

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

Claire Périllaud<sup>1</sup>, Benoît Pilmis<sup>2</sup>, Julien Diep<sup>2</sup>, Simon Perreau<sup>1</sup>, Louise Ruffier d'Epenoux<sup>1</sup>, Sophie Reissier<sup>1</sup>, Assaf Mizrahi<sup>1</sup>, Julie Lourtet<sup>1</sup>, Alban Le Monnier<sup>1</sup> and Jean-Claude Nguyen Van<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Laboratoire de Microbiologie Clinique, <sup>2</sup>Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph  
185 rue Raymond Losserand 75014 Paris.  
jcnguyen@hpsj.fr

### Introduction

Lors d'épisodes de bactériémies et selon le contexte clinique un traitement antibiotique probabiliste est généralement instauré. Bien que l'examen direct d'une hémoculture positive et l'identification du pathogène aident le clinicien à adapter une antibiothérapie empirique, la détermination de la sensibilité aux antibiotiques représente un enjeu majeur dans la prise en charge des bactériémies. Le profil de résistance est en effet imprévisible et peut mener à des échecs thérapeutiques. Une détermination rapide de la sensibilité aux antibiotiques permet une optimisation précoce du traitement et de réduire la mortalité [1] [2].

### Matériel & Méthodes

Cette étude prospective pilote a été réalisée dans un laboratoire hospitalier de microbiologie clinique entre août 2016 et mars 2017. La détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée à partir des flacons d'hémocultures positives par inoculation directe sur gélose de Mueller Hinton (MH) selon les recommandations de la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) [3]. Cent vingt-et-un 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*. Les zones d'inhibition ont été lues par lecture automatisée à l'aide du SIRscan 2000 automatic system (i2a) et interprétées en suivant les règles du CASFM-EUCAST 2016. Pour chaque couple bactérie-antibiotique, nous avons comparé la concordance d'interprétation entre les deux méthodes : Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R). 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

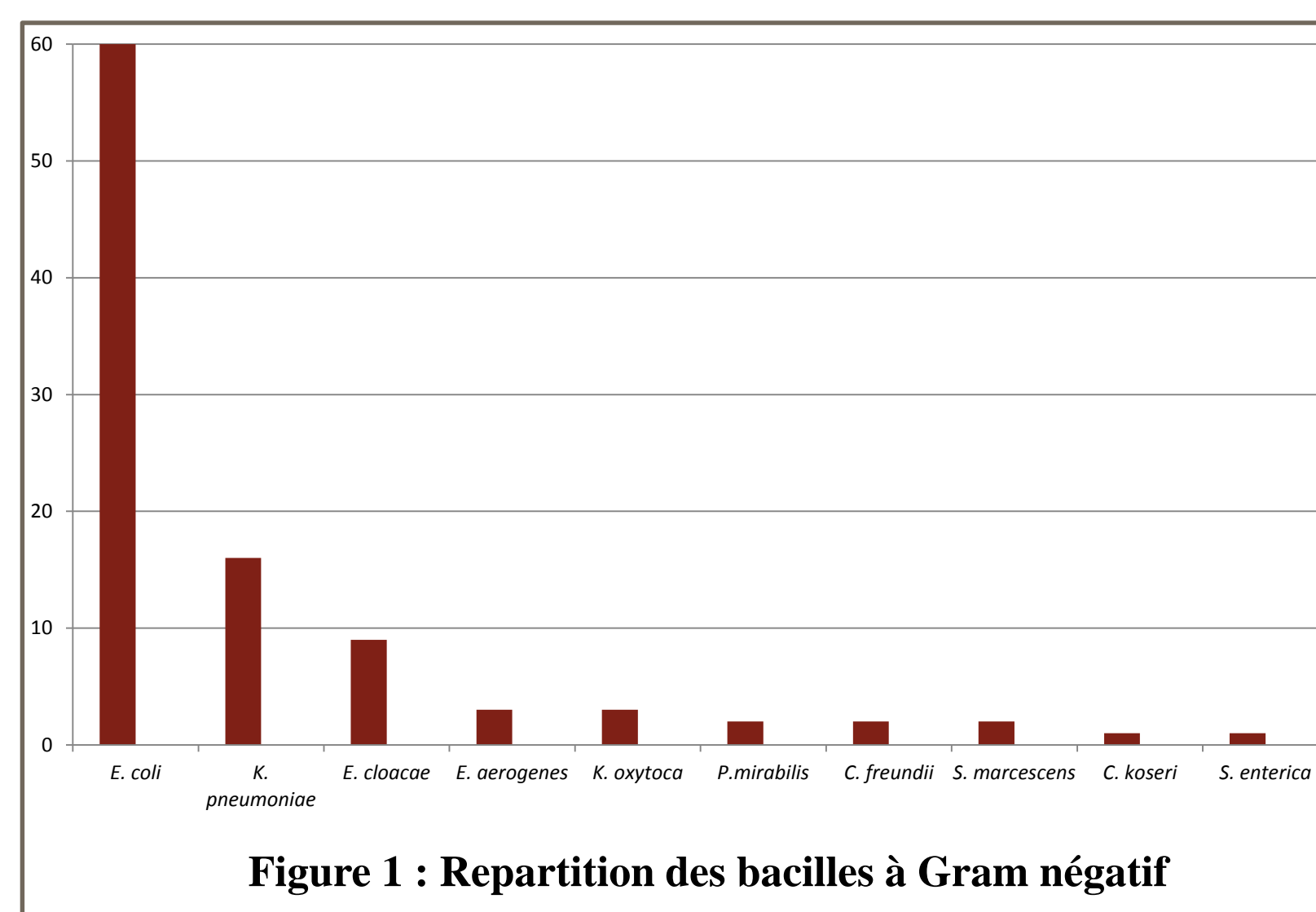


Figure 1 : Repartition des bacilles à Gram négatif

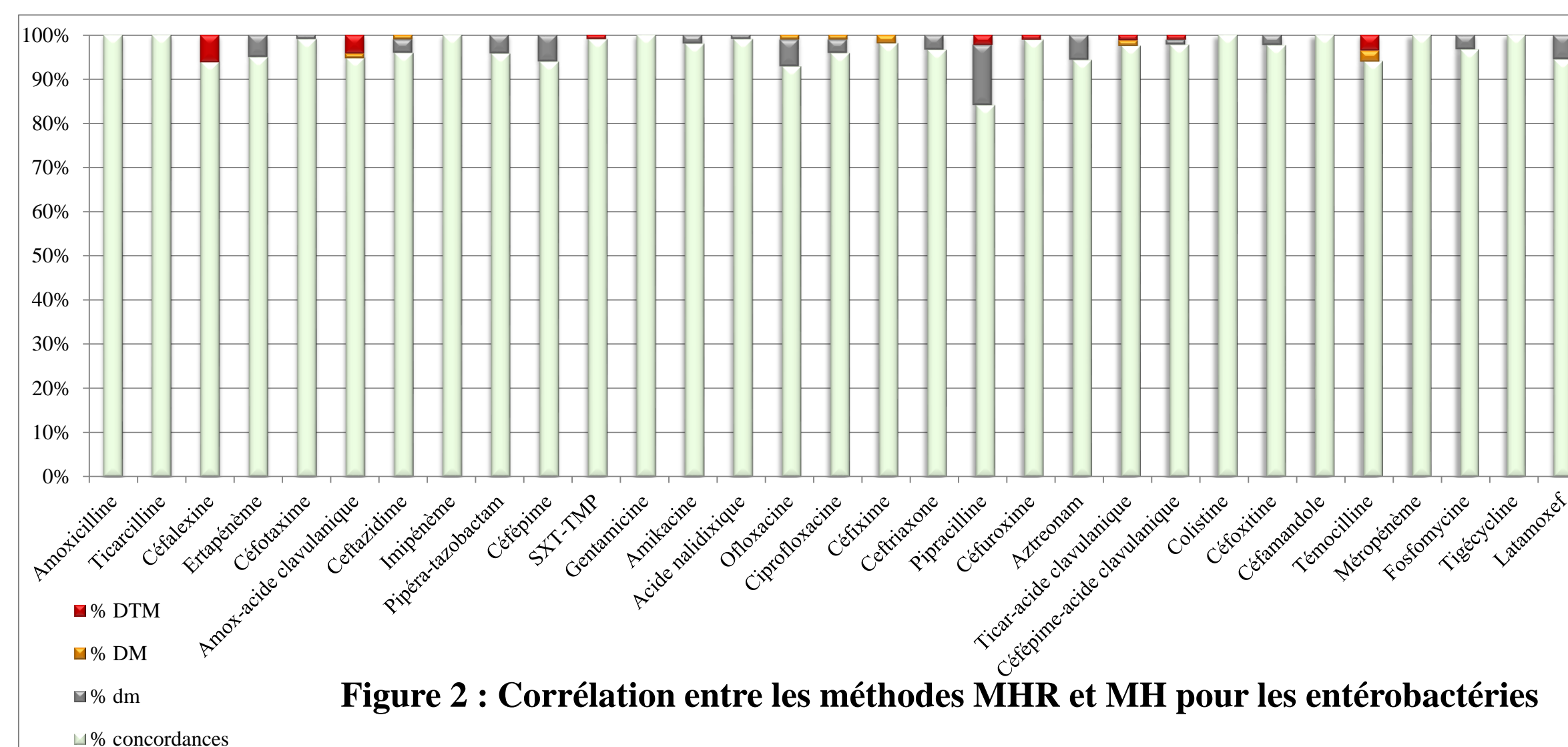


Figure 2 : Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour les entérobactéries

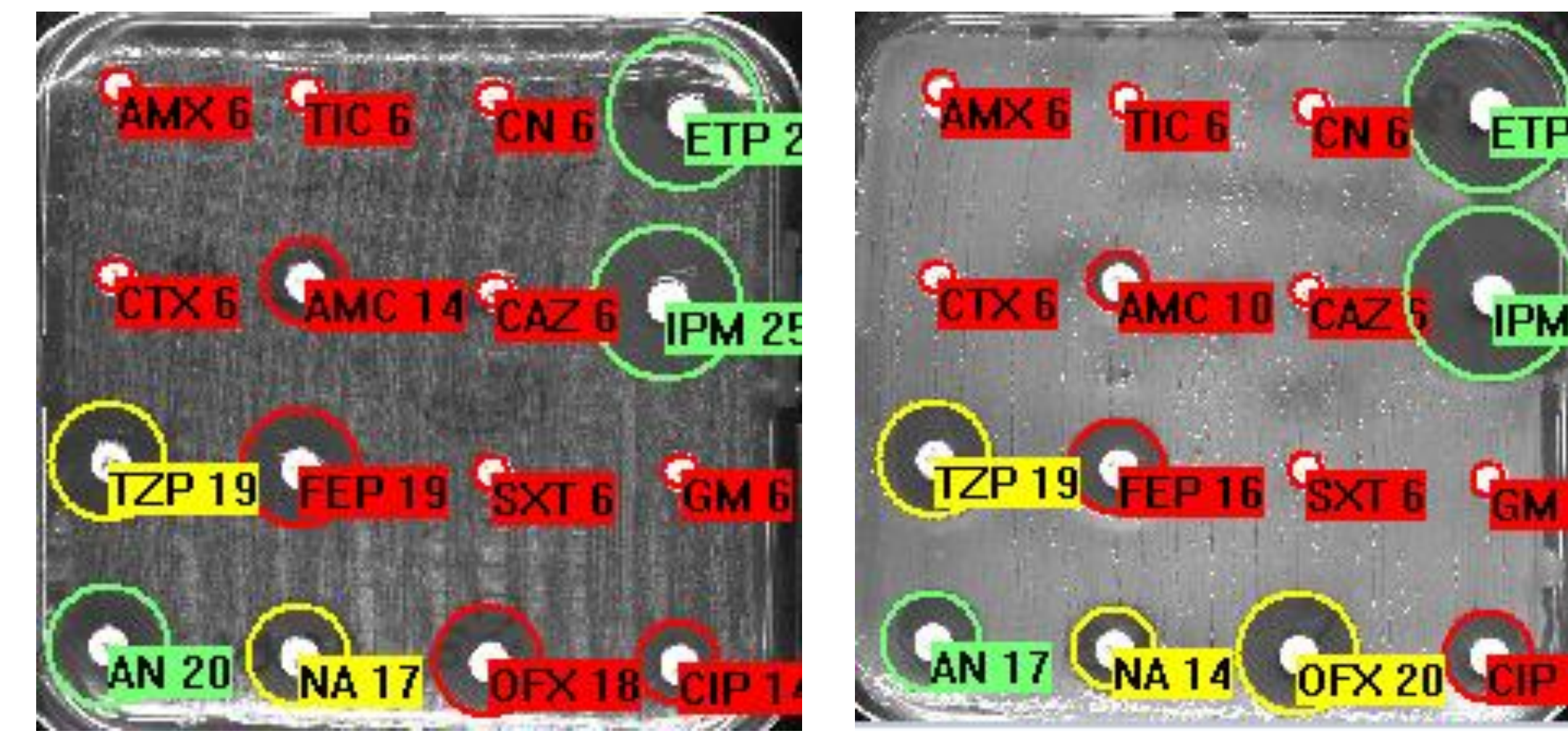


Figure 3 : Photos SIR Scan en MHR à 6h (gauche) et MH à 16h (droite). Exemple d'une *K. pneumoniae*. Les sensibilités sont représentées en vert, les résistances en rouge et les zones intermédiaires en jaune.

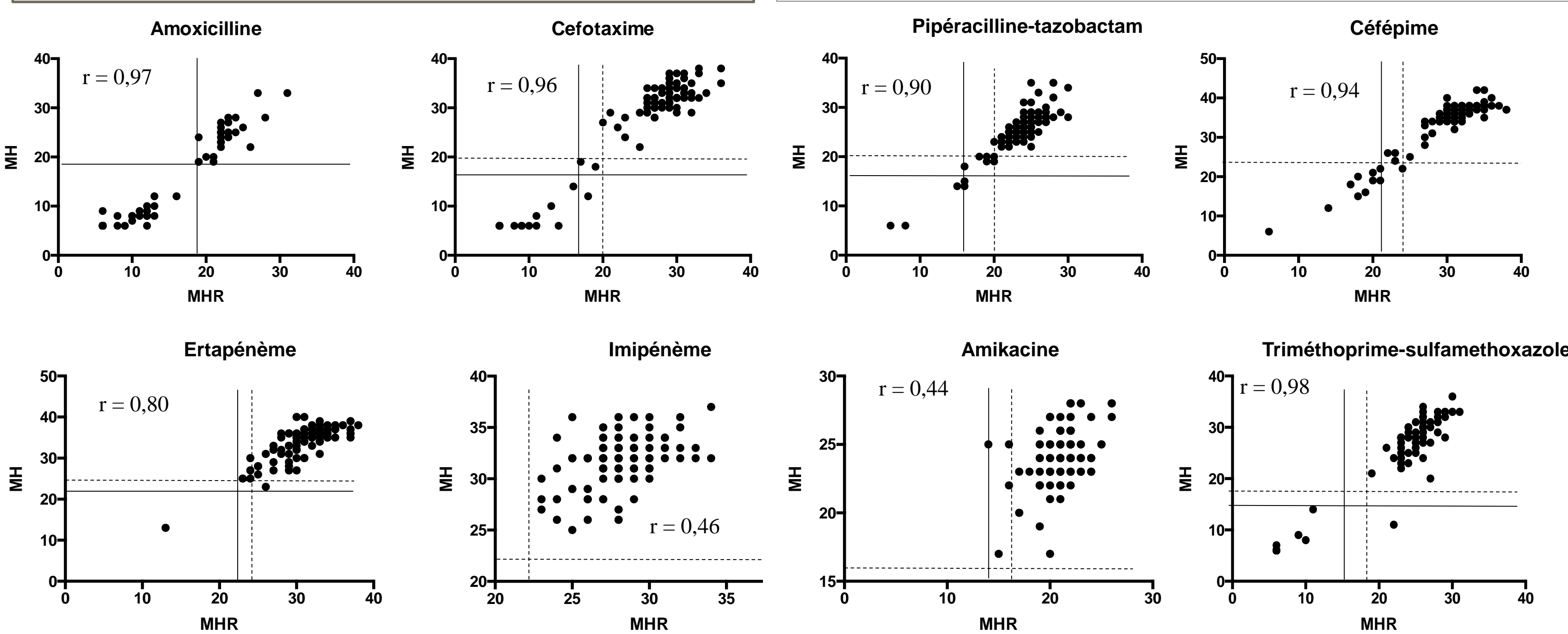


Figure 4 : Corrélation entre les méthodes MHR et MH pour l'amoxicilline, céfotaxime, pipéracilline-tazobactam, céfépime, ertapénème, imipénème, amikacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole. Les lignes pleines représentent la limite R/I, les lignes pointillées représentent la limite I/S.

Les tests ont été réalisés sur 121 échantillons sanguins provenant de patients avec des hémocultures positives à entérobactéries ou *S. aureus*. Au total, 3206 combinaisons antibiotiques-bactéries ont été évaluées.

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* (Figure 1). 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.

Concernant le groupe contenant 22 *S. aureus*, nous avons trouvé 345 (98,0%) concordances sur les 352 tests réalisés et avons observé 6 (1,7%) dm, pas de DM et 1 (0,3%) DTM. Les différences mineures étaient principalement observées pour la céfoxitine (83% des dm).

### Discussion & Conclusion

Une bonne concordance entre la méthode MHR et la méthode MH standard a été observée (Figure 2). La croissance bactérienne était lisible entre 6 et 8 heures de culture (Figure 3). Bien que des discordances aient été rapportées, le MHR peut prédire les résultats de sensibilité aux antibiotiques [4] et permet une adaptation précoce de l'antibiothérapie. Néanmoins, la céfalexine n'était pas fiable vis-à-vis des entérobactéries du groupe 3 (31% de DTM pour la céfalexine dans ce groupe), ce qui n'a en pratique pas de conséquence clinique. De plus, pour la témocilline et l'amoxicilline-acide clavulanique, qui ne possèdent pas de zone intermédiaire, il peut y avoir une incertitude d'interprétation lorsque les diamètres sont proches de la limite. Les différences mineures autour du disque de pipéracilline sont probablement expliquées par une faible sensibilité de détection des pénicillinases. Nous avons obtenu de bons coefficients de corrélation des diamètres entre MH et MHR (Figure 4), excepté pour l'imipénème et l'amikacine, car toutes nos souches étudiées étaient sensibles à ces antibiotiques. Concernant nos essais sur les *S. aureus*, la résistance à la méticilline n'était pas systématiquement prédictible du fait de la présence d'une zone d'incertitude. En interprétant à nouveau les diamètres d'inhibition obtenus avec les règles récentes du CASFM 2017 (diamètre limite à 22 mm sans zone d'incertitude), la concordance pour la céfoxitine est alors de 100%.

Ce test rapide de sensibilité aux antibiotiques par diffusion en milieu gélosé MHR (i2a, Montpellier, France) permet d'optimiser la gestion des antibiotiques des patients bactériémiques en adaptant précocement le traitement antimicrobien et constitue donc une avancée significative pour la maîtrise du risque infectieux.

### Références

1. Kumar 2009 « Initiation of Inappropriate Antimicrobial Therapy Results in a Fivefold Reduction of Survival in Human Septic Shock ». Chest, 2009 Nov;136:1237-48. doi: 10.1378/chest.09-0087. Epub 2009 Aug 20
2. Van den Bijlart 2017 « Shortening the incubation time for antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion for Enterobacteriaceae: how short can it be and are the results accurate ? ». J. Antimicrob. Agents 2017 May;49(5):631-637. doi:10.1016/j.jantimicag.2016.12.019. Epub 2017 Mar 3
3. BSAC 2013 Methods for antimicrobial susceptibility testing. [http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Version-12-Apr-2013\\_final1.pdf](http://bsac.org.uk/wp-content/uploads/2012/02/Version-12-Apr-2013_final1.pdf)