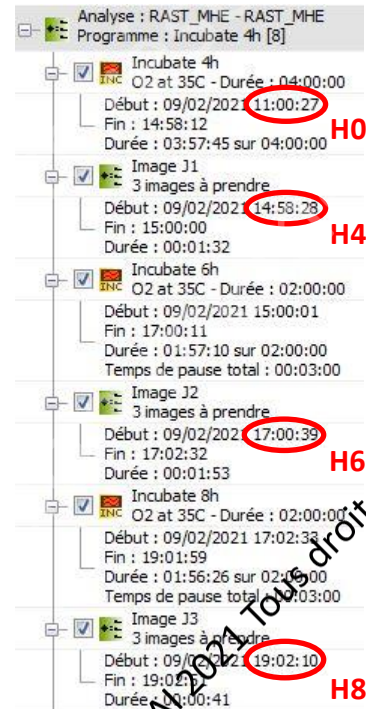
Ensemencement manuel ou automatisé de 110µL d'HC positive sur des géloses MHE ou MH-F



Manuel



Automatisé



Prise de photo à des temps précis + Mesure des diamètres sur le logiciel ReadABrowser

Principal

Evaluer les performances d'un protocole automatisé de DRSA par rapport à la méthode standard

Concordance de catégorisation (CA)

Fréquence des zones d'incertitude technique (ZIT)

Taux d'erreur

Secondaires

Comparer l'ensemencement manuel et automatisé

Evaluer les performances de la méthode sur des souches productrices de BLSE

- Inclusions prospectives de juillet 2020 à avril 2021 :
 - 1er flacon d'hémoculture positif pour un patient (positif entre 23h et 8h)
 - Gram mono-microbien, ID rapide → DRSA si possible selon l'ID
- Hémocultures artificielles :
 - 47 souches productrices de BLSE : 27 *E. coli* + 20 *K. pneumoniae* (bactériémies 2018 - WGS)

Résultats : Taux de lecture



émocultures incluses dans l'étude (n = 158)

Organisme	4 heures (%)	6 heures (%)	8 heures (%)
<i>Escherichia coli</i>	90	99	99
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	96	98	98
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	88	97
<i>Staphylococcus aureus</i>	55 *	91	95
<i>Enterococcus faecalis</i>	93	99	100
<i>Enterococcus faecium</i>	4	93	99
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	68	83	95

pneumoniae

reus et

es espèces sauf

Espèce (nb de souches)	Proportion de diamètres d'inhibition lisibles (%)					
	4 hours (%)		6 hours (%)		8 hours (%)	
	Manuel	Auto	Manuel	Auto	Manuel	Auto
<i>Escherichia coli</i> (n=66)	93,3	94,8	97,9	98,2	99,9	99,9
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n=13)	100	100	100	100	100	100
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=10)	-	-	100	100	100	100
<i>Staphylococcus aureus</i> (n=39)	70,5	74,4	94,9	92,3	99,4	99,4
<i>Enterococcus faecalis</i> (n=16)	78,8	82,5	85	85	98,8	98,8
<i>Enterococcus faecium</i> (n=9)	77,8	100	100	100	100	100
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (n=5)	96	96	100	100	100	100

- Taux de lecture à 8h :

- ≥ 96,3% pour toutes les espèces

→ Pas d'impact du mode d'ensemencement sur les taux de lecture à 6h et 8h



E. coli à 6h

		<i>E. coli</i>		<i>S. aureus</i>	
		Auto	Manuel	Auto	Manuel
4h: (%)	Lecture	94.8	93.3	74.5	70.5
	ZIT	21.4	14.3	23.8	9.1
6h: (%)	Lecture	98.2	97.9	92.3	94.9
	ZIT	23.2	9.1	20.8	12.2
8h: (%)	Lecture	99.9	99.9	98.1	99.4
	ZIT	18.6	9.1	20.3	9.0
4h: (%)	VME	0.1	0.1	0.0	0.0
	ME	0.9	0.7	3.4	2.7
	mE	0.0	0.0	0.0	0.0
6h: (%)	VME	0.0	0.0	0.0	0.0
	ME	1.3	0.6	4.9	0.7
	mE	0.0	0.0	0.0	0.0
8h: (%)	VME	0.0	0.0	0.0	0.0
	ME	1.0	0.7	3.9	1.9
	mE	0.0	0.0	0.0	0.0

➔ %ZIT réduit après ensemencement manuel

➔ Moins d'erreurs majeures après ensemencement manuel

➔ Quasi aucune erreur très majeure

Antibiotique	Lecture (%)	4 h			6 h				8 h			
		ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)
Cefoxitine (dépistage)	74,4	10,3	96,2	3,8	94,9	2,7	100		100		100	
Norfloxacine (dépistage)	64,1	16	100		94,9		100		97,4		94,7	5,3
Gentamicine	71,8	7,1	92,3	7,7	94,9	8,1	97,1	2,9	100	15,4	97	3
Clindamycine	71,8	3,6	100		94,9	32,4	100		100	20,5	100	

- **Dépistage fiable de la résistance/sensibilité à la méticilline** à 6h
- **%ZIT élevé** pour la clindamycine et la gentamicine à 6h et/ou 8h
- **Taux d'erreurs majeures** \approx 3% pour la gentamicine à 6 et 8h et $>$ 5% à 8h pour la norfloxacine

Critères CLSI/FDA :
CA \geq 90%, ME \leq 3% et VME \leq 1.5%

Performances DRSA automatisée – *E. coli* (n=66 dont 2 BLS)



Antibiotique	4h				6h				8h			
	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)
Pipéracilline-tazobactam	89,4	64,4	95,2	4,8	97,0	31,3	93,2	6,8	100,0	28,8	93,6	6,4
Céfotaxime	92,4	1,6	98,3	1,7*	97,0	100,0	100,0	0,0	100,0	100,0	100,0	0,0
Ceftazidime	92,4	11,5	100,0	0,0	97,0	1,6	100,0	0,0	100,0	1,5	100,0	0,0
Ceftolozane-tazobactam	93,9	25,8	93,3	6,7	98,5	10,8	100,0	0,0	100,0	9,1	100,0	0,0
Imipénème	93,9	1,6	100,0	0,0	97,0	1,6	100,0	0,0	100,0	1,5	100,0	0,0
Méropénème	95,5	3,2	100,0	0,0	97,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0	100,0	0,0
Ciprofloxacine	93,9	1,6	98,4	1,6	98,5	6,2	98,4	1,6	100,0	6,1	98,4	1,6
Lévofloxacine	93,9	3,2	100,0	0,0	98,5	4,6	100,0	0,0	100,0	3,0	100,0	0,0
Amikacine	93,9	25,8	100,0	0,0	100,0	16,7	100,0	0,0	100,0	18,2	100,0	0,0
Tobramycine	93,9	21,0	100,0	0,0	100,0	34,8	100,0	0,0	100,0	33,3	97,7	2,3
Cotrimoxazole	92,4	0,0	100,0	0,0	97,0	0,0	100,0	0,0	95,8	0,0	100,0	0,0

Pas d'amélioration des performances à 8h vs. 6h

- **Résultats fiables** pour CAZ, carbapénèmes, FQ, TMP-SXT et aminosides à 4h
- Cefotaxime et Ceftolozane/tazobactam à 6h
- **ZIT entre 10% et 65%** pour RTZ, C/T et aminosides - « ATU issue » décrit par Jasuja *et al.* 2020
- **VME > 1,5%** pour cefotaxime à 4h (mais que 1 souche en erreur) ; **VME = 0%** à 6h
- **ME > 3%** pour PTZ à 4h et 8h

→ **Interprétation fiable à 4h pour C3G, carbapénèmes, FQ et cotrimoxazole pour les souches sensibles aux C3G**

© RICAI 2021 Tous droits réservés

Performances DRSA automatisée – *E. coli* BLSE (n=27)



	4h							
	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)	Lecture (%)	ZIT (%)	CA (%)	Erreur (%)
Pipéracilline-tazobactam	96,3	65,4	77,8	22,2	96,3	42,3	86,7	13,3
Céfotaxime	96,3		100,0		96,3		100,0	
Ceftazidime	96,3	34,6	94,1	5,9	96,3	11,5	95,7	4,3
Ceftolozane-tazobactam	96,3	26,9	85,7	14,3	96,3	7,7	100,0	
Imipénème	96,3		100,0		96,3		100,0	
Méropénème	96,3		100,0		96,3		100,0	
Ciprofloxacine	96,3		96,2	3,8	100,0		96,3	3,7
Lévofloxacine	96,3		90,0	9,5	100,0	7,4	100,0	
Amikacine	96,3	50,0	100,0		100,0	22,2	100,0	
Tobramycine	96,3	11,5	100,0		100,0	25,9	100,0	
Cotrimoxazole	96,3		92,3	7,7	100,0		96,3	3,7

- Taux de lecture > 96% à 4h
- **Détection de 100% des souches résistantes aux C3G avec le disque de céfotaxime à 4h**
- **Résultats fiables** pour carbapénèmes et aminosides à 4h, C/T et lévofloxacine à 6h
- **ZIT > 10%** pour PTZ, C/T, aminosides et ceftazidime à 4 et 6h
- **Taux d'erreurs majeures > 3%** avec PTZ ; CAZ ; CIP ; TMP-SXT à 4h et 6h

➔ Possibilité de dépistage fiable à 4h de la résistance aux C3G sur les souches productrices de BLSE

– Version automatisée du DRSA du CASFM-EUCAST permet une approche phénotypique rapide (4 à 6h)

- Dépistage fiable de la résistance/sensibilité à la méticilline à 6h chez *S. aureus*
- Dépistage fiable à 4h de la résistance aux C3G chez *E. coli* et *K. pneumoniae*
- Panels peut-être à revoir : conserver la PTZ ? Clindamycine sur *S. aureus* ?
- Lecture des diamètres d'inhibition uniquement à partir de 6h ?

– Automatisation :

- Respect des délais de prise de photos et de réincubation
- Réduction des interventions humaines ; moins de perturbation de l'incubation des géloses
- Facilite l'implémentation en routine
- 24h/24 et 7j/7 possible via l'acquisition d'images digitalisées
- Meilleure traçabilité

– Limites/Développements futurs

- Encore plusieurs étapes manuelles à automatiser : ensemencement automatisé moins performant que manuel, logiciel de mesure et d'ajustement automatique des diamètres, interprétation par système expert, ...
- Panels de DRSA pour seulement 8 espèces
- Faible nombre de souches pour certaines espèces dans notre étude
- Performances sur souches avec d'autres mécanismes de résistance à évaluer (Carbapénémases, HCASE, SARM...)

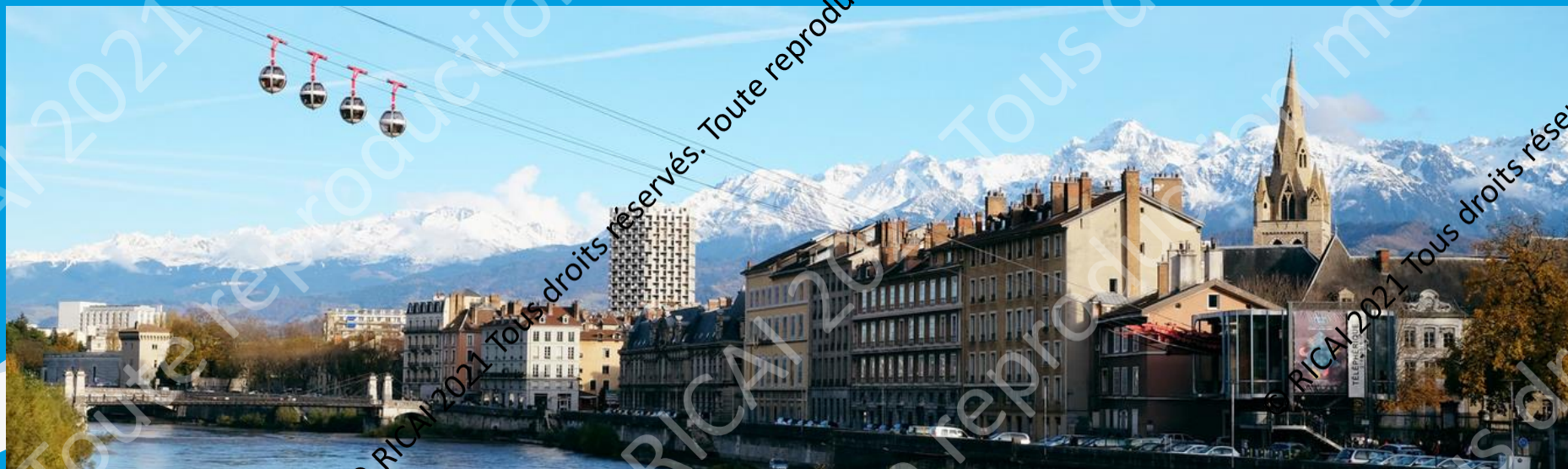
Remerciements



- Dr Lionel Bulin
- Dr Matthieu Daragon
- Dr Iyad Almahmoud
- Thomas Girard
- Dr Christine Recule
- A toute l'équipe du laboratoire de Bactériologie - Hygiène hospitalière du CHU de Grenoble



Merci pour votre attention



K. pneumoniae (n = 13 dont 6 BLSE et une hyperproduction SHV)

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	4 hours				6 hours				8 hours			
		Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)	Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)	Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)
<u>Piperacillin-tazobactam</u>	20-6	100	23,1	92,3	7,7	100	23,1	92,3	7,7	100	30,8	100,0	
<u>Cefotaxime</u>	5	100		100,0		100	7,7	100,0		100	7,7	100,0	
<u>Ceftazidime</u>	10	100	15,4	100,0		100		100,0		100		100,0	
<u>Ceftolozane-tazobactam</u>	30-10	100	10,0	100,0		100	10,0	100,0		100	20,0	100,0	
<u>Imipenem</u>	10	100		100,0		100		100,0		100		100,0	
<u>Meropenem</u>	10	100		100,0		100		100,0		100		100,0	
<u>Ciprofloxacin</u>	5	100	30,8	100,0		100	15,4	100,0		100	23,1	100,0	
<u>Levofloxacin</u>	5	100	30,8	100,0		100	30,8	100,0		100	30,8	100,0	
<u>Amikacin</u>	30	100	7,7	100,0		100	7,7	100,0		100	15,4	100,0	
<u>Tobramycin</u>	10	100	7,7	100,0		100	7,7	100,0		100	7,7	100,0	
<u>Cotrimoxazole</u>	1.25-23.75	100		100,0		100		100,0		100		100,0	

© RICA1 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICA1 2021 Tous droits réservés.

K. pneumoniae BLSE (n = 20)

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	4 hours				6 hours				8 hours			
		Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)	Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)	Read (%)	ATU (%)	CA (%)	Error (%)
Piperacillin-tazobactam	30-6	100,0	50,0	90,0	10,0	100,0	50,0	80,0	20,0	100,0	60,0	100,0	
Cefotaxime	5	100,0	5,6	94,1	5,9	100,0		94,4	5,6	100,0		94,4	5,6
Ceftazidime	10	100,0	10,0	88,9	11,1	100,0		90,0	10,0	100,0		90,0	10,0
Ceftolozane-tazobactam	30-10	100,0	5,6	88,2	11,8	100,0	5,6	94,1	5,9	100,0	9,0	100,0	
Imipenem	10	100,0	5,0	100,0		100,0	5,0	100,0		100,0		100,0	
Meropenem	10	100,0		95,0	5,0	100,0		95,0	5,0	100,0		100,0	
Ciprofloxacin	5	100,0	15,0	100,0		100,0	10,0	100,0		100,0	15,0	100,0	
Levofloxacin	5	100,0	29,4	100,0		100,0	25,0	100,0		100,0	20,0	100,0	
Amikacin	30	100,0	30,0	92,9	7,1	100,0	10,0	94,4	5,6	100,0	15,0	88,2	11,8
Tobramycin	10	100,0	10,0	94,4	5,6	100,0	15,0	100,0		100,0	15,0	94,1	5,9
Cotrimoxazole	1.25-23.75	100,0		80,0	5,0	100,0		95,0	5,0	100,0		95,0	5,0

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

E. faecalis (n = 16)

<u>Antimicrobial agent</u>	<u>Disk content (µg)</u>	<u>4 hours</u>				<u>6 hours</u>				<u>8 hours</u>			
		<u>Read (%)</u>	<u>ATU (%)</u>	<u>CA (%)</u>	<u>Error (%)</u>	<u>Read (%)</u>	<u>ATU (%)</u>	<u>CA (%)</u>	<u>Error (%)</u>	<u>Read (%)</u>	<u>ATU (%)</u>	<u>CA (%)</u>	<u>Error (%)</u>
<u>Ampicillin</u>	2	87,5		100		87,5		100		100		100	
<u>Imipenem</u>	10	81,3		100		81,3		100		100		100	
<u>Vancomycin</u>	5	81,3	100,0			87,5	100,0			100	100,0		
<u>Linezolid</u>	10	68,8	36,4	100,0		81,3	30,8	100,0		100	12,5	100,0	
<u>Gentamicin HL</u>	30	75	41,7	14,3	88,9	81,3	7,7	61,5	30,8	93,8	20	83,3	16,7

Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.

© RICAI 2021 Tous droits réservés.

P. aeruginosa (n = 10)

Antimicrobial agent	Disk content (µg)	Read (%)	6 hours			Read (%)	8 hours		
			ATU (%)	CA (%)	Error (%)		ATU (%)	CA (%)	Error (%)
<u>Piperacillin-tazobactam</u>	30-6	100,0	50,0	80,0	20,0	100,0	40,0	100,0	
<u>Cefepim</u>	30	100,0	20,0	62,5	37,5	100,0	10,0	88,9	11,1
<u>Ceftazidime</u>	10	100,0	20,0	100,0		100,0	40,0	100,0	
<u>Ceftolozane-tazobactam</u>	30-10	100,0		77,8	22,2	100,0	11,1	87,5	12,5
<u>Imipenem</u>	10	100,0	10,0	100,0		100,0		100,0	
<u>Meropenem</u>	10	100,0		80,0	20,0	100,0	10,0	88,9	11,1
<u>Ciprofloxacin</u>	5	100,0	10,0	100,0		100,0	10,0	100,0	
<u>Levofloxacin</u>	5	100,0	20,0	100,0		100,0	40,0	100,0	
<u>Amikacin</u>	30	100,0		100,0		100,0		100,0	
<u>Tobramycin</u>	10	100,0		100,0		100,0		100,0	

© RICAI 2021 Tous droits réservés. Toute reproduction même partielle est interdite.