

## PAVM : intérêt des techniques microbiologiques rapides

---



Dr Salah Gallah  
Laurent Benzerara  
Département de Bactériologie – GHUEP

# Procédure diagnostique pneumonie associée aux soins (AVIS D'EXPERTS)

≥ 48h

de l'admission en milieu de soins  
ou de l'exposition au risque invasif (intubation)

**Suspicion clinique** = apparition/aggravation de signes évocateurs

- fièvre (≥ 38,3°C)
- expectorations/aspirations purulentes ou d'aspect modifié
- hyperleucocytose (≥12000/mm<sup>3</sup>) ou leucopénie (≤ 4000/mm<sup>3</sup>)
- hypoxémie ou oxygène-dépendance
- signes auscultatoires en foyer
- **sepsis ou choc septique** sans autre foyer évident

- Diagnosics différentiels
- atélectasie(s)
  - intubation sélective
  - épanchements pleuraux
- Complications associées
- abcès pulmonaires
  - pleurésie purulente

Radiographie(s)  
de thorax\*

Opacité(s) en foyer(s)  
- nouvellement apparue(s)  
- évolutive(s)  
= **diagnostic radiographique**

Prélèvements puis Traitement probabiliste

Prélèvement  
voies respiratoires  
(invasif ou non)  
+  
culture

Négative

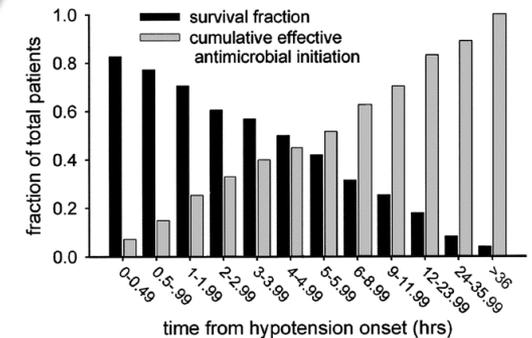
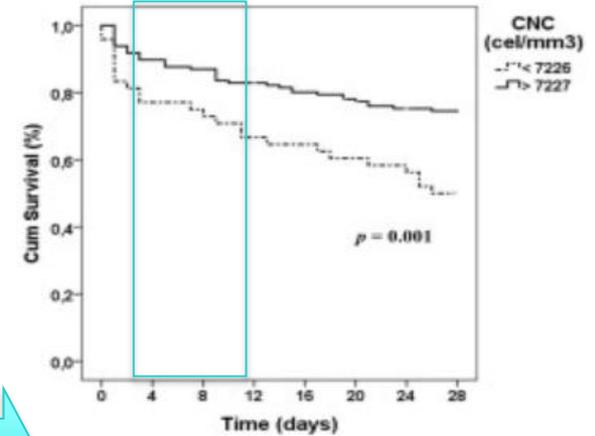
Arrêt traitement probabiliste

Positive (culture non-quantitative)  
≥ seuil selon prélèvement (culture quantitative)  
= **diagnostic microbiologique**

Adaptation / désescalade selon identification

Antibiogramme

Adaptation / désescalade selon sensibilité(s)



> 48h00

**Recommandations SRLF/SFAR (2017)**

Bermejo-Martin et al. Crit Care 2014

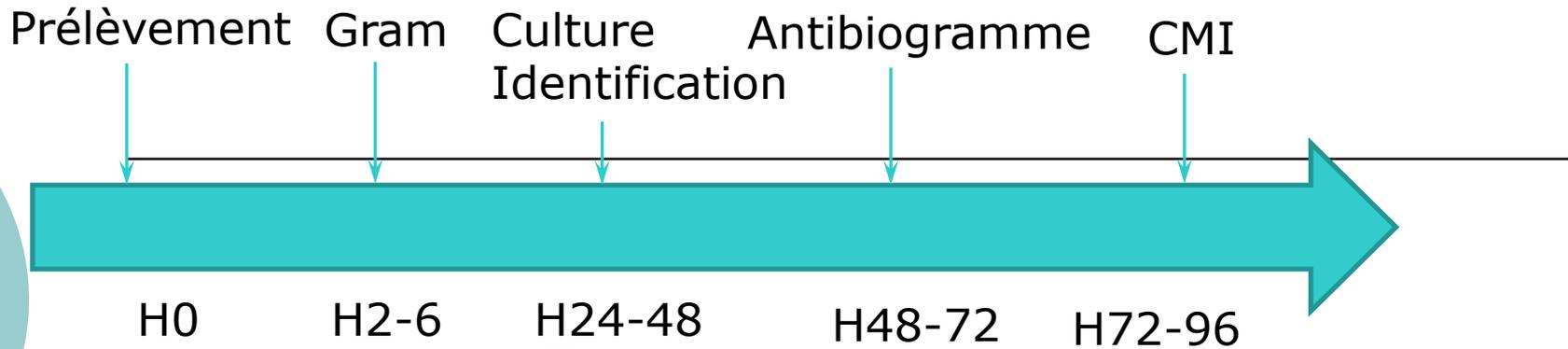
Kumar et al. Crit Care Med 2006

# Diagnostic microbiologique rapide

## Critères pour un test idéal :

---

- **Détection rapide (<3 h)**
- **Panel étendu de microorganismes identifiés**
- **Peu invasif avec petit volume**
- **Sensibilité et spécificité élevées**
- **Détection des infections polymicrobiennes**
- **Détection des principales résistances (AST)**
- **Facilement intégrable dans le laboratoire/service**
- **Capable de détecter des pathogènes inconnus**
- **Coût-efficacité élevé**



MÉTHODES PHÉNOTYPIQUES & GENOTYPIQUE

## MÉTHODES PHÉNOTYPIQUES

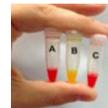
### MALDI-TOF

MBT-ASTRA  
 Identification de profils protéiques associés à la résistance  
 Identification des produits de dégradation d'un antibiotique

Délai +/- long  
 Mise au point difficile

### TESTS COLORIMÉTRIQUES

Milieux chromogènes  
 ESBL NP test  
 Carba NP test



$\beta$ Lacta™ test  
 $\beta$ Carba™ test



### TESTS IMMUNO-CHROMATOGRAPHIQUES

## MÉTHODES GÉNOTYPIQUES



GeneXpert™

ePlex BCID GN (GenMark)

ePlex BCID GP (GenMark)

# TESTS PHÉNOTYPIQUES COLORIMÉTRIQUES

## ESBL/CARBA NP TEST

## $\beta$ LACTA™/ $\beta$ CARBA™ TEST

**ESBL ou carbapénémase**

**Acid production**

**pH**

**No acid production**

**= pH**

**Tazobactam**

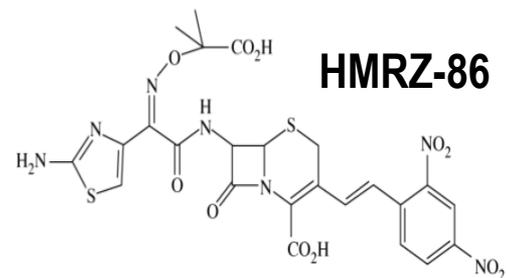
**No antibiotic**

**Cefotaxime**

**Cefotaxime + tazobactam**

***E. coli* (BG 1106 6175) wild-type**

***E. coli* (10.16) CTX-M-15**



**BLSE** + **Carbapénémase** +/- **Céphalosporinase**

**⊖** → **⊕**

# Comparison of Three Biochemical Tests for Rapid Detection of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae*

Laurent Poirel,<sup>a</sup> Javier Fernández,<sup>a,b,c</sup> Patrice Nordmann<sup>a,d</sup>

Performances (%) par test:

| BLSE        | Rapid ESBL test (# 20 min) | $\beta$ Lacta™ test (15 min) | Rapid ESBL screen (2 H) |
|-------------|----------------------------|------------------------------|-------------------------|
| CTX-M       | 100% (35/35)               | 94% (33/35)                  | 94,3%                   |
| Non CTX-M   | 84% (21/25)                | 92% (23/25)                  | 88%                     |
| Toutes BLSE | 93% (56/60)                | 93% (56/60)                  | 91,7%                   |

TABLE 3 Performances of the  $\beta$ Lacta test for detecting resistance to third-generation cephalosporins<sup>d</sup>

| Bacteria tested   | $\beta$ Lacta result | Susceptibility testing result (n) for: |                    |       | % (95% CI) <sup>d</sup> |                 |
|---|----------------------|--|--------------------|-------|-------------------------|-----------------|
|   |                      | 3GC-R <sup>b</sup>                     | 3GC-S <sup>c</sup> | Total | Sensitivity             | Specificity     |
| All strains   | Positive             | 265                                    | 8                  | 273   | 87.7 (83.0–92.5)        | 99.6 (99.3–100) |
|   | Negative             | 37                                     | 2,020              | 2,057 |                         |                 |
|   | Total                | 302                                    | 2,028              | 2,330 |                         |                 |
| <i>E. coli</i>  | Positive             | 119                                    | 1                  | 120   | 96.0 (91.6–100)         | 99.9 (99.7–100) |
|   | Negative             | 5                                      | 1,258              | 1,263 |                         |                 |
|   | Total                | 124                                    | 1,259              | 1,383 |                         |                 |
| <i>K. pneumoniae</i>                                      | Positive             | 79                                     | 0                  | 79    | 96.3 (91.2–100)         | 100 (100–100)   |
|   | Negative             | 3                                      | 240                | 243   |                         |                 |
|   | Total                | 82                                     | 240                | 322   |                         |                 |
| <i>P. mirabilis</i>                                       | Positive             | 0                                      | 1                  | 1     |                         | 99.4 (NA)       |
|   | Negative             | 0                                      | 171                | 171   |                         |                 |
|   | Total                | 0                                      | 172                | 172   |                         |                 |
| Species naturally producing inducible AmpC beta-lactamase | Positive             | 60                                     | 1                  | 61    | 67.4 (55.0–79.8)        | 99.6 (98.6–100) |
|   | Negative             | 29                                     | 244                | 273   |                         |                 |
|   | Total                | 89                                     | 245                | 334   |                         |                 |

|       | BLSE            | Non BLSE         |
|-------|-----------------|------------------|
| BLT + | 241             | 27               |
| BLT - | 0               | 2062             |
|       | 241             | 2089             |
|       | <b>Sen 100%</b> | <b>Spé 98,7%</b> |



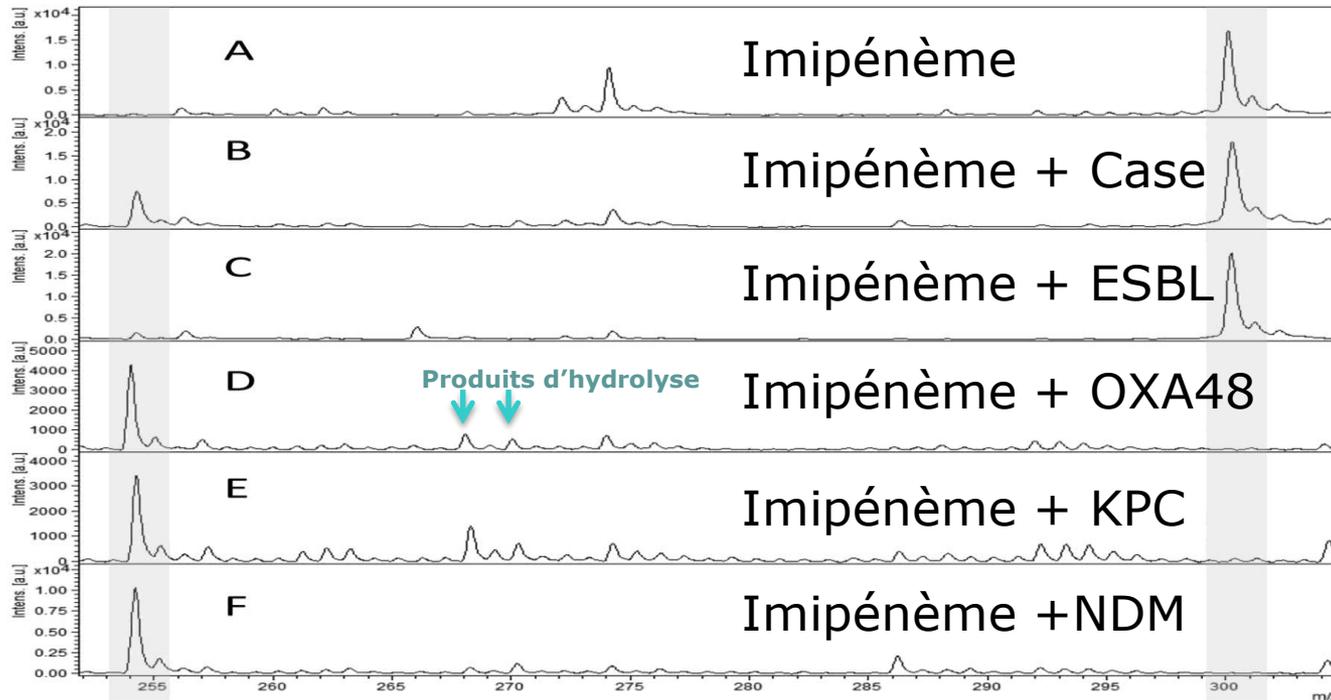
# Evaluation of early antimicrobial therapy adaptation guided by the BetaLACTA<sup>®</sup> test: a case-control study

Critical Care 2017

Marc Garnier<sup>1,2,3\*</sup> , Sacha Rozencwajg<sup>1,2</sup>, Tàì Pham<sup>2,4,5</sup>, Sophie Vimont<sup>3,6</sup>, Clarisse Blayau<sup>1,2</sup>, Mehdi Hafiani<sup>1,2</sup>, Jean-Pierre Fulgencio<sup>1,2</sup>, Francis Bonnet<sup>1,3</sup>, Jean-Luc Mainardi<sup>7,8</sup>, Guillaume Arlet<sup>3,6</sup>, Muriel Fartoukh<sup>2,3</sup>, Salah Gallah<sup>6</sup> and Christophe Quesnel<sup>1,2,3</sup>

|   | All patients<br>(n=122) | Conventional<br>adaptation<br>strategy<br>(n=61) | BLT-guided<br>adaptation<br>strategy<br>(n=61) | P                  |
|---|-------------------------|--|--|--------------------|
| <b>Appropriate empirical antimicrobial therapy, % (n)</b>             | 80% (98)                | 77% (47)   | 84% (51)                                       | 0.45               |
| <b>Early escalation, % (n)</b>  | 7% (9)                  | 0% (0)   | 15% (9)  | <0.01*             |
| <b>Appropriate antimicrobial therapy after culture results, % (n)</b> | 88% (107)               | 77% (47)   | 98% (60)                                       | <0.01              |
| <b>Delay before antimicrobial therapy escalation (h)</b>              | 48 [28-60]              | 50.5 [48-73]                                     | 27 [24-28]                                     | <0.01 <sup>#</sup> |
| <b>Optimal empirical antimicrobial therapy, % (n)</b>                 | 51% (62)                | 46% (28)   | 56% (34)                                       | 0.33               |
| <b>Early adaptation, % (n)</b>  | 22% (27)                | 2% (1)   | 43% (26)                                       | <0.01*             |
| <i>escalation</i>   | 7% (9)                  | 0% (0)   | 15% (9)  |                    |
| <i>de-escalation</i>  | 15% (18)                | 2% (1)   | 28% (17)                                       |                    |
| <b>Optimal antimicrobial therapy after culture results, % (n)</b>     | 71% (87)                | 48% (29)   | 95% (58)                                       | <0.01              |
| <b>Delay before antimicrobial therapy adaptation (h)</b>              | 49 [31.5-65]            | 58 [48-72]                                       | 28 [24.5-47]                                   | <0.01 <sup>#</sup> |
| <b>Time to apyrexia (h)</b>   | 24 [24-72]              | 24 [24-48]                                       | 30 [24-72]                                     | 0.19 <sup>#</sup>  |
| <b>Time to leucocytosis &lt;10.000/mm<sup>3</sup> (d)</b>             | 6 [3-13]                | 5 [3-12]   | 6 [3-15]                                       | 0.37 <sup>#</sup>  |
| <b>Time to mechanical weaning (d)</b>                                 | 5 [3-9]                 | 4.5 [3-9]  | 5 [4-8]  | 0.51 <sup>#</sup>  |
| <b>Length of ICU stay (d)</b>   | 10 [5-16]               | 11 [6-17]  | 10 [5-15]                                      | 0.48               |
| <b>Mortality, % (n)</b>   | 15% (18)                | 16% (10)   | 13% (8)  | 0.80               |

# Détection de la résistance par MALDI-TOF hydrolyse de l'ATB



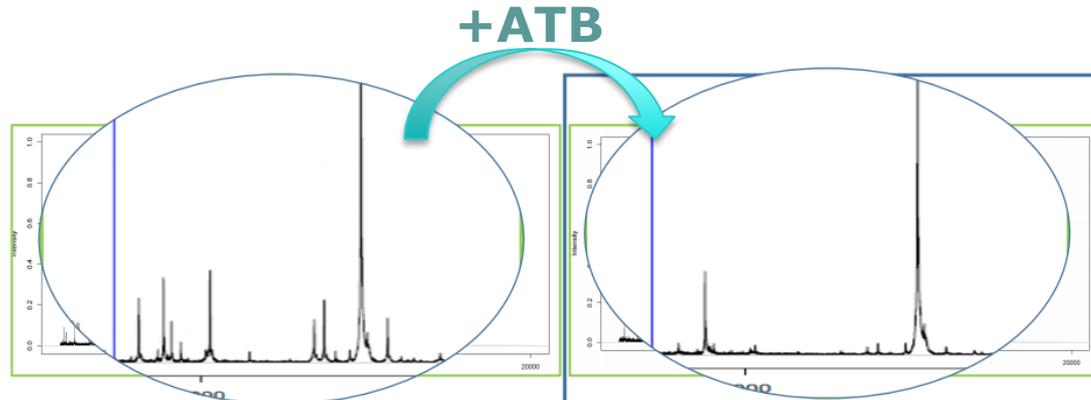
A partir de :  
Colonies isolées

<30'

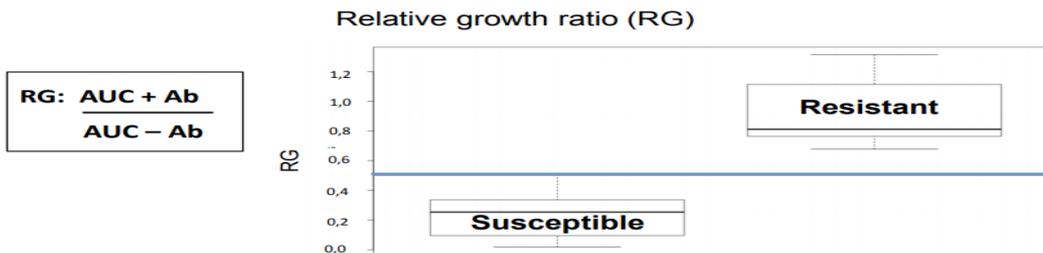
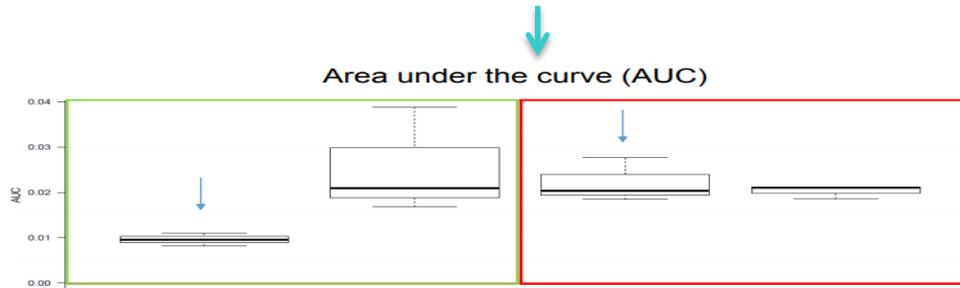
Ne détecte pas l'imperméabilité/ efflux

# Détection de la résistance par MALDI-TOF

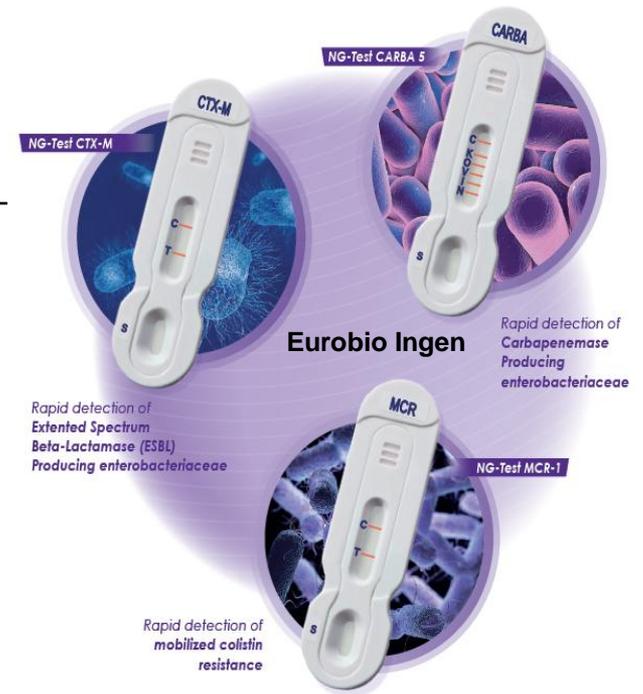
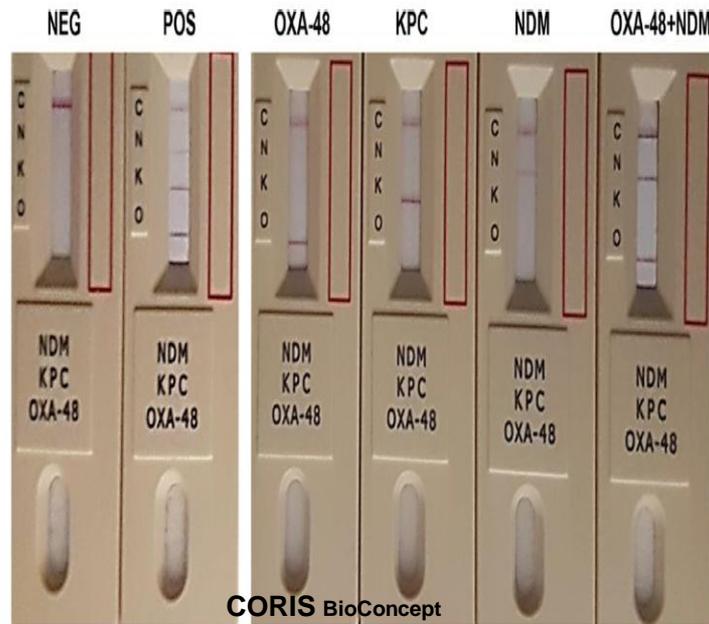
Impact de l'ATB sur la biomasse [protéines]



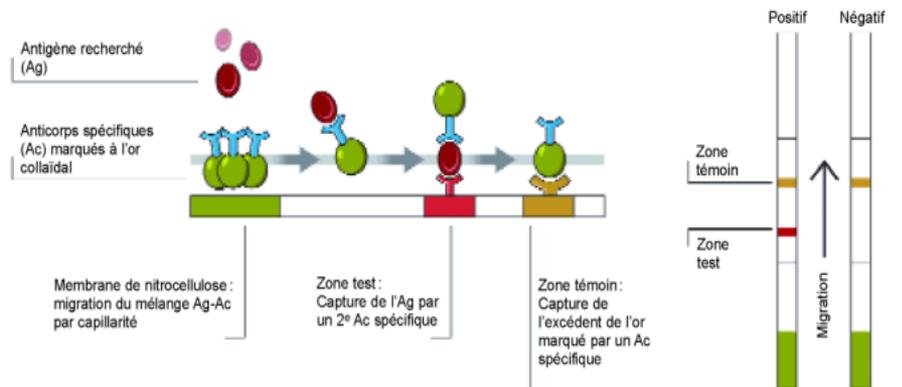
**Incubation 5 à 24h00 selon espèce**



# Tests immuno-chromatographiques



Rapide (15 min), fiable et peu cher  
Utilisable sur colonies isolées,  
Impact clinique peu étudié



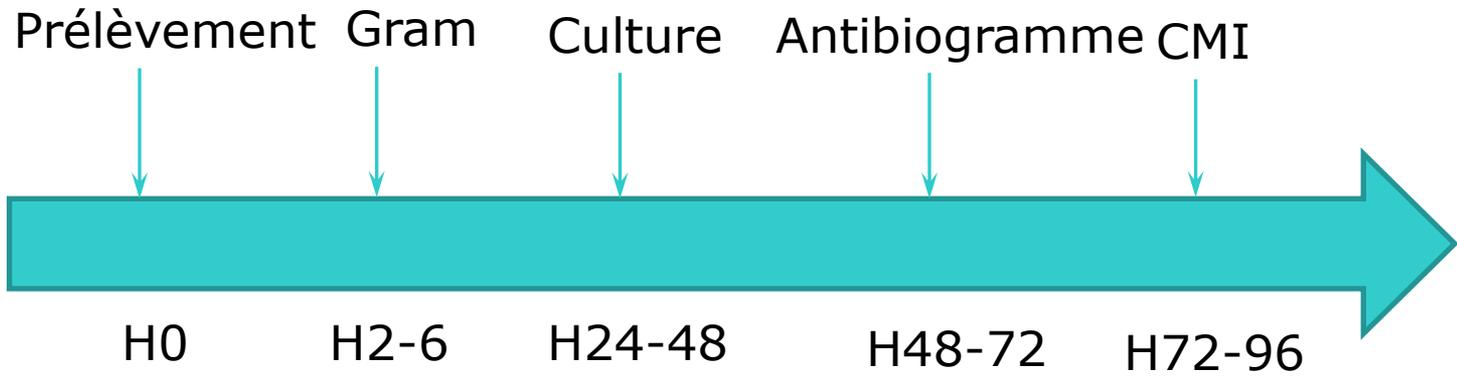
# Tests qPCR

Nombreux kits de détection des **EPC** sur colonies isolées (certains applicable sur culots d'HC +, selles ou écouvillonnages rectaux)

| Test/Method                           | Turnaround time | Target species (n*)             | Target carbapenemases   | Sensitivity (%)            | Specificity (%)                          | PPV† (%)   | NPV‡ (%)   |
|---------------------------------------|-----------------|---------------------------------|-------------------------|----------------------------|--|------------|------------|
| Check-Direct CPE                      | <180 min        | Gram -negative bacilli (83-450) | KPC, VIM, NDM<br>OXA-48 | 97.1-100.0                 | 94.0-100.0                               | 100.0      | 0.0-70.0   |
| LAMP/eazyplex®<br>superBug complete A | 25-60 min       | Gram -negative bacilli (14-450) | KPC, VIM, NDM<br>OXA-48 | 100.0                      | 100.0 (83.0 for<br>OXA-48<br>like genes) | ND         | ND         |
| TaqMan PCR                            | <120 min        | Enterobacteriaceae (59, 1308)   | Classes A, B & D        | 100.0                      | 100.0                                    | ND         | ND         |
| NucliSENSEasyQKPC                     | <120 min        | Enterobacteriaceae (300)        | KPC only                | 100.0                      | 100.0                                    | ND         | ND         |
| Xpert® Carba-R kit                    | 52 min          | Gram-negative bacilli (450)     | KPC, VIM, NDM<br>OXA-48 | 100.0                      | 100.0 (83.0 for<br>OXA-48<br>like genes) | ND         | ND         |
| Microarray<br>(Alere technologies)    | 2-8 h           | Gram-negative bacilli (117)     | Classes A, B, D         | 98.2                       | 97.4                                     | ND         | ND         |
| Microarray<br>(Verigene BC-GN)        | 2 h             | Gram-negative bacilli (104)     | Classes A, B, D         | 96.8                       | 100.0                                    | ND         | ND         |
| Microarray (Check-MDR<br>CT101-103)   | ≤6 h            | Gram-negative bacilli (57-187)  | Classes A, B, D         | 90.5-100.0<br>(KPC=85.0)** | 95.7-100.0                               | 97.6-100.0 | 99.0-100.0 |
| Xpert MDRO assay                      | <1 h            | Gram-negative bacilli (328)     | KPC, NDM, VIM           | 100.0                      | 99.0-99.4                                | 81.8-93.0  | 100.0      |

**>90%**

# Méthodes génotypiques (Tests syndromiques) et méthodes phénotypiques précoce



## MÉTHODES GÉNOTYPIQUES

Détection d'acides nucléiques  
Nombre de cibles variables (>30)  
A partir de colonies ou prélèvement direct  
Utilisation de plus en plus facile

Interprétation clinique ?  
Délai +/- long  
Coût ++ (machine + kits)  
Ne trouve que ce qu'on cherche

**MÉTHODES PHÉNOTYPIQUES  
PRÉCOCE (Sur prélèvements)**

# METHODES GENOTYPIQUES

## approche syndromique

### identification/détection des supports de résistance

#### LANCEMENT D'UN TEST

Plateforme intégrée



1 Transfert de l'échantillon dans le tube réactif  
1 min

2 Insertion du tube réactif dans le Lysator  
30 min

3 Insertion du tube réactif et du master mix dans la cartouche  
1 min

4 Insertion de la cartouche dans l'Analyser  
3 h.

Marquage CE-IVD et FDA

#### 4 ANALYSE FILMARRAY® PNEUMONIA : procédure



#### PROCEDURE

1

2

3

4

5

6

7

8

Temps d'analyse: 65 min

NOUVEAU !

Marquage CE- IVD et approbation FDA en cours

**Unyvero**  
**vs.**  
**FilmArray**

# METHODES GENOTYPIQUES

## approche syndromique

### identification

**Unyvero**  
vs.  
**FilmArray**

#### Unyvero- Curetis

##### Semi quantitatif

| GROUP                   | PATHOGEN                               |
|-------------------------|--|
| Gram-positive bacteria  | <i>Staphylococcus aureus</i>           |
|                         | <i>Streptococcus pneumoniae</i>        |
| Enterobacteriaceae      | <i>Citrobacter freundii</i>            |
|                         | <i>Escherichia coli</i>                |
|                         | <i>Enterobacter cloacae</i> complex    |
|                         | <i>Enterobacter aerogenes</i>          |
|                         | <i>Proteus</i> spp.                    |
|                         | <i>Klebsiella pneumoniae</i>           |
|                         | <i>Klebsiella oxytoca</i>              |
|                         | <i>Klebsiella variicola</i>            |
|                         | <i>Serratia marcescens</i>             |
|                         | <i>Morganella morganii</i>             |
| Non-fermenting bacteria | <i>Moraxella catarrhalis</i>           |
|                         | <i>Pseudomonas aeruginosa</i>          |
|                         | <i>Acinetobacter baumannii</i> complex |
|                         | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>    |
|                         | <i>Legionella pneumophila</i>          |
| Others / Fungi          | <i>Pneumocystis jirovecii</i>          |
|                         | <i>Haemophilus influenzae</i>          |
|                         | <i>Mycoplasma pneumoniae</i>           |
|                         | <i>Chlamydia pneumoniae</i>            |

##### Panel respiratoire bas

En développement: **FilmArray®**

##### Qualitatif

*Chlamydia pneumoniae*, *Mycoplasma pneumoniae*  
*Legionella pneumophila*

##### Semi Quantitatif

*Streptococcus pneumoniae*, *pyogenes*, *agalactiae*  
*Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*  
*Pseudomonas aeruginosa*, *Moraxella catarrhalis*  
*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *aerogenes*  
*Klebsiella pneumoniae* group, *oxytoca*  
*Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex  
*Serratia marcescens*

##### Grippe A/B

Picornavirus (rhinovirus + entérovirus)

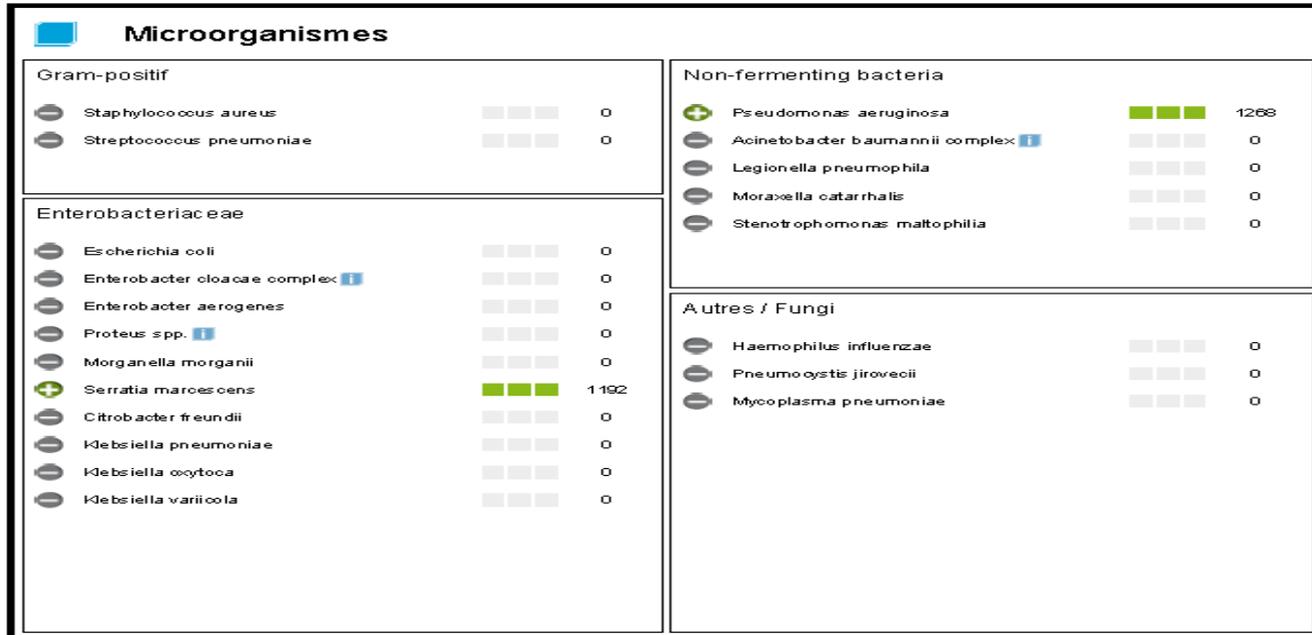
VRS, Métapneumovirus

MERS-CoV, Coronavirus

Parainfluenza virus, Adénovirus

Solutions non exhaustives: en cours de développement

# Unyvero



## Unyvero vs. FilmArray

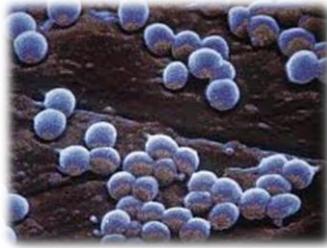
Sensibilité différente selon espèces

Evaluation semi-quantitative

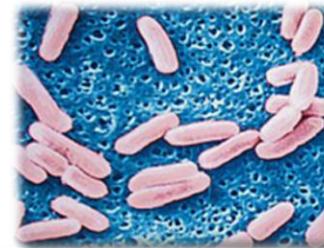


| Run Information |                |            |                      |
|-----------------|----------------|------------|----------------------|
| Sample ID       | 123-xyz-sampID | Run Date   | 05 Sept 2017 8:00 AM |
| Protocol        | BAL v2.0       | Serial No. | 01234567             |
| Pouch Type      | Pneumo v2.0    | Lot No.    | 123456               |
| Controls        | Passed         | Operator   | Jane Doe (JD)        |
| Run Status      | Completed      | Instrument | FA1234               |

| Result Summary                 |   |                             |                           |                           |                           |                             |
|--------------------------------|---|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------|-----------------------------|
| Bacteria                       |   |                             |                           |                           |                           |                             |
|                                |   | Bin*                        | 10 <sup>4</sup> copies/mL | 10 <sup>5</sup> copies/mL | 10 <sup>6</sup> copies/mL | ≥ 10 <sup>7</sup> copies/mL |
| Not Detected                   | Acinetobacter calcoaceticus-baumannii complex |                             |                           |                           |                           |                             |
| ✓ Detected                     | Enterobacter aerogenes                        | ≥ 10 <sup>7</sup> copies/mL |                           |                           |                           |                             |
| ✓ Detected                     | Enterobacter cloacae complex                  | 10 <sup>5</sup> copies/mL   |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Escherichia coli                              |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Haemophilus influenzae                        |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Klebsiella oxytoca                            |                             |                           |                           |                           |                             |
| ✓ Detected                     | Klebsiella pneumoniae group                   | ≥ 10 <sup>7</sup> copies/mL |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Moraxella catarrhalis                         |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Proteus spp.                                  |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Pseudomonas aeruginosa                        |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Serratia marcescens                           |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Staphylococcus aureus                         |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Streptococcus agalactiae                      |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Streptococcus pneumoniae                      |                             |                           |                           |                           |                             |
| Not Detected                   | Streptococcus pyogenes                        |                             |                           |                           |                           |                             |
| Antimicrobial Resistance Genes |   |                             |                           |                           |                           |                             |



## Etiologie/prévalence



# Unyvero vs. FilmArray

| Micro-organismes                          | Codes   | PNE        |             |
|---|---------|------------|-------------|
|   |         | n          | %           |
| <b>Cocci Gram +</b>                       |         | <b>927</b> | <b>21,8</b> |
| <i>Staphylococcus aureus</i>              | STA AUR | 597        | 14,0        |
| dont SARM                                 |         | 108        | 2,5         |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i>         | STA EPI | 57         | 1,3         |
| <i>Staphylococcus haemolyticus</i>        | STA HAE | 19         | 0,4         |
| Staph. coag. nég. : autre espèce identif. | STA AUT | 8          | 0,2         |
| Staph. coag. nég. non spécifié            | STA NSP | 4          | 0,1         |
| <i>Streptococcus pneumoniae</i>           | STR PNE | 71         | 1,7         |
| <i>Streptococcus agalactiae</i> (B)       | STR AGA | 7          | 0,2         |
| <i>Streptococcus pyogenes</i> (A)         | STR PYO | 3          | 0,1         |
| Strepto. hémolytique : autres (C, G)      | STR HCG | 5          | 0,1         |
| Strepto. (viridans) non groupable         | STR NGR | 7          | 0,2         |
| <i>Streptococcus</i> autres               | STR AUT | 41         | 1,0         |
| <i>Enterococcus faecium</i>               | ENC FAC | 18         | 0,4         |
| <i>Enterococcus faecalis</i>              | ENC FAE | 79         | 1,9         |
| <i>Enterococcus</i> autres                | ENC AUT | 6          | 0,1         |
| <i>Enterococcus</i> non spécifié          | ENC NSP | 4          | 0,1         |
| Cocci Gram + : autres                     | CGP AUT | 1          | 0,0         |
| <b>Cocci Gram -</b>                       |         | <b>19</b>  | <b>0,4</b>  |
| <i>Moraxella</i>                          | MOR SPP | 11         | 0,3         |
| <i>Neisseria meningitidis</i>             | NEI MEN |            |             |
| <i>Neisseria</i> autres                   | NEI AUT | 8          | 0,2         |
| Cocci Gram - : autres                     | CGN AUT |            |             |
| <b>Bacilles Gram +</b>                    |         | <b>19</b>  | <b>0,4</b>  |
| Corynébactéries                           | COR SPP | 17         | 0,4         |
| <i>Bacillus</i>                           | BAC SPP |            |             |
| <i>Lactobacillus</i>                      | LAC SPP | 2          | 0,0         |
| <i>Listeria monocytogenes</i>             | LIS MON |            |             |
| Bacilles Gram + : autres                  | BGP AUT |            |             |

| Micro-organismes                         | Codes   | PNE          |             |
|--|---------|--------------|-------------|
|  |         | n            | %           |
| <b>Entérobactéries</b>                   |         | <b>1 683</b> | <b>39,6</b> |
| dont EBLSE                               |         | <b>209</b>   | <b>4,9</b>  |
| <i>Citrobacter freundii</i>              | CIT FRE | 37           | 0,9         |
| <i>Citrobacter koseri</i> (ex. diversus) | CIT KOS | 51           | 1,5         |
| <i>Citrobacter</i> autres                | CIT AUT | 10           | 0,2         |
| <i>Enterobacter aerogenes</i>            | ENT AER | 149          | 3,5         |
| <i>Enterobacter cloacae</i>              | ENT CLO | 235          | 5,5         |
| <i>Enterobacter</i> autres               | ENT AUT | 5            | 0,1         |
| <i>Escherichia coli</i>                  | ESC COL | 435          | 10,2        |
| <i>Hafnia</i>                            | HAF SPP | 56           | 1,3         |
| <i>Klebsiella oxytoca</i>                | KLE OXY | 86           | 2,0         |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i>             | KLE PNE | 249          | 5,9         |
| <i>Klebsiella</i> autres                 | KLE AUT | 13           | 0,3         |
| <i>Morganella</i>                        | MOG SPP | 57           | 1,3         |
| <i>Proteus mirabilis</i>                 | PRT MIR | 107          | 2,5         |
| <i>Proteus</i> autres                    | PRT AUT | 21           | 0,5         |
| <i>Providencia</i>                       | PRV SPP | 2            | 0,0         |
| <i>Salmonella</i> Typhi ou Paratyphi     | SAL TYP |              |             |
| <i>Salmonella</i> autre                  | SAL AUT | 1            | 0,0         |
| <i>Serratia</i>                          | SER SPP | 163          | 3,8         |
| <i>Shigella</i>                          | SHI SPP | 1            | 0,0         |
| Entérobactéries : autres                 | ETB AUT | 5            | 0,1         |

**Entérobactéries : groupe 3                      714      16,6**

| Bacilles Gram - non entérobactéries     |         | 1 327    | 31,2       |
|---|---------|----------|------------|
| <i>Achromobacter</i>                    | ACH SPP | 13       | 0,3        |
| <i>Acinetobacter baumannii</i>          | ACI BAU | 79       | 1,9        |
| <i>Acinetobacter</i> autres             | ACI AUT | 11       | 0,3        |
| <i>Aeromonas</i>                        | AEM SPP |          |            |
| <i>Agrobacterium</i>                    | AGR SPP |          |            |
| <i>Alcaligenes</i>                      | ALC SPP | 3        | 0,1        |
| <i>Burkholderia cepacia</i>             | BUR CEP | 5        | 0,1        |
| <i>Campylobacter</i>                    | CAM SPP |          |            |
| <i>Flavobacterium</i>                   | FLA SPP |          |            |
| <i>Gardnerella</i>                      | GAR SPP | 1        | 0,0        |
| <i>Haemophilus</i>                      | HAE SPP | 219      | 5,1        |
| <i>Helicobacter pylori</i>              | HEL PYL |          |            |
| <i>Legionella</i>                       | LEG SPP |          |            |
| <i>Pasteurella</i>                      | PAS SPP |          |            |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i>           | PSE AER | 799      | 18,8       |
| <i>Pseudomonas</i> autres et apparentés | PSE AUT | 8        | 0,2        |
| <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>     | STE MAL | 178      | 4,2        |
| B Gram non entérobactérie : autre       | BGN AUT | 11       | 0,3        |
| <b>Anaérobies stricts</b>               |         | <b>5</b> | <b>0,1</b> |
| <i>Bacteroides fragilis</i>             | BAT FRA | 1        | 0,0        |
| <i>Bacteroides</i> autres               | BAT AUT | 1        | 0,0        |
| <i>Clostridium difficile</i>            | CLO DIF | 1        | 0,0        |
| <i>Clostridium</i> autres               | CLO AUT |          |            |
| <i>Prevotella</i>                       | PRE SPP |          |            |
| <i>Propionibacterium</i>                | PRO SPP |          |            |
| Anaérobies : autres                     | ANA AUT | 2        | 0,0        |
| <b>Autres bactéries</b>                 |         | <b>5</b> | <b>0,1</b> |

- **Unyvero®** répond à 82,5% couverture étiologique + agents des pneumopathies atypiques
- **FilmArray®** répond à 73,3% couverture étiologique+ agents des pneumopathies atypiques + virus
- Performances fortement dépendantes de l'écologie locale

# METHODES GENOTYPIQUES

## Détection des supports de résistance

Unyvero  
vs.  
FilmArray

Unyvero- Curetis (< 4 H)

| GENE                 | RESISTANCE AGAINST            |
|----------------------|-------------------------------|
| <i>ermB</i>          | Macrolide/Lincosamide         |
| <i>mecA</i>          | Oxacillin                     |
| <i>mecC</i> (LGA251) | Oxacillin                     |
| <i>tem</i>           | Penicillin                    |
| <i>shv</i>           | Penicillin                    |
| <i>ctx-M</i>         | 3rd generation Cephalosporins |
| <i>kpc</i>           | Carbapenem                    |
| <i>imp</i>           | Carbapenem                    |
| <i>ndm</i>           | Carbapenem                    |
| <i>oxa-23</i>        | Carbapenem                    |
| <i>oxa-24/40</i>     | Carbapenem                    |
| <i>oxa-48</i>        | Carbapenem                    |
| <i>oxa-58</i>        | Carbapenem                    |
| <i>vim</i>           | Carbapenem                    |
| <i>sul1</i>          | Sulfonamide                   |
| <i>gyrA83</i>        | Fluoroquinolone               |
| <i>gyrA87</i>        | Fluoroquinolone               |

Panel respiratoire bas (en développement):  
FilmArray® (< 1,5 H)

| GENE                | RESISTANCE AGAINST           |
|---------------------|------------------------------|
| <i>mecA/c, MREJ</i> | Oxacillin                    |
| <i>Ctx-M</i>        | 3rd generation Cephalosporin |
| <i>Kpc</i>          | Carbapenem                   |
| <i>Ndm</i>          | Carbapenem                   |
| <i>Oxa-48</i>       | Carbapenem                   |
| <i>Vim</i>          | Carbapenem                   |
| <i>ndm</i>          | Carbapenem                   |

*P. aeruginosa* ou Entérobactéries

# Fréquence des résistances aux principaux ATB chez les BGN

## Prévalence de la résistance en France (réseau EARS-Net) en 2016 chez les souches invasives

| Bactérie                         | Prévalence de la résistance (%) |             |      |      |                |           |
|----------------------------------|---------------------------------|-------------|------|------|----------------|-----------|
|                                  | TZP                             | C3G/CAZ     | FQ   | AG   | Carba          | Multiple* |
| <i>E. coli</i> (>11000)          | -                               | <b>11,2</b> | 16,7 | 7,9  | <b>&lt;0,1</b> | 3,8       |
| <i>K. pneumoniae</i> (>2500)     | -                               | <b>28,9</b> | 27,7 | 26,2 | <b>0,4</b>     | 21,3      |
| <i>P. aeruginosa</i> (>1900)     | 17,4                            | 11,3        | 13,6 | 10,7 | <b>15,6</b>    | 10,6      |
| <i>Acinetobacter</i> spp. (>400) | -                               | -           | 15,0 | 12,2 | <b>7,1</b>     | 6,7       |

\*Résistance multiple à : C3G + FQ + AG (*E. coli*, *K. pneumoniae*), ≥3 ATB (*P. aeruginosa*), FQ + AG + Carba (*Acinetobacter* spp.)

# Etude pilote : PAVM/Réa-méd Tenon

Evaluation des cassettes Unyvero P55 et HPN sur des aspirations bronchiques des patients avec une PAVM clinique/radiologique suspectée

Nombre de patients= 16

Nombre de prélèvements= 17

Période: Fev-Mai 2017 (P55) et Mars-Avril 2018 (HPN)

Gold Standard: Culture quantitative (Seuil=  $10^4$  UFC/mL)

## Performance de la détection bactérienne

|   | Bactéries                       | Identification correcte<br>Unyvero + / Culture + | Faux positif<br>Unyvero+/ Culture- | Se (%) | Sp (%) | VPP (%) | VPN (%) |
|---|---------------------------------|--|------------------------------------|--------|--------|---------|---------|
| <b>Bactéries à Gram positif</b>                 | <i>Staphylococcus aureus</i>    | 2/2  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>Streptococcus pneumoniae</i> | 1/1  | 1                                  | 100    | 94,1   | 50      | 100     |
| <b>Enterobacteriaceae</b>                       | <i>S. marcescens</i>            | 1/1  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>K. pneumoniae</i>            | 1/1  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>E. coli</i>                  | 2/2  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>E. aerogenes</i>             | 1/1  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>C. freundii</i>              | 0  | 1                                  | -      | 94,1   | -       | 100     |
| <b>Bacilles à Gram négatif non-fermentaires</b> | <i>P. aeruginosa</i>            | 6/6  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>S. maltophilia</i>           | 0  | 2                                  | -      | 88,2   | -       | 100     |
| <b>Autres bactéries à Gram négatif</b>          | <i>H. influenzae</i>            | 1/1  | 0                                  | 100    | 100    | 100     | 100     |
|   | <i>M. catarrhalis</i>           | 0  | 1                                  | -      | 94,1   | -       | 100     |
| <b>Total</b>                                    |                                 | 15/15  | 5                                  | 100    | 97,3   | 93,7    | 100     |

# Etude pilote : PAVM/Réa-méd Tenon

Evaluation des cassettes Unyvero P55 et HPN sur des aspirations bronchiques des patients avec une PAVM clinique/radiologique suspectée

Nombre de patients= 16

Nombre de prélèvements= 17

Période: Fev-Mai 2017 (P55) et Mars-Avril 2018 (HPN)

Gold Standard: Culture quantitative (Seuil=  $10^4$  UFC/mL)

## Performance de la détection de la résistance

|  | Détection concordante de la résistance:<br>Unyvero (+) / Phénotype R (+) | Faux positifs:<br>Unyvero (+) / Phénotype R (-) | Se (%) | Sp (%) |
|--|--|---|--------|--------|
| <i>mecA</i> / SARM                             | 1/1  | 0   | 100    | 100    |
| <i>ctx-m</i> / E-BLSE                          | 1/1  | 0   | 100    | 100    |
| <i>tem</i> / <i>E. coli</i>                    | 1/1  | 0   | 100    | 100    |
| <i>tem</i> / <i>H. influenzae</i>              | 1/1  | 0   | 100    | 100    |
| <i>gyrA83</i> /<br><i>P. aeruginosa</i> FQ (R) | 1/1  | 2   | 100    | 88,2   |

# Méthodes phénotypiques précoce

(Directement sur prélèvements)

$\beta$ -Lacta™ sur prélèvements



*Urines*  
En 15 min

*Hémocultures*  
En 15 min

*Aspirations bronchiques*  
En 30 min

<sup>1</sup>BLSE: *Se et Sp = 100%*  
C3G R non BLSE: *Se=69% Sp=100%*

<sup>2</sup>BLSE: *Se = 100% Sp = 99,3%*  
<sup>3</sup>BLSE: *Se = 100%, Sp = 99%*

<sup>4</sup>BLSE: *Se = 95 % Sp = 100%*  
*VPP & VPN = 100 %*

<sup>1</sup>: Gallah S. et al. JCM 2014

<sup>2</sup>: Gallah S. et al. (2015) Résultats non publiés

<sup>3</sup>: Prod'hom G et al. NMNI 2015

<sup>4</sup>: Gallah S. et al. CMI 2017

Evaluation en cours par PHRC

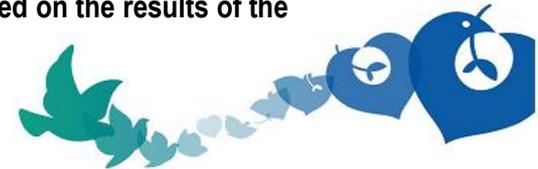
« **BetaLACTA<sup>®</sup> test performed on bacterial pellet from direct examination positive for Gram-negative bacteria for early de-escalation of empirical carbapenems in pulmonary, urinary and bloodstream infections diagnosed in intensive care unit** »

### **BLUE-CarbA study**

## **BIOMEDICAL RESEARCH PROTOCOL RELATING TO A MEDICAL DEVICE IN VITRO**

Project Code: P 150940 / N° IDRCB 2016-A00941-50

- Randomized, open-labelled non-inferiority clinical trial involving an *in vitro* diagnostic medical device
- Multicentre study : 23 centres (*ongoing...*)
- Total number of expected inclusions : 646 patients
- Total duration of the study : 27 months :
  - Inclusion period : 24 months
  - Participation duration for 1 patient : 3 months
- Randomization :
  - Control Group : De-escalation of the empirical antimicrobial therapy based on the results of the **antibiotics sensitivity tests**
  - Experimental Group : De-escalation of the empirical antimicrobial therapy based on the results of the **betaLACTA<sup>®</sup> test**



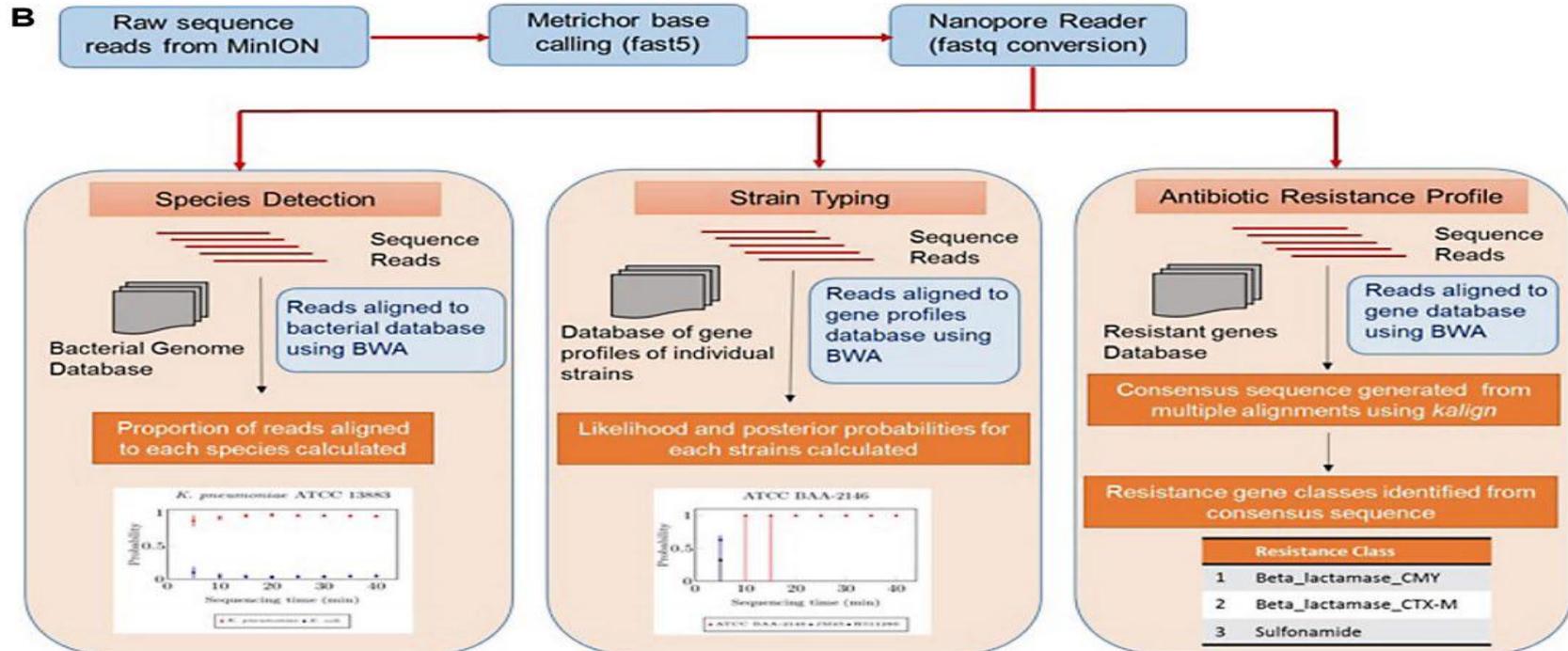
# L'avenir: Séquençage à haut débit (NGS)

**MinION** = Séquenceur ADN/ARN en temps réel, portable, USB et peu cher



**A.** Picture of a MinION DNA sequencer (Oxford Nanopore Technologies).

**B.** Diagram showing the workflow of the MinION POC sequencing system. The DNA being analyzed are sequenced and base-called instantaneously. The sequence readouts are aligned to a gene profile database in parallel



# Conclusions

---



- Augmentation de la prévalence des infections à BGN multi-résistants
- Risque de traitement inapproprié associé à une surmortalité
- FDR d'infection à BGN multi-résistants peu discriminants



- Tests syndromiques en évaluation
- Tests rapides applicables directement sur prélèvements (ex. respiratoires, urinaires et hémocultures)
- Désescalade ou escalade précoce
- **Essor de méthodes prometteuses sur prélèvements (PCR digitale, NGS)**