

Le diagnostic rapide des infections à staphylocoques peut-il améliorer le bon usage des antibiotiques ?

Le point de vue du clinicien : *T. Ferry*

Le point de vue du microbiologiste : *F. Laurent*

Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon

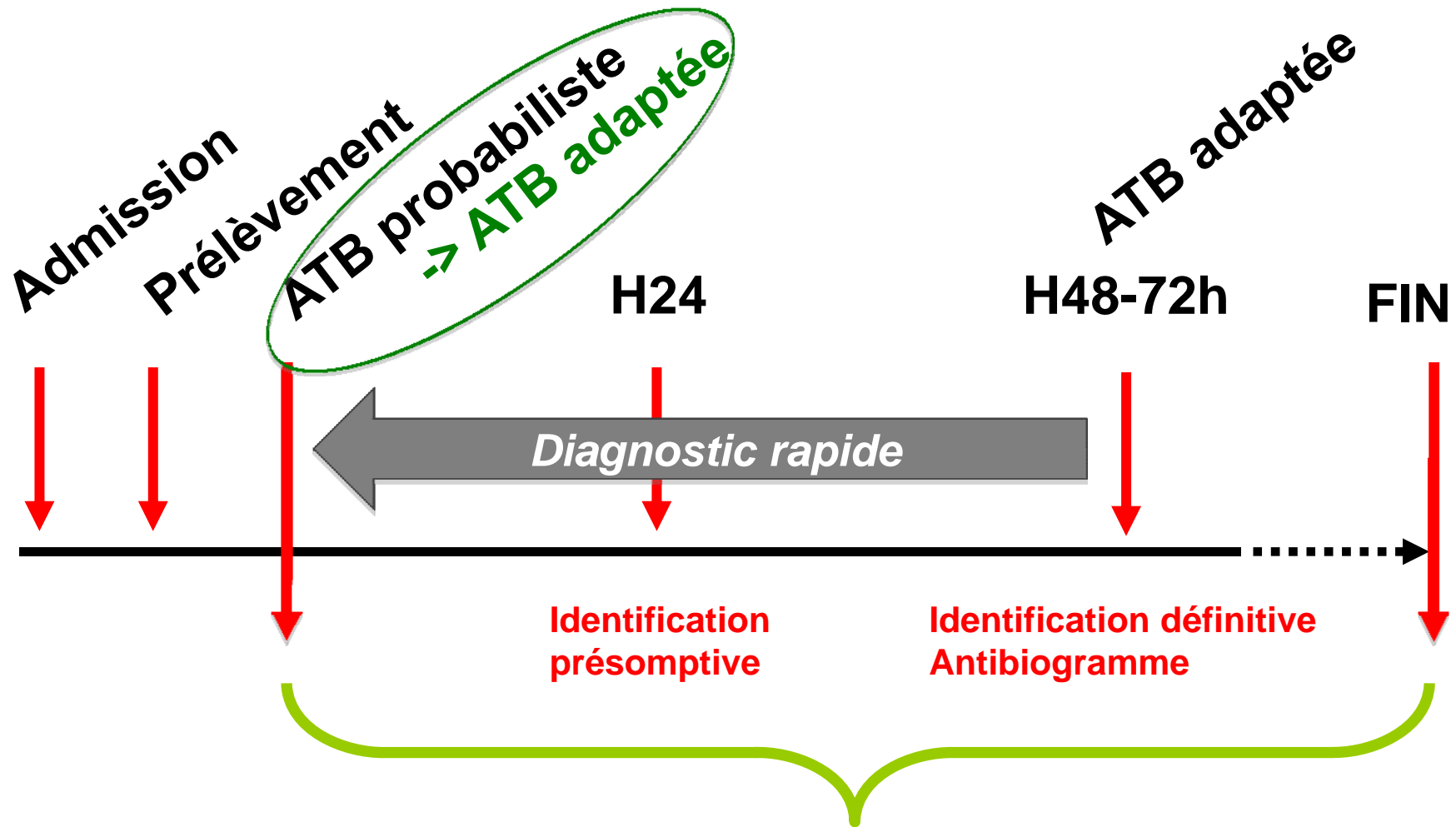
Université Claude Bernard Lyon 1

INSERM U851, Pathogénie des staphylocoques

Le bon usage...

- Débuter l'antibiothérapie curative le plus rapidement possible dans les infections sévères
- Respect des indications, de la posologie, des modalités d'administration d'un antibiotique
- A efficacité comparable, utiliser l'antibiotique qui a le spectre le plus étroit
- Envisager si possible une désescalade lors de la documentation microbiologique

Le bon usage... du début à la fin

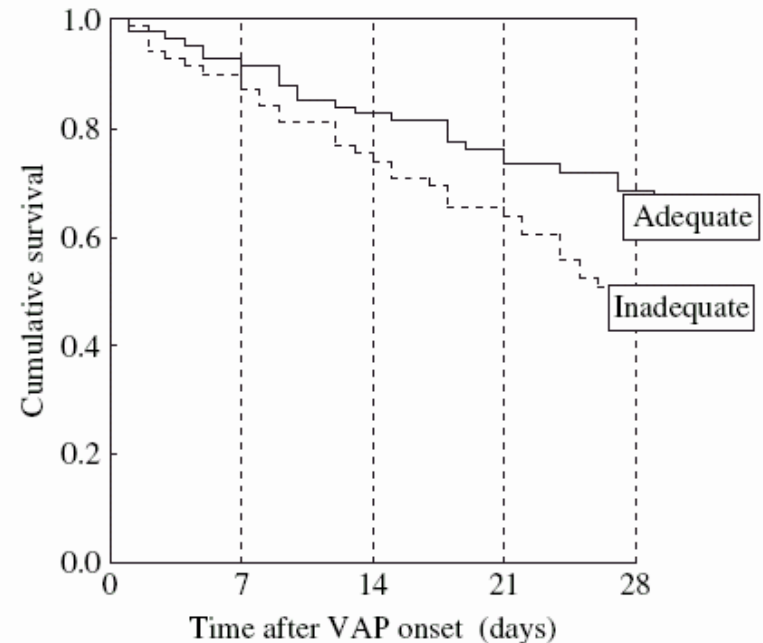
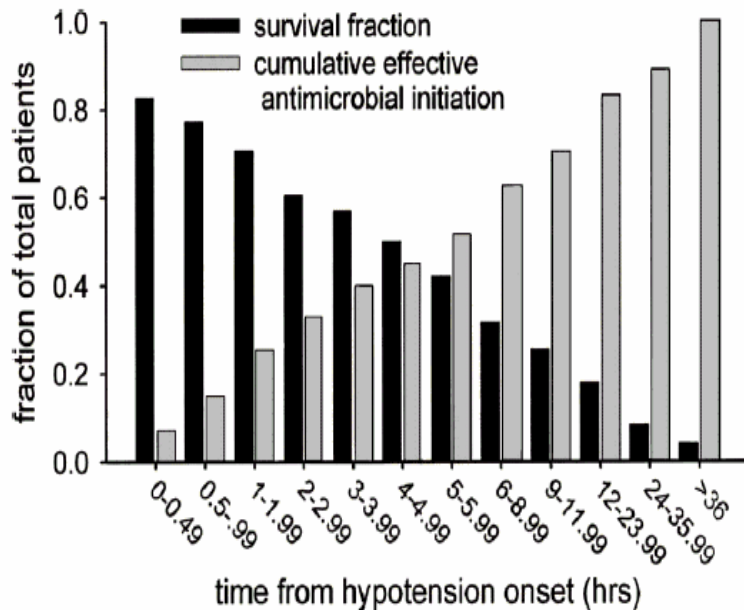


Bon usage des antibiotiques

Bénéfices potentiels individuels d'un diagnostic rapide

- Antibiothérapie probabiliste adaptée influence le pronostic

- Choc septique *Kumar Crit Care Med 2006;34;1589-5*
- Endocardite *Fernandez-Hidalgo Clin Microb Infect 2010;In press*
- PAVM *Teixeira J Hospit Infect 2007;65;361-7*



Bénéfices potentiels individuels d'un diagnostic rapide

- Antibiothérapie non optimale sur *S. aureus*
influence le pronostic

Outcome of Vancomycin Treatment in Patients with Methicillin-Susceptible *Staphylococcus aureus* Bacteremia[∇]

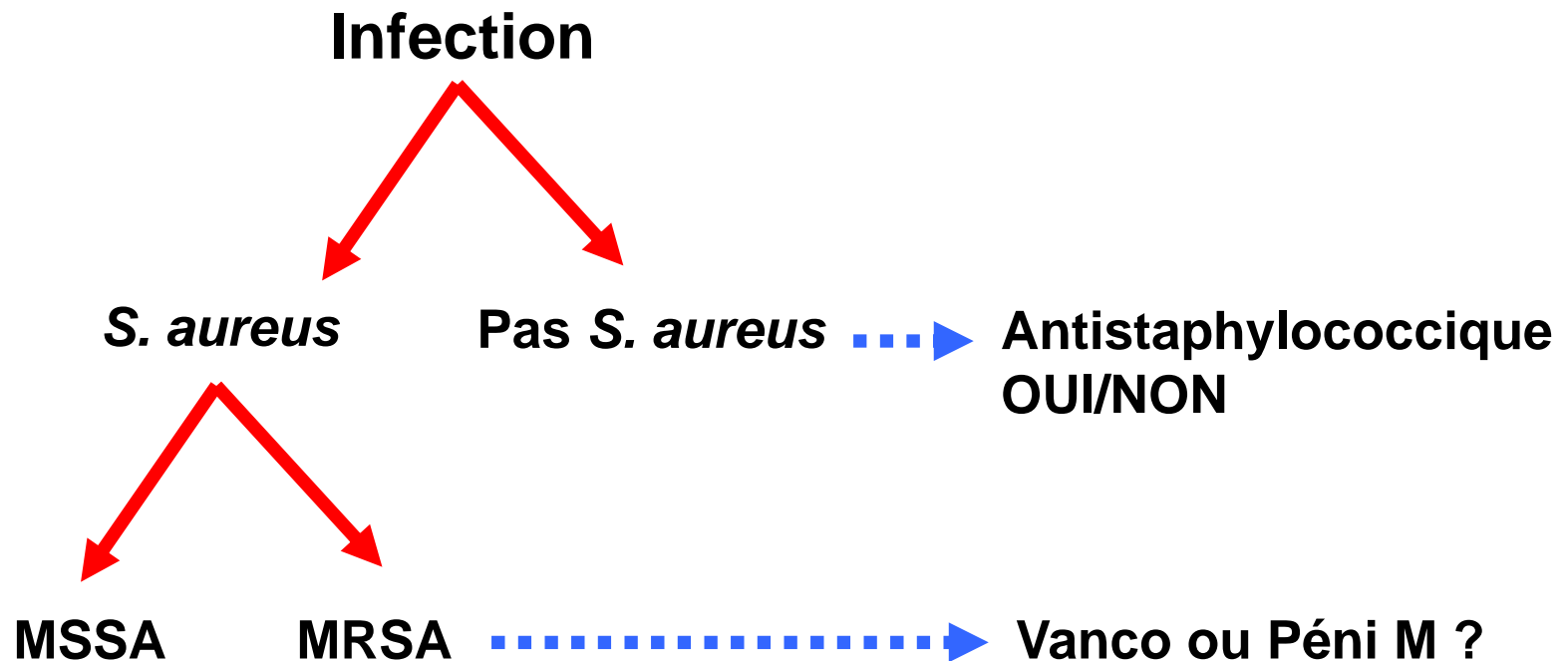
Sung-Han Kim,^{1,3} Kye-Hyung Kim,¹ Hong-Bin Kim,¹ Nam-Joong Kim,¹ Eui-Chong Kim,^{2,3}
Myoung-don Oh,^{1,3*} and Kang-Won Choe^{1,3}

Antimicrob Agent Chemoter 2008

**Traitement par vancomycine
=
facteur de risque indépendant de mortalité
OR 3.3 (1.2-9.3)**

Diagnostic rapide dans les infections à staphylocoques

- Savoir rapidement :



Infections à *S. aureus* ou le diagnostic rapide pourrait s'appliquer

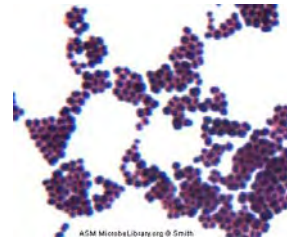
- Sepsis, choc septique (cultures+)
- Endocardite, infections endovasculaires
- Infections de cathéter
- PAVM
- Infections de la peau et des tissus mous
- Infections ostéoarticulaires (aiguës, chroniques)
- Infections à *S. aureus* producteur de PVL

Hémocultures + à *S. aureus*

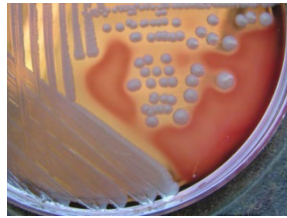
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0

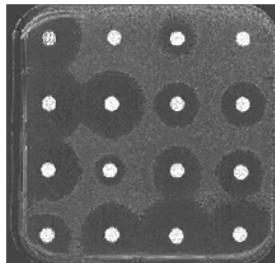


➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

➤ JX + 2

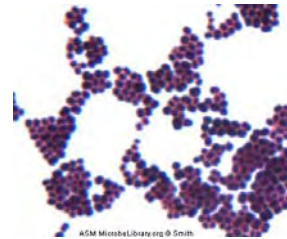


identification définitive
et
antibiogramme

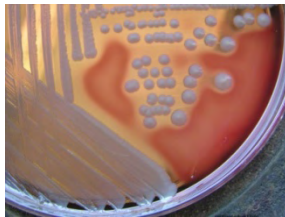
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



➤ JX + 1

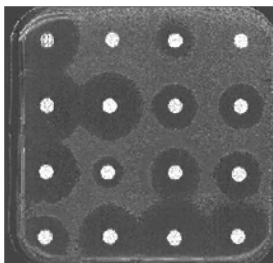


Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

+

Maldi-TOF
Identification
définitive

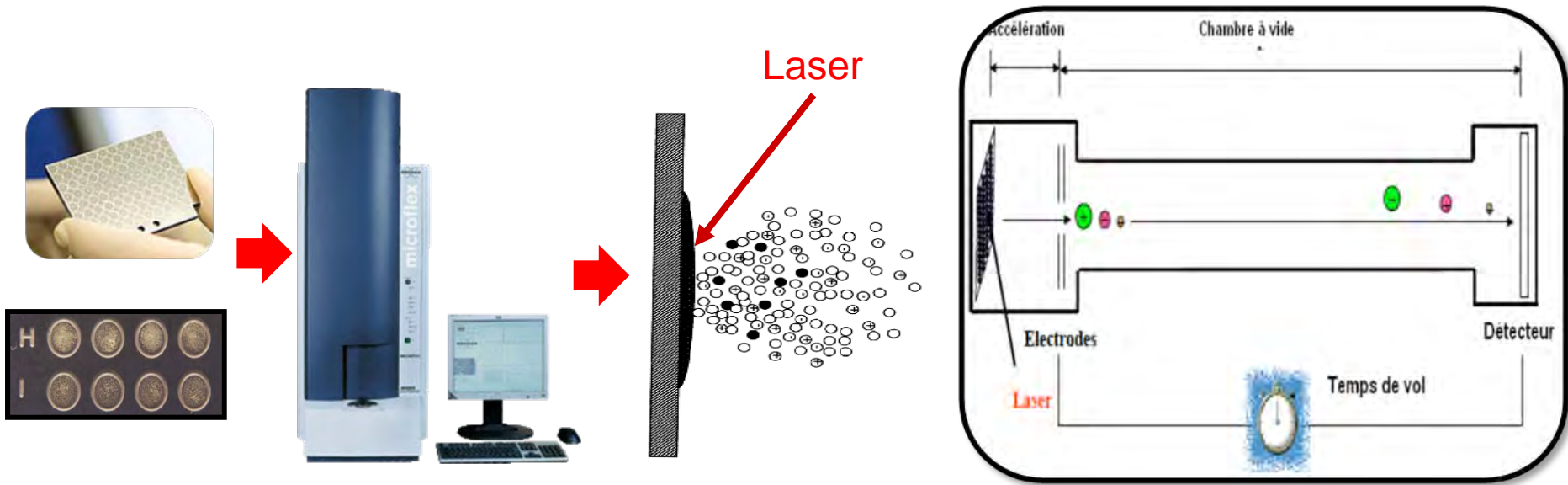
➤ JX + 2



identification définitive
et
antibiogramme

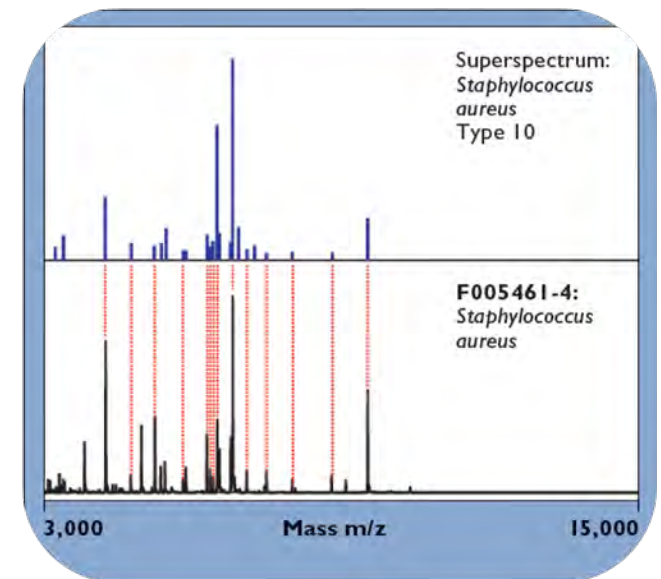
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Principe Maldi-TOF



- ▶ mélange bactéries + matrice
- ▶ application laser = ionisation et desorption des protéines
- ▶ déplacement dans un champs électromagnétique
- ▶ time of flight
- ▶ obtention du **spectre** formé de pics
- ▶ **comparaison** du spectre obtenu avec les spectres de la base de données:
 - identification
 - score de similitude (% , nombre)

En quelques minutes !



Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Maldi-TOF et *Staphylococcus* sp

JOURNAL OF CLINICAL MICROBIOLOGY, Mar. 2010, p. 941–945
0095-1137/10/\$12.00 doi:10.1128/JCM.00413-09
Copyright © 2010, American Society for Microbiology. All Rights Reserved.

Vol. 48, No. 3

Identification of a Variety of *Staphylococcus* Species by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization–Time of Flight Mass Spectrometry[∇]

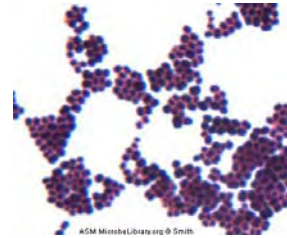
Damien Dubois,^{1,2} David Leysse,^{1,2} Jean Paul Chacornac,³ Markus Kostrzewa,⁴
Pierre Olivier Schmit,⁵ Régine Talon,³ Richard Bonnet,^{1,2} and Julien Delmas^{1,2*}

A total of 151 strains out of 152 (99.3%) were correctly identified at the species level; only one strain was identified at the genus level. The MALDI-TOF MS method revealed different clonal lineages of *Staphylococcus epidermidis* that were of either human or environmental origin, which suggests that the MALDI-TOF MS method could be useful in the profiling of staphylococcal strains.

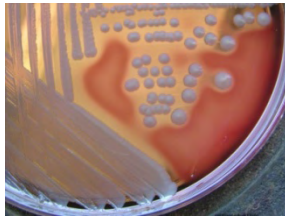
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



➤ JX + 1

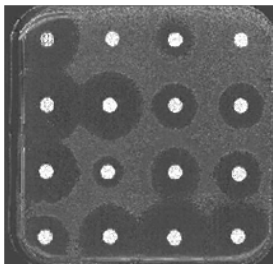


Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

+

Maldi-TOF
Identification
définitive

➤ JX + 2

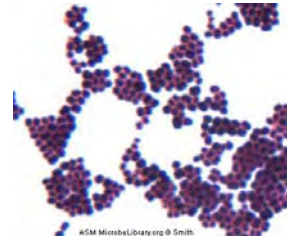


identification définitive
et
antibiogramme

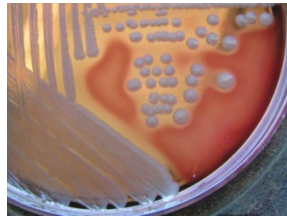
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



➤ JX + 1



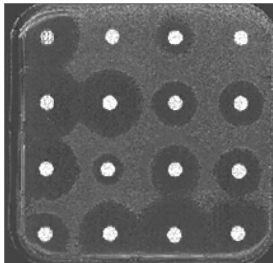
Tests phénotypiques basiques
Identification présumptive

+

Maldi-TOF
Identification
définitive

identification
résistance à la
méricilline

➤ JX + 2



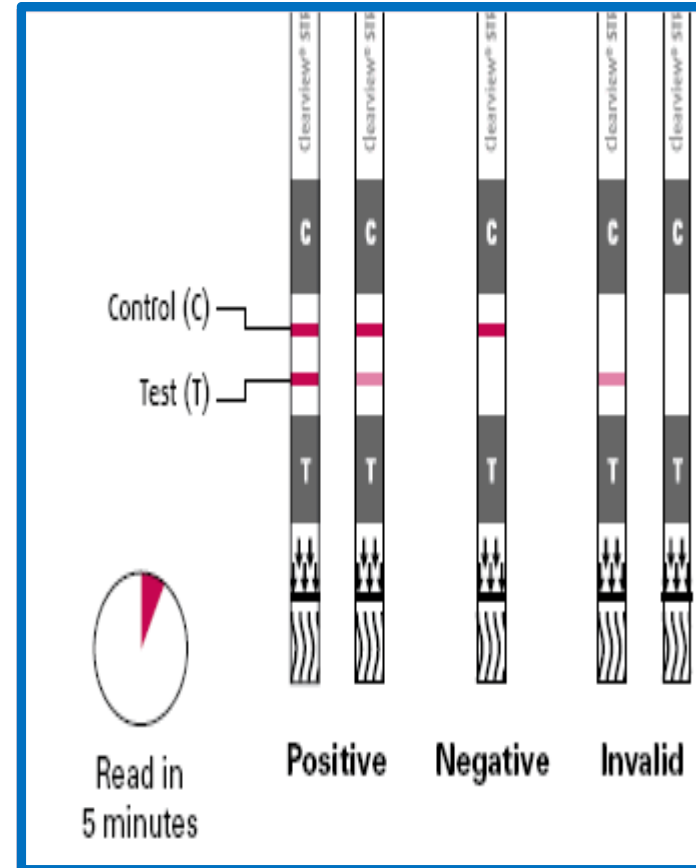
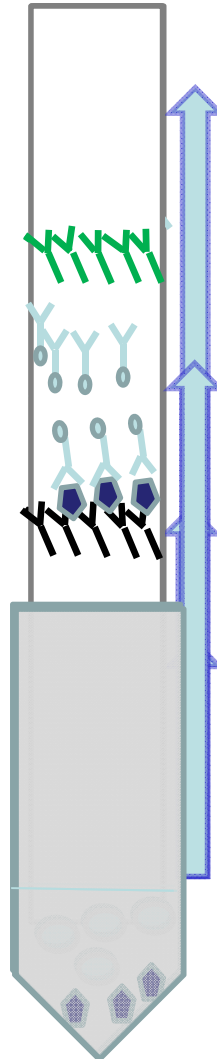
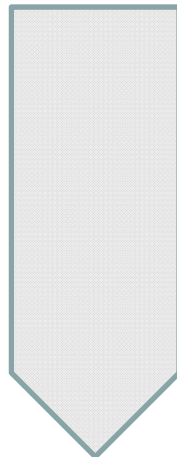
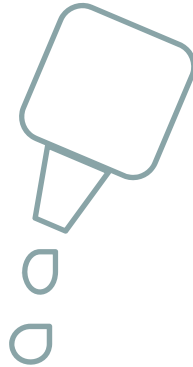
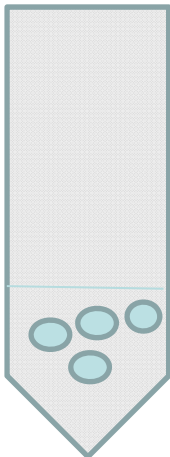
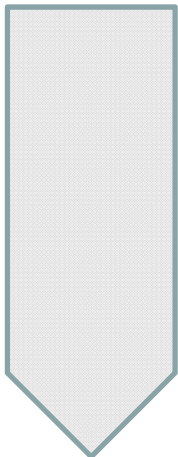
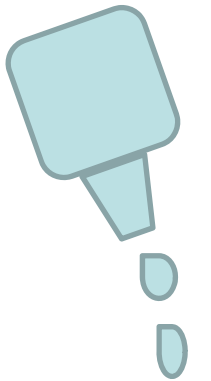
identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Principe du test – Clearview Exact PBP2a (Alere)

PLP2a en 5 minutes par immunochromatographie !

2 à 3 colonies



Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Principe du test – Clearview Exact PBP2a (Alere)

PLP2a en 5 minutes !



sur les isolements primaires

Résultats – Clearview Exact PBP2a (Alere)

Etude prospective - "la vraie vie"

Etude prospective de toutes les souches de *S. aureus* pour lesquelles un antibiogramme était réalisé

Clearview Exact PBP2a sur l'isolement primaire par la technicienne

		Résultat		Se	Sp	VPP	VPN
		Clearview Exact PBP2a® +	-				
<i>S. aureus</i>	n=246						
SARM	n= 30	27	3	90	100	100	98,6
SASM	n = 216	0	216				

les 3 MRSA non détectés initialement
= positif à 24H après réincubation

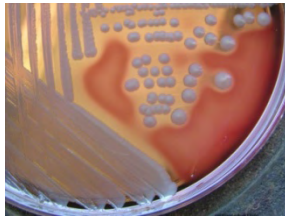
Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



➤ JX + 1

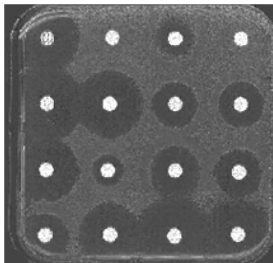


Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

+

identification
résistance à la
mécicilline

➤ JX + 2

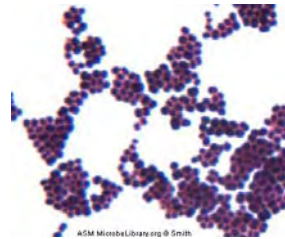


identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

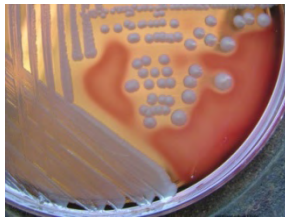
Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



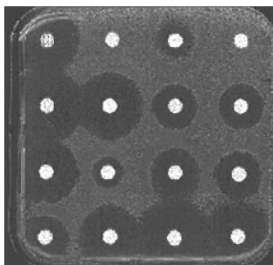
Maldi-TOF
Identification
définitive

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

➤ JX + 2



identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

MALDI-TOF Mass Spectrometry identifies 90% of bacteria directly from Blood Culture vials

Authors: Wardi Moussaoui¹, Benoit Jaulhac¹, Anne-Marie Hoffmann¹, Markus Kostrzewa², Philippe Riegel¹, Gilles Prévost^{1*}

CMI Septembre 2010

- étape de séparation/centrifugation/lavage GR-plasma-débris-bactéries
- 503 hémocultures testées

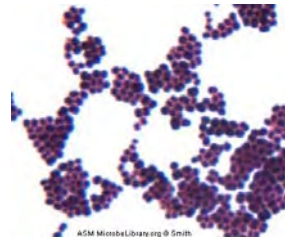
Microorganisms

	All samples (identified in Routine)	Unimicrobial isolates identified by MALDI-TOF / Identified in Routine	Polymicrobial isolates identified by MALDI-TOF / identified in Routine
Gram-positive Bacteria (284/318 identified)			
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	123	115/118	3/5
<i>Staphylococcus aureus</i>	50	47/49	0/1
<i>Other coagulase negative Staphylococci</i>	29	21/25	1/4

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

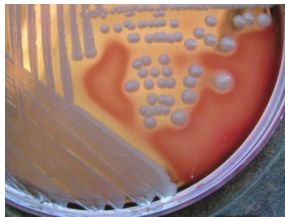
Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



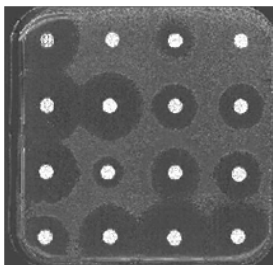
Maldi-TOF
Identification
définitive

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

➤ JX + 2

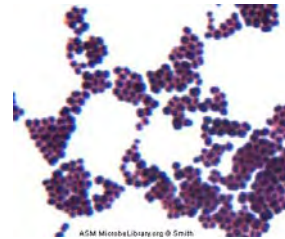
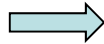


identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

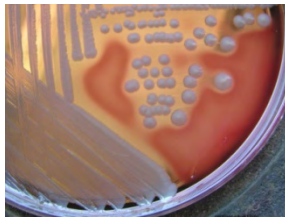
Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



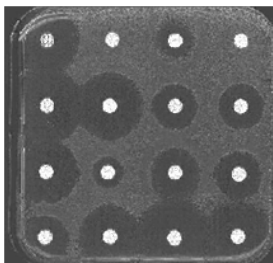
PNA Fish
Identification

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

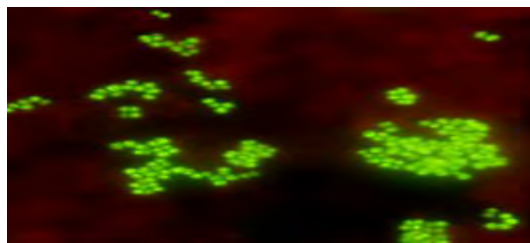
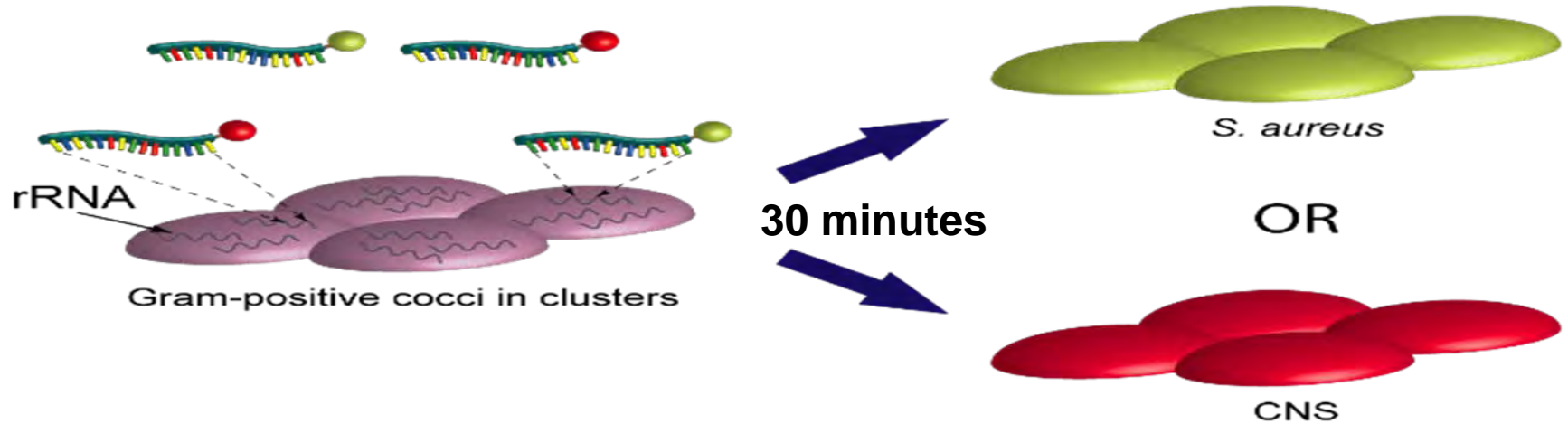
➤ JX + 2



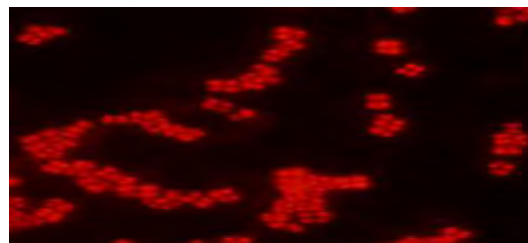
identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

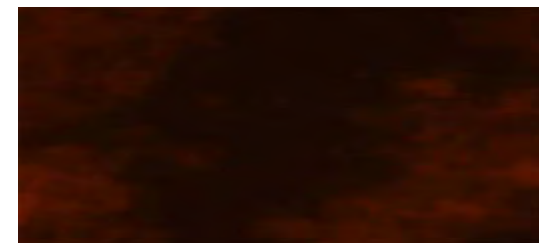
PNA Fish = Hybridation *in situ*



S. aureus



CNS



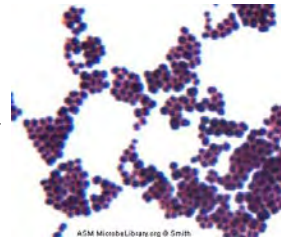
Non-staphylococci

Panel: proposé par Miacom[®]

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

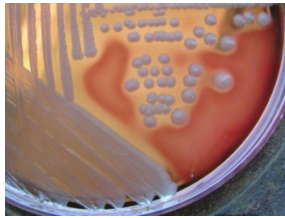
Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



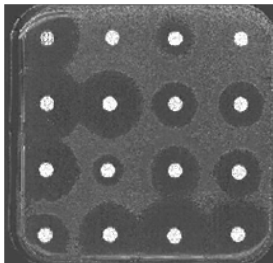
Maldi-TOF / PNA Fish
Identification définitive

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

➤ JX + 2

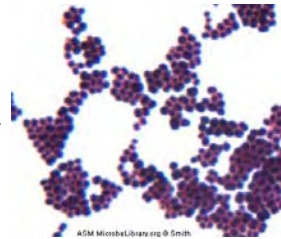


identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

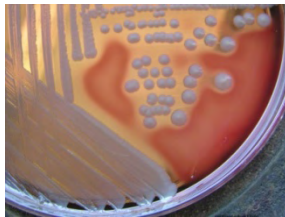
➤ JX + 0



Maldi-TOF / PNA Fish
Identification définitive

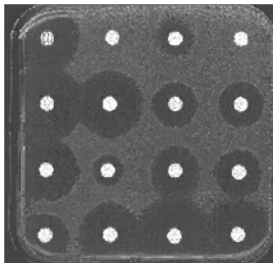
identification
résistance à la
mécilline par IC

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

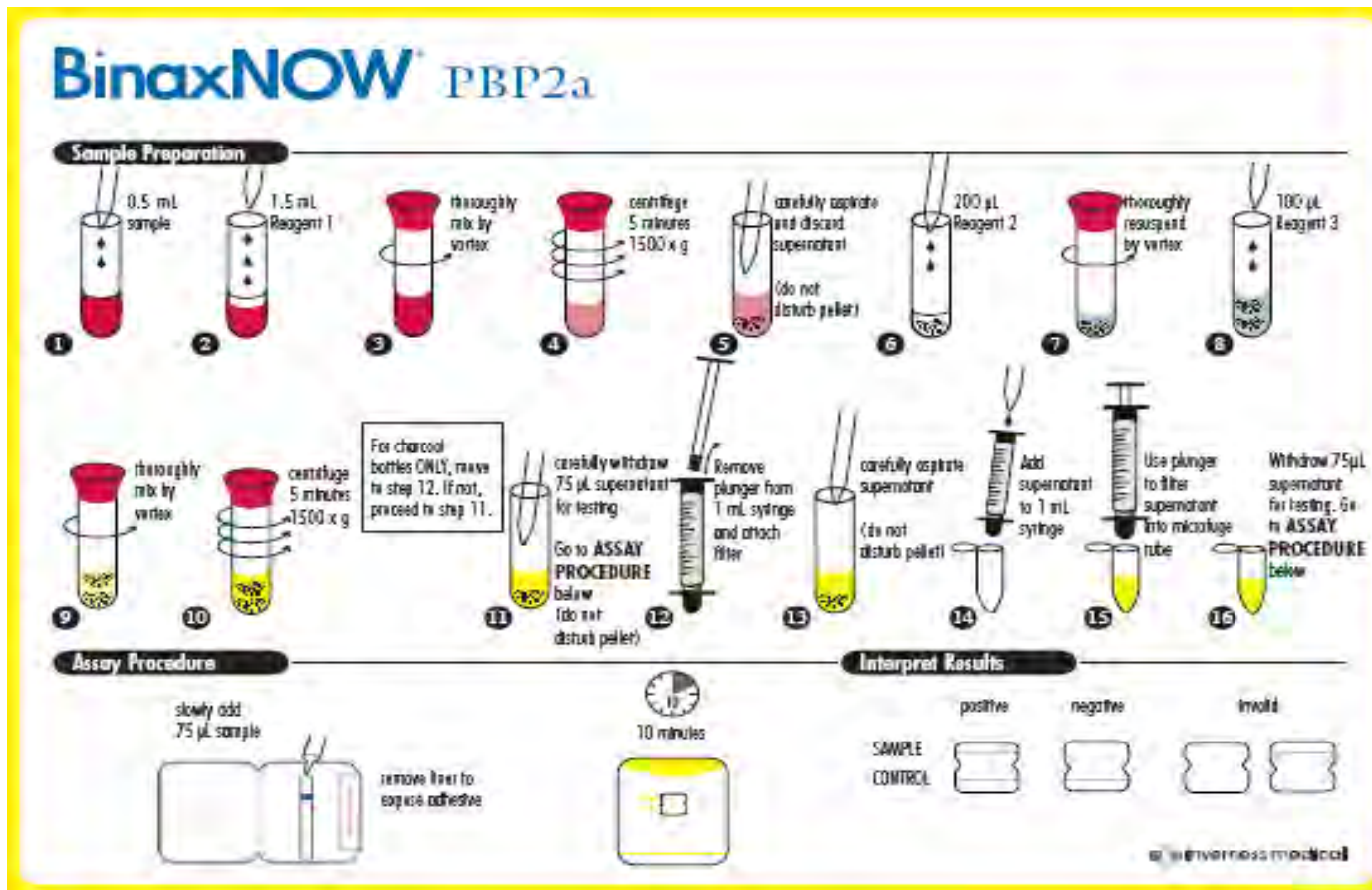
➤ JX + 2



identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

BinaxNOW PBP2a™ (Alere)



BinaxNOW™ PBP2a

Sample Preparation

1. 0.5 mL sample
2. 1.5 mL Reagent 1
3. thoroughly mix by vortex
4. centrifuge 5 minutes 1500 x g
5. carefully aspirate and discard supernatant (do not disturb pellet)
6. 200 µL Reagent 2
7. thoroughly resuspend by vortex
8. 100 µL Reagent 3
9. thoroughly mix by vortex
10. centrifuge 5 minutes 1500 x g
11. For charcoal bottles ONLY, make to step 12. If not, proceed to step 11. carefully withdraw 75 µL supernatant for testing. Go to ASSAY PROCEDURE below (do not disturb pellet)
12. Remove plunger from 1 mL syringe and attach filter
13. carefully aspirate supernatant (do not disturb pellet)
14. Add supernatant to 1 mL syringe
15. Use plunger to filter supernatant into microtuge tube
16. Withdraw 75 µL supernatant for testing. Go to ASSAY PROCEDURE below

Assay Procedure

slowly add 75 µL sample

remove liner to expose adhesive

10 minutes

Interpret Results

	positive	negative	invalid
SAMPLE			
CONTROL			

Alere | www.alere.com

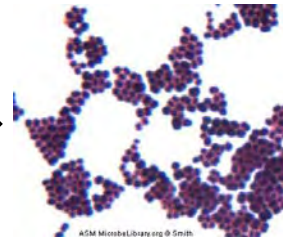


Identification rapide de la PLP2a directement sur les hémocultures

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Prélèvement d'hémoculture

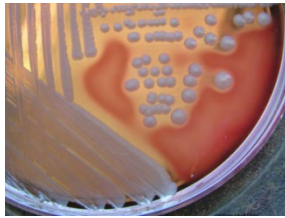
➤ JX + 0



Maldi-TOF / PNA Fish
Identification définitive

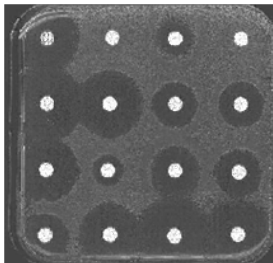
identification
résistance à la
mécilline par IC

➤ JX + 1



Tests phénotypiques basiques
Identification présomptive

➤ JX + 2

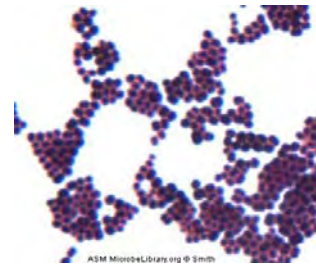


identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

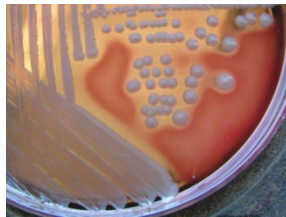
Prélèvement d'hémoculture

➤ JX + 0



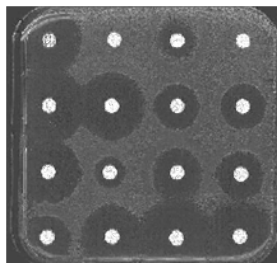
Biologie
moléculaire
Identification SA +
PLP2a

➤ JX + 1



Tests phénotypiques
rapides de base

➤ JX + 2



identification définitive
et
antibiogramme

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Xpert kit™ (Cepheid) avec plateforme GeneXpert (Cepheid)



1. Insert swab into Elution reagent vial and break at score

2. Vortex and dispense Sample into port 5

3. Dispense Reagent 1 into port 1

4. Dispense Reagent 2 into port 2



6. Insert cartridge and start assay

Réponse :
MRSA ou MSSA ou
pas de SA
en 58 minutes !

- . Xpert MRSA/SA BC kit
- . personnel polyvalent
- . coup par coup

. Existent aussi des PCR maison

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

GeneXpert et Hémocultures

GenXpert

➤ Détection directe sur hémocultures

n = 223

Sample, organism detected	Sensitivity (%)	Specificity (%)	PPV (%)	NPV (%)
BC				
MRSA	97.9	100	100	99.4
MSSA	100	99.5	95.5	100
No <i>S. aureus</i>	100	100	100	100

Parta et al., JCM 2009

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques

Le coût financier?

Méthode	Support	MétiR - MétiS	Identification	Délai	Prix automate (euros)	Prix / test (euros)
GeneXpert	Souche Hémoc	OUI	OUI	58 min	0 à 50 000	25 à 50
Maldi-TOF	Souche Hémoc	NON	OUI	20 min	120 000	< 1
IC Clearview	Souche	OUI	NON	5 min	0	8
IC Binax	Hémoc	OUI	NON	40 min	0	25
PNA Fish	Hémoc	NON	OUI	30 min	0	12

.... pris sur quelle ligne budgétaire ???

Le coût organisationnel ?

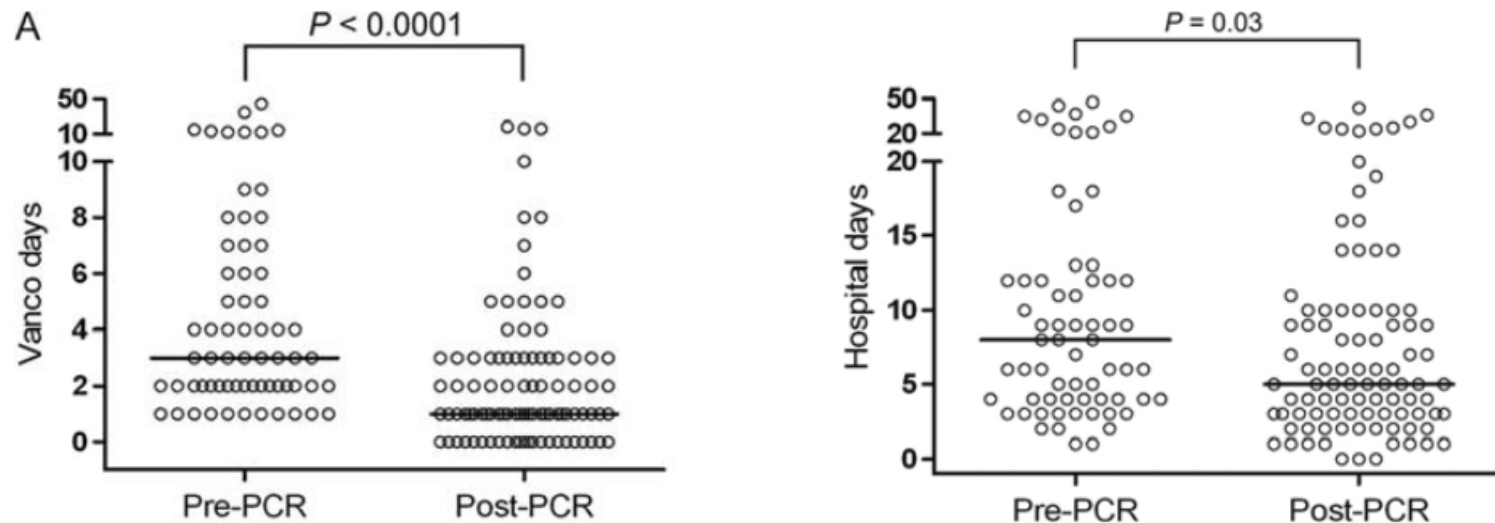
Diagnostic rapide dans les infections à *S. aureus*

- ICAAC 2009
 - Deux posters
- ICAAC 2010
 - Rien !
- Articles publiés
 - 1 dans une revue *open access*
 - 2 autres articles

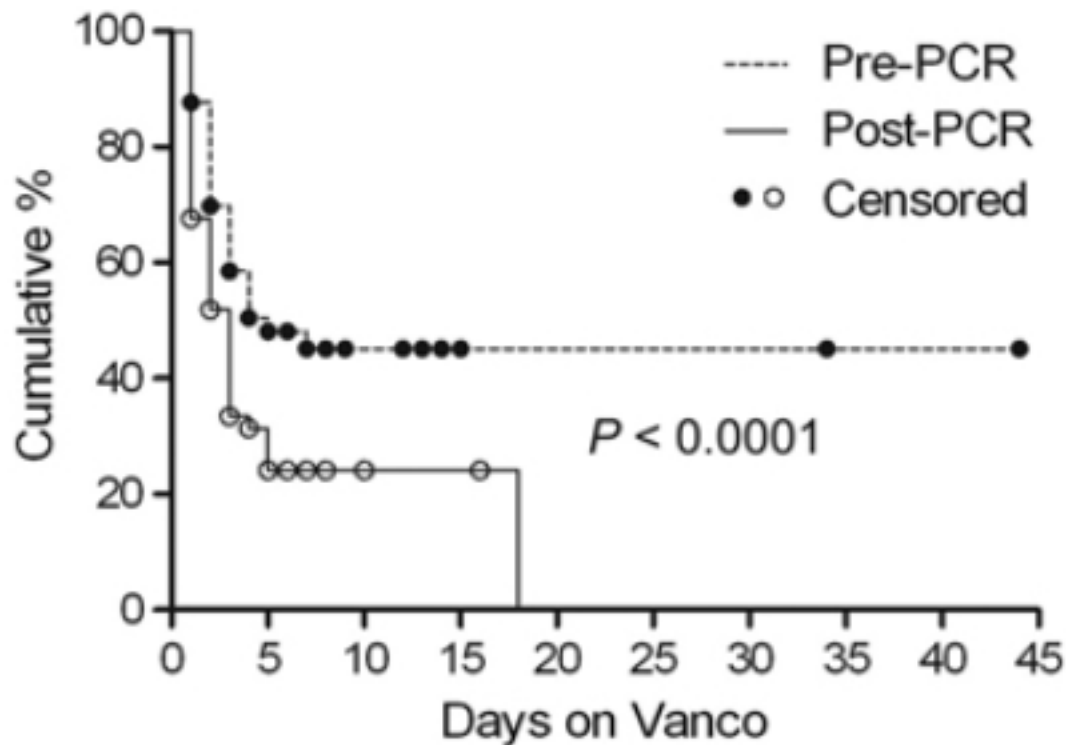
Real-Time PCR Testing for *mecA* Reduces Vancomycin Usage and Length of Hospitalization for Patients Infected with Methicillin-Sensitive Staphylococci[∇]

David T. Nguyen,^{1†} Ellen Yeh,^{1†} Sharon Perry,² Robert F. Luo,¹ Benjamin A. Pinsky,¹ Betty P. Lee,⁵ Deepak Sisodiya,⁴ Ellen Jo Baron,^{1,3} and Niaz Banaei^{1,2,3*}

- PCR maison (multiplex *mecA*+, *nuc*)
- Patients présentant une infection documentée à *Staphylococcus spp* sensible à la méticilline ayant reçu une antibiothérapie probabiliste par vancomycine
- Etude avant-après (Pré-PCR, 65 patients vs Post-PCR, 94 patients)



Patient therapy group and/or agent	No. (%) of patients		<i>P</i> value
	Pre-PCR (<i>n</i> = 65) ^d	Post-PCR (<i>n</i> = 94) ^d	
Replacement ^a	31 (47.7)	69 (73.4)	0.001 ^b
β-Lactam	25 (80.6)	49 (71)	0.67 ^c
β-Lactam plus other antibiotic	0	9 (13)	
Other antibiotic	6 (19.4)	11 (15.9)	
No replacement	34 (52.3)	25 (26.6)	



Meilleur usage de l'antibiothérapie en phase post-PCR !!!

An Antimicrobial Stewardship Program's Impact with Rapid Polymerase Chain Reaction Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*/*S. aureus* Blood Culture Test in Patients with *S. aureus* Bacteremia

Karri A. Bauer,¹ Jessica E. West,³ Joan-Miquel Balada-Llasat,² Preeti Pancholi,² Kurt B. Stevenson,³ and Debra A. Goff¹

Departments of ¹Pharmacy and ²Pathology, The Ohio State University Medical Center, ³Division of Infectious Diseases, College of Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio

- Etude prospective pré-PCR et post-PCR
- Monocentrique (Hôpital de 1200 lits)
- Test GeneXpert:
 - . sur flacon d'hémoculture + avec cocci à Gram + à l'ED
 - . 24h/24, 7j/7, résultats en 1h
- Intervention par « ID PharmD »
- Analyse sur les hémocultures + à *S. aureus*
- 156 patients inclus
- Traitement probabiliste par vancomycine n'était pas un critère obligatoire

An Antimicrobial Stewardship Program's Impact with Rapid Polymerase Chain Reaction Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*/*S. aureus* Blood Culture Test in Patients with *S. aureus* Bacteremia

Karri A. Bauer,¹ Jessica E. West,³ Joan-Miquel Balada-Llasat,² Preeti Pancholi,² Kurt B. Stevenson,³ and Debra A. Goff¹

Departments of ¹Pharmacy and ²Pathology, The Ohio State University Medical Center, ³Division of Infectious Diseases, College of Medicine, The Ohio State University, Columbus, Ohio

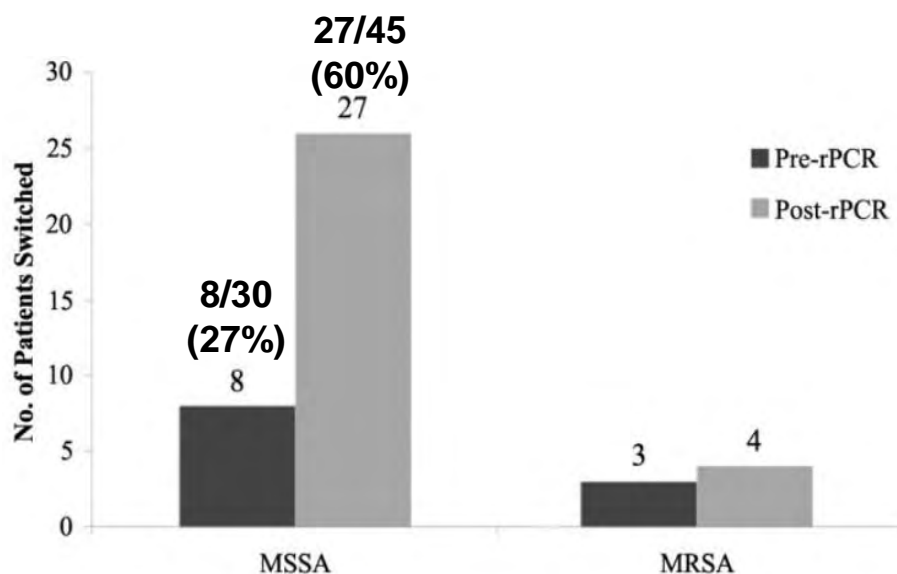


Figure 1. Number of infectious diseases pharmacist antibiotic changes from vancomycin to cefazolin or nafcillin for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) bacteremia and vancomycin to daptomycin for methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) bacteremia. rPCR, rapid polymerase chain reaction MRSA/SA blood culture test.

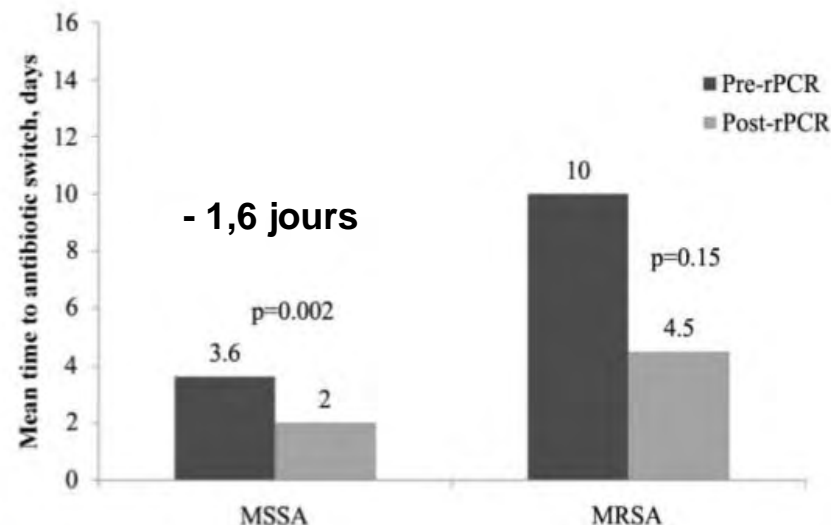


Figure 2. Mean time to antibiotic switch from vancomycin to cefazolin or nafcillin for methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* (MSSA) bacteremia and vancomycin to daptomycin for methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) bacteremia. rPCR, rapid polymerase chain reaction MRSA/SA blood culture test.

Table 2. Demographic and Clinical Characteristics of Patients in the Study Groups

Characteristic	Pre-rPCR period (<i>n</i> = 74)	Post-rPCR period (<i>n</i> = 82)	<i>P</i> ^a
Age, mean years ± SD	57 ± 16.7	56 ± 16.0	.51
Male sex	43 (58)	40 (49)	.26
Penicillin allergy	9 (12)	10 (12)	.60
Surgical service	24 (32)	10 (12)	.003
ICU ^b	49 (66)	55 (67)	>.99
MRSA infection	44 (59)	37 (45)	.08
ID consult	41 (55)	49 (60)	.63
Time to ID consult, mean days ± SD (<i>n</i> = 90)	9 ± 16.4	3 ± 2.4	.05
Hospital mortality	19 (26)	15 (18)	.33
Hospital costs by department			
Pharmacy, mean USD ± SD	10,375 ± 21,221	7457 ± 13,250	.08
Microbiology laboratory, mean USD ± SD	6806 ± 10,290	5081 ± 6677	.13
Room and board			
ICU, mean USD ± SD	27,667 ± 35,777	17,737 ± 21,464	.03
Non-ICU, mean USD ± SD	12,210 ± 13,741	10,117 ± 10,932	.32
Other, ^c mean USD ± SD	25,464 ± 36,633	16,400 ± 20,031	.02
Total hospital costs, mean USD ± SD (<i>n</i> = 154)	69,737 ± 96,050	48,350 ± 55,196	.03

Durée d'hospitalisation 21,5 jours versus 14,1 jours (NS)

Analyse multivariée sur les facteurs associés à la mortalité hospitalière :

- âge (OR 1,04)
- ICU (OR 3,16)

Diagnostic rapide des infections à staphylocoques et bon usage des antibiotiques

Au final

- Outils microbiologiques disponibles

Mais

