

Antibiogramme rapide en milieu solide sur milieu MHR (i2a) directement à partir des urines

Jean-Claude Nguyen
Laboratoire de Microbiologie Clinique
GHPSJ



Introduction

Dans le contexte actuel de l'augmentation des bactéries multi-résistantes, le profil de résistance des entérobactéries devient imprévisible, aussi bien en communautaire qu'en milieu hospitalier.

Il apparaît donc intéressant de réduire ce délai à 6 - 8h afin d'adapter plus rapidement l'antibiothérapie probabiliste et d'éviter les échecs thérapeutiques.

Matériel et méthodes

Etude **prospective** réalisée dans un laboratoire hospitalier de microbiologie clinique entre août 2016 et mars 2017

215 échantillons d'urines avec les critères suivants :
leucocyturie > 50 leucocytes/mm³ **et** présence de seuls bacilles à Gram négatif (BGN) à l'examen direct

Matériel et méthodes

- Après examen direct, les échantillons ont été traités selon deux méthodes : méthode de référence (48h) et méthode rapide (8h).
- La méthode de référence consistait à ensemencer une gélose chromogène pour dénombrement bactérien et réalisation d'un antibiogramme en milieu Mueller Hinton (MH incubé 20h, Biorad,) à partir de cette culture (inoculum 0.5 McFarland).
- La méthode rapide consistait à ensemencer directement un antibiogramme en milieu MHR (MH rapide, i2a, incubé 6 à 8h) selon les recommandations de la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC)

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

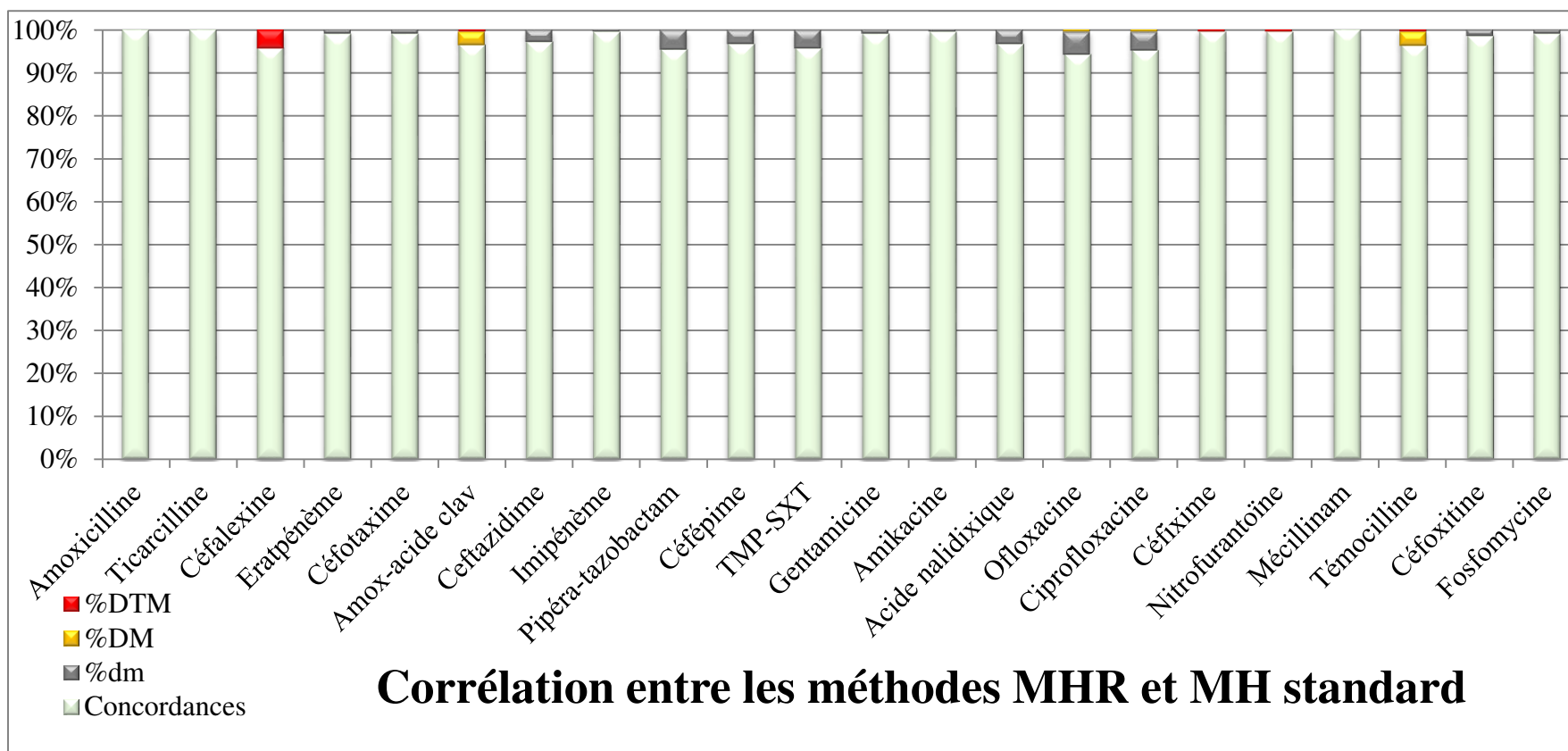
Parmi les 215 entérobactéries, la distribution des isolats était la suivante:

69 *E. coli* (79%), 19 *K. pneumoniae* (9%), 13 *P. mirabilis* (6%) et 14 autres entérobactéries (6%)

4634 tests ont été réalisés.

Les résultats montraient **4536 (97.9%) concordances**, 71 (1.5%) dm, 14 (0.3%) DM et 13 (0.3%) DTM.

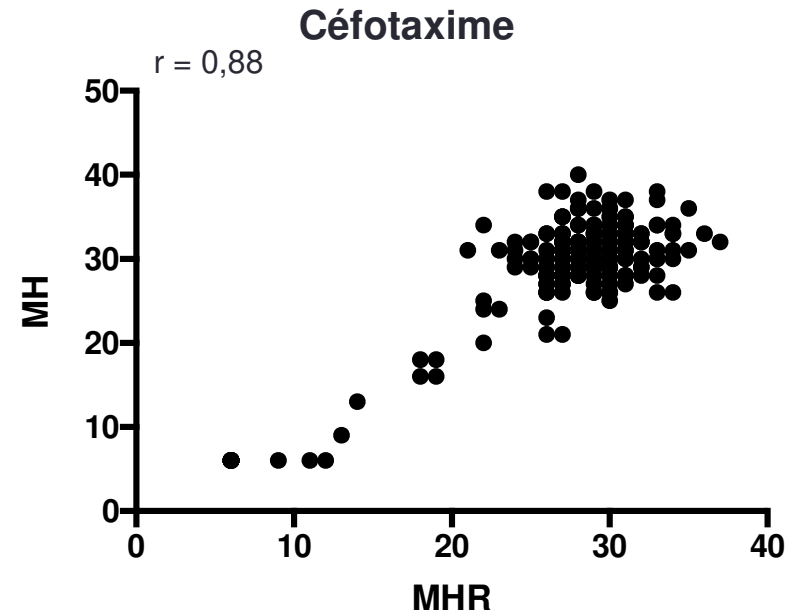
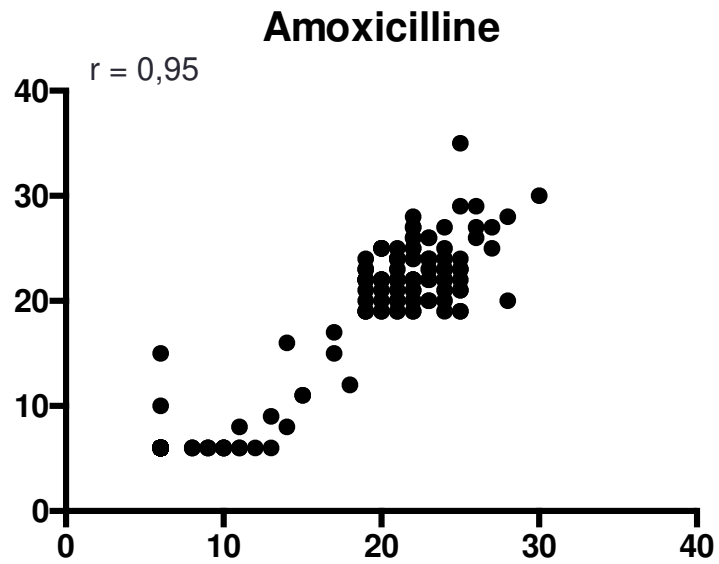
Résultats: Corrélation entre les méthodes MHR et MH



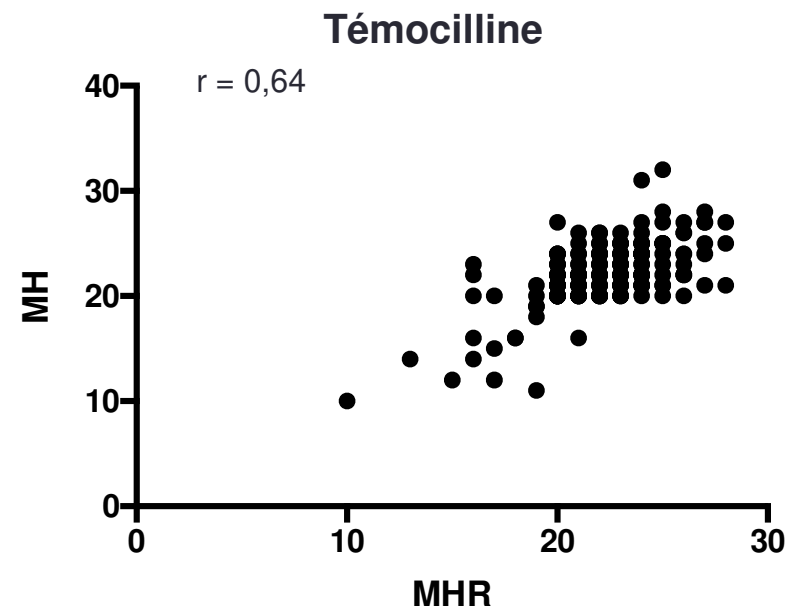
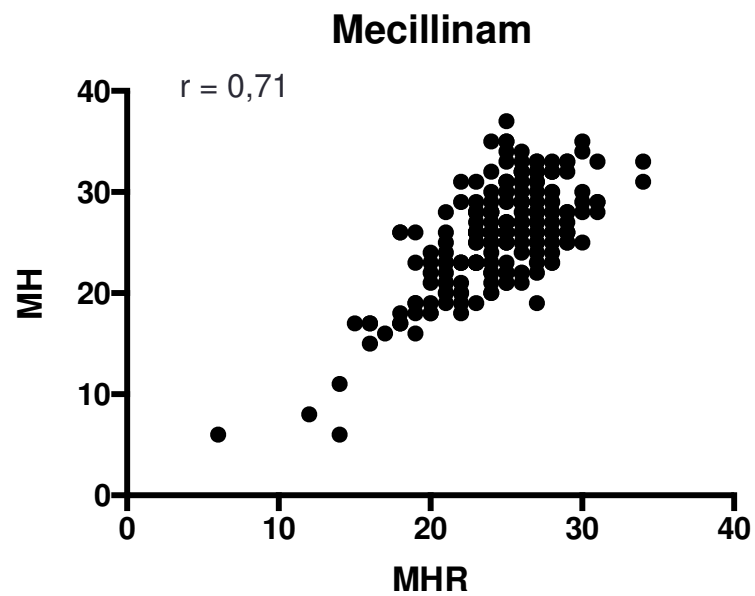
Résultats

- Les différences mineures (dm) étaient observées pour les fluoroquinolones (38% des dm)
- Les différences majeures (DM) étaient observées pour l'amoxicilline-acide clavulanique (43% des DM), la témocilline (43% des DM)
- Les différences très majeures (DTM) s'observaient majoritairement autour de la céfalexine (69% des DTM).

Résultats

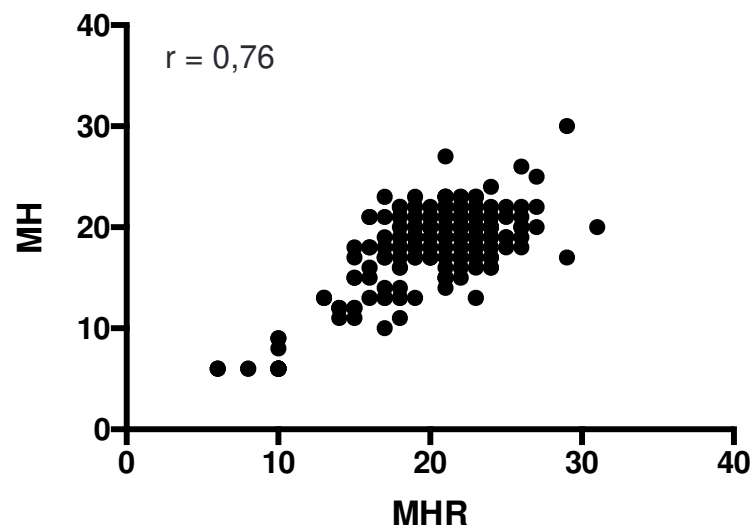


Résultats

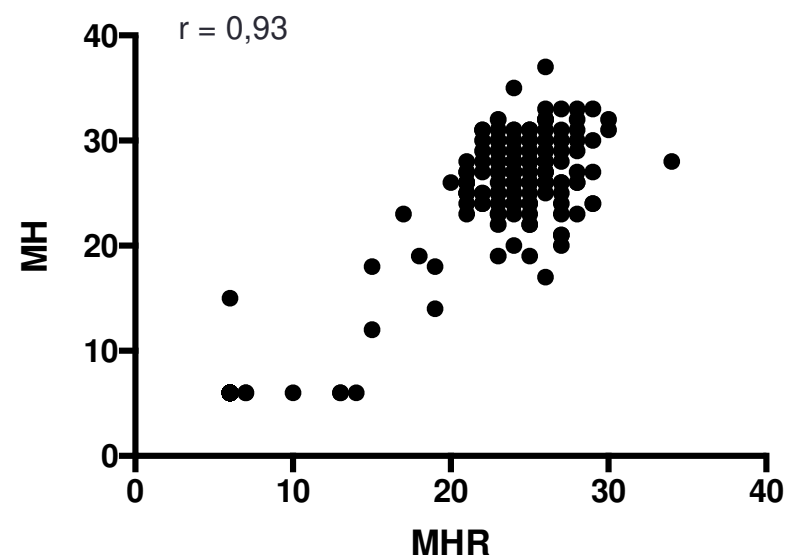


Résultats

Nitrofurantoïne



Sulfaméthoxazole-triméthoprim



Conclusion

Bonne corrélation entre les résultats des antibiogrammes obtenus directement à partir de l'urine en milieu MHR et ceux obtenus à partir d'une subculture en milieu MH.

Technique MHR testée entraîne un gain de temps important : le délai d'obtention d'un antibiogramme à partir d'un ECBU diminue de 48h en méthode standard contre 6 à 8h en méthode MHR. Elle permet donc une adaptation thérapeutique précoce.

Technique rapide est néanmoins **dépendante d'un inoculum bactérien** de départ ainsi que du **caractère mono-microbien** de l'urine.

Conclusion

Impact clinique

Évalué sur 60 ECBU avec 1/5 de modifications de traitement (1/3 d'escalade et 2/3 de desescalade).

Exemples:

✓ Escalade Entérobactérie BLSE :

Traitement initial CRO ou CTX → Ertapénème

✓ Desescalade *E. coli* sauvage

Traitement initial CRO ou CTX → Amoxicilline
FQ *per os*

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

Pourcentage des urines à BGN exclues

- Toutes les urines confondues car stériles, pas pures, erreur examen direct...): **26%**
- Si urines pures qui n'ont pas poussé du fait d'un inoculum insuffisant (ou boîte gélose trop froide...): **7%**

Analyse des discordances

Acide nalidixique (diamètres critiques <14 et ≥ 19 mm) 7 dm

5 dm: I pour R : 14-11 mm, 14-12 mm, 14-10mm, 16-13 mm, 16-12 mm,

2 dm S pour I: 20 15mm, 19-11 mm

Ofloxacin (diamètres critiques <19 et ≥ 22 mm) pour 2016

12 dm

1DM 18-22 mm

Ciprofloxacine (diamètres critiques <19 et ≥ 22 mm) pour 2016

9 dm

1 DM 18-23 mm

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

3.3.1 Urine specimens

3.3.1.1 Method 1

Thoroughly mix the urine specimen, then place a 10 L loop of urine in the centre of the susceptibility plate and spread evenly with a dry swab.

3.3.1.2 Method 2

Thoroughly mix the urine specimen, then dip a sterile cotton-wool swab in the urine and remove excess by turning the swab against the inside of the container. Use the swab to make a cross in the centre of the susceptibility plate and spread evenly with another sterile dry swab. If only small numbers of organisms are seen in microscopy, the initial cotton-wool swab may be used to inoculate and spread the susceptibility plate.