

# Impact clinique de l'antibiogramme rapide MHR-SIR (i2a) directement à partir des urines

Jean-Claude Nguyen Van

# Introduction

- Résistance des entérobactéries constante augmentation, +/- prévisible
- Détermination rapide de l'ATB = Défi majeur
- Infection urinaire → Délai de 48 heures pour l'antibiogramme standard
- ATB rapide directement à partir d'échantillons d'urines testés sur MHR-SIR avec un délai  $\leq 8h$

# Antibiogramme rapide : pourquoi ?

## Détection des résistances acquises

- **Profil de résistance bactérien imprévisible**
  - milieu communautaire
  - milieu associé aux soins
  
- **Nécessité d'isoler les patients porteurs de BMR/BHRe**

## Impact clinique

Adaptation précoce de l'antibiothérapie

Epargne molécules à large spectre

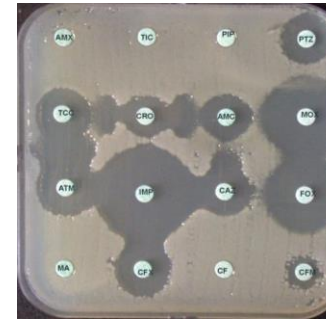
Bénéfice pour le patient/prise orale

# Avantages du milieu solide

## – Contrôle visuel :



- pureté de la souche
- effet inoculum
- différents clones/mutants
- Antagonismes et synergies → identification des BLSE



Incubation :  
20h +/- 4h

## – Choix des antibiotiques à tester

## – Absence de contrainte liée à la fourniture de matériel par un unique fabricant

**Idéal :**  
**combiner milieu solide et rapidité**



# Le milieu MHR

- Mueller Hinton Rapide
- Lecture en 5 à 7 heures à partir de colonies
- Présence d'un complexe contrastant
- Peu de littérature
  - posters présentés à la RICAI
  - bonne corrélation

Abello *et al.*, Poster RICAI 2003  
Bayette *et al.*, Poster RICAI 2014  
Lopez *et al.*, Poster RICAI 2013



Milieux de culture rapide destinés à l'étude de la sensibilité de micro-organismes aux agents antimicrobiens

#### PRESENTATION

Milieux Mueller Hinton Rapide (MHR-SIR) prêts à l'emploi, disponibles en boîtes de Pétri de plusieurs formats :

- Coffret de 20 boîtes de Pétri rondes (φ 90 mm - réf. 020501)
- Coffret de 20 boîtes de Pétri carrées (120x120 mm - réf. 020502)

#### PRINCIPE

Le milieu Mueller Hinton standardisé<sup>(1)</sup> est recommandé pour la réalisation d'antibiogrammes en diffusion<sup>(2,3)</sup>, afin de déterminer la sensibilité de micro-organismes aérobies à croissance rapide vis-à-vis d'agents antimicrobiens.

Le milieu MHR-SIR est composé d'une base de Mueller Hinton standardisé<sup>(1)</sup> ayant été complétée afin de permettre l'obtention de résultats d'antibiogrammes en diffusion, après un délai de 5 à 7 heures pour des bactéries à croissance rapide, telles que les entérobactéries et les staphylocoques, dans les conditions d'utilisation et de lecture spécifiées ci-après. Le milieu MHR-SIR est réservé aux utilisateurs du SIRSCAN® 2000 automatic.

#### COMPOSITION \*

Infusion de viande de bœuf déshydratée.....	2.0 g
Hydrolysate acide de caséine.....	17.5 g
Amidon.....	1.5 g
Complexe adjuvant de pousse.....	3.5 g
Complexe contrastant.....	151 mg
Mg <sup>2+</sup> .....	20 - 35 mg
Ca <sup>2+</sup> .....	50 - 100 mg
Thymidine.....	<30 mg
Agar.....	18.5 g
Eau distillée stérile.....	1 l
pH final à 20°C : 7.2 - 7.6	

\* Cette formule théorique peut être ajustée et/ou complétée en fonction des critères de performances imposés.

#### CONSERVATION

Les milieux se conservent entre 2°C et 8°C, dans leur coffret, de leur réception jusqu'à la date de péremption.

La date de péremption et le numéro de lot sont indiqués sur les conditionnements des milieux.

#### PRECAUTIONS D'UTILISATION

- Réactifs de diagnostic in vitro à usage professionnel uniquement.
- Réactifs à usage unique.
- Ne pas utiliser les réactifs après la date de péremption.
- Ne pas utiliser les milieux montrant des signes de contamination microbienne, de décoloration, de dessèchement, de fissuration ou tout autre type de détérioration.
- Avant utilisation, laisser impérativement revenir les milieux et les tubes d'inoculation à température ambiante.
- Utiliser préférentiellement de l'eau physiologique stérile pour la réalisation de l'inoculum.
- Incuber les antibiogrammes couverts vers le haut.
- Lire impérativement les antibiogrammes à l'aide d'un automate SirScan® 2000 automatic en sélectionnant le type de milieux MHR-SIR.
- Observer, à tout moment, les techniques et précautions en vigueur en matière de protection contre les dangers biologiques.
- Après utilisation, éliminer les réactifs utilisés contaminés selon les procédures internes et en accord avec la législation en vigueur.

#### MODE OPERATOIRE

##### Matériel

##### Matériel fourni:

- Milieux MHR-SIR (réf. 020501-020502)



i2a ■ Parc Euréka ■ 401, Avenue de Wailhalla ■ CS83406 ■ 34000 Montpellier Cedex 2 ■ France  
Tél : +33 (0)4 67 50 48 00 ■ Fax : +33 (0)4 67 17 09 06  
e-mail : i2a@i2a.info ■ www.i2a.info



# Etude pivot

European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases  
<https://doi.org/10.1007/s10096-018-3413-5>

ORIGINAL ARTICLE



## Performance of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on MHR-SIR agar directly on urine specimens

Claire Périllaud-Dubois<sup>1</sup> · Benoît Pilmis<sup>2</sup> · Julien Diep<sup>2</sup> · Gauthier Péan de Ponfilly<sup>1</sup> · Simon Perreau<sup>1</sup> · Louise Ruffier d'Epenoux<sup>1</sup> · Assaf Mizrahi<sup>1</sup> · Carine Couzigou<sup>2,3</sup> · Barbara Vidal<sup>2,3</sup> · Alban Le Monnier<sup>1</sup> · Jean-Claude Nguyen Van<sup>1</sup>

Received: 9 August 2018 / Accepted: 24 October 2018

**Etude prospective:** 2016 et 2017

245 urines monomicrobiennes à bacille à Gram négatif testées en parallèle à la technique standard

	Total	Concordances		dm		DM		DTM	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Amoxicilline	243	243	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Ticarcline	242	242	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Céfalexine	245	236	96,33%	0	0,00%	0	0,00%	9	3,67%
Ertapénème	244	242	99,18%	2	0,82%	0	0,00%	0	0,00%
Céfotaxime	242	239	98,76%	3	1,24%	0	0,00%	0	0,00%
Amoxicilline - acide clavulanique	234	224	95,73%	0	0,00%	8	,57%	2	0,85%
Ceftazidime	245	239	97,55%	6	2,45%	0	0,00%	0	0,00%
Pipéracilline - tazobactam	230	220	95,65%	10	4,35%	0	0,00%	0	0,00%
Céfépime	244	236	96,72%	8	3,28%	0	0,00%	0	0,00%

**Concordances 97,9%**

Acide nalidixique	245	238	97,14%	7	2,86%	0	0,00%	0	0,00%
Ofloxacin	244	228	93,44%	14	5,74%	2	0,88%	0	0,00%
Ciprofloxacine	243	231	95,06%	11	4,53%	1	0,43%	0	0,00%
Céfixime	237	236	99,58%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,42%
Imipénème	241	240	99,59%	1	0,41%	0	0,00%	0	0,00%
Nitrofurantoïne	238	237	99,58%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,42%
Mécillinam	239	239	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Témocilline	230	223	96,96%	0	0,00%	6	2,69%	1	0,43%
Céfoxitine	235	230	97,87%	5	2,13%	0	0,00%	0	0,00%
Fosfomycine	240	238	99,17%	2	0,83%	0	0,00%	0	0,00%
<b>Total</b>	<b>5285</b>	<b>5172</b>	<b>97,86%</b>	<b>82</b>	<b>1,55%</b>	<b>17</b>	<b>0,33%</b>	<b>14</b>	<b>0,26%</b>



**Performance of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on MHR-SIR agar directly on urine specimens**

Claire Périllaud-Dubois<sup>1</sup> · Benoît Pilimis<sup>2</sup> · Julien Diep<sup>2</sup> · Gauthier Péan de Ponfilly<sup>1</sup> · Simon Perreau<sup>1</sup> · Louise Ruffier d'Epenoux<sup>1</sup> · Assaf Mizrahi<sup>1</sup> · Carine Couzigou<sup>2,3</sup> · Barbara Vidal<sup>2,3</sup> · Alban Le Monnier<sup>1</sup> · Jean-Claude Nguyen Van<sup>1</sup>

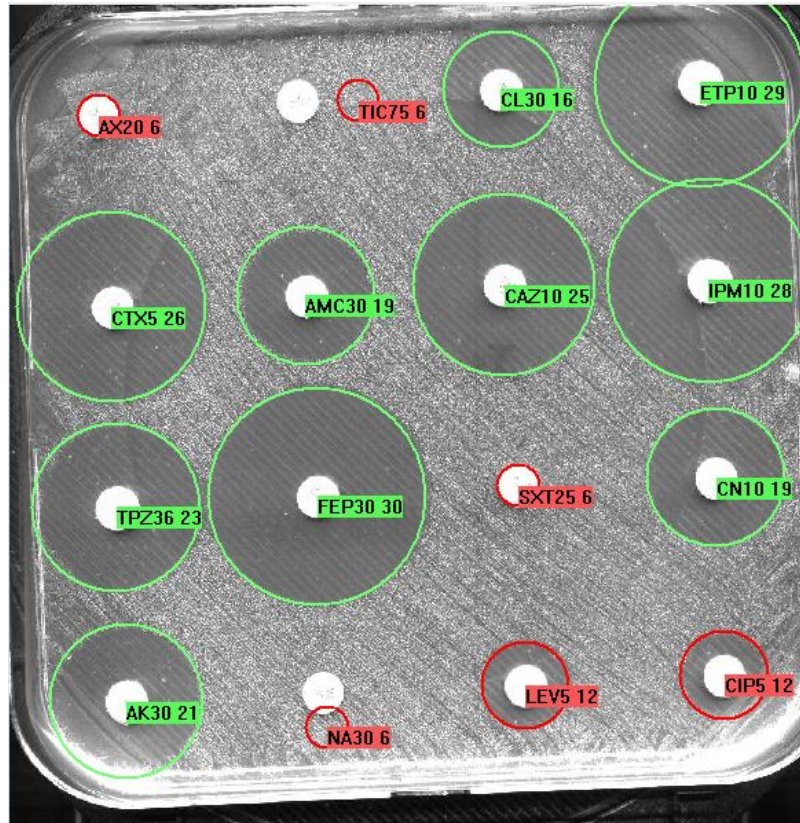
Received: 9 August 2018 / Accepted: 24 October 2018

- 22 antibiotiques testés
- 5285 combinaisons ATB-bactérie
  - 1,55% dm
  - 0,33% DM
  - 0,26% DTM

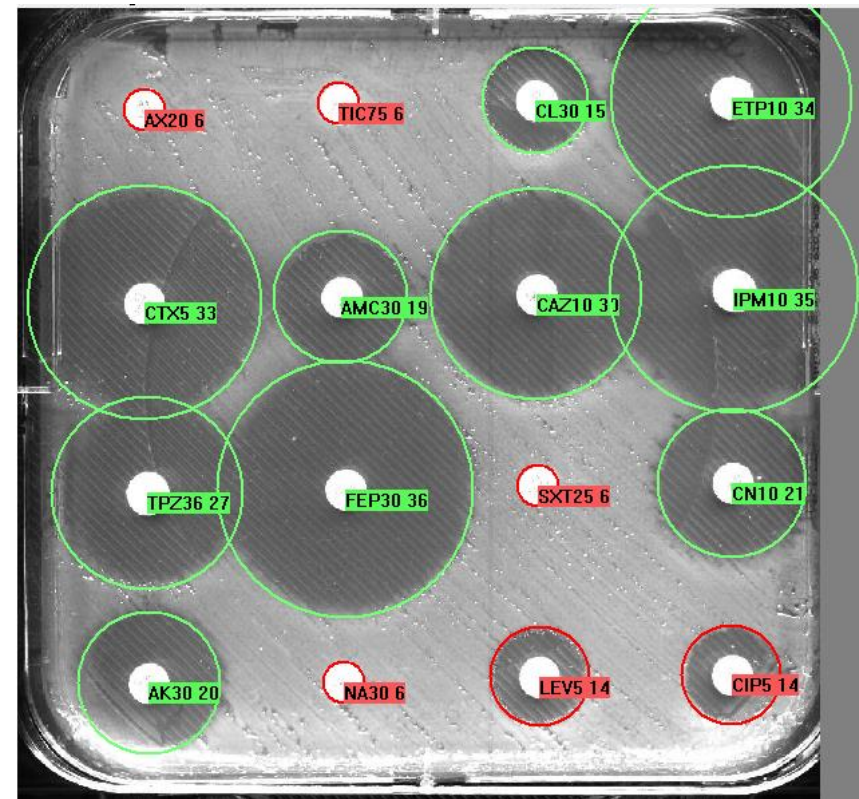
**97,9% concordances**

# Lecture de l'antibiogramme < 8h et après 24 heures d'incubation

< 8 heures sur MHR directement à partir de l'urine



24 heures sur MH à partir de la culture





# Matériel & Méthodes

- **Urines monomicrobiennes sélectionnées (08/2018) sur 2 critères**
  - Leucocyturie significative ( $> 50.000/\text{ml}$ )
  - Bacilles à Gram négatif à l'examen direct
- **Ensemencement suivant les recommandations du BSAC**
- **Lecture des zones d'inhibition avec SIRscan 2000 et les règles du CASFM-EUCAST**



# Matériel & Méthodes

ECBU

Méthode MHR : direct

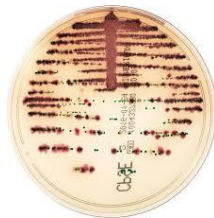


J0: examen direct

+

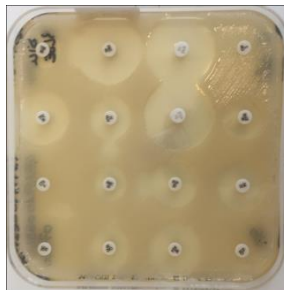
Ensemencement gélose CPS

J1: culture



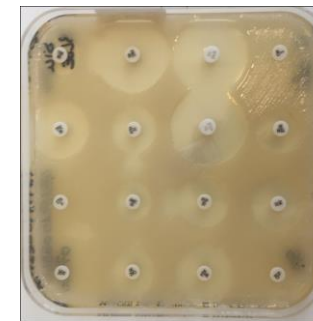
+ ensemencement MH

J2: lecture antibiogramme standard



**J0 + 6 à 8h: lecture antibiogramme MHR**  
**Ensemencement d'une gélose MHR**

Wootton, "BSAC Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing," 2013



**Méthode MHR: Gain 40 heures**

MH standard : subculture

# Résultats

## ➤ Répartition des espèces bactériennes:

*Escherichia coli* (63%)

*Klebsiella pneumoniae* (7%)

*Proteus mirabilis* (2%)

*Pseudomonas aeruginosa* (2%)

*Enterobacter cloacae* (1%)

*Enterobacter aerogenes* (1%)

## ➤ Urines polymicrobiennes en culture:

*E. coli* + entérocoque, *E. coli* + *Serratia marcescens*, *E. coli* + Kp, *E. coli* + pyocyannique

*Acinetobacter baumannii* + *Enterococcus faecalis*

## ➤ Urines avec culture négative

# Résultats

- **Traitement antibiotique pour 70 patients (65%)**
- **Principalement des C3G (33):**  
[ceftriaxone 30, céfotaxime 2, céfépime 1]
- puis fluoroquinolones (15), inhibiteurs de bêta-lactamases (7), fosfomycine (5), nitrofurantoïne (5), amikacine (1), méropénème (1), pivmecillinam (1), SXT (1), témocilline (1)

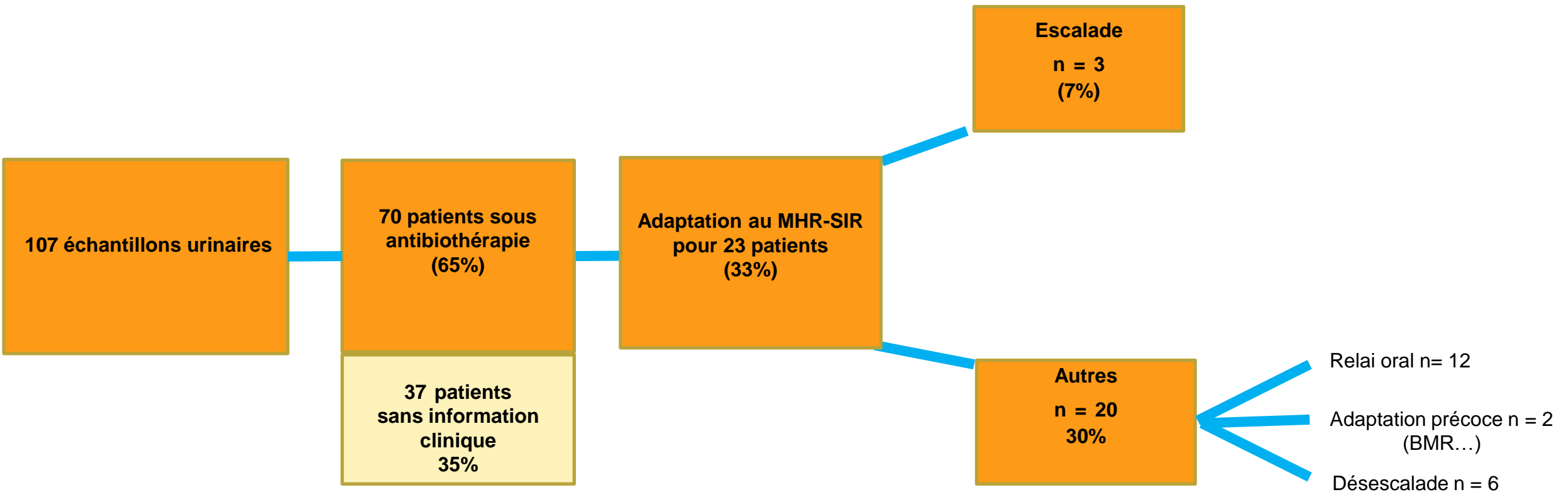
# Résultats

- Moyenne d'âge 70 ans [52-80]
- Sex ratio F:H 2:1
- Score Charlson de 3 [1-5,5],
- Médiane leucocyturie 380/mm<sup>3</sup> IQR[192-1497]
- Médiane bactériurie 10<sup>6</sup>UFC/ml IQR [10<sup>5</sup>-10<sup>7</sup>]
- Moyenne de délai de rendu 7,2 heures (+/- 1,6 h)

- **Type d'infections:**

- Pyélonéphrite 43%
- Cystite 39%
- Prostatite 14%
- Orchiépidimite 4%

# Résultats



Weiss E *et al.* De-escalation Study Group.  
Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of  $\beta$ -lactams *Clin Microbiol Infect.* 2015 Jul;21(7):649.e1-10.

# Résultats

## Exemples d'adaptation antibiothérapie au MHR urines

ATB initiale	ATB après MHR
Ceftriaxone	Co-trimoxazole
Céfotaxime	Co-trimoxazole
Ceftriaxone	Ofloxacine
Ofloxacine	Amoxicilline
Amoxicilline/Acide clavulanique	Amoxicilline
Ceftriaxone	Témocilline (pour BLSE)
Amoxicilline	Amikacine

Administration orale

Réduction de spectre

Adaptation précoce  
BMR

# Discussion

## Méthode:

✓ **Rapide**

✓ **Performante**

✓ **Souple**

✓ **Coût très modéré**

**Coût très modéré : 5 euros pour 16 antibiotiques en choix libre**



# Limites-Perspectives

## Limites

- Etude monocentrique, nombre limité de patients
- Pas d'évaluation souches carbapénèmes résistantes



## Perspectives

- Etudes multicentriques
- Passage en routine pour un nombre réduit de patients sélectionnés

## Message

- Pertinence de l'utilisation du MHR:  
Importance du dialogue clinicien-biologiste +++



© Can Stock Photo



# Conclusion

Cette étude:

Résultats rapides d'antibiogramme utilisant la technique MHR-SIR directement dans l'urine peuvent être obtenus **40 heures plus tôt que l'ATB classique**

Impact clinique sur le choix et la réduction du spectre de l'antibiothérapie

# Remerciements

- **Monsieur Christian Curel, Société i2**
- **Equipe du laboratoire de Microbiologie**
- **Unité Mobile de Microbiologie Clinique (Dr Barbara Vidal, Dr Carine Couzigou, Dr Benoît Pilmis)**
- **Olivier Jiang, Michael Thy, Steven Defarge**

	Total	Concordances		dm		DM		DTM	
		n	%	n	%	n	%	n	%
Amoxicilline	243	243	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Ticarcilline	242	242	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Céfalexine	245	236	96,33%	0	0,00%	0	0,00%	9	3,67%
Ertapénème	244	242	99,18%	2	0,82%	0	0,00%	0	0,00%
Céfotaxime	242	239	98,76%	3	1,24%	0	0,00%	0	0,00%
Amoxicilline - acide clavulanique	234	224	95,73%	0	0,00%	8	3,57%	2	0,85%
Ceftazidime	245	239	97,55%	6	2,45%	0	0,00%	0	0,00%
Pipéracilline - tazobactam	230	220	95,65%	10	4,35%	0	0,00%	0	0,00%
Céfépime	244	236	96,72%	8	3,28%	0	0,00%	0	0,00%

Taux de concordance: 93,4 – 100%

Acide nalidixique	245	238	97,14%	7	2,86%	0	0,00%	0	0,00%
Ofloxacin	244	228	93,44%	14	5,74%	2	0,88%	0	0,00%
Ciprofloxacine	243	231	95,06%	11	4,53%	1	0,43%	0	0,00%
Céfixime	237	236	99,58%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,42%
Imipénème	241	240	99,59%	1	0,41%	0	0,00%	0	0,00%
Nitrofurantoïne	238	237	99,58%	0	0,00%	0	0,00%	1	0,42%
Mécillina	239	239	100,00%	0	0,00%	0	0,00%	0	0,00%
Témocilline	230	223	96,96%	0	0,00%	6	2,69%	1	0,43%
Céfoxitine	235	230	97,87%	5	2,13%	0	0,00%	0	0,00%
Fosfomycine	240	238	99,17%	2	0,83%	0	0,00%	0	0,00%
<b>Total</b>	<b>5285</b>	<b>5172</b>	<b>97,86%</b>	<b>82</b>	<b>1,55%</b>	<b>17</b>	<b>0,33%</b>	<b>14</b>	<b>0,26%</b>

Performance of rapid antimicrobial susceptibility testing by disk diffusion on MHR-SIR agar directly on urine specimens

Claire Périllaud-Dubois<sup>1</sup> · Benoit Pilimis<sup>2</sup> · Julien Diep<sup>2</sup> · Gauthier Péan de Ponfilly<sup>1</sup> · Simon Perreau<sup>1</sup> · Louise Ruffier d'Epenoux<sup>1</sup> · Assaf Mizrahi<sup>1</sup> · Carine Couzigou<sup>2,3</sup> · Barbara Vidal<sup>2,3</sup> · Alban Le Monnier<sup>1</sup> · Jean-Claude Nguyen Van<sup>1</sup>

Received: 9 August 2018 / Accepted: 24 October 2018

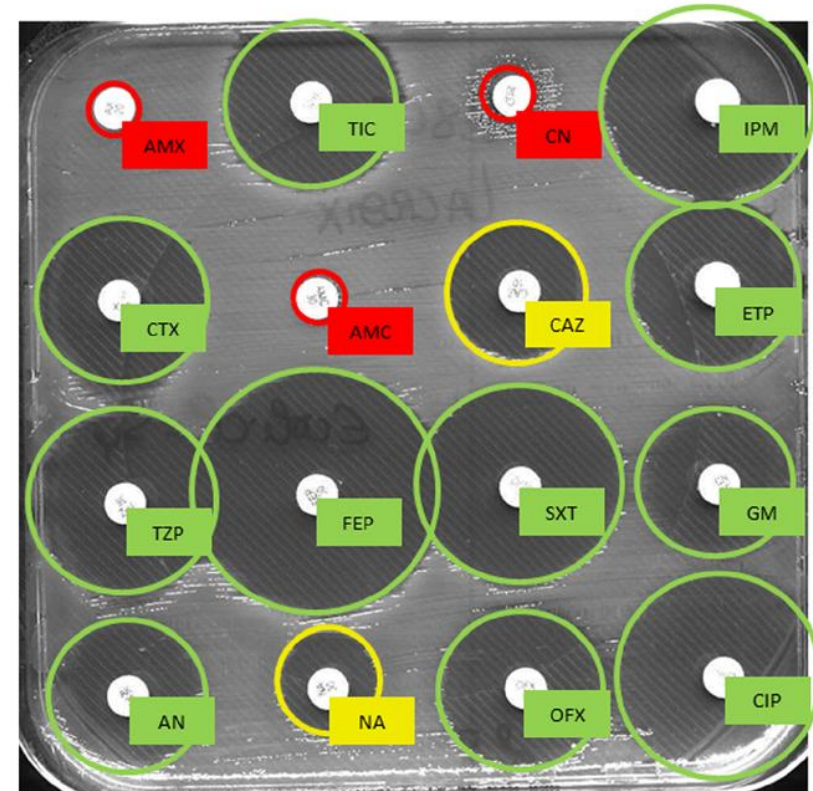
- 22 antibiotiques testés
- 5285 combinaisons ATB-bactérie
  - 97,9% concordances
  - 1,55% dm
  - 0,33% DM
  - 0,26% DTM

# Lecture de l'antibiogramme après 8h et 24 heures d'incubation

8 heures sur MHR directement à partir de l'urine



24 heures sur MH à partir de la culture



# Désescalade

Rank	Molecule(s)	Similar response rate (%) <sup>1</sup>	Consensus reaching round number <sup>2</sup>
1	Amoxicillin	100	2
2	Amoxicillin+Clavulanic Acid	88	3
3	3rd generation cephalosporin	81	3
	Ureido/carboxy-penicillin		
4	Piperacilin+Tazobactam	71	4
	Ticarcilin+Clavulanic Acid		
	4th generation cephalosporin, Antipseudomonal 3rd generation cephalosporin		
5	Ertapenem	81	3
	Imipenem		
6	Meropenem	85	2
	Doripenem		


<sup>1</sup> Indicates the proportion of the EP members that agreed with the molecules included in each rank of the classification

<sup>2</sup> Indicates how many rounds of the Delphi's process were necessary to reach a consensus.

Weiss E *et al.* De-escalation Study Group.


Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of  $\beta$ -lactams [Clin Microbiol Infect.](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.03.013) 2015 Jul;21(7):649.e1-10. doi:10.1016/j.cmi.2015.03.013. Epub 2015 Apr 13

# Clinical impact of rapid susceptibility testing on MHR-SIR directly from blood cultures



Groupe Hospitalier  
Paris Saint-Joseph

## Clinical impact of rapid susceptibility testing on MHR-SIR directly from blood cultures



29th **ECCMID** EUROPEAN CONGRESS OF CLINICAL MICROBIOLOGY AND INFECTIOUS DISEASES  
Amsterdam, Netherlands  
13 – 16 April 2019

B. Pillmis<sup>1</sup>, M. Thy<sup>1</sup>, A. Mizrahi<sup>1</sup>, J. Lourtet<sup>1</sup>, C. Couzigour<sup>1</sup>, B. Vidal<sup>1</sup>, A. Le Monnier<sup>2</sup>, J-C. Nguyen Van<sup>2</sup>  
 1. Equipe mobile de microbiologie clinique, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph, 75014 Paris, France  
 2. Service de microbiologie clinique et plateforme de dosage des anti-infectieux, Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph, 75014 Paris, France

**Background and aims**

Bloodstream Infections (BSI) are serious infections and can lead to a state of septic shock where delay in adequate antibiotic therapy increases the risk of morbidity and mortality. In case of septic shock, current guidelines recommend empiric administration of broad-spectrum intravenous antibiotic therapy as soon as possible after recognition and within 1h for both sepsis and septic shock. Rapid antimicrobial susceptibility testing has been shown to reduce mortality, length of stay in hospitalization, time until alteration of antimicrobial therapy and the cost of hospitalization.

The aim of this study was to measure the clinical impact associated with rapid reporting of antimicrobial susceptibility test: MHR-SIR results directly from blood cultures after 6-8 h of incubation on the same day that the bacteremia was detected.

**Material and Methods**

Case-control study conducted between June 2015 and June 2016 at the Hospital Paris Saint-Joseph

**Inclusion criteria:** Presence of an active infection defined as positive blood culture and clinical definition of sepsis caused by at least *Enterobacteriaceae* or *Staphylococcus aureus* and requirement of an empirical antibiotic therapy. All patients were screened daily for eligibility.

**Exclusion criteria:**  
 1) non-bond patient or patient in palliative care  
 2) moribund patient or patient in palliative care in whom clinical decide to not introduce antibiotic therapy.

This study included two periods:  
 Period 1: From June 2015 to December 2015 followed a conventional strategy with the standard method of disk diffusion with a 16-24h of incubation according to the recommendations of EUCAST  
 Period 2: From January 2017 to June 2017 following MHR-guided adaptation therapy

**Microbiological procedures:**  
 Blood cultures were collected on BacT/ALERT bottles and incubated in Virus (bioMérieux, La Balme-les-Grottes, France). Once the blood culture was flagged positive, Gram stain was performed, followed by identification by VITEK2 Compact with ID32P (bioMérieux, France) directly on blood culture bottles using the MHR-SIR instructions.

AST was performed from positive blood samples by direct inoculation as recommended by the British Society for Antimicrobial Chemotherapy 23 on MHR-SIR Ragar (2x, Montpellier, France) and incubated for 6-8 h. A panel of 22 antibiotic disks were tested for *Enterobacteriaceae* and 16 antibiotic disks for *Staphylococcus aureus*.

**Results and discussion**

From June 2015 to June 2016, 320 patients were included in the study. Patients characteristics are presented in table 1

	Conventional strategy (n=162)	MHR-guided adaptation therapy (n=158)	P-value
Sex ratio (M/F)	84/78	91/75	1
Median age	72.5 (52.9 – 82.2)	72.7 (60.5 – 82)	1
Source of infections			
Urinary tract infections	55 (32.7)	74 (44.3)	0.06
Intra-abdominal infections	25 (25.1)	22 (19.6)	0.76
Catheter related infections	11 (12.5)	15 (9)	0.22
Skin and soft tissue infections	11 (6.7)	10 (6)	0.82
Respiratory tract infections	6 (3.7)	9 (5.4)	0.59
Bone and joint infections	12 (8)	11 (6.8)	0.29
Infective endocarditis	12 (8)	9 (4.8)	0.26
Primary bacteremia	9 (4.9)	7 (4.1)	0.77
Isolated bacteria			
Enterobacteriaceae	118 (72.4)	132 (79.6)	0.15
Staphylococcus aureus	45 (27.6)	24 (20.4)	0.1
Mean time between positivity of blood cultures and adaptation of antibiotic therapy	19h ± (2h40)	7h ± (2h0)	<0.01

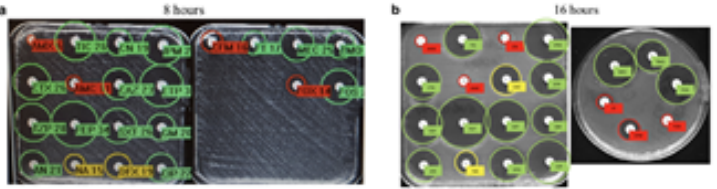
**Table 1.** Characteristics of patients included in the study

MHR-SIR disk diffusion method allowed early reading for the most important pathogens isolated from positive blood cultures such as *Enterobacteriaceae* and *Staphylococcus aureus* accounting for 50% of all blood culture isolates in our laboratory in the period 2015 to 2017.


Rapid method by MHR-SIR directly from blood cultures allow a significantly more effective de-escalation of treatment than the conventional technique.

**Conclusion**

This study based on rapid AST MHR-SIR showed a significant time saving (11h) on the appropriateness of antibiotics prescription and demonstrated a significant impact at very moderate costs (500€) including the choice and reduction of the spectrum of antibiotic therapy. It demonstrated a positive value when compared with the efficient action in real time by the antimicrobial stewardship team.

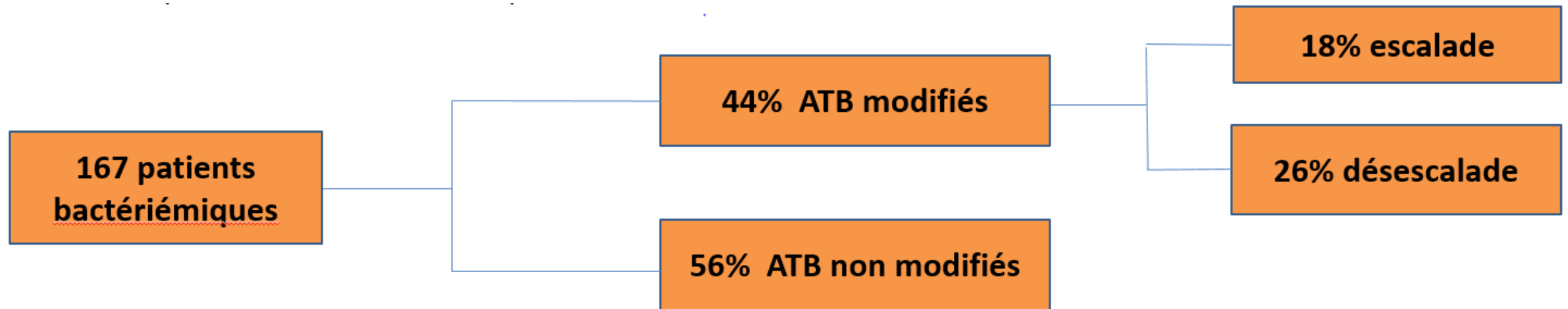


**Figure 1.** Automatic photos of an AmpC hyperproducer *Escherichia coli* strain isolated from urine sample on MHR-SIR (a) and standard MHK (b) after respectively 8- and 16-h incubation.



**Figure 2.** Antibiotic therapies modification according to MHR-SIR results

# Clinical impact of rapid susceptibility testing on MHR-SIR directly from blood cultures



Soumis et accepté pour le JAC 2019