

Actualités sur les prélèvements de dépistage – portage des bactéries multi-résistantes (BMR)

Dr Christine LAWRENCE, GHU PIFO, R. Poincaré, GARCHES
XIème Journées de Microbiologie Clinique, vendredi 25 septembre 2015

Bactéries Multi-Résistantes Définition

- Les « anciennes » BMR dites endémiques
- Les BMR de réanimation
- Les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe)

Les « anciennes » BMR dites endémiques

- *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) avec parfois associée une sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA)

OBJECTIFS PROPIAS :

- % SARM parmi les BN à *S. aureus* $\leq 20\%$ (2017)
- Diminution de la densité d'incidence des BN à SARM de 20% (2018)
- 100% des BN à SARM potentiellement évitables font l'objet d'une analyse des causes (2016)

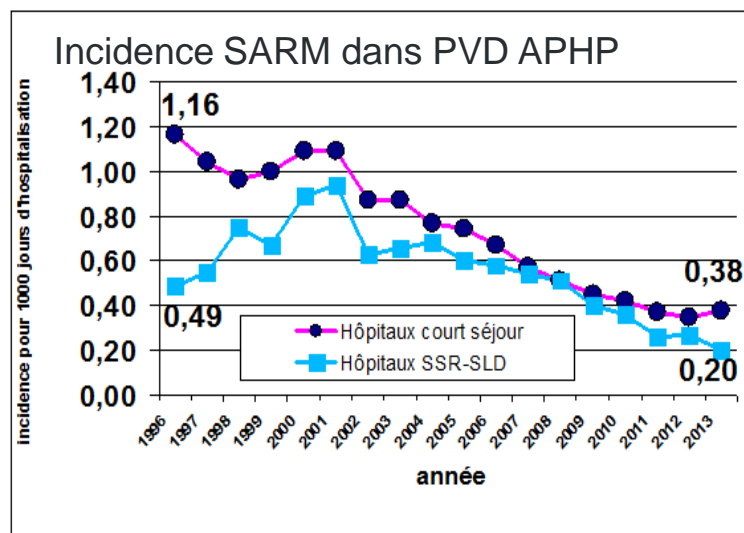
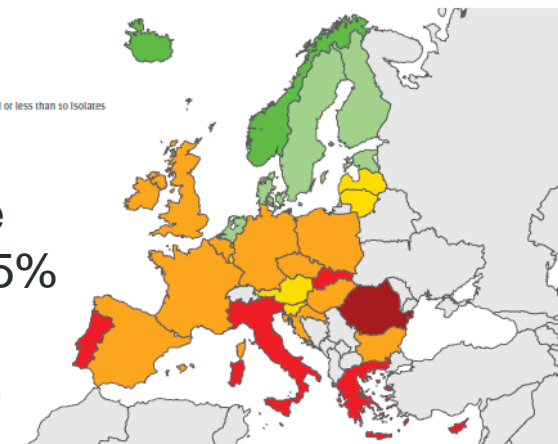


Figure 3.23. *Staphylococcus aureus*. Percentage (%) of invasive isolates resistant to meticillin (MRSA), by country, EU/EEA countries, 2013



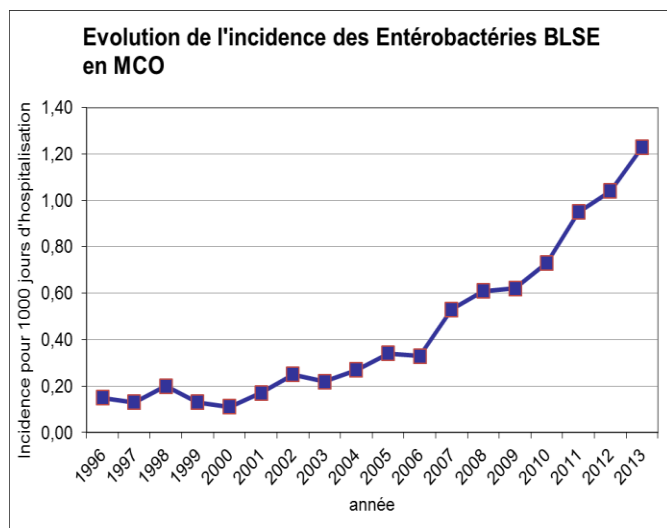
France
10 à 25%

Non-visible countries
Liechtenstein
Luxembourg
Malta



Les « anciennes » BMR dites endémiques

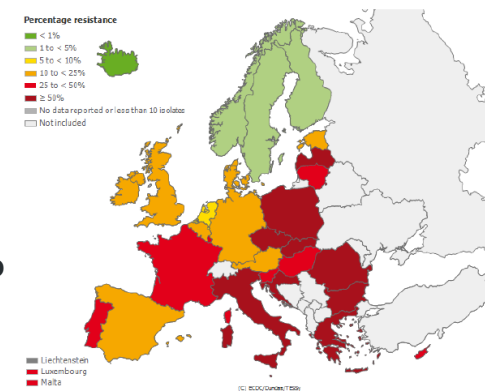
- Entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération par acquisition de résistances enzymatiques plasmidiques, telles que les entérobactéries à β -lactamase à spectre étendu (EB-BLSE)



OBJECTIFS PROPIAS :

- Stabilisation de la densité d'incidence des BN à *K.pneumoniae* ou *E.cloacae* BLSE → 2018
- Diminution de la densité d'incidence des BN à *K.pneumoniae* ou *E.cloacae* BLSE de 20% → 2020

Proportion of 3rd gen. cephalosporins Resistant (R+I) *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Participating Countries in 2013



Les BMR de réanimation

- *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (PARC) avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémases (type VIM-1 par exemple) ou par modification de perméabilité
- *Acinetobacter baumannii* multirésistant aux bêta-lactamines (ABMR) avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémases (type oxa-23 par exemple) ou par modification de perméabilité

P. aeruginosa : Etude DYNAPYO

Dynamique d'acquisition chez les patients en réanimation

- 10 réanimations, 1494 patients inclus
- 180 patients porteurs à l'admission (12%)
- 201 patients découverte *P. aeruginosa* \geq 48h après admission
 - 13 % des patients inclus \Rightarrow 12,7 pour 1000 JH
 - de 9 à 20 % selon le service \Rightarrow de 9,5 à 15,9 pour 1000 JH
 - délai médian de 9 jours

10 397 dépistages - Collecte de 1510 souches patient

155 patients colonisés

- 1^{er} site positif \Rightarrow site rectal 44 %, aspiration trachéale 35 % puis dépistage oropharyngé 23 %
- 26% feront une infection

87 patients infectés dont 41 d'emblée

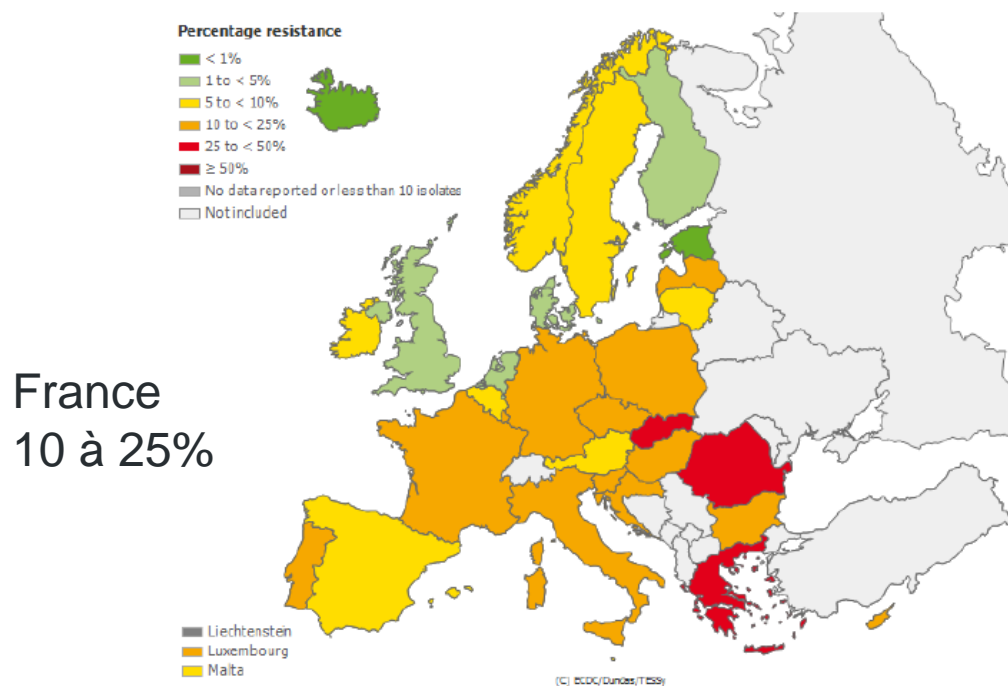
- 39% pneumopathie (P50 à 8 j)
- 14% urinaires (P50 à 16 j)
- 14% peau et tissus mous (P50 à 11j)
- 14% cathéters (P50 à 16j)



■ Définition de *P. aeruginosa* multi R ?



Proportion of Ceftazidime Resistant (R) *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Participating Countries in 2013

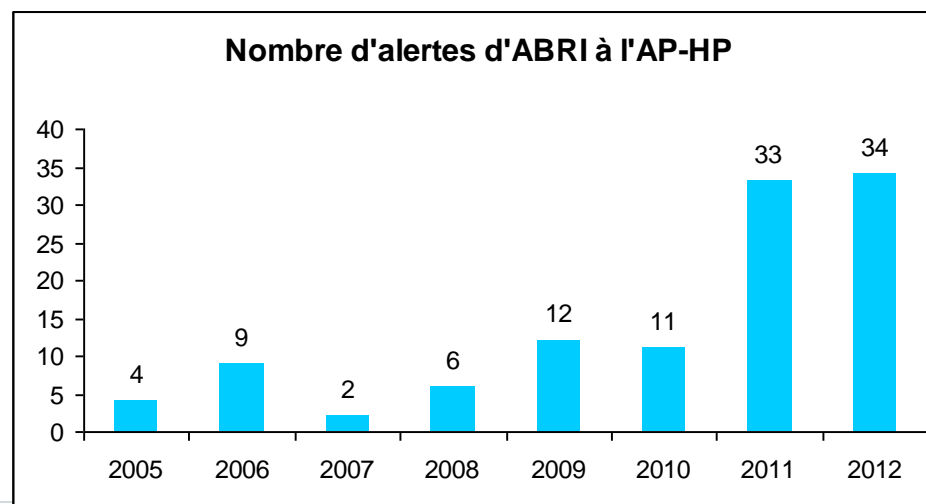


Les BMR de réanimation

- *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (PARC) avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémases (type VIM-1 par exemple) ou par modification de perméabilité
- *Acinetobacter baumannii* multirésistant aux bêta-lactamines (ABMR) avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémases (type oxa-23 par exemple) ou par modification de perméabilité

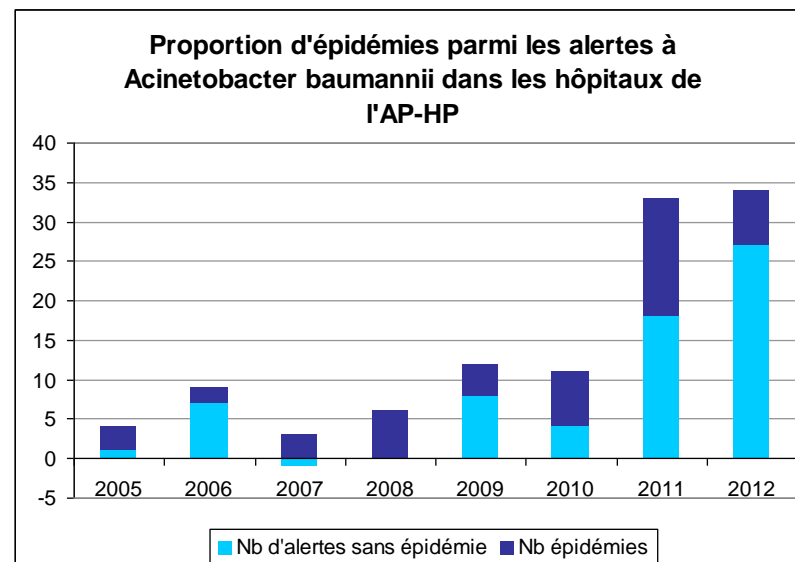
Alertes impliquant un ABRI 2005-2012 (APHP)

- 111 alertes dans 17 hôpitaux de court séjour (77% des hôpitaux de court séjour de l'AP-HP)
- 59% des alertes ont un lien avec l'étranger (Afrique du Nord dans la moitié des cas)
- 68% des ABRI sont identifiés dans les services de réanimation
- Colonisation 70%, infection 30% (pneumopathie (60%) > infection cathéter > septicémie)
 - ▶ 87% des infections surviennent en réanimation



ABRI : 47 épidémies entre 2005 et 2012

- 5 cas en moyenne (médiane = 4) [min 2 – max 14]
- Durée moyenne d'une épidémie = 42j [min 2j – max 8.5 mois]
- Spécialités concernées
 - Réanimation : 89% des épidémies (42/47)
56% des alertes de réanimation
 - Chirurgie : 11% des épidémies (5/47)
31% des alertes de chirurgie



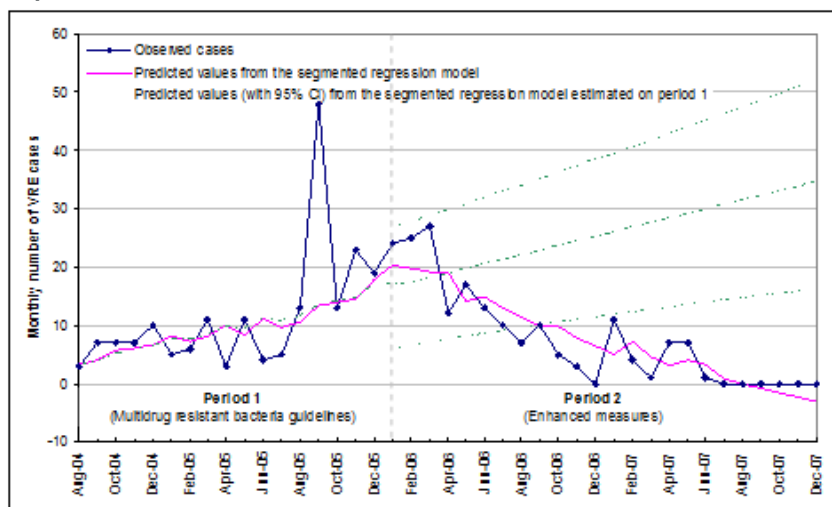
Les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe)

- *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (ERG) par mécanisme de type VanA ou VanB.
- Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC)

Les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRé)

- *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (ERG) par mécanisme de type VanA ou VanB. (*E. faecalis* exclu dans reco HCSP 2013)

Courbe épidémique du nombre d'ERV dans les hôpitaux de l'AP-HP

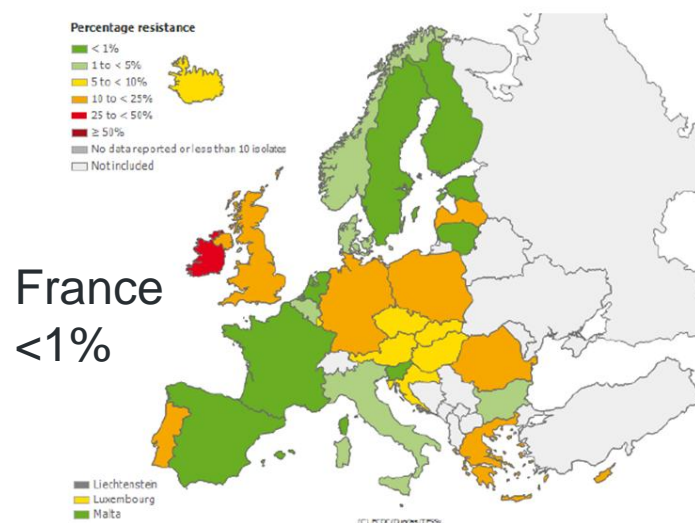


OBJECTIFS PROPIAS :

- Taux d'ERV parmi les bactériémies à *Enterococcus faecium* $\leq 1\%$ (2015)



Proportion of Vancomycin Resistant (R) *Enterococcus faecium* Isolates in Participating Countries in 2013



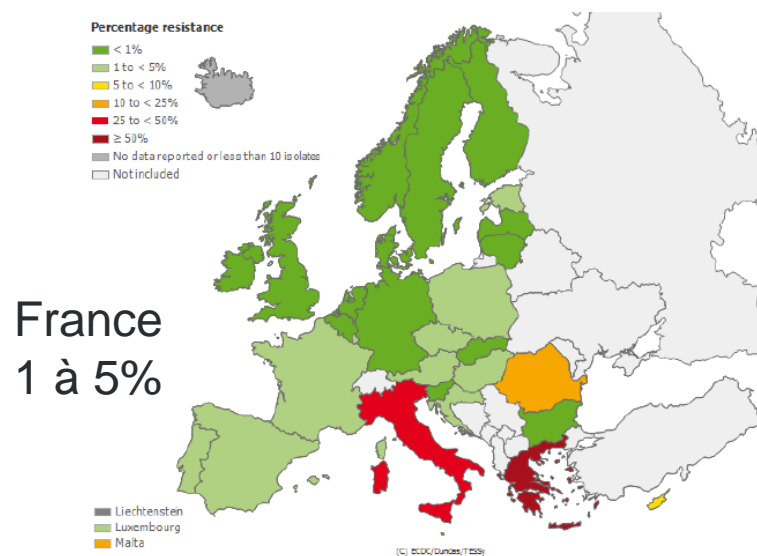
Les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRé)

■ Entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC)

- ▶ *Oxa* (surtout *Oxa-48*) : Afrique du Nord, Turquie principalement. Particularité : peuvent garder une sensibilité aux C3G en l'absence de BLSE associée.
- ▶ *KPC* (surtout *KPC-2*) : Grèce, Israël, Italie
- ▶ *VIM* épidémiologie très variée : particularité sensibilité conservée à l'aztréonam, métallo-enzyme dont la sensibilité est restaurée par EDTA
- ▶ *NDM* : Inde, Asie SE, GB

OBJECTIFS PROPIAS :

- Taux d'EPC parmi les bactériémies à *Klebsiella pneumoniae* ≤ 1% (2015)



Objectifs propias BHRe

Programme national d'actions de préventions des infections associées aux soins

- Proportion de cas secondaires sur l'ensemble des cas de BHRe $\leq 20\%$
- Proportion d'épisodes avec cas secondaires $\leq 10\%$
- Mise à disposition d'un système informatique de repérage des patients BHRe et des contacts en cas de réadmission pour 100% des ES
- Lettre de liaison inclut l'information en cas de transfert entre ES-EMS-Ville dans 100% des ES

→ Nécessité de dépistage du portage

Qui prélever pour rechercher les BMR endémiques ?

	Réanimation	Court séjour (hors réanimation)	Soins de suite et réadaptation	Soins de longue durée
à l'admission	- patients à risque - en situation épidémique installée ou récente			Non
en cours d'hospitalisation	uniquement si dépistage à l'entrée	Non	uniquement en situation épidémique installée ou récente	Non
à la sortie de l'unité	Non	uniquement en situation épidémique installée ou récente		Non

D'après « Recommandations nationales, prévention de la transmission croisée: précautions complémentaires contact. Consensus formalisé d'experts 2009 »

Qui prélever pour rechercher les BHRe ?

- Tout patient ayant été hospitalisé à l'étranger dans l'année qui précède
- Tout patient ayant des antécédents de portage de BHRe
- Tout patient connu contact d'un patient BHRe
 - ▶ Tous les patients pris en charge en hospitalisation par la même équipe soignante qu'un cas (jour/nuit, PNM/PM) dès lors que des contacts physiques ont pu être générés lors de cette prise en charge

Recommandations BHRe HCSP 2013

16

Quel sites prélever ?

SARM

- Ecouvillonnage nasal: le plus sensible
- Autres localisations : gorge, périnée, axillaire, plaies chroniques...

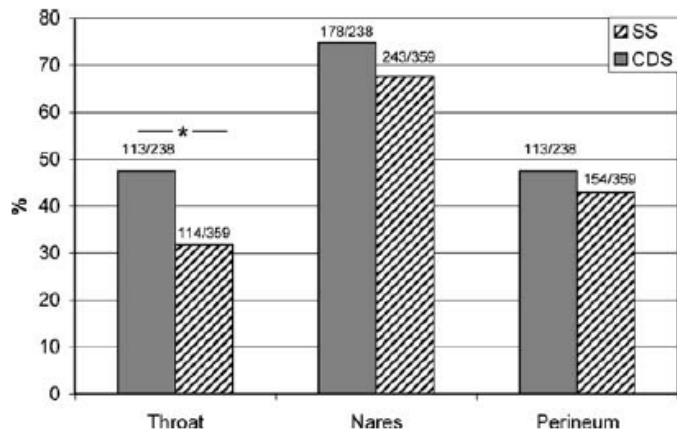


Fig. 2 Percentage of patients with a positive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) sample from nares, throat, and perineum in the SS and CDS groups. $\chi^2(1, N=597)=15.02, p=0.0001$

Site cultured ^a	MRSA isolates by direct culture		
	No.	% positive	Sensitivity ^b
Nasal	53	8.2	81.5
Throat/sputum	31	4.8	47.7
Axilla	8	1.2	12.3
Perineum	12	1.8	18.5
Nasal+throat/sputum	60	9.2	92.3
Nasal+axilla	55	8.5	84.6
Nasal+perineum	57	8.8	87.7
One or more sites	65	10.0	

Lauderdele et al 2010

Bitterman et al 2010

Quel sites prélever ?

- Ecouvillonnage anal: recherche EB-BLSE, PARC, ABMR, BHRe.
- Ecouvillonnage plaie chronique: recherche de SARM, EB-BLSE, PARC, ABMR, BHRe.
- Prélèvement de gorge ou aspiration trachéale (si dispositif intra-trachéal): PARC, ABMR.

- Plus de sites : augmentation de la sensibilité mais
 - ▶ Complique le message auprès des infirmières
 - ▶ Augmente la charge en soin
 - ▶ Augmente le travail au laboratoire
 - ▶ Augmente les coûts
 - ▶ Elle doit donc être mesurée et dépend de la situation épidémiologique.

Comment prélever ?



- **Ecouvillons stériles avec milieu de transport à privilégier (REMIC)**
 - ▶ Augmentation des délais de conservation de l'échantillon avant analyse
 - ▶ Augmentation de la sensibilité

Table 3 MRSA screening results with ESwab and dry swab; 137 paired samples

	Culture results	
	MRSA-positive	MRSA-negative
ESwab	128	9
Dry swab	124	13

Saegeman et al 2011

Comment prélever ?

- **Prélever avant toute toilette ou antiseptie**
- **Pour le prélèvement nasal, écouvillonner les fosses nasales (un seul écouvillon pour les deux côtés).**
- **Pour le prélèvement anal ou rectal récupérer sur l'écouvillon des matières fécales visibles à l'œil nu.**
 - ▶ Le prélèvement peut être fait par le patient lui-même. L'infirmière vérifiera alors la présence de matières fécales sur l'écouvillon. Ce prélèvement peut aussi être remplacé par un prélèvement de selles.
- **En cas de stomie, prélèvement fait à l'orifice de stomie.**

Culture

■ Milieux sélectifs avec antibiotiques non chromogènes

- ▶ sont à proscrire car manque de spécificité
- ▶ Utiles éventuellement lors de l'émergence d'une nouvelle résistance

■ Milieux sélectifs chromogènes

- ▶ Obtention simultanée d'une orientation d'espèce et la résistance.
- ▶ Souvent bonne VPP dès 24
- ▶ Spécificité et sensibilité variables mais continuellement améliorées par les fabricants.
- ▶ Durée d'incubation dépend des milieux commerciaux, en général de 24 à 48h. Sensibilité augmentée par une durée d'incubation plus longue alors que spécificité baisse (culture positive pour des bactéries dont la résistance ne correspond pas à celle recherchée).

Enrichissement en milieu liquide en présence d'antibiotiques ou non ?

■ Avantages

- ▶ Augmentation de la sensibilité de la technique
- ▶ Permet d'identifier un maximum de cas notamment en situation épidémique et donc de mieux maîtriser la gestion de l'épidémie
- ▶ Permet de mieux affirmer une négativation chez un porteur connu

■ Inconvénients

- ▶ 24 h supplémentaire de culture
- ▶ Risque accru de contamination inter-échantillon au laboratoire (fausse épidémie?)

SARM (CA-SFM 2015V2)

- Résistance à la méticilline déduite de la résistance à la céfoxitine
- Ne pas rendre les glycopeptides d'après antibiogramme par diffusion ou en milieu liquide si $CMI > 1\mu\text{g/ml}$
 - ▶ Recommandations spécifiques pour la recherche de sensibilité diminuée aux glycopeptides

EB-BLSE (CA-SFM 2015V2)

- **Vérifier systématiquement la présence de BLSE par la réalisation d'un antibiogramme surtout pour les entérobactéries du groupe III.**
 - ▶ Exclure une céphalosporinase chromosomique hyperproduite type AmpC ou une céphalosporinase plasmidique

- **CA-SFM 2015V2 : modification des CMI, charges en disque, diamètres critiques et inoculum pour les antibiogrammes par diffusion**
 - ▶ C3G lues plus systématiquement résistantes ou intermédiaires sans besoin d'interprétation
 - ▶ Images en « bouchon de champagne » moins nettes
 - ▶ Aide au diagnostic sur milieu MH cloxa ou par comparaison diamètres C3G avec ou sans ac. clavulanique

Carbapénémases (CA-SFM 2015V2)

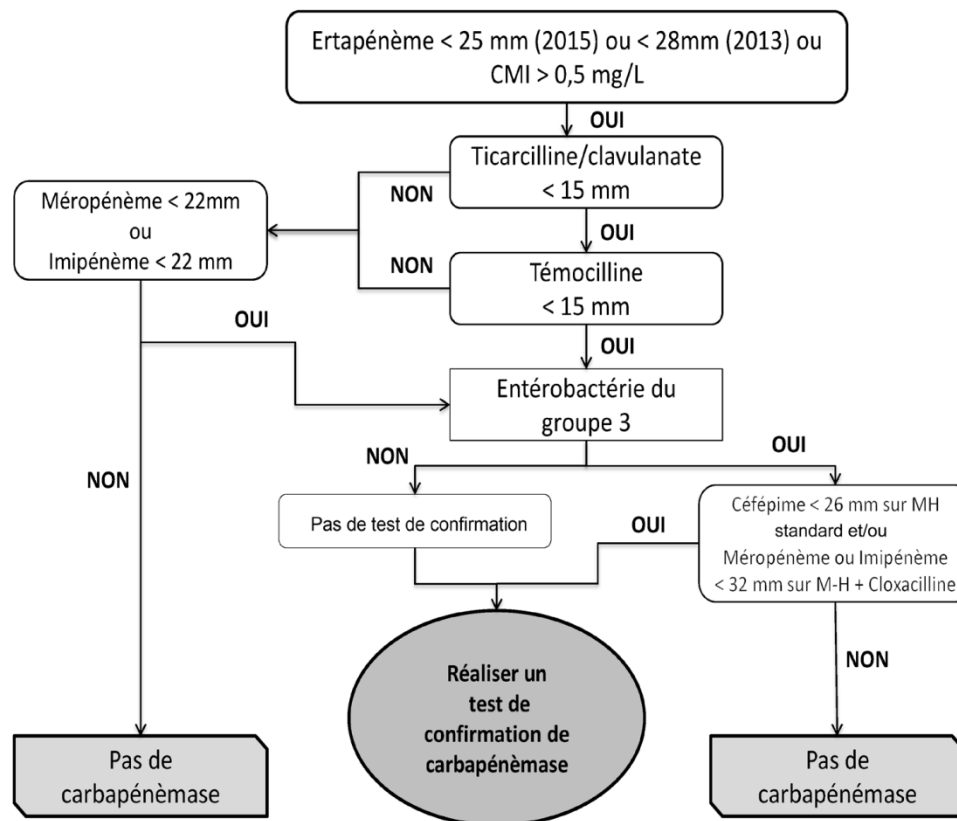
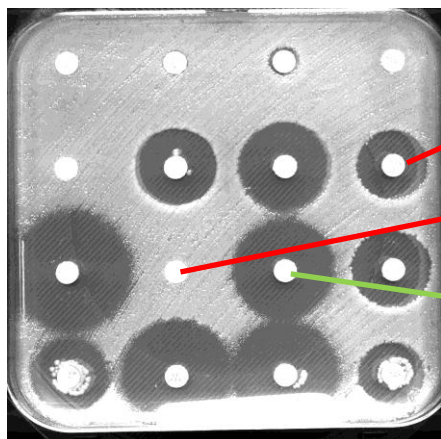


Figure 1

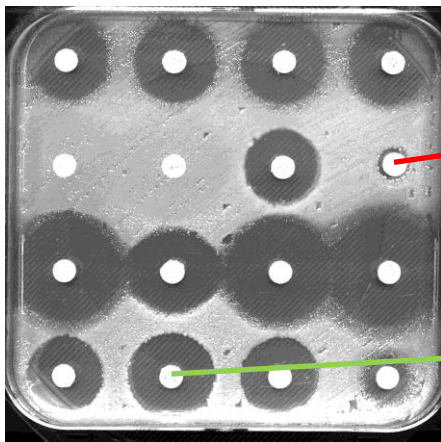
Carbapénémases (CA-SFM 2015V2)



ETP 20 R

TIM 6 R

CAZ 29 S



TEMO 8 R

MERO 24 S

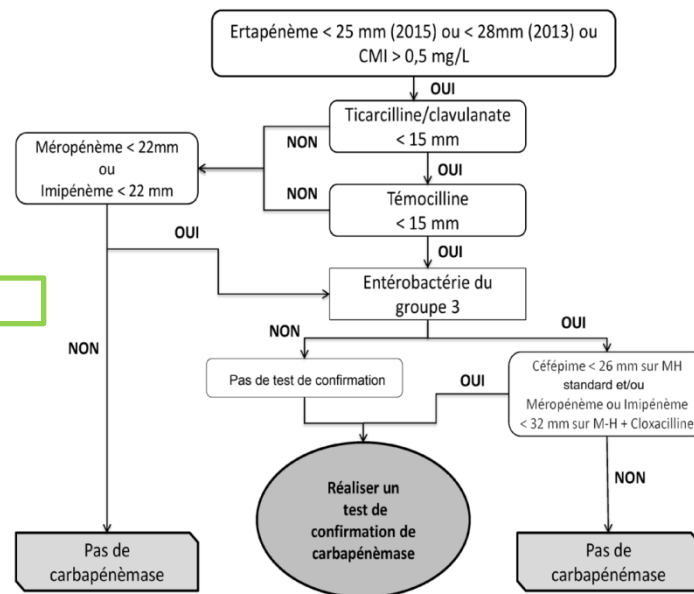


Figure 1

K. Pneumoniae oxa-48 (sans BLSE associée)

Carbapénémases (CA-SFM 2015V2)

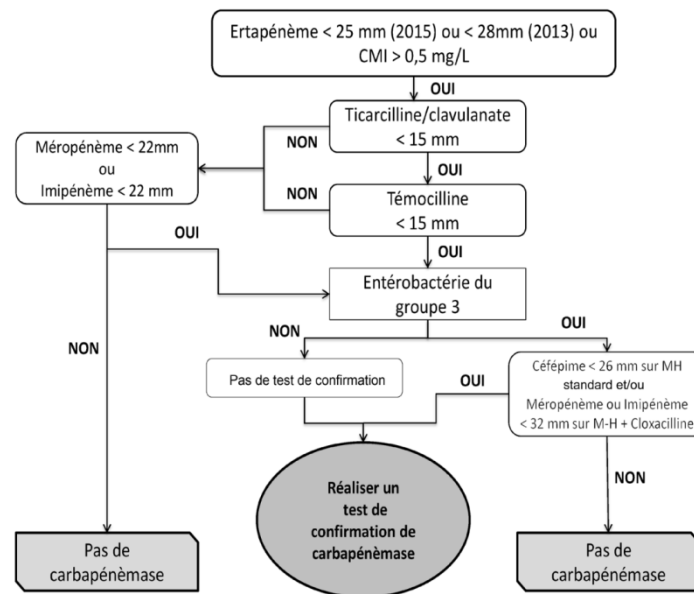
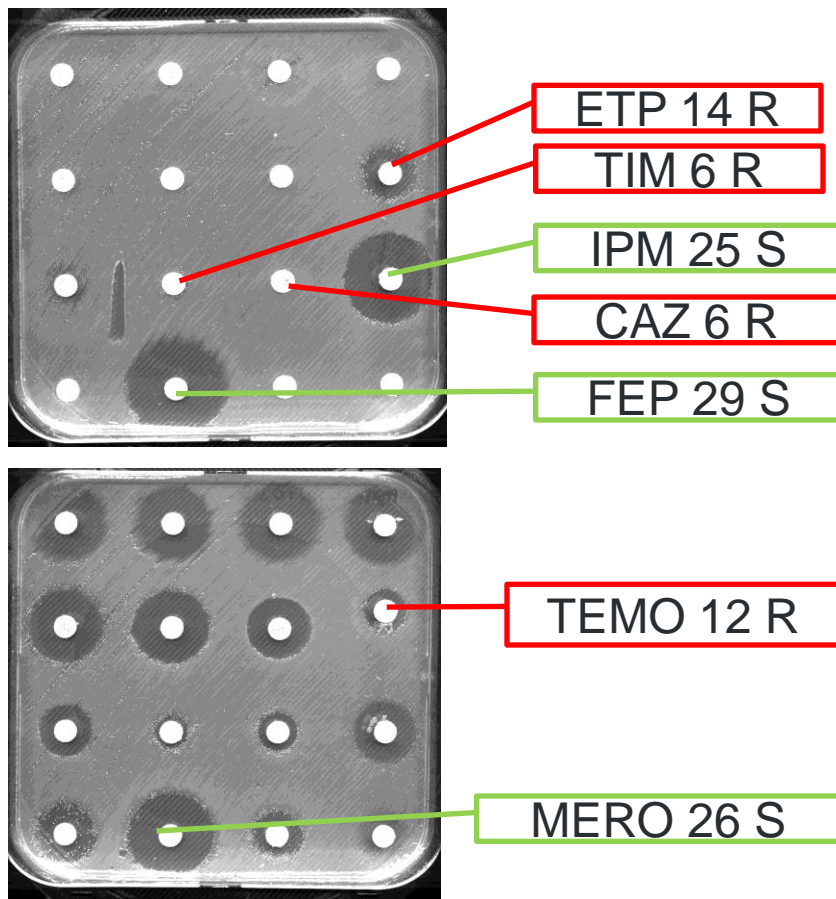


Figure 1

Imipenème >32
MH cloxa

E. Cloacae : absence de carbapénamase

Carbapénémases (CA-SFM 2015V2)

■ Tests de confirmation phénotypique

▶ Kit de confirmation de KPC + MBL

- *Combinaison de disques*

- Meropenem
- Meropenem+DPA
- Meropenem+Boronic
- Meropenem+Cloxacillin

- *Ne permet pas l'identification des oxa-48*

▶ Test carba NP

- *Détection de l'hydrolyse de l'imipénème en présence de carbapénémase bactérienne*

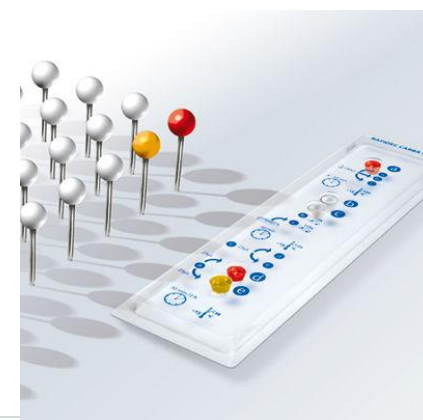
- Test enzymatique
- Lecture manuelle

- *Lecture malaisée pour les hydrolyses faibles (oxa-48, oxa-23)*

- *Perfectionnement : détection hydrolyse par Maldi-TOF*

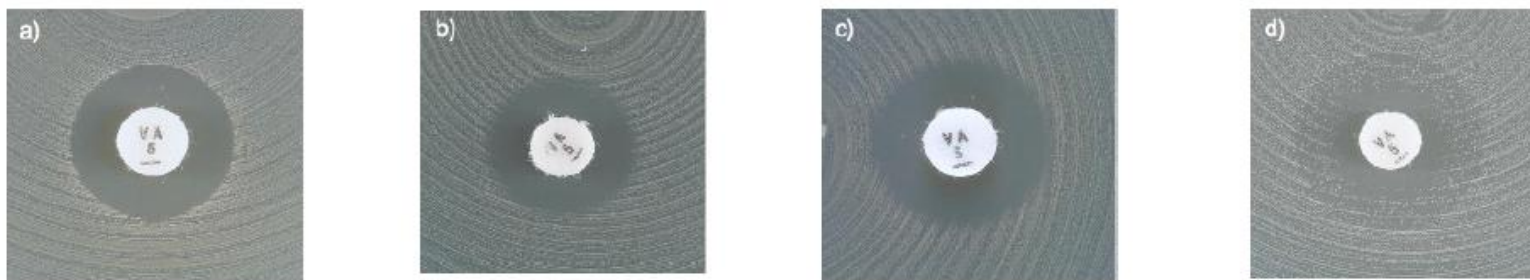


K. pneumoniae PHA3 CL5761 KPC positive



ERV

- Identification d'espèce (Maldi-TOF)
- Antibiogramme par diffusion (CA-SFM 2015V2)
- Les souches d'entérocoques sensibles à la vancomycine présentent des zones d'inhibition à contours nets. L'examen des contours doit être effectué sous lumière directe et une résistance est suspectée devant un contour flou ou la présence de colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition (voir photos ci-dessous). La lecture ne doit pas être effectuée avant 24 heures d'incubation.



Exemples de zones d'inhibition de souches d'*Enterococcus* spp. avec la vancomycine (disque chargé à 5 µg).

a) Bord à contours nets et diamètre d'inhibition ≥ 12 mm. Rendre sensible.

b-d) Bord à contours flous ou présence de colonies dans la zone d'inhibition. Rendre résistant même si la zone d'inhibition est ≥ 12 mm.

Identification par PCR multiplex temps réel

- Directement à partir des prélèvements ou confirmation à partir de colonies suspectes
- Avantages
 - ▶ Outils simples d'utilisation
 - ▶ Réponse rapide (<1h)
 - ▶ Bonne sensibilité
- Inconvénients
 - ▶ Cible uniquement certains gènes de résistances
 - *SARM* : gène *mecA* + cassette SSC
 - *ERV* : *VanA* et *VanB* (*pb spécificité car VanB chez anaérobies intestinaux*)
 - *CARB* : *KPC*, *NDM*, *VIM*, *Oxa-48* (+/- *oxa-48 like*)
 - *BLSE* : *pas de test rapide, quelles cibles choisir ?*
 - ▶ Coût : achat machine ou MAD + cout réactifs

Suivi dans le temps ?

■ Durée du portage extrêmement variable

- ▶ Dépend de la bactérie
 - *Type de BMR/BHR*
 - *Commensal ou saprophyte*
- ▶ Dépend du patient
 - *Site de portage*
 - *Prise d'antibiotiques*
 - *Lésions cutanées chroniques (SARM)*
- ▶ Dépend des techniques
 - *Sites prélevés*
 - *Sensibilité technique de prélèvement et d'analyse*

■ Critères négativation à prendre en compte :

- ▶ Plusieurs dépistages négatifs à plusieurs semaines d'intervalle
- ▶ Négativation maintenue malgré traitement antibiotique
- ▶ Négativation y compris après enrichissement ou PCR

Le dépistage est-il utile ?

■ SARM et EB-BLSE en réanimation

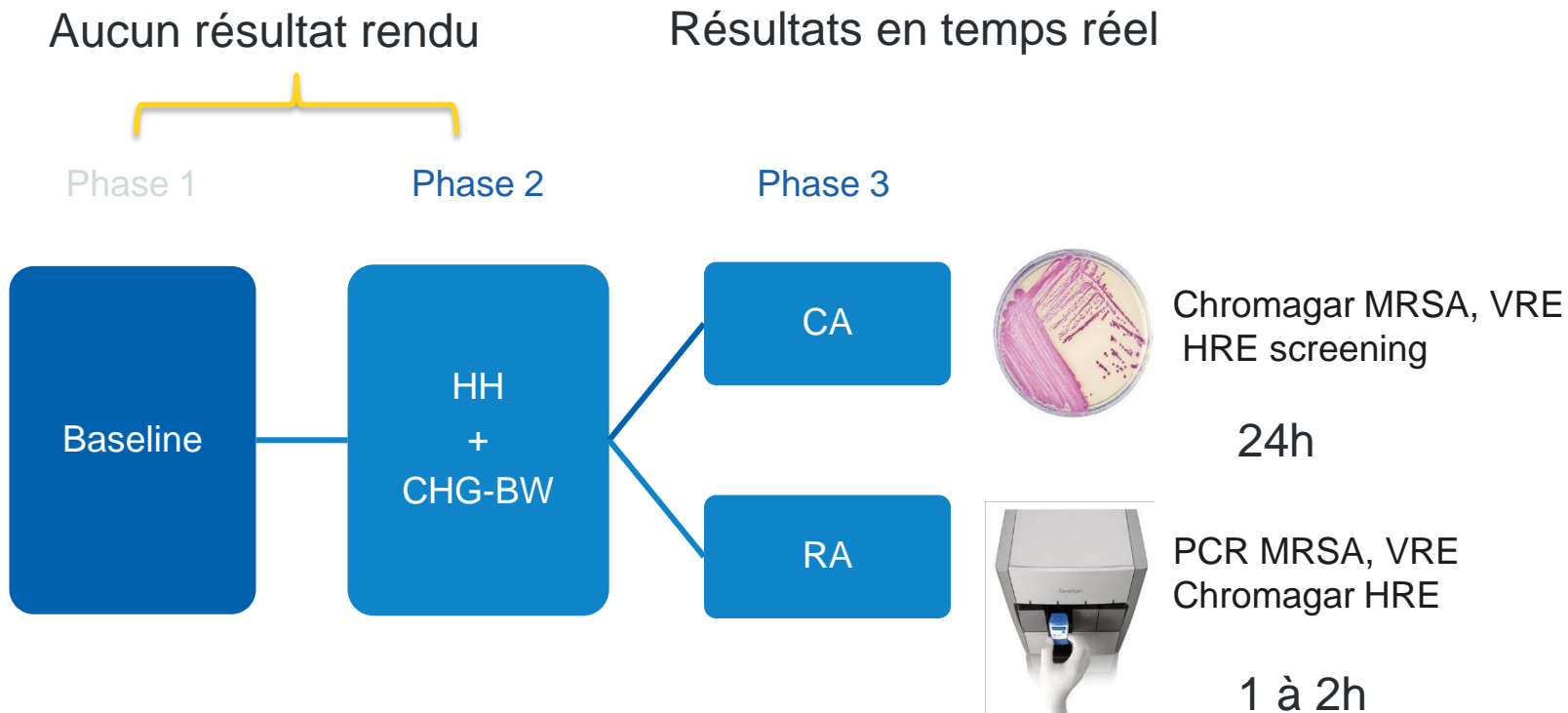
Interventions to reduce colonisation and transmission of antimicrobial-resistant bacteria in intensive care units: an interrupted time series study and cluster randomised trial

Lennie P G Derde, Ben S Cooper, Herman Goossens, Surbhi Malhotra-Kumar, Rob J L Willems, Marek Gniadkowski, Waleria Hryniewicz, Joanna Empel, Mirjam J D Dautzenberg, Djillali Annane, Irene Aragão, Annie Chalfine, Uga Dumpis, Francisco Esteves, Helen Giamarellou, Igor Muzlovic, Giuseppe Nardi, George L Petrikos, Viktorija Tomic, Antonio Torres Martí, Pascal Stammel, Christian Brun-Buisson*, Marc JM Bonten*, on behalf of the MOSARWP3 Study Team

Lancet Infect Dis. 2014 Jan;14(1):31–9

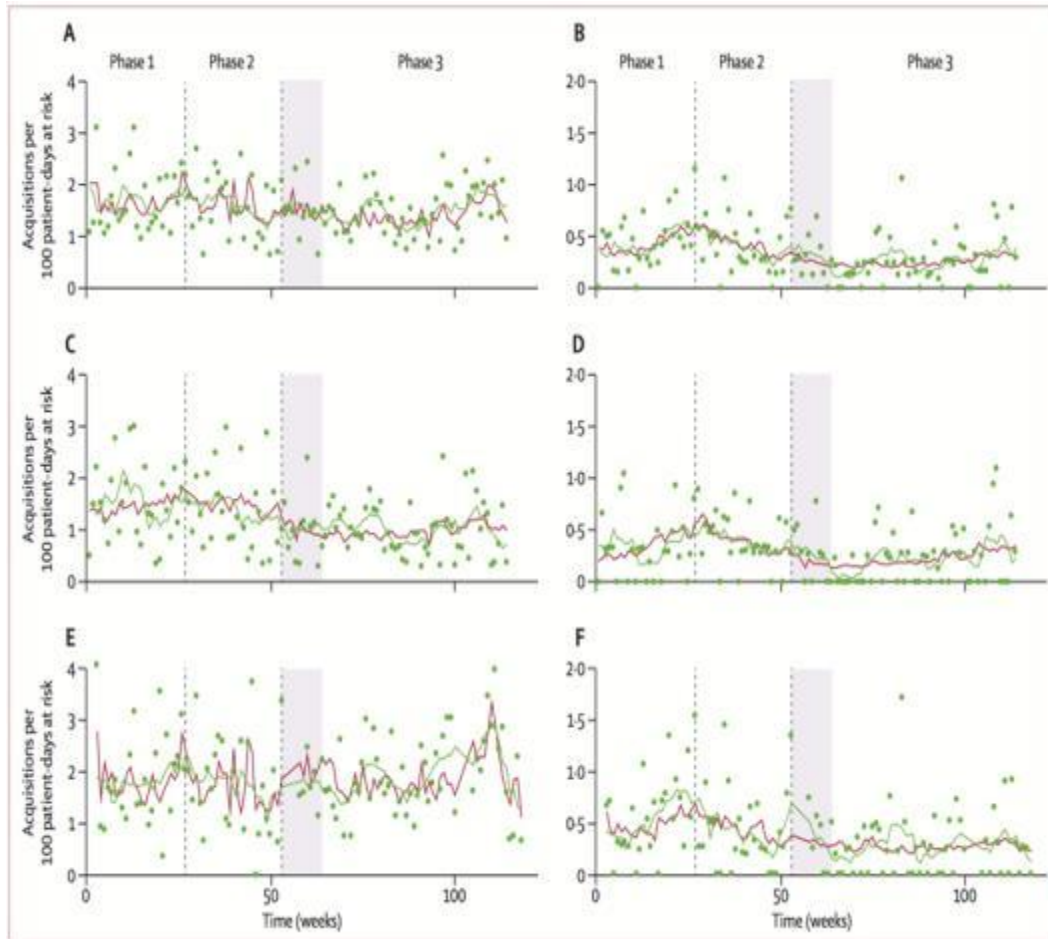
- **But: évaluer l'effet des tests de dépistage rapide et l'isolement des porteurs sur la colonisation par les BMR dans des réanimations européennes qui ont déjà des précautions standard en place (13 réanimations 8519 patients inclus)**

Derde LPG et al. Lancet Infect Dis. 2014 Jan;14(1):31–9



BMR

MRSA



Shaded area is the start of phase 3. Green dots are data; green lines are 7 week moving average. Red lines are expected values from the multilevel Poisson segmented regression model.

all Pas d'impact du dépistage sur la baisse des SARM et BLSE

Milieux chromo gènes seule la formation à l'hygiène des mains + toilette CHL entraine une baisse de la colonisation à SARM

PCR

Est-ce utile ?

■ SARM et chirurgie

- ▶ recherche de *S. aureus* y compris métiS

■ E. coli BLSE

- ▶ Présence de plus en plus importante dans la communauté : tous porteurs ?

■ BHRe

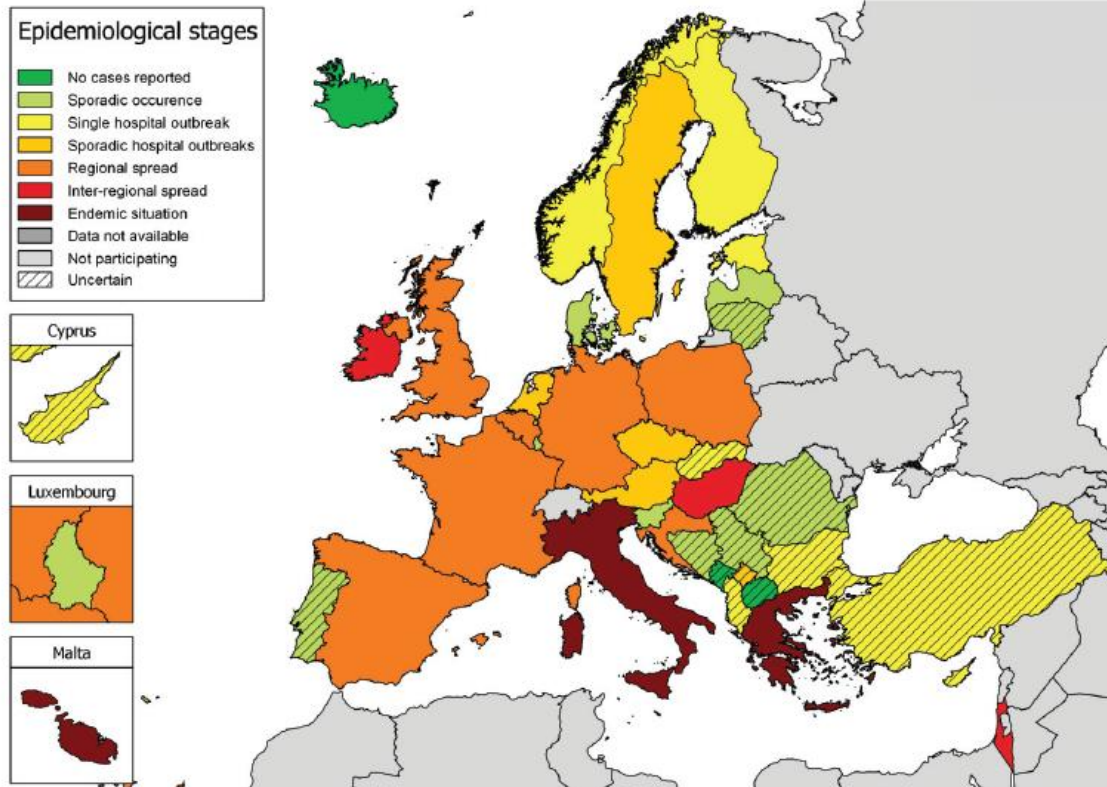
- ▶ Principe du « search and destroy » a montré sont efficacité

→ *A poursuivre certainement*

→ *Quelles BHRe (quid des oxa-48 sensibles aux C3G et autres classes d'antibiotiques)?*

Trop tard ?

Figure 3 Occurrence of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in 38 European countries based on self-assessment by the national experts, March 2013



France
Diffusion
régionale

In some countries, the epidemiological stage might not represent the exact extent of the spread of CPE as it is a subjective judgment by national experts. Results presented here reflect the uncertainty at the time of the survey.

Points clefs

- Les dépistages sont à adapter à l'épidémiologie locale et à évaluer en fonction des risques pour chaque patient
- Les objectifs nationaux de maitrises des BMR/BHRe sont ambitieux et pour certains d'entre eux difficilement atteignables
- Le dépistage fait partie d'un ensemble de moyens de maitrises de la transmission des BMR/BHRe (nécessaire mais pas suffisant)
- Les techniques évoluent en permanence mais les bactéries aussi...

