

# Stratégie d'adaptation précoce de l'antibiothérapie dans les bactériémies à bacilles Gram négatif : Intérêt de l'identification par MALDI-TOF-MS combinée avec le test $\beta$ -LACTA™

J. Amzalag, A. Mizrahi, C. Couzigou, B. Pilmis, A. Le Monnier

Laboratoire de microbiologie clinique et dosages des anti-infectieux, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris, France  
Equipe mobile de microbiologie clinique, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph, Paris, France



Spectromètre de masse Andromas®

## INTRODUCTION

Les patients présentant une bactériémie à bacilles à Gram négatif (BGN) ont une morbi-mortalité élevée. Face à une augmentation de l'incidence des bactériémies à BGN résistants aux C3G, il apparaît important d'orienter rapidement le diagnostic étiologique pour la mise en place précoce d'une antibiothérapie probabiliste adaptée. En effet, une antibiothérapie inappropriée est associée à une augmentation de la mortalité et de la durée moyenne d'hospitalisation. L'application du MALDI-TOF MS (matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry) pour l'identification des micro-organismes a significativement diminué leur délai d'identification. Plus récemment, l'utilisation du kit A-MUST® (Andromas- Maldi Universel Sepsis Test) a permis l'utilisation du MALDI-TOF directement à partir des flacons d'hémoculture. L'objectif de cette étude a été d'évaluer l'impact de l'identification précoce par MALDI-TOF combinée avec le  $\beta$ -LACTA™ test sur l'adaptation de l'antibiothérapie.

## MATERIELS ET METHODES

Sur une période de 18 mois, une identification a été réalisée directement à partir des flacons d'hémoculture positive à BGN (FA/FN Plus, APB, BacT/ALERT®) par MALDI-TOF-MS ANDROMAS® à l'aide du kit A-MUST® permettant l'obtention d'un résultat rapide (environ 30 minutes).

L'analyse a porté sur le premier flacon des premiers épisodes de bactériémies à BGN, tous services confondus, les doublons et les hémocultures polymicrobiennes ayant été exclus. Le seuil d'identification de 67% (score MS) permettait de définir l'identification comme certaine. En cas d'échec ou d'identification probable (<67%), celle-ci était confirmée le jour suivant par MALDI-TOF-MS ANDROMAS® à partir des colonies isolées par culture sur milieux gélosés.

Durant les 8 derniers mois de l'étude, l'identification par MALDI-TOF a été combinée au  $\beta$ -LACTA™ test permettant la détection rapide de la résistance aux C3G directement à partir des flacons d'hémoculture. Les souches ont été considérées comme résistantes lorsque la ceftazidime et/ou le cefotaxime présentaient un diamètre diminué sur l'antibiogramme selon les normes du CA-SFM. Le BLT a été pratiqué sur culot de centrifugation des hémocultures pour lesquelles des bacilles à Gram négatif étaient observés à la coloration de Gram. Après ajout des réactifs fournis par le fabricant, la couleur initiale du mélange a été notée. Après 15 minutes d'incubation, tout virage coloré en rouge est interprété comme résultat positif et la coloration orange comme ininterprétable, selon les recommandations du fabricant.



## RESULTATS

Parmi les 378 épisodes bactériémiques survenus pendant l'étude, 294 (77,8%) étaient dus à des entérobactéries dont 187 à *Escherichia coli* (49,5%).

Le MALDI-TOF-MS, effectué sur 315 isolats, a permis une bonne identification dans 89,2% des cas (281/315), toutes les identifications probables ayant été confirmées le jour suivant sur colonies isolées en culture.

Parmi tous les épisodes inclus, 32 espèces différentes ont été identifiées (Tableau 1)

Tableau 1 : Répartition des espèces responsables de bactériémies à bacilles à Gram négatif (n=315)

Espèce	Id. certaine	Id. probable	Echec	Total
<b>Entérobactéries groupe 1 et 2</b>				
<i>Escherichia coli</i>	125	27	8	160
<i>Klebsiella spp.</i>	30	4	3	37
<i>Citrobacter koseri</i>	2	4	0	6
<i>Proteus mirabilis</i>	6	3	0	9
<b>Entérobactéries groupe 3</b>				
<i>Enterobacter spp.</i>	16	1	1	18
Autres	7	4	3	14
<b>BGN non fermentants</b>				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	6	4	34
Autres	1	1	2	4
<i>Campylobacter spp.</i>	1	0	6	7
<b>Anaérobies stricts</b>				
<i>Bacteroides spp.</i>	13	2	2	17
Autres	1	0	3	4
Autres	0	3	2	5
<b>Total</b>	<b>226 (71,7%)</b>	<b>55 (17,5%)</b>	<b>34 (10,8%)</b>	<b>315</b>

Parmi ces 315 épisodes bactériémiques pour lesquels le MALDI-TOF a été réalisé, le BLT a été effectué sur 152 flacons hémocultures durant les 8 derniers mois de l'étude (Tableau 2).

Tableau 2 : Mécanismes de résistance des BGN dans les hémocultures (n=152)

Espèces	Souches C3G-S	BLSE	AmpC	Autres	Total	$\beta$ -LACTA™ test Positifs (%)
<i>Escherichia coli</i>	69	13	1	0	83	14 (100)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	4	0	0	17	4 (100)
Entérobactéries du groupe 3 <sup>a</sup>	13	3	2	0	18	4 (80)
<i>Pseudomonas spp.</i>	11	0	2	0	13	0 (0)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	2	0	1 <sup>b</sup>	4	3 (100)
<i>Bacteroides spp.</i>	3	0	0	1 <sup>c</sup>	4	1 (100)
<i>Proteus mirabilis</i>	3	0	0	0	3	0
<i>Citrobacter koseri</i>	3	0	0	0	3	0
Autres <sup>d</sup>	7	0	0	0	7	0

<sup>a</sup> 11 *Enterobacter cloacae*, 4 *Serratia marcescens*, 1 *Hafnia alvei*, 1 *Morganella morganii*, 1 *Providencia stuartii*

<sup>b</sup> 1 *K. oxytoca* de phénotype Hyper OXY

<sup>c</sup> 1 *B. fragilis* produisant une carbapénémase

<sup>d</sup> 2 *Acinetobacter baumannii*, 2 *Salmonella sp.*, 1 *Rhizobium radiobacter*, 1 *Pseudomonas putida* et 1 *Prevotella buccae*

Au total 26 BLT ont été positifs parmi les 150 bouillons d'hémocultures testés. Le test n'a rendu aucun résultat faussement positif et aucun résultat ininterprétable.

La sensibilité et la spécificité du  $\beta$ -LACTA™ test sont respectivement de 89,7 et 100%.

Le BLT a permis de détecter :

-22 BLSE (100%)

-2 céphalosporinases de type AmpC hyperproduites ou dérégulées (40%)

-1 souche de *Bacteroides fragilis* produisant une carbapénémase (100%)

-1 souche de *K. oxytoca* hyperproduisant une pénicillinase chromosomique de type OXY (100%)

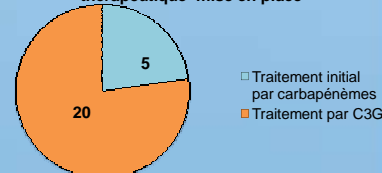
Lorsque les identifications étaient certaines (MS score >67%), les résultats ont été communiqués à l'équipe mobile de microbiologie clinique (EMMC), ce qui a permis une adaptation précoce de l'antibiothérapie en fonction de l'étiologie.

En effet, la bonne identification des entérobactéries du groupe 3 (n=23) a permis l'instauration d'un traitement par céfépime très précocement après que l'hémoculture se soit positivisée. Concernant les bactériémies à *P. aeruginosa* (n=24), un traitement par ceftazidime ou autre antibiotique actif sur le bacille Gram négatif non fermentant a pu rapidement être mis en place.

Enfin, en cas de bactériémies à bactéries anaérobies (n=14), témoignant d'une probable porte d'entrée digestive, un traitement par métronidazole ou par un inhibiteur de bêta-lactamases a pu être instauré précocement.

Parmi les 20 patients ayant reçu comme traitement probabiliste une C3G, 15 d'entre eux ont bénéficié d'une adaptation thérapeutique par carbapénèmes, 1 patient par cotrimoxazole, 1 patient par piperacilline-tazobactam et 3 n'ont pas reçu d'adaptation thérapeutique (2 décès, et une souche de *K. oxytoca* sensible au cefotaxime).

Figure 1 : Traitement probabiliste des bactériémies à BLSE et adaptation thérapeutique mise en place



## Impact clinique du BLT

L'impact clinique du BLT a été évalué chez les patients initialement traités par C3G (n=20), sur la base du gain de temps pour l'adaptation du traitement antibiotique (n=17, 29,5h) et de celui pour la mise en place de précautions complémentaires contact (PCC) (n=15, 32,1h). Le temps moyen de rendu du BLT est de 4,4h (n=21) contre 33,7h (n=21) pour le rendu de l'antibiogramme.

## CONCLUSION

L'utilisation conjointe d'une identification rapide et de la détermination précoce du profil de résistance aux C3G permet une meilleure prise en charge des patients bactériémiques pour lesquels l'adaptation thérapeutique est significativement plus précoce. Enfin, cette stratégie s'inscrit positivement dans la maîtrise du risque infectieux avec la mise en place précoce de précautions complémentaires contact adéquates.

L'utilisation du  $\beta$ -LACTA™ test permet donc d'orienter le diagnostic avec une grande spécificité (100%) en faveur d'une BLSE et donc de cibler les patients pour lesquels l'utilisation des carbapénèmes est entièrement justifiée et nécessaire.