

Antibiogramme rapide en milieu solide sur milieu MHR (i2a) à partir du flacon d'hémoculture

Jean-Claude Nguyen
Laboratoire de Microbiologie Clinique
GHPSJ

Introduction

- Etude **prospective pilote** réalisée dans un laboratoire hospitalier de microbiologie clinique entre août 2016 et mars 2017.
- Détermination de la sensibilité aux antibiotiques réalisée à partir des flacons d'hémocultures positives par **inoculation directe** sur gélose de Mueller Hinton (MH), recommandations de la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (**BSAC**).

Matériel et méthodes

121 échantillons contenant 99 entérobactéries (82%) et 22 *S. aureus* (18%) ont été testés en parallèle par deux méthodes : MH standard (Biorad), incubé 16 heures et MHR (MH Rapide, i2a), incubé entre 6 et 8 heures.

Deux panels différents de disques antibiotiques ont été testés : 32 disques vis-à-vis des entérobactéries et 16 disques vis-à-vis des *Staphylococcus aureus*.

Matériel et méthodes

Les zones d'inhibition par lecture automatisée à l'aide du SIRscan 2000 automatic system (i2a) et interprétées en suivant les règles du CASFM-EUCAST 2016

Les discordances ont été classifiées comme suit :

Différence mineure (dm) : souche interprétée "S" ou "I" par une méthode et respectivement "I" ou "R" avec l'autre méthode

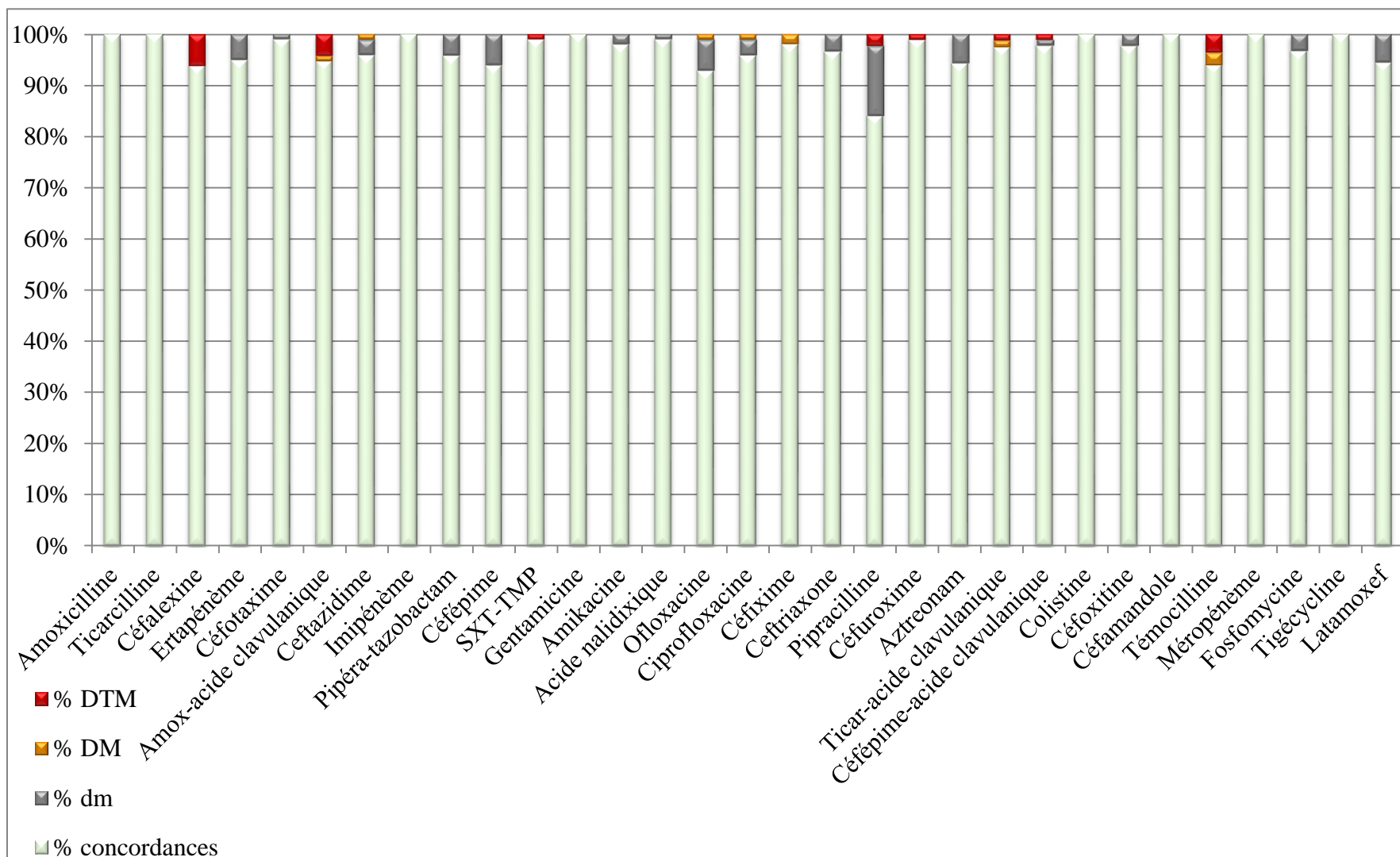
Différence majeure (DM) : souche interprétée "R" par la méthode MHR et "S" par la méthode standard

Différence très majeure (DTM) : souche interprétée "S" par la méthode MHR et "R" par la méthode standard

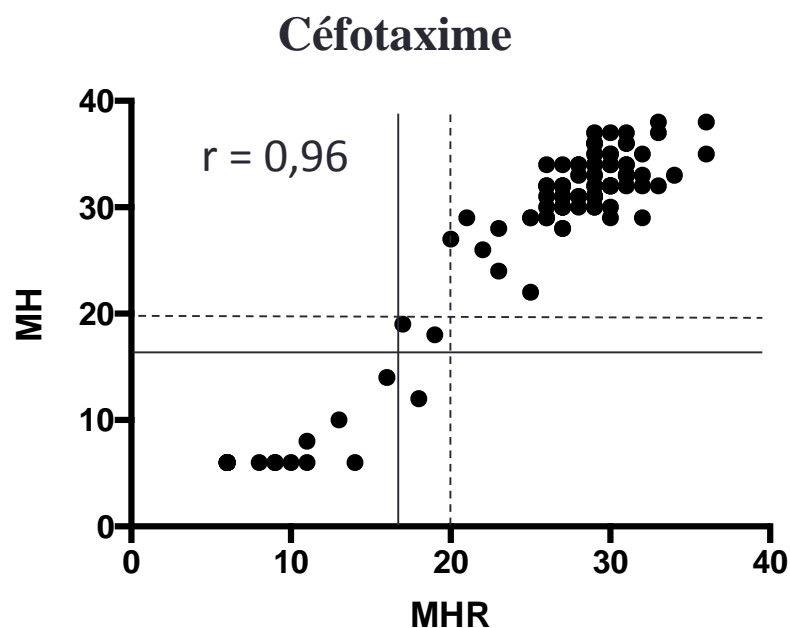
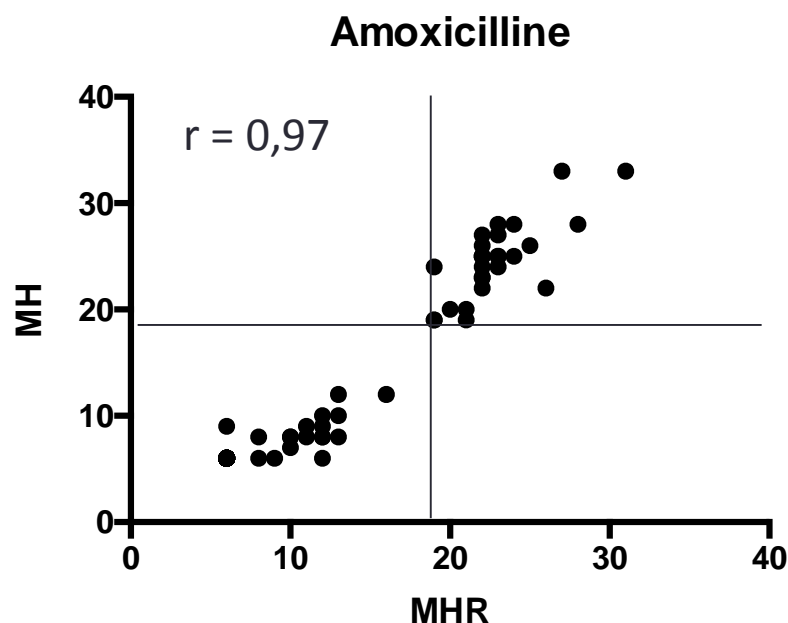
Résultats

- Parmi les 99 entérobactéries étudiées, 60 isolats (61%) étaient des *E. coli*, 16 isolats (16%) des *K. pneumoniae* et 9 isolats (9%) des *E. cloacae*. 2861 tests ont été réalisés.
- Les résultats montraient 2772 **(96.9%) concordances**, 62 (2.2%) dm, 8 (0.3%) DM et 19 (0.7%) DTM.
- Les différences mineures étaient observées pour la pipéracilline (19% des dm).
- Les différences très majeures étaient observées pour l'amoxicilline-acide clavulanique, la témocilline et sur les entérobactéries du groupe 3 pour la céfalexine.

Résultats: Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour les entérobactéries

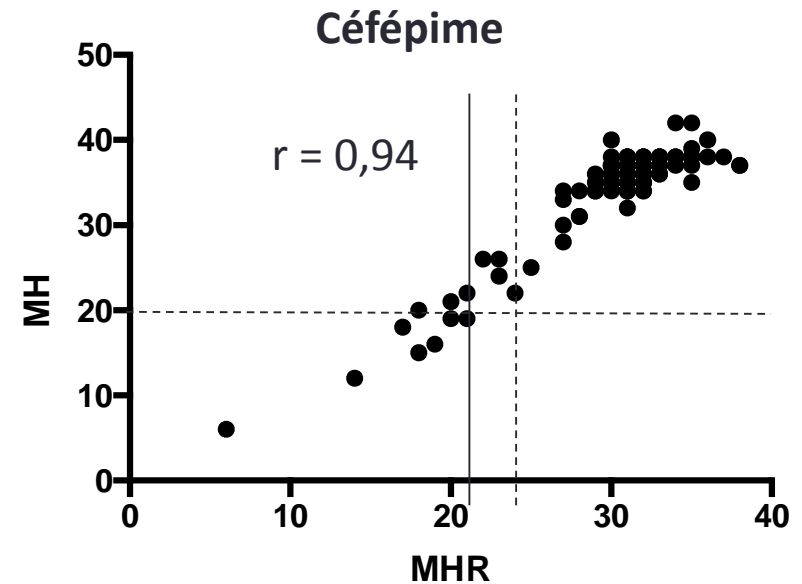
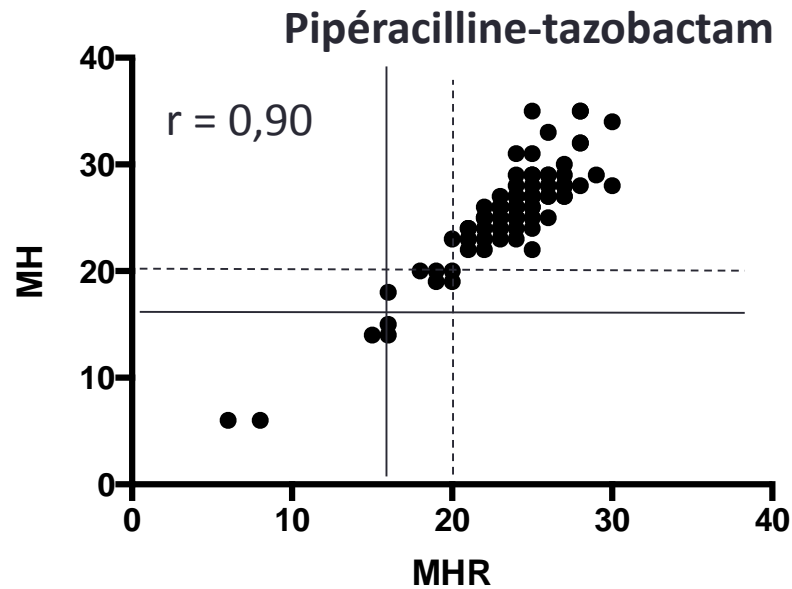


Résultats



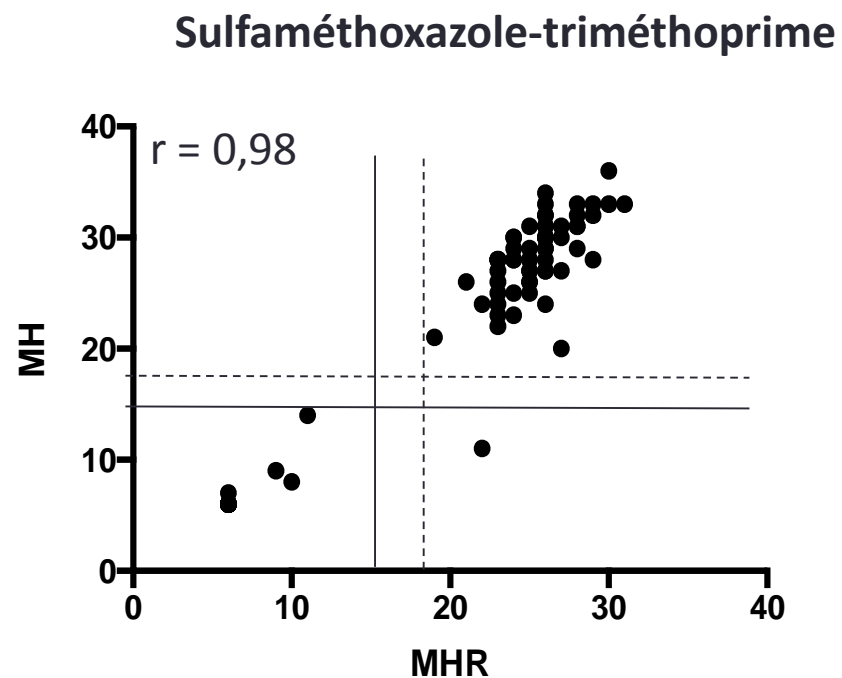
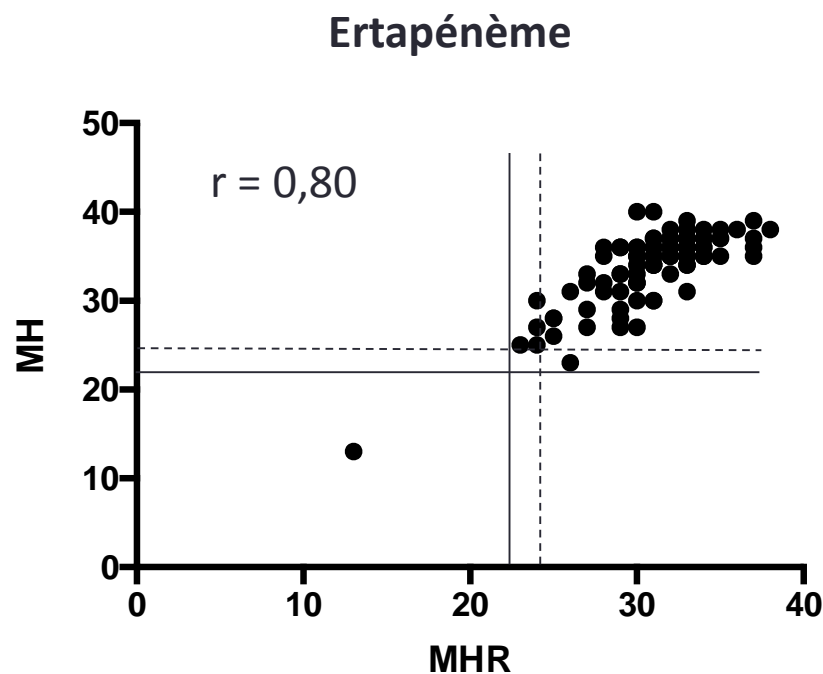
Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour l'amoxicilline, céfotaxime,
Les lignes pleines représentent la limite R/I, les lignes pointillées représentent
la limite I/S.

Résultats



Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour pipéracilline-tazobactam, céfépime, Les lignes pleines représentent la limite R/I, les lignes pointillées représentent la limite I/S.

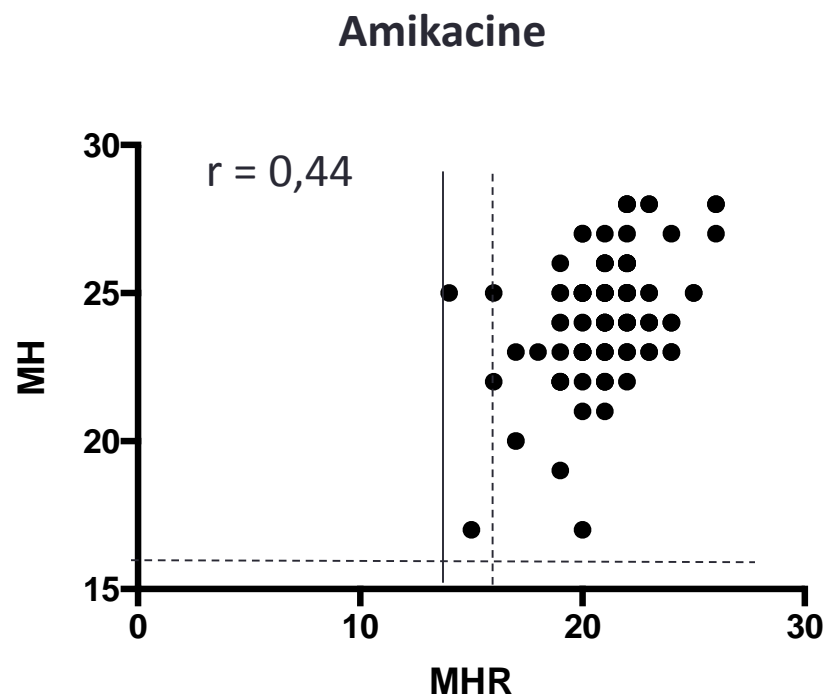
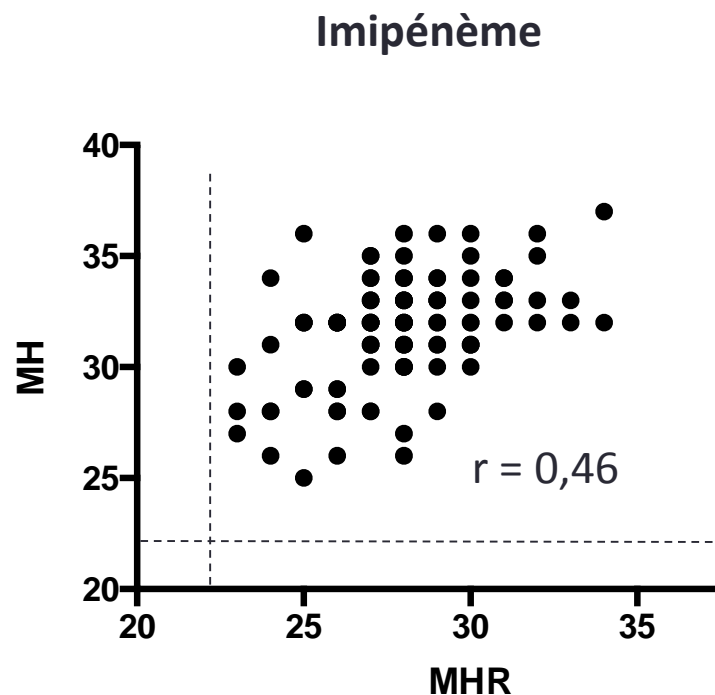
Résultats



Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour ertapénème, triméthoprim-sulfaméthoxazole.

Les lignes pleines représentent la limite R/I, les lignes pointillées représentent la limite I/S.

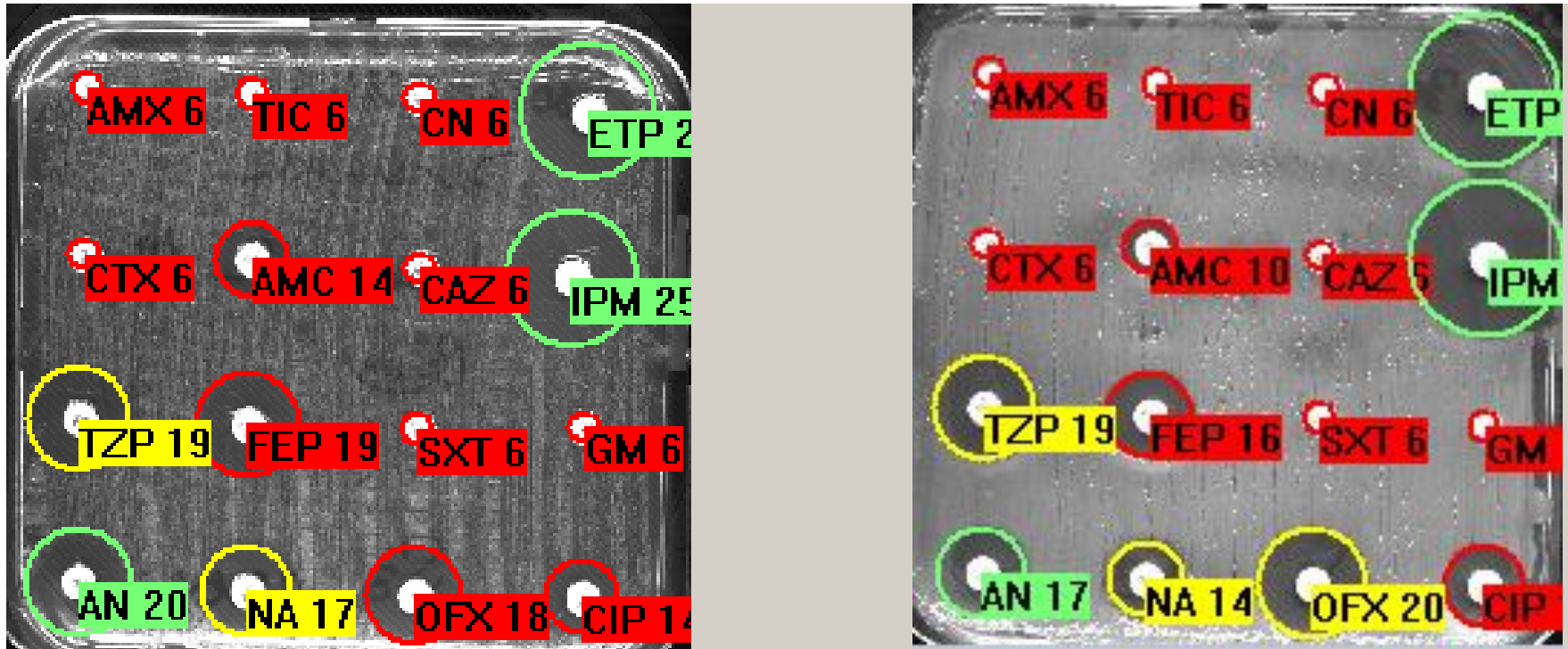
Résultats



Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour imipénème, amikacine

Les lignes pleines représentent la limite R/I, les lignes pointillées représentent la limite I/S.

Résultats



Photos SIR Scan en MHR à 6h (gauche) et MH à 16h (droite).

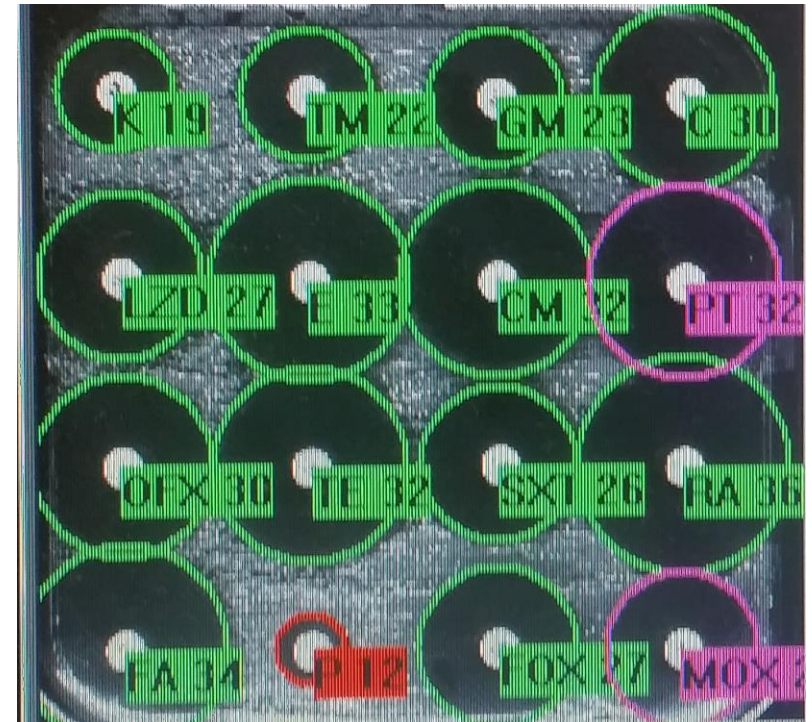
Exemple d'une *K. pneumoniae*.

Les sensibilités sont représentées en vert, les résistances en rouge et les zones intermédiaires en jaune.

Résultats

- Concernant le groupe contenant 22 *Staphylococcus aureus*:
A% SARM (4/22)
345 **(98,0%) concordances** sur les 352 tests réalisés et
6 (1,7%) dm,
pas de DM et
1 (0,3%) DTM
- Les différences mineures étaient principalement observées pour la céfoxitine (83% des dm).

Résultats



Photos SIR Scan en MHR à 6h (gauche) et MH à 16h (droite).
Exemple d'une hémoculture positive à *Staphylococcus aureus*

Discussion

- Analyse des discordances parmi les entérobactéries

Amoxicilline + ac.clavulanique (diamètre critique 19 mm)

5 DTM

19-16 mm, 19-16 mm → Plus grand

18-19 mm, 19-18 mm, 19-18 mm → Limite de la méthode

Discussion

- Analyse des discordances parmi les entérobactéries

Témocilline (diamètre critique 20 mm)

3 DTM

21-15 mm → Plus grand

21-19 mm, 18-20 mm → +/- Limite de la méthode

Discussion

- Analyse des discordances parmi les entérobactéries

Céfalexine (diamètre critique 19mm)

5 DTM

17-13 mm → Plus grand

16-6 mm, 19-6 mm, 15-6 mm, 19-6 mm grosse différence

Discussion

- Analyse des discordances parmi les staphylocoques dorés
- Les différences étaient principalement observées pour la céfoxitine.
- Ces différences disparaissent en appliquant les règles CASFM- EUCAST 2017 (diamètre critique à 22 mm).

Discussion

- **Impact clinique**

103 hémocultures à bacilles à Gram négatif entérobactéries;
15 % (16/103) de modification de traitement (escalade et désescalade)

Temps pour initier la modification: médiane à 7h15

Conclusion

Bonne concordance entre la méthode MHR et la méthode MH standard.

Discordances rapportées mais MHR permet de prédire les résultats de sensibilité aux antibiotiques.

Optimisation de la gestion des antibiotiques des patients bactériémiques en adaptant précocément le traitement antimicrobien .

Avancée significative pour la maîtrise du risque infectieux **à condition d'utiliser le résultat en temps réel.**

Remerciements

Claire Périllaud

L'ensemble de l'équipe de Microbiologie du GHPSJ et de l'Unité Mobile de Microbiologie Clinique (Dr Benoît Pilmis, Dr Barbara Vidal et Dr Carine Couzigou)

La société i2a et notamment Erika Costenzo, Stephane Rougale et Christian Curel

BSAC version 14 january 2015

- Direct antimicrobial susceptibility testing of urine specimens and blood cultures
- Direct susceptibility testing is not advocated as the control of inoculum is very difficult. Direct testing is, however, undertaken in many laboratories in order to provide more rapid test results. The following methods have been recommended by laboratories that use the BSAC method and. will achieve the correct inoculum size for a reasonable proportion of infected urines and blood cultures If the inoculum is not correct (i.e. growth is not semi-confluent) or the culture is mixed, the test must be repeated.

BSAC version 14 january 2015

- 3.3.2 Positive blood cultures

The method depends on the Gram reaction of the infecting organism.

- 3.3.2.1 **Gram-negative bacilli.**

Using a venting needle, place **one drop** of the blood culture in 5 mL of sterile water, then dip a sterile cotton-wool swab in the suspension and remove excess by turning the swab against the inside of the container. Use the swab to spread the inoculum evenly over the surface of the susceptibility plate.

BSAC version 14 january 2015

- 3.3.2.2 Gram-positive organisms.

It is not always possible accurately to predict the genera of Gram-positive organisms from the Gram's stain. However, careful observation of the morphology, coupled with clinical information, should make an "educated guess" correct most of the time.

- **Staphylococci** and enterococci.

Using a venting needle, place **three drops** of the blood culture in 5 mL of sterile water, then dip a sterile cotton-wool swab in the suspension and remove excess by turning the swab against the inside of the container. Use the swab to spread the inoculum evenly over the surface of the susceptibility plate.