

Le β lacta test: premier retour d'expérience



Lydwine Defourny

CORATA Belgique

3^{ème} Congrès

de Biologie Clinique

23 - 24 septembre 2015

Plan

- Introduction et rappels
- †lacta test:
 - Présentation et objectif
 - Principe
 - Procédure
 - Evaluation du test sur souches
 - Entérobactéries
 - *Pseudomonas aeruginosa*
 - Evaluation du test sur sang à partir d'hémocultures positives
- Conclusion

Introduction et rappels

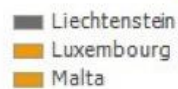
- Défi majeur: optimiser la prise en charge des septicémies à BGN
 - Identification accélérée du germe en cause
 - Rendre rapidement un antibiogramme
 - → adapter/cibler le traitement antibiotique dans les plus brefs délais
- Entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* fréquemment incriminés

Problème: résistance des entérobactéries aux β -lactames

Résistance aux C3G en 2011

- *Escherichia coli*
 - Belgique → 6%
 - France → 8,2%
 - Suède → 3%
- *Klebsiella pneumoniae*
 - Belgique → 13,6%
 - France → 25,3%
 - Suède → 2,3%

A. Renvoisé et al. Evaluation of β LACTA™ test, a rapid test detecting to third-generation cephalosporins in clinical strains of Enterobacteriaceae. 2013. J Clin Microbiol **51**:4012-4017.



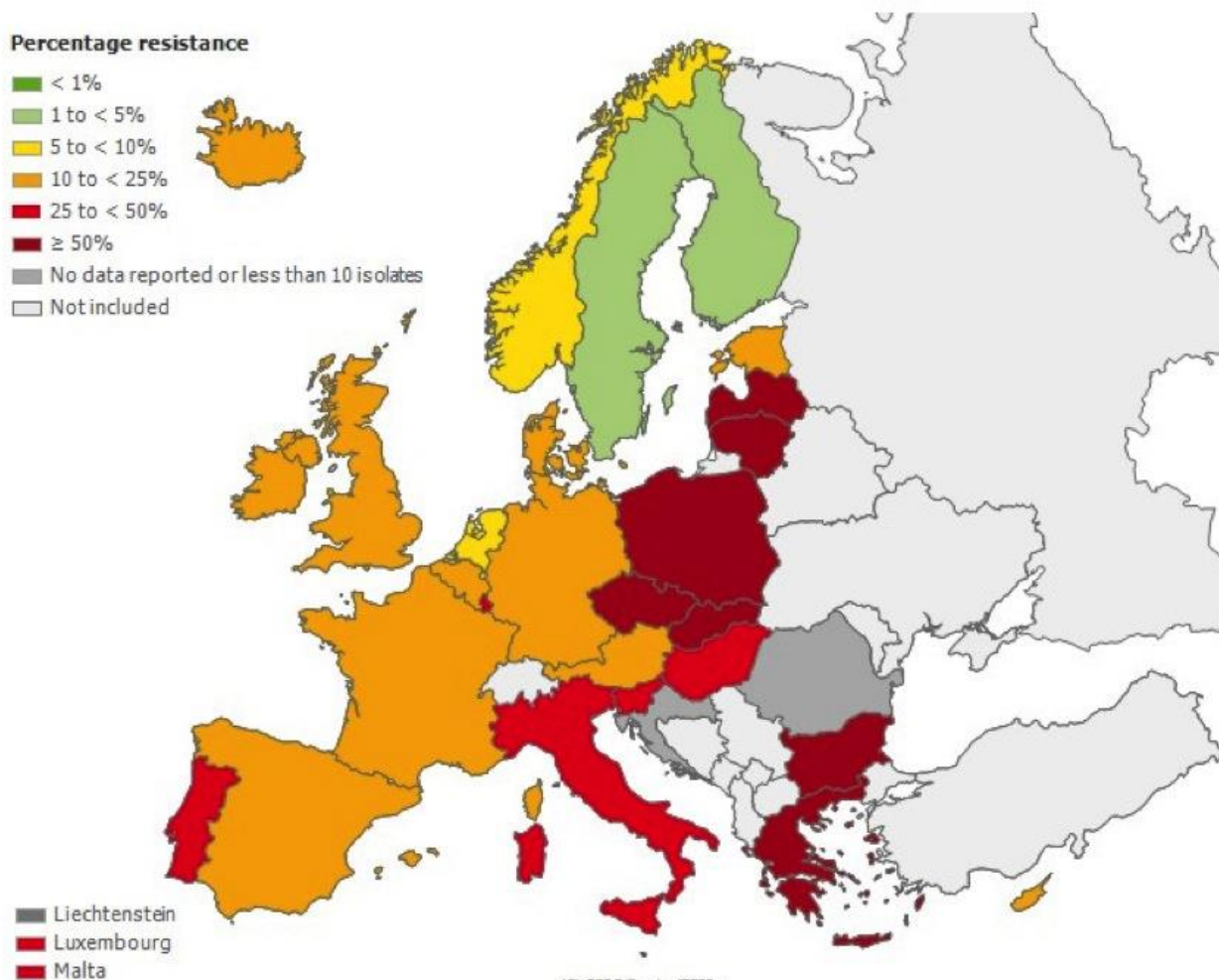
Source: EARS-net



Proportion of 3rd gen. cephalosporins Resistant (R+I) *Klebsiella pneumoniae* Isolates in Participating Countries in 2012

Percentage resistance

- < 1%
- 1 to < 5%
- 5 to < 10%
- 10 to < 25%
- 25 to < 50%
- ≥ 50%
- No data reported or less than 10 isolates
- Not included

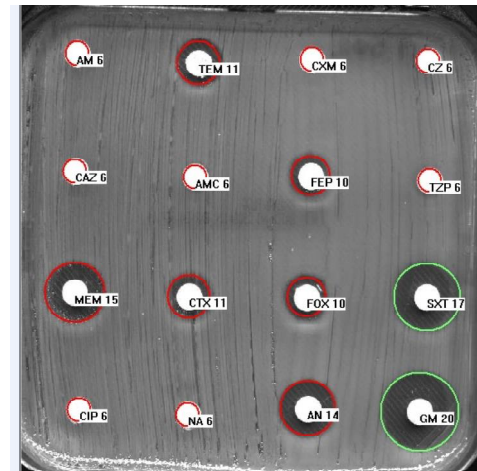


(C) ECDC/Dundas/TESSy

Source: EARS-net

Résistances des entérobactéries aux C3G

- Céphalosporinase hyperproduite (AmpC) chromosomique ou acquise
- BLSE (SHV, CTX-M)
- Carbapénèmase (KPC, MBL)



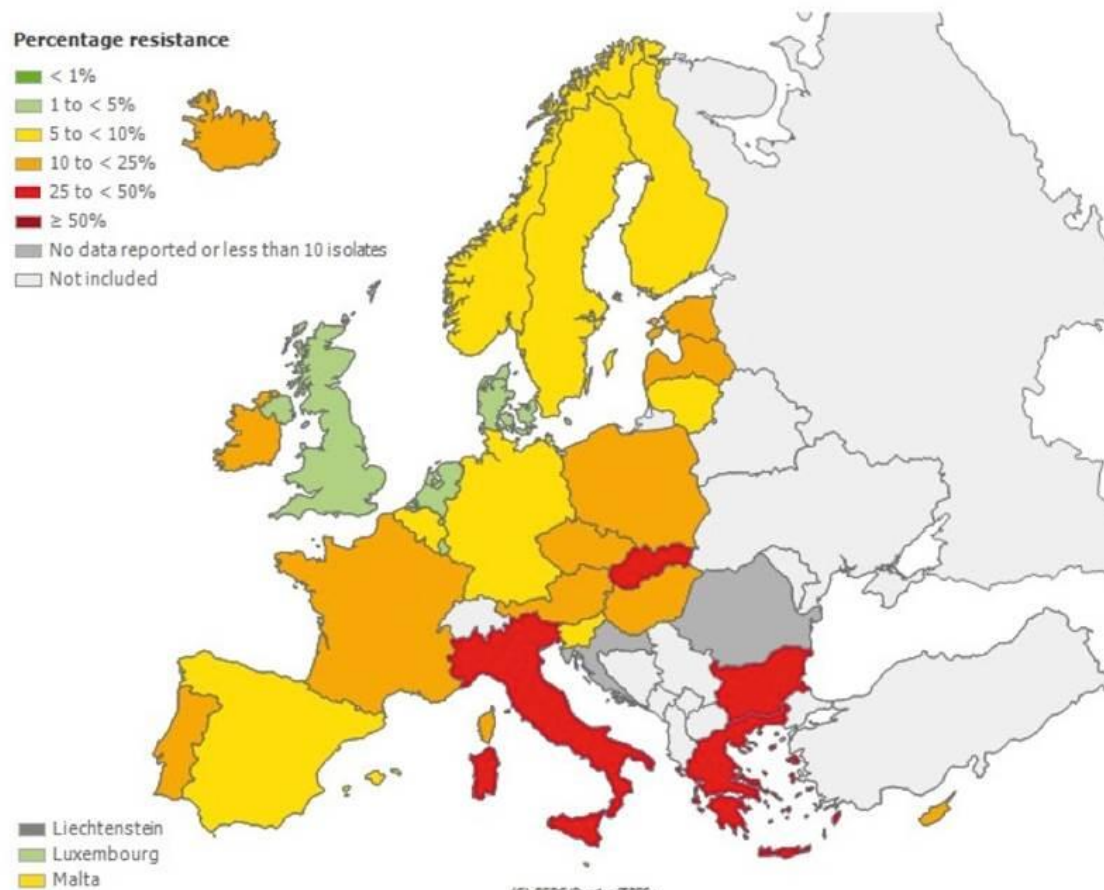
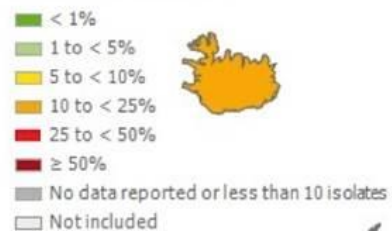
Classification des entérobactéries selon leur mécanisme de résistance naturel aux
†lactames

Groupe	Bactérie	Mécanisme de résistance
I	<i>Escherichia coli</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Salmonella</i> spp <i>Shigella</i> spp	Aucun
II	<i>Citrobacter koseri</i> <i>Klebsiella</i> spp	Pénicillinase
III	<i>Enterobacter</i> spp <i>Citrobacter freundii</i> <i>Hafnia alvei</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Morganella</i> spp <i>Providencia</i> spp <i>Serratia</i> spp	Céphalosporinase inducible
IV	<i>Yersinia</i> spp	Pénicillinase et céphalosporinase inducible

Problème: résistance du *P. aeruginosa* aux β -lactames



Percentage resistance

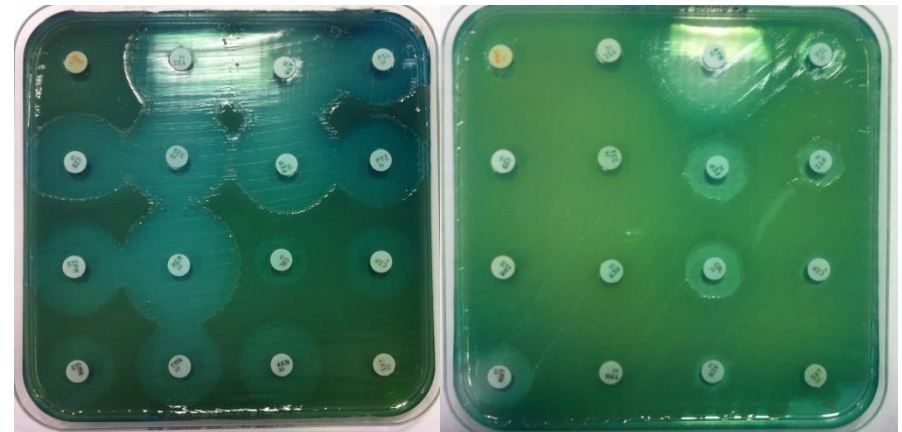


(C) ECDC/Dundas/TESSy

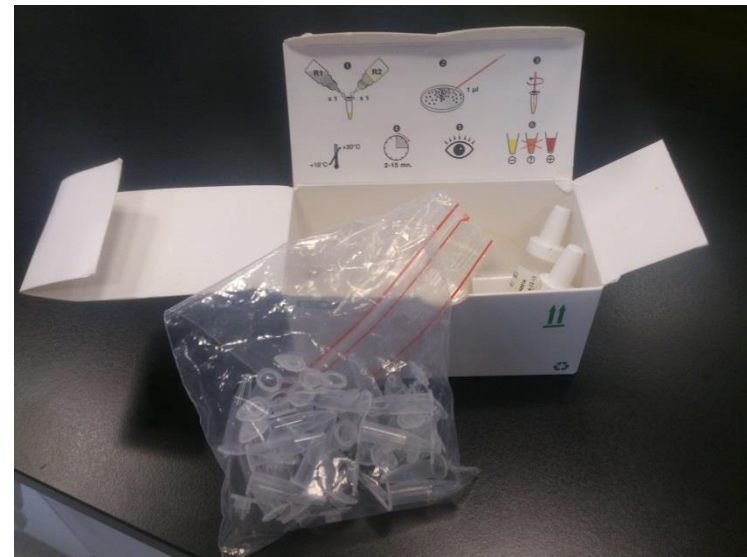
Source: EARS-Net

Résistance du *P. aeruginosa* aux β -lactames

- Chromosomique
 - Perte de porines $\rightarrow$ faible perméabilité membranaire
 - Augmentation des mécanismes d'efflux
 - Céphalosporinase AmpC inducible
- Acquis
 - Carbapénèmase
 - BLSE



†lacta™ test



Présentation et objectif

- Test commercialisé par Bio-Rad
- Test colorimétrique qualitatif
- Résultat en 15 minutes
- But: détecter dans les plus brefs délais une résistance aux C3G des entérobactéries
- Cliniques universitaires Saint-Luc: hémocultures

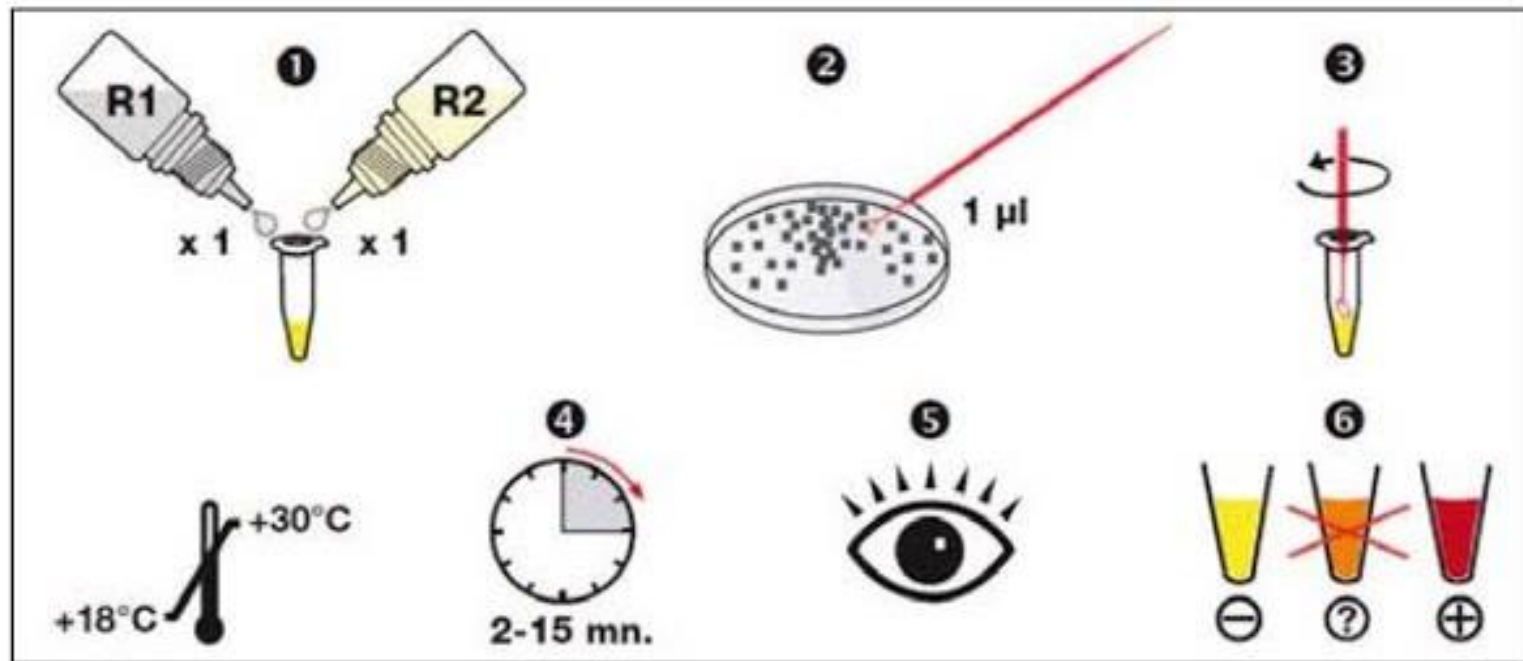
Principe

- HMRZ-86
 - Substrat chromogénique
 - Structure biochimique proche de la ceftazidime
 - Clivé en présence de β lactamases acquises (BLSE, AmpC, carbapénèmases)
 - Jaune $\rightarrow$ rouge
- β lactamases à spectre étroit pas détectées en raison de leur faible affinité pour ce substrat
 - Pénicillinases chromosomiques (ex. SHV-I de *K. pneumoniae*)
 - AmpC chromosomiques hyperproduites

Procédure

- Conservation du kit entre 2 et 8 ° C
- Dans un eppendorf, mélanger:
 - 1 goutte de R1 (solution d'extraction)
 - 1 goutte de R2 (solution chromogénique jaune)
 - 1 µl de colonies fraîches et isolées
- Lecture après 15 minutes d'incubation à température ambiante

Procédure



Evaluation du test sur souches d'entérobactéries

Evaluation of β LACTA™ test, a rapid test detecting resistance to third-generation cephalosporins in clinical strains of *Enterobacteriaceae*.

- A. Renvoisé et al. 2013. J Clin Microbiol. **51**:4012-4017.
- Etude prospective multicentrique à laquelle participent plusieurs laboratoires de France et de Belgique
- 2387 souches d'entérobactéries testées provenant de prélèvements de routine diversifiés

Evaluation du test sur souches d'entérobactéries

Table 1. Characteristics of the strains included in the study; mechanisms of resistance to third-generation cephalosporins (3GC) and results of BLACTA™.

Species	No. of strains	No. of 3GC-R ^a strains (%)	Mechanisms of resistance to 3GC						
			ESBL			Plasmidic AmpC beta-lactamase		AmpC stable overproduction	Other
			CTX-M	SHV	TEM	DHA-1	CMY-2		
→ <i>Escherichia coli</i>	1403	132 (9.4%)	105	4	5	1	6	0	11 ^{a,b}
→ <i>Klebsiella pneumoniae</i>	328	84 ^c (25.6%)	66	7	4	6	0	0	2 ^{a,b}
<i>Enterobacter</i> spp.									
<i>Morganella</i> spp.									
<i>Serratia</i> spp.	360	109 ^c (30.3%)	28	15	3	0	0	65 ^d	0
<i>Providencia</i> spp.									
<i>Citrobacter freundii</i>									
<i>Proteus mirabilis</i>	172	0 (0%)	0	0	0	0	0	0	0
<i>Citrobacter koseri</i>	124	7 (5.6%)	1	1	2	0	0	0	3 ^c
<i>Klebsiella oxytoca</i>									
Total	2387	332 ^c (13.9%)	200	27	14	7	6	65	16
No of strains with BLACTA™ +	273	265 ^c	200	27	14	4	1	14	8

^a strains intermediate or resistant to ceftazidime or cefotaxime

^b not producing ESBL nor plasmidic AmpC

^c three strains (1 *K. pneumoniae* and 2 *Enterobacter* spp) produced two distinct beta-lactamases, each of them counted twice in the columns "mechanisms of resistance"

^d based on AST (see text for definition)

^e high level expression of chromosomal KOXY type enzyme

Evaluation du test sur souches d'entérobactéries

- Sensibilité = 96% pour *E. coli* et *K. pneumoniae*

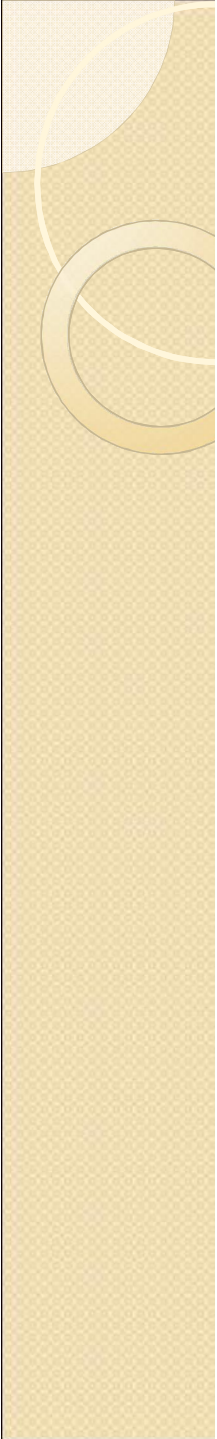
Sensibilité = 67,4% pour les souches AmpC inducible

- Spécificité = 99,6%

Evaluation du test sur souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Evaluation of the β LACTA Test, a Novel Commercial Chromogenic Test for Rapid Detection of Ceftazidime-Nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* Isolates

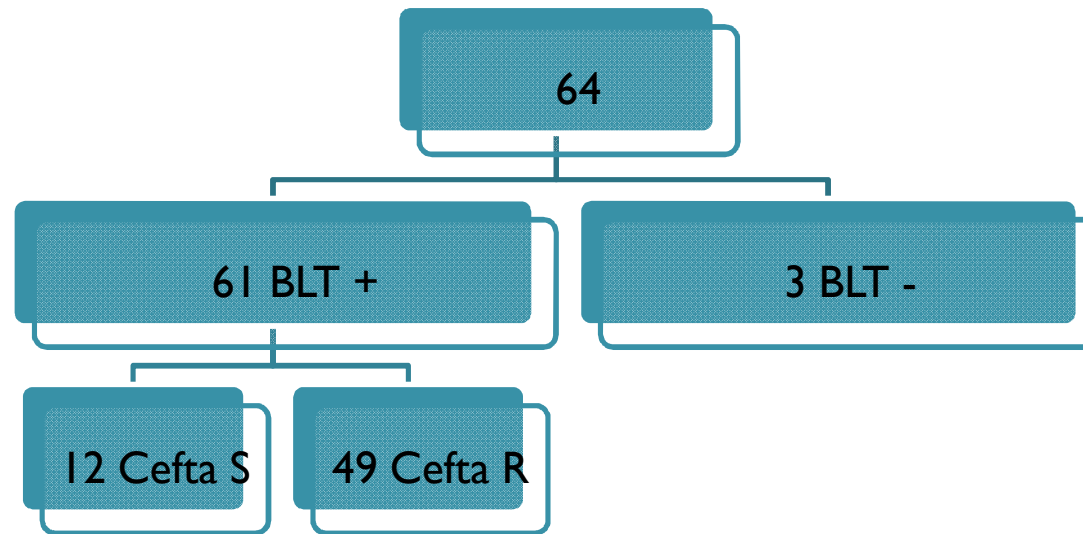
- T. Laurent et al. 2013. J Clin Microbiol. **51**:1951-1954.
- 100 souches de routine
- 64 souches de collection avec β lactamase
 - 22 BLSE
 - 24 carbapénèmase MBL
 - 14 β lactamase autre
 - 4 BLSE + carbapénèmase MBL



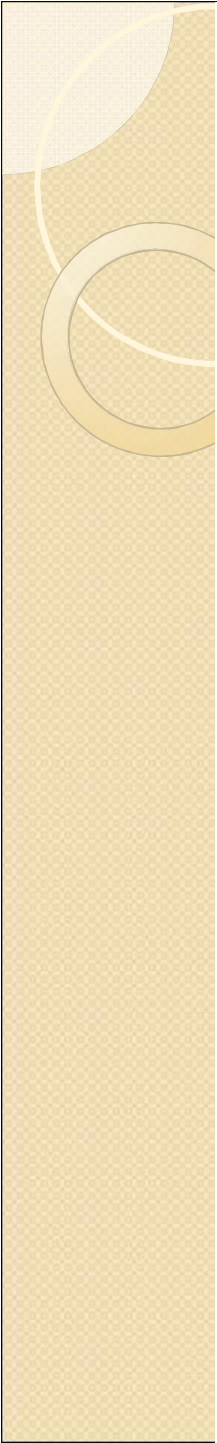
Evaluation du test sur souches de *Pseudomonas aeruginosa* de routine

- 19/100 ceftazidime R
- 18/100 BLT +
 - 18 AmpC hyperproduite +/- perte de porines
 - 1 surexpression de pompes à efflux (FN)

Evaluation du test sur souches de *Pseudomonas aeruginosa* de collection



- 12 ceftazidime S phénotypiquement: 1 VIM et 11 autres β lactamases
- 3 BLT - : 2 VIM ceftazidime S et 1 VIM ceftazidime R



Evaluation du test sur l'ensemble des souches de *P. aeruginosa* (routine et collection)

- Sensibilité = 95%
- Spécificité = 87%
- Remarques
 - Coloration orange = BLT +
 - Incubation 30 minutes

Evaluation du test sur sang à partir d'hémocultures positives

- 75 hémocultures positives à BGN à l'examen direct
- Tube gel séparateur
- †lacta test réalisé sur le culot obtenu
- Pour chaque subculture:
 - Identification par Maldi Tof MS
 - Antibiogramme automatisé ou manuel (*P. aeruginosa*)
 - BLSE confirmée par biologie moléculaire

Evaluation du test sur hémocultures positives

- 66/75 (88%) HC + : †lacta test négatif
 - 61 entérobactéries
 - 5 *P. aeruginosa*
 - → sensibilité aux C3G confirmée par antibiogramme
- 9/75 (12%) HC + : †lacta test positif
- **Une discordance:**
 - †lacta test négatif
 - Antibiogramme automatisé montre une résistance aux C3G
 - → *Citrobacter freundii* avec AmpC dérégulée

Evaluation du test sur hémocultures positives

- 9/75 (12%) hémocultures positives ont présenté un $\dagger$ lacta test positif
 - 7 *Escherichia coli* BLSE +
 - 1 *Klebsiella pneumoniae* BLSE +
 - 1 *Klebsiella pneumoniae* BLSE + et 1 *Enterobacter cloacae* AmpC dérégulée

Evaluation du test sur hémocultures positives

- Sensibilité = 88,9%
- Spécificité = 100%
- VPP = 100%
- VPN = 98,5%

Evaluation du test sur hémocultures positives (illustration d'un cas récemment rencontré)

- Hémoculture positive à BGN
- R/amoxicilline-clavulanate
 - J1: Maldi-Tof MS: *Klebsiella pneumoniae*
 - J1: β lacta test positif $\rightarrow$ R/méropénem
 - J2: confirmation BLSE
- Discussion
 - A terme: isolement patient et mesures additionnelles de contact sur base du β lacta test quand *E. coli* ou *K. pneumoniae*

Conclusion

Avantages

- Test rapide et simple
- Test sensible et spécifique pour les entérobactéries du groupe I et II et *P. aeruginosa*
- Détection rapide des BLSE et implication en hygiène hospitalière

Inconvénients

- Coût (4€/test)
- Mauvaise sensibilité pour entérobactéries groupe III
- Pas encore d'évaluation du test pour les entérobactéries porteuses d'une carbapénémase

Remarque: intérêt du β lacta test à mettre en balance avec l'épidémiologie des résistances à BGN dans chaque l'hôpital