

LES BACTÉRIES MULTI RÉSISTANTES – BMR

Dr Laurence PÂRIS
Pharmacien Biologiste
Responsable de la bactériologie
Laboratoire Biocentre



INTRODUCTION

En France en 2012 :

- 158.000 infections à BMR ont été dénombrées dont près de 16.000 infections invasives.
- Les SARM et les entérobactéries résistantes aux C3G étaient responsables de 103.000 infections, soit 65 % du total.
- Le nombre de décès attribués à ces infections était de 12.500



Etude Burden BMR, Rapport de Juin 2015

DÉFINITIONS

- **Bactéries Multi Résistantes ou BMR :**
Ensemble de bactéries hétérogènes tant du point de vue du risque épidémique que de l'accumulation de mécanismes de résistances, naturels ou acquis.
- **Résistance naturelle :**
caractéristique d'une espèce bactérienne
partagée par toutes les souches de cette espèce, définit le phénotype « **sauvage** » et le spectre d'activité des antibiotiques.
Exemple: tous les *Proteus* sont résistants à la colistine
- **Résistance acquise :**
Comportement anormal de certaines souches au sein d'une espèce. Elle résulte d'une modification génétique



RÉSISTANCE ACQUISE

- Mutation chromosomique :
 - Rare = 10 %
 - Spontanée = non induite par l'antibiotique, liée au hasard.
 - Transmission verticale
- Acquisition de matériel génétique étranger (plasmide, transposon, intégron) → résistance plasmidique :
 - Fréquente = 90 %
 - **Contagieuse + + +**
 - Transmission verticale ET horizontale (même espèce ou espèces différentes)

⇒ Épidémies de souches au sein d'une même espèce

⇒ Dissémination de la résistance

MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES BACTÉRIES

- Différents mécanismes :
 - Imperméabilité de la paroi
 - Modification de la cible de l'antibiotique
 - Production d'enzymes → hydrolyse de l'antibiotique
 - Efflux actif

- Le mécanisme le plus fréquent est la résistance enzymatique



MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES BACTÉRIES

- L'étude des résistances se fait par la réalisation de l'antibiogramme:
 - Techniques manuelles : diffusion en milieu gélosé (solide)
 - Techniques automatisées : galeries (ATB expression) ou cartes (Vitek)
 - Détermination des CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)
Concentration d'antibiotique inhibant la croissance visible d'une bactérie après 18 heures de contact (E-test)



L'ANTIBIOGRAMME: RECOMMANDATIONS

- En France
 - Le **CASFM** (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)
 - L'**EUCAST** (The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
⇔ harmonisation européenne des concentrations critiques.
- Chaque année sont éditées les nouvelles recommandations.
- Règles de **lecture interprétative** en fonction des espèces bactériennes, des molécules, des concentrations et/ou des diamètres critiques, des données cliniques (efficacité, tolérance).
- **Expertise** des résultats par le biologiste.



LES BMR EN PRATIQUE

LES BMR À BIOCENTRE

- La politique de mise en œuvre de dépistage dans chaque établissement dépend du risque de transmission et de l'épidémiologie locale.
- Au laboratoire Biocentre sont considérées comme BMR :
 - *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) résistance parfois associée à une sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA)



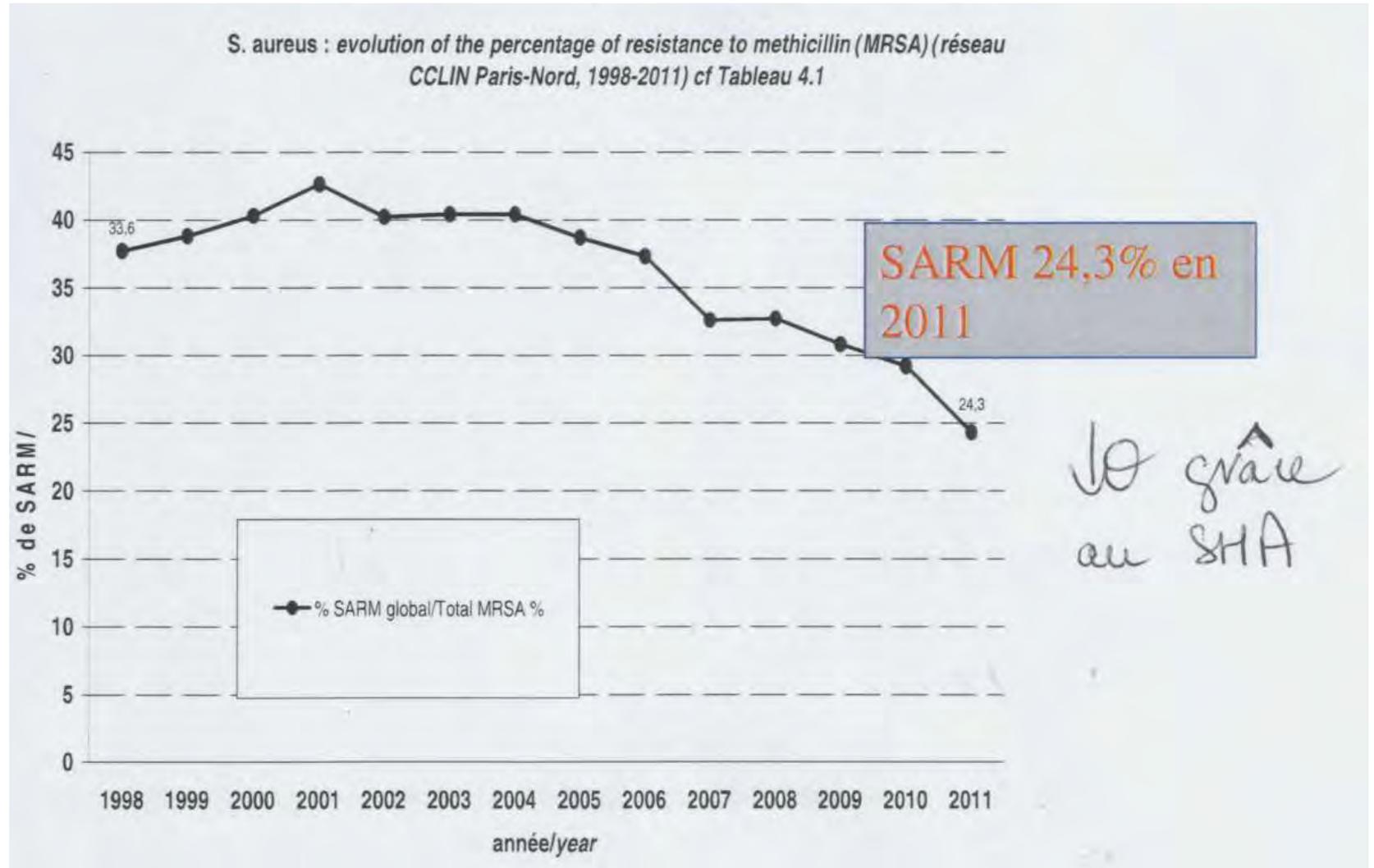
I - STAPHYLOCOCCUS AUREUS SARM

- Résistance par acquisition du gène *mecA* responsable de la synthèse d'une PLP2a de faible affinité pour les bêta lactamines (pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes)
- Croisée à l'ensemble des bêta lactamines
- **Dissémination + + +**
- Les SARM actuels sont sensibles aux aminosides et résistants aux fluoroquinolones (ofloxacine)

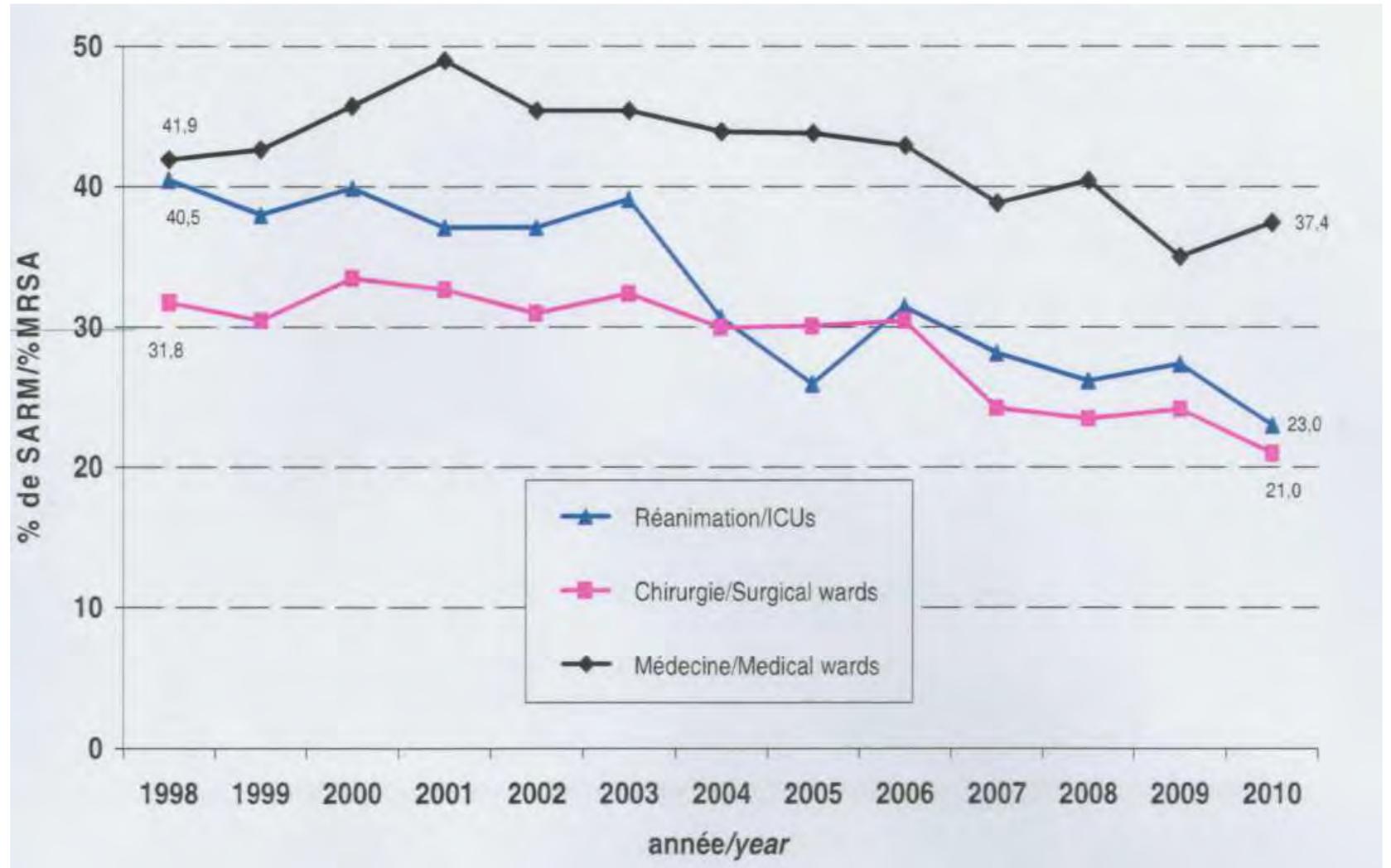
PLP2a = Protéine de liaison aux pénicillines



S. aureus: évolution du % de résistance à la méticilline



S. aureus: évolution du % de SARM dans les hôpitaux de court séjour selon le type d'activité médicale

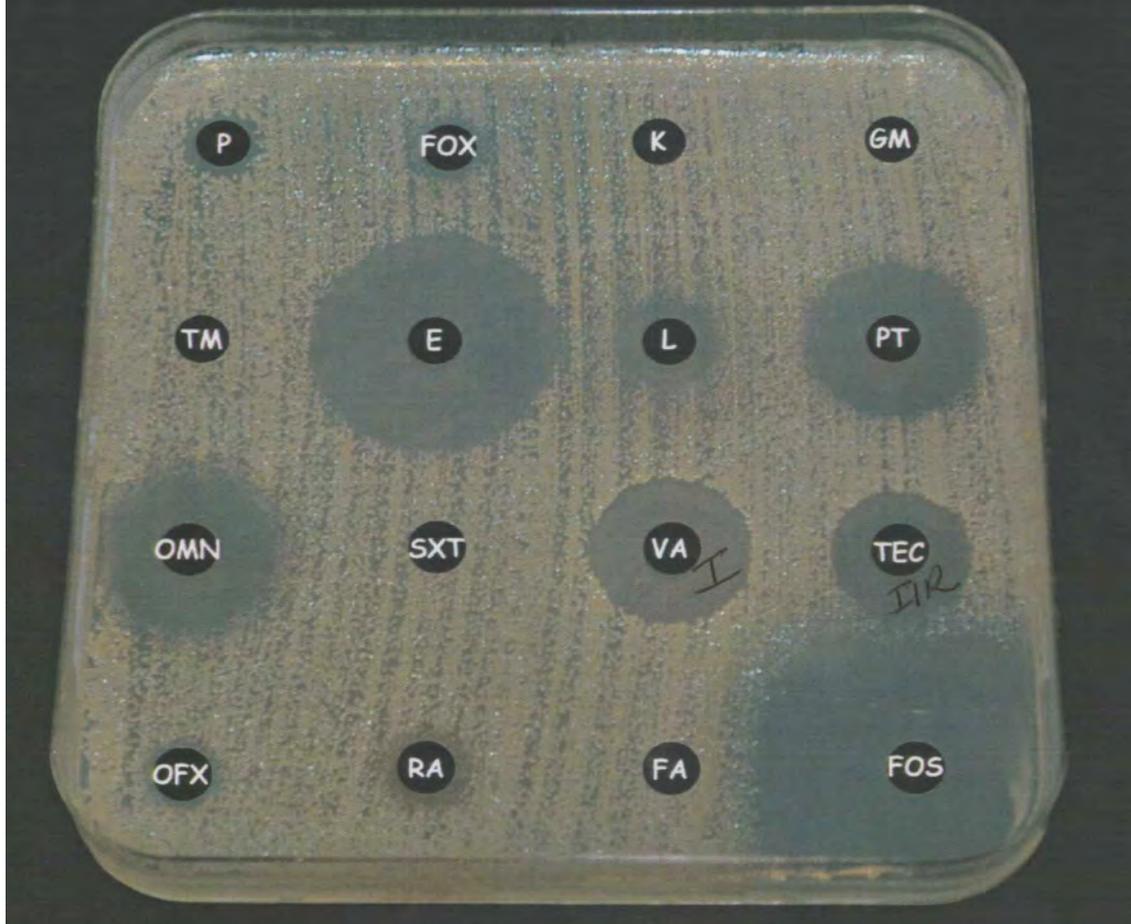


STAPHYLOCOQUES ET GLYCOPEPTIDES

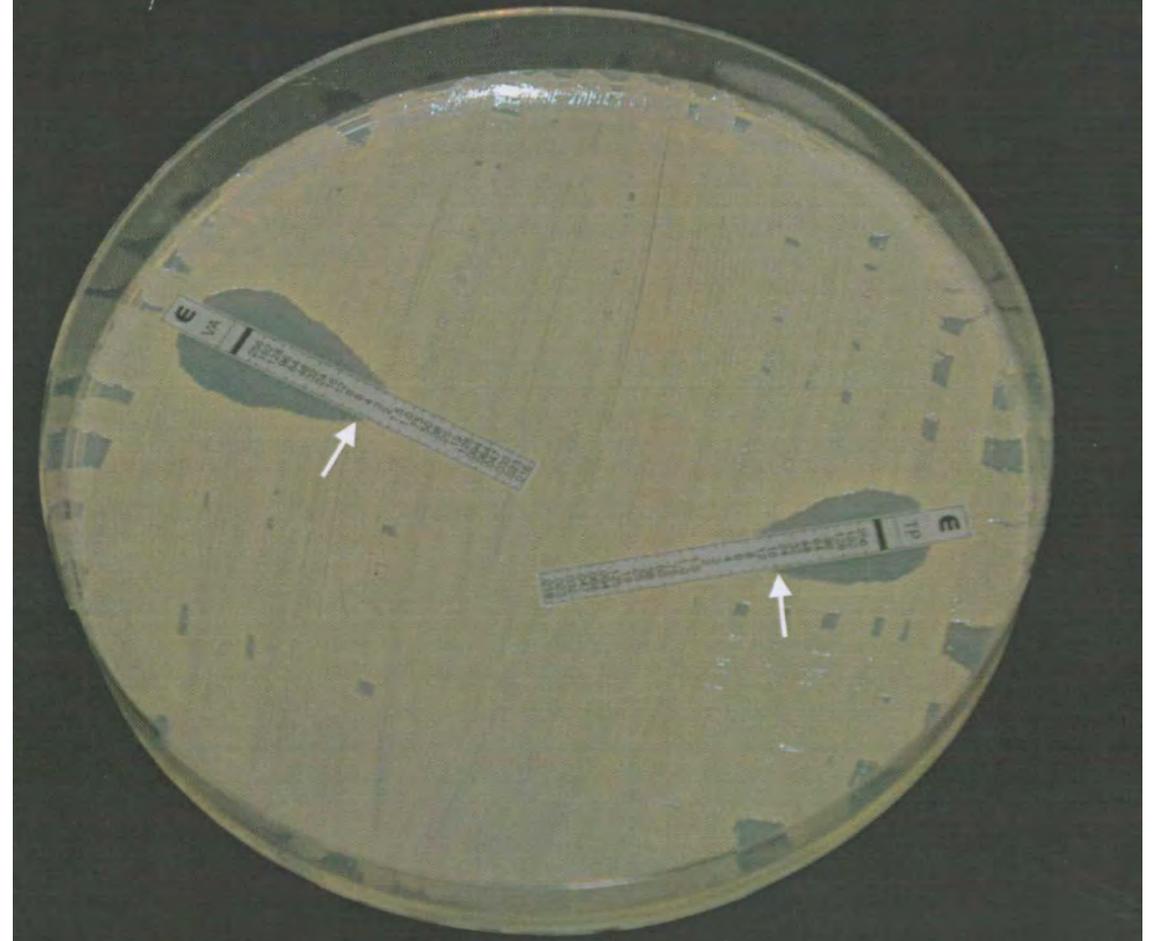
- GISA (Glycopeptide Intermediate S. aureus) :
CMI de vancomycine **ou** de téicoplamine = 8 ou 16 mg/L → Vanco I et/ou Teico I / R
- VISA (Vancomycine Intermediate S. aureus) :
CMI de vancomycine = 8 ou 16 mg/L → Vanco I
⇒ Inefficacité **constante** des glycopeptides sur ces souches **intermédiaires**
- Hétéro GISA ou hétéro VISA : Vanco S mais sous-populations avec CMI à 8 mg/L
- Souches Vanco R, Teico R → CNR (Alerte)
- Au laboratoire, on regarde sur automate les CMI Vanco et Teico. Si touchées → CMI par E-test



GISA



GISA, CMI Vanco 4 mg/l, Teicoplanine : 12 mg/l



CLINICAL ARTICLES

Involvement of Panton-Valentine Leukocidin–Producing *Staphylococcus aureus* in Primary Skin Infections and Pneumonia

Gerard Lina,¹ Yves Piémont,² Florence Godail-Gamot,¹ Michèle Bes,¹ Marie-Odile Peter,³ Valérie Gauduchon,¹ François Vandenesch,¹ and Jerome Etienne¹

From the ¹Centre National de Référence de Toxémies Staphylococciques, Faculté de Médecine, Lyon; ²Institut de Bactériologie, Université Louis Pasteur, Faculté de Médecine, Strasbourg; and ³Hôpital E. Muller-Moenschberg, Mulhouse, France

Clinical Infectious Diseases 1999;29:1128-32

• Inf



SARM COMMUNAUTAIRE

- Qui donne des infections cutanées suppuratives (furoncles) et des pneumonies nécrosantes (enfant et adulte jeune)
- Antibiogramme : SARM donc Oxa R **mais** sensible aux fluoroquinolones
I ou R à l'acide fusidique

⇒ Suspicion d'une souche PVL = SARM sécréteur de toxine Penton-Valentine

URGENCE + + +



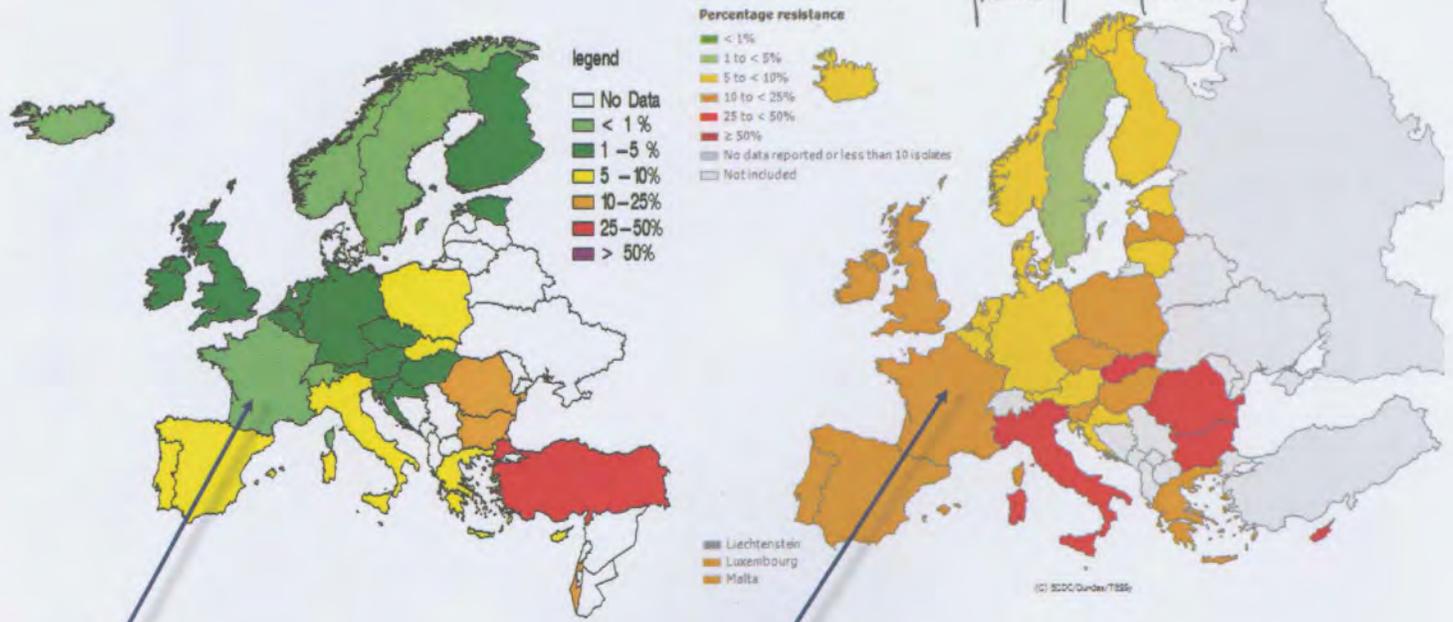
2- B.L.S.E

- Entérobactéries résistantes par acquisition de résistances enzymatiques plasmidiques de type bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)



Evolution de la résistance aux C3G chez *E. coli* en Europe dans les bactériémies (EARS-net)

↳ origine = 80% min de \bar{e} à ust pathog quotidien



< 1% en 2004

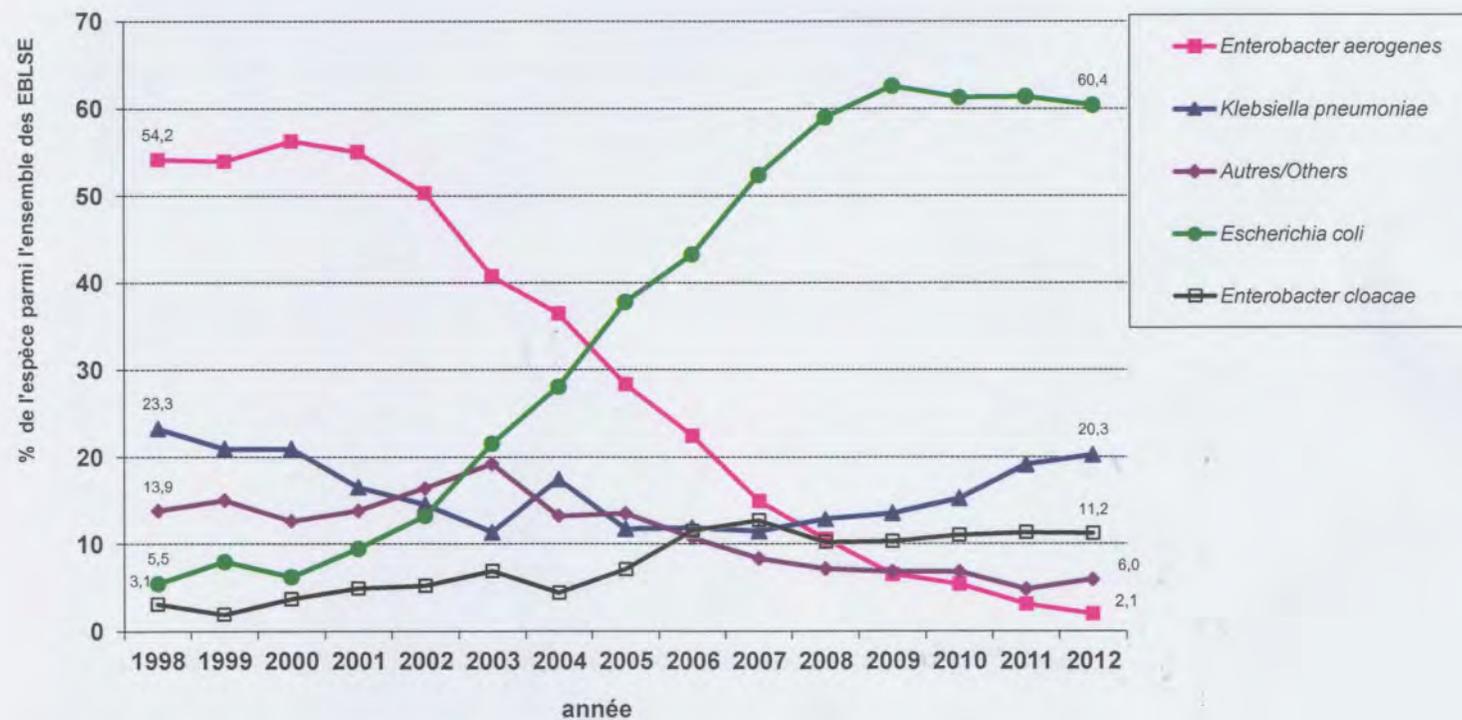
10% en 2013

(France = ONERBA = AZAY-R + Ile de France + REUSSIR)



Distribution des espèces d'entérobactéries productrices de BLSE C-CLIN Paris-Nord

Entérobactéries productrices de BLSE : évolution de la répartition (%) des espèces
réseau C-CLIN Paris Nord, 1998-2012



2- B.L.S.E

- 3,8 % des E. coli dans le Nord Pas de Calais sont BLSE + en 2012 (cystites) avec résistance associée fréquente aux fluoroquinolones (50 %).

Source ONERBA Ricai 2013

- Pour tout E. coli, 20 % de résistance aux fluoroquinolones.
- Pour épargner les carbapénèmes, plus d'interprétation des CMI obtenues mais recherche de BLSE indispensable pour la surveillance (épidémiologie) et les mesures d'hygiène.



3- PSEUDOMONAS AERUGINOSA

- Résistant à la ceftazidime avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémase (ex:VIM 1) ou par modification de perméabilité



4- ACINETOBACTER BAUMANII

- Multi-résistant aux bêta-lactamines avec parfois associées des résistances aux carbapénèmes par carbapénémases ou par modification de perméabilité



5- ERG

- Entérocoques Résistants aux glycopeptides
- Résistance à la vancomycine et/ou la teïcoplanine
- Essentiellement *E. faecium*, +/- *E faecalis*



5- ERG

- Phénotype sauvage : sensible à la vancomycine et à la téïcoplanine
- Résistance naturelle à la vancomycine : *E. gallinarum*, *E. casseliflavus* et *E. flavescens* (gène Van C)
- Résistance acquise : modification de la cible → 4 phénotypes
Van A Van B Van D Van E
- Problème : les gènes Van A et Van B sont transférables à d'autre gram +

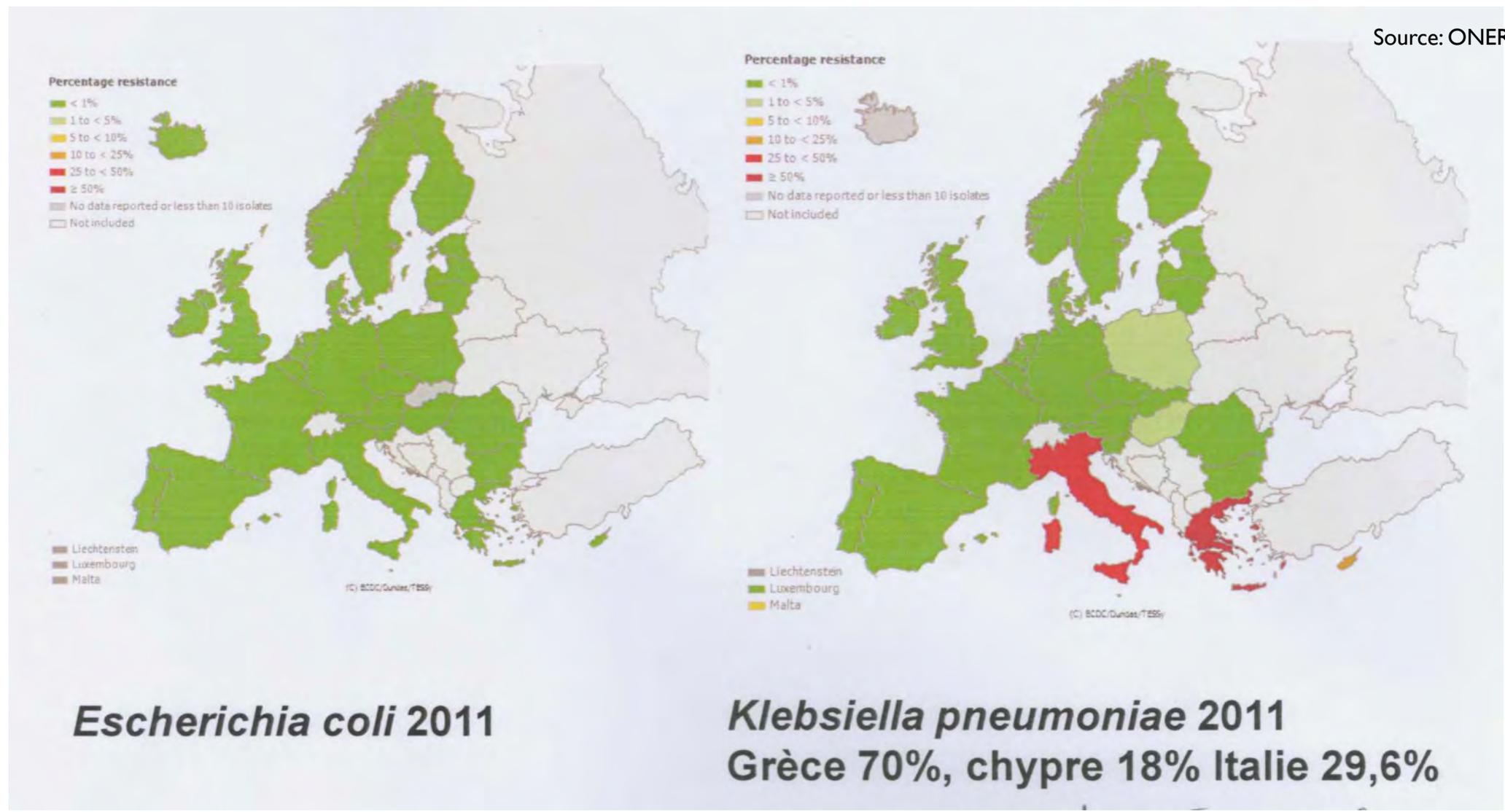
⇒ CMI / E-tests + + +



6- EPC

- Les entérobactéries productrices de carbapénémases
- Actuellement il s'agit principalement de *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*





Carbapénémases majoritaires chez entérobactéries en fonction des pays européens

Source: ONERBA



Nombre d'épisodes impliquant des EPC en France, signalés à l'INVS entre janvier 2004 et septembre 2013, **selon les bactéries impliquées** (n = 627 épisodes)

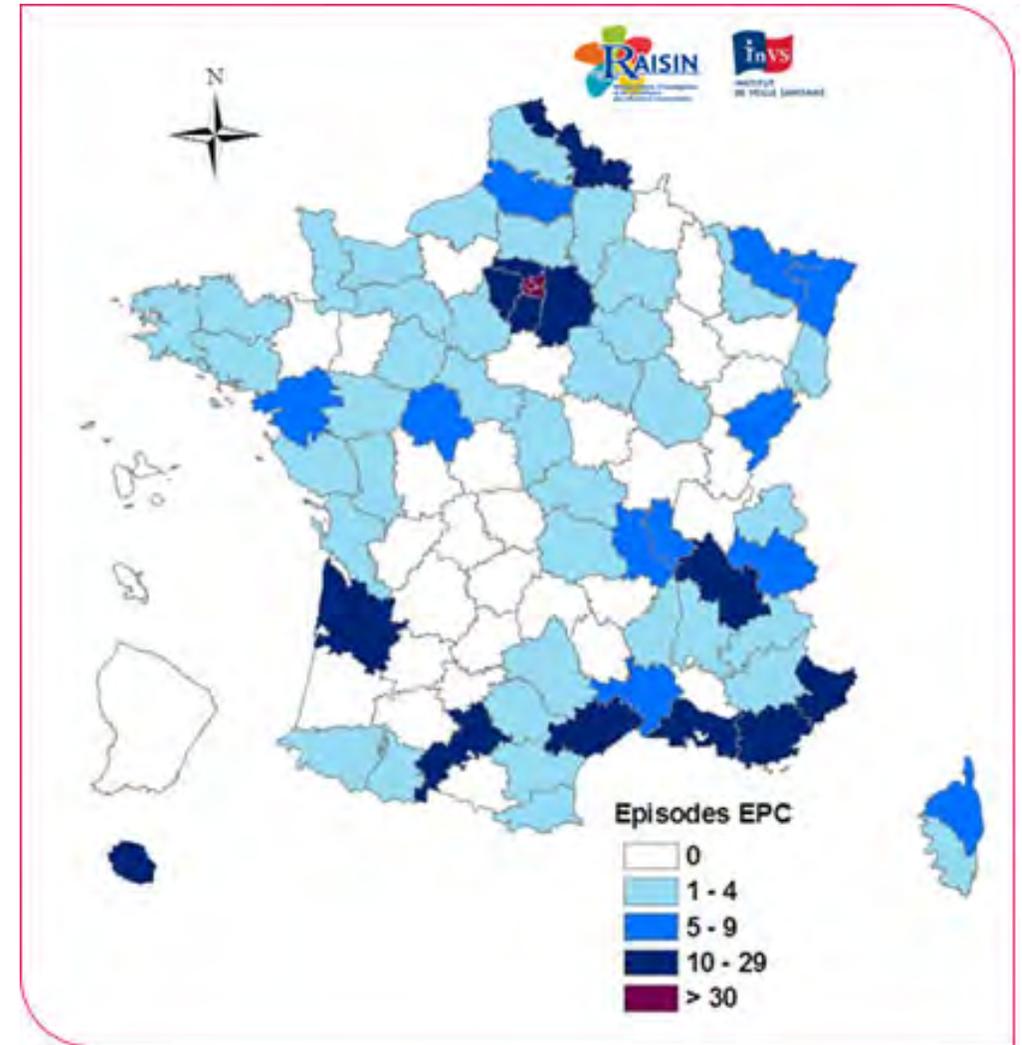
Bactérie	Nombre d'épisodes	
	N	%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	420	67
<i>Escherichia coli</i>	151	24
<i>Enterobacter cloacae</i>	79	13
<i>Citrobacter freundii</i>	27	4
<i>Enterobacter aerogenes</i>	11	2
<i>Klebsiella oxytoca</i>	8	1
<i>Proteus</i>	6	1
<i>Citrobacter (autre que freundii)</i>	5	1
<i>Salmonella</i>	5	1
<i>Morganella morganii</i>	3	<1
<i>Serratia</i>	3	<1
<i>Providencia</i>	2	<1
Total des bactéries	627*	**



Nombre d'épisodes impliquant des EPC en France, signalés à l'INVS entre janvier 2004 et septembre 2013, **par département** (n = 627 épisodes)

282 épisodes sans lien avec un voyage à l'étranger (soit 45 %)

Source: ONERBA



- ERG et EPC sont nommés « **Bactéries Hautement Résistantes émergentes** » ou BHRe





LE DÉPISTAGE DES BMR

OBJECTIFS

- Mise en œuvre de précautions complémentaires contact (**PCC**) en complément des précautions standard (le plus rapidement possible en contexte épidémique afin de maîtriser la diffusion)
- Identifier rapidement une transmission au sein d'un secteur de soins (pour cohorting)
- Mesurer l'épidémiologie d'un secteur hospitalier
- Réaliser une décontamination nasale, cutanée ou digestive avant un geste invasif par exemple en pré opératoire (type chirurgie cardiaque),
- En communautaire, suivi des patients contacts de cas connus



QUELS SITES PRÉLEVER?

- Ecouvillonnage nasal → recherche de SARM
- Ecouvillonnage anal → recherche d'entérobactéries BLSE, BHRe, *P. aeruginosa* et *A. baumannii* multirésistants
(+/- pour ces 2 derniers un prélèvement de gorge ou une aspi trachéale s'il existe un dispositif intra trachéal)
- Ecouvillonnage d'une plaie chronique



COMBIEN DE TEMPS PRÉLEVER UN PATIENT CONTACT?

- Il est recommandé d'obtenir au minimum **3 dépistages** négatifs à au moins 1 semaine d'intervalle pour envisager la négativation.
- Si un dépistage est positif: il s'agit d'un portage donc **pas de traitement antibiotique**.



MÉTHODES UTILISÉES AU LABORATOIRE POUR LA MISE EN ÉVIDENCE DES BMR

MÉTHODES UTILISÉES

- Utilisation de milieux chromogènes **sélectifs** : ils peuvent parfois donner au bout de 24 heures d'incubation une orientation d'espèce et de résistance, et une bonne visualisation de populations doubles ou multiples. L'incubation est prolongée à 48 heures si les milieux sont stériles à 24 h.
- Toute colonie suspecte fait l'objet d'une identification + antibiogramme (CASFM / EUCAST) car les milieux chromogènes ne permettent pas d'objectiver le mécanisme de résistance.
- Les BHRe (ERG, EPC) font l'objet d'un envoi au CNR correspondant (identification moléculaire qui permet de confirmer les éventuelles **transmissions croisées**).

Ex: EPC carbapénémase de type Oxa48, KPC
ERG gène VanA ou VanB



MÉTHODES UTILISÉES

- La négativité de dépistage n'exclut pas la possibilité d'identifier une BMR ultérieurement ni que la BMR soit présente en dessous du seuil de détection.
- Le circuit de l'information du dépistage ou diagnostic positif doit être organisé si le dépistage est positif: le signaler dans le dossier médical du patient



(2)

CYTO-BACTERIOLOGIE DES URINES

Urines recueillies sur flacon stérile déposé au laboratoire.
Heure du Recueil : 6h00

EXAMEN CYTOLOGIQUE

(Lecture par cytométrie de flux SYSMEX UF1000)

(Valeurs usuelles fonction de la technique utilisée)

Numération des Leucocytes .:	314.000 /ml	N < 20.000/ml
Numération des Hématies....:	69.615.000 /ml	N < 25.000/ml
Cellules épithéliales.....:	Très rares	
Cylindres.....:	Absence	
Cristaux	Absence de cristaux	

EXAMEN BACTERIOLOGIQUE

NUMERATION DES GERMES: 100.000 /ml

Escherichia coli

Présence d'une bêta-lactamase à spectre étendu.

"Ce GERME EST UNE BMR: BACTERIE MULTI RESISTANTE".



Germe testé: **Escherichia coli**

Antibiotiques à usage hospitalier (h)

Béta-lactamines :

. pénicillines

AMPICILLINE.....	(Totapen, Clamoxyl).....	Résistant
AMOX+Ac.CLAVULANIQUE	(Augmentin, Ciblor).....	Sensible
(h) TICARCILLINE.....	(Ticarpen).....	Résistant
(h) PIPERACILLINE+TAZOBACTAM	(Tazocilline).....	Sensible
MECILLINAM.....	(Selexid).....	Résistant

. carbapénèmes

(h) ERTAPENEM.....	(Invanz).....	Sensible
--------------------	---------------	-----------------

. céphalosporines

(h) CEFOXITINE.....	(Méfoxin).....	Sensible
CEFIXIME (C3G orale)	(Oroken).....	Résistant
CEFTRIAXONE (C3G inj)	(Rocéphine, Claforan).....	Résistant
(h) CEFTAZIDIME (C3G inj)	(Fortum).....	Intermédiaire

AMINOSIDES :

GENTAMICINE.....	(Gentalline).....	Sensible
(h) AMIKACINE	(Amiklin).....	Sensible

QUINOLONES :

OFLOXACINE.....	(Oflocet, Logiflox).....	Sensible
CIPROFLOXACINE.....	(Ciflox).....	Sensible

FURANES :

NITROFURANTOINE.....	(Furadantine, Furadoine)...	Sensible
----------------------	-----------------------------	-----------------

SULFAMIDES :

COTRIMOXAZOLE.....	(Bactrim).....	Sensible
--------------------	----------------	-----------------

DIVERS :

FOSFOMYCINE	(Monuril).....	Résistant
-------------------	----------------	-----------



CONCLUSION

- Moins prescrire d'antibiotiques c'est préserver leur efficacité. Leur bon usage limite le développement des résistances.
- Les BMR qui doivent en priorité faire l'objet de mesures de prévention sont les SARM, les BLSE, les ERV et les EPC car :
 - Diffusion clonale
 - Risque d'impasse thérapeutique
 - Risque d'épidémie émergente
- Les autres BMR (*P. aeruginosa* et *A. baumannii*) sont des saprophytes, de clonalité modérée : elles peuvent faire l'objet d'actions selon les situations épidémiologiques locales.





QUELQUES EXEMPLES

Antibiogramme (Vitek)

Nom du patient : GONZALEZ

ID du patient : 21187119271201

*** Alerte activée ***

Groupe d'isolats : 42750271-1

Type de carte : GN Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)

Type de carte : AST-N340 Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)

Résultats Antibiogramme			Carte : AST-N340	N° de lot : 780343410	Péremption : 9 mai 2016 13:00 CEST
			Terminé le : 16 nov. 2015 02:33 CET	État : Final	Heure de l'analyse : 9,25 heures
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Mécollinam			Ceftriaxone	> 32	R
Ampicilline	> 16	R	Ertapénème	<= 0,5	S
Amoxicilline/acide clavulanique			Amikacine	<= 2	S
Urine	16	S	Gentamicine	> 8	R
Autre	16	R	Acide nalidixique	> 16	R
Ticarilline	> 64	R	Ciprofloxacine	> 2	R
Pipéracilline/tazobactam	32	R	Ofloxacine	> 4	R
Céfoxitine	16	I	Fosfomycine		
Céfixime	> 2	R	Nitrofurantoïne	<= 16	S
Ceftazidime	16	R	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	> 160	R

+ = Antibiotique déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur

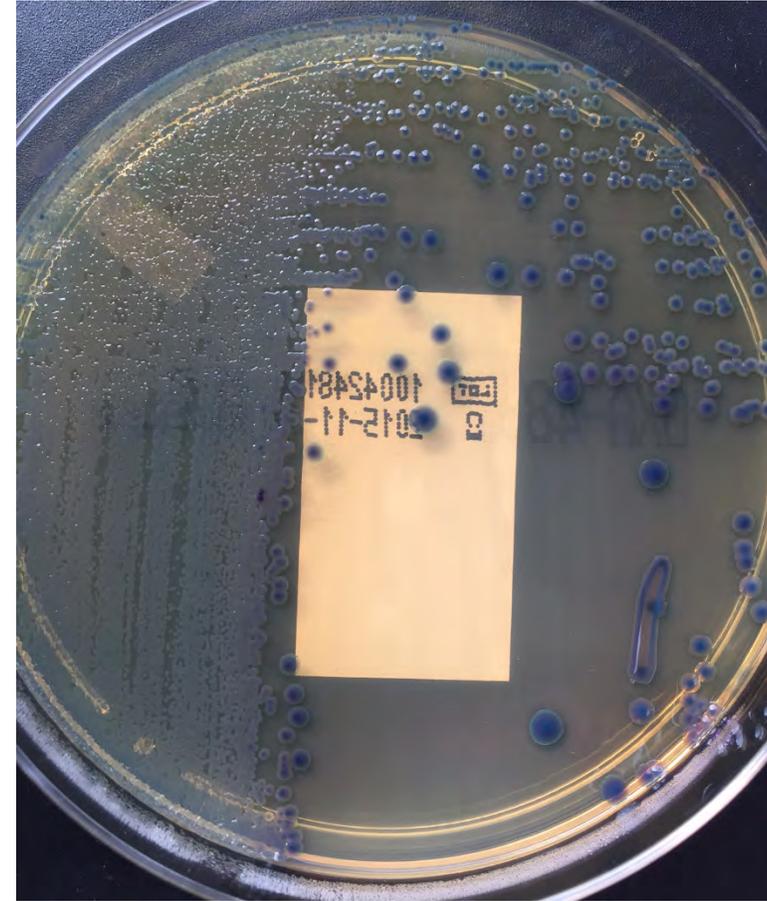
Résultats AES :		Dernière modification : 10 août 2015 11:56 CEST		Normes/Phénotype : LAM : BIOCENTRE TOURCOING		Copie de travail	
Niveau de fiabilité :	Concordant						
Phénotypes à vérifier :	BÊTA-LACTAMINES	BLSE + IMPERMÉABILITÉ (CÉPHAMYCINES)	BÊTA-LACTAMASE À SPECTRE ÉTENDU				







Milieu ESBL



Milieu OXA 48

Identification (Vitek)

Nom du patient :
Groupe d'isolats : 42753171-1

ID du patient :

Type de carte : GN Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)
Type de carte : AST-N233 Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)

Profil biochimique : 4607734453164210

Commentaires :	Règle bioART N°79 : Pour les cystites, la concentration critique haute de l'Amoxicilline + Acide Clavulanique n'est pas couverte par la plage de CMI. Réaliser une bandelette Etest si nécessaire. Règle bioART n°85: Algorithme de détection des EPC (CASFM 2015): Possibilité d'EPC (Entérobactérie productrice de carbapénémase). A confirmer par des tests phénotypiques. VERIFIER ERTAPENEME SUR DISQUE OU ENVISAGER ETEST ERTAPENEME

Informations sur l'identification	Carte : GN	N° de lot : 241349310	Péremption : 7 juil. 2016 13:00 CEST
	Terminée le : 18 nov. 2015 16:41 CET	État : Final	Heure de l'analyse : 4,75 heures
Germe sélectionné	98% de probabilité	Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae	
	Profil biochimique : 4607734453164210	Fiabilité :	Excellente identification
Germe SRF			
Germes identifiés et tests discriminants :			
Commentaire sur l'ident. : Les antibiotiques suivants sont supprimés de l'analyse : Nitrofurantoïne,			
Tests à l'encontre Klebsiella pneumoniae ssp pneumoniae URE(76),			



Antibiogramme (Vitek)

Nom du patient :
Groupe d'isolats : 42753171-1

ID du patient :

Type de carte : GN Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)
Type de carte : AST-N233 Instrument de test : 00000A69CBEE (BIOCENTRE)

Profil biochimique : 4607734453164210

Résultats Antibiogramme			Carte : AST-N233	N° de lot : 633358540	Péréemption : 7 oct. 2016 13:00 CEST
			Terminé le : 18 nov. 2015 21:33 CET	État : Final	Heure de l'analyse : 9,50 heures
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ampicilline	> 16	R	Ertapénème	> 4	R
Amoxicilline/acide clavulanique			Imipénème	> 8	R
Urine	> 16	R	Amikacine	16	I
Autre	> 16	R	Gentamicine	> 8	R
Ticarcilline	> 64	R	Tobramycine	> 8	R
Pipéracilline/tazobactam	> 64	R	Acide nalidixique	> 16	R
Céfalotine			Ciprofloxacine	> 2	R
Céfoxitine	> 32	R	Ofloxacine	> 4	R
Céfotaxime	> 32	R	Nitrofurantoïne		
Ceftazidime	> 32	R	Triméthoprim/sulfaméthoxazole	> 160	R

+ = Antibiotique déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur

Résultats AES :		Dernière modification : 10 août 2015 11:56 modification : CEST	Normes/Phénotype : LAM : BIOCENTRE TOURCOING
Niveau de fiabilité :	Concordant		
Phénotypes à vérifier :	BÊTA-LACTAMINES (AmpC +)	CARBAPÉNÉMASE (BLSE + OU -) IMPERMÉABILITÉ CARBA (BLSE + OU HN)	
	AMINOSIDES	RÉSISTANT GEN TOB NET AMI (AAC(6')+?)	



Antibiogramme suite (Vitek)

Résultats Antibiogramme	Carte : AST-XN05		N° de lot : 148334340	Péréemption : 8 févr. 2016 12:00 CET	
	Terminée le :	19 nov. 2015 18:26 CET	État : Final	Heure de l'analyse : 6,00 heures	
Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
BLSE	NEG	-	Méropénème	> 8	R
Ampicilline/sulbactam	> 16	R	Lévofoxacine	> 4	R
Ticarilline/acide clavulanique	> 64	R	Moxifloxacine	> 4	R
Pipéracilline	> 64	R	Minocycline	(-)	(-)
Céfuroxime	> 32	R	Tétracycline	(-)	(-)
Céfuroxime axétil	> 32	R	Tigecycline	4	R
Céfixime	> 2	R	Chloramphénicol	> 32	R
Ceftriaxone	> 32	R	Colistine	<= 0,5	S
Céfépime	> 32	R	Triméthoprim	> 8	R
Aztréonam	> 32	R			

+ = Antibiotique déduit * = Modification AES ** = Modification Utilisateur (-) = Test de sensibilité non recommandé, l'antibiotique n'est pas approprié pour l'espèce

Résultats AES :		Dernière modification : 10 août 2015 11:56 CEST		Normes/Phénotype : Copie de travail LAM : BIOCENTRE TOURCOING	
Niveau de fiabilité :	Concordant				
Phénotypes à vérifier :	BÊTA-LACTAMINES	IMPERMÉABILITÉ CARBA (BLSE + OU HN AmpC +), CARBAPÉNÉMASE (BLSE + OU -)			

Version de VITEK 2 Systems installée : 07.01
Norme d'interprétation des CMI : CASFM EUCAST 2015

Politique d'interprétation thérapeutique : Copie de PHENOTYPIC CASFM EUCAST 2014

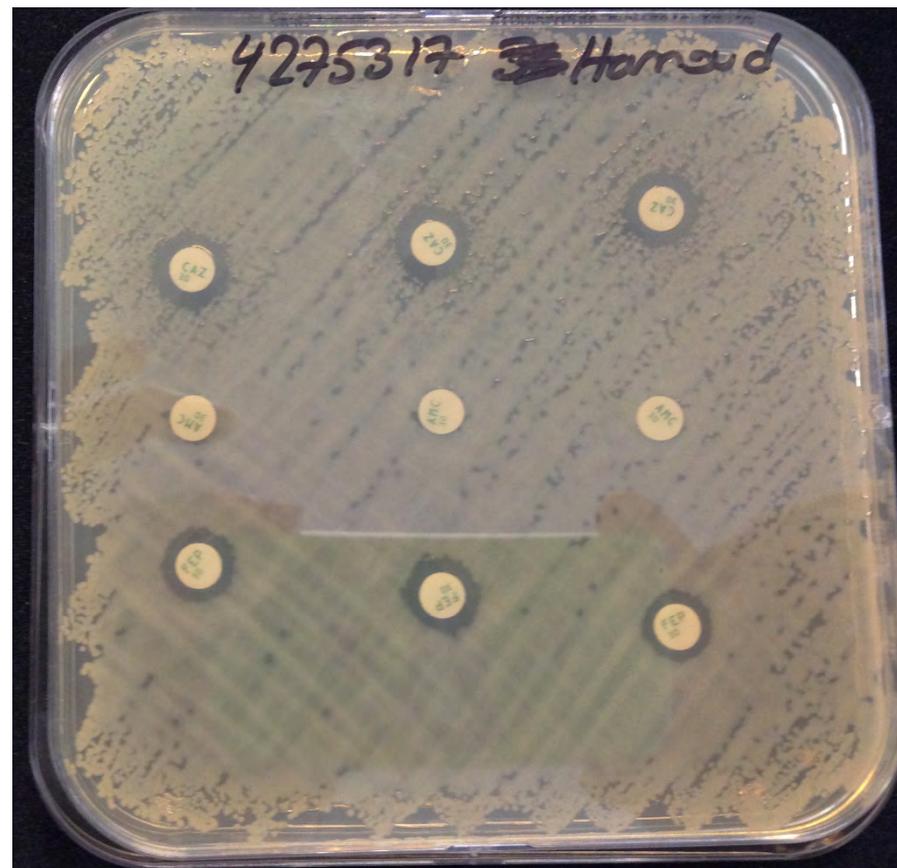
Nom du jeu de paramètres AES : Copie de travail LAM BIOCENTRE TOURCOING

Dernière modification du paramètre AES : 10 août 2015 11:56 CEST

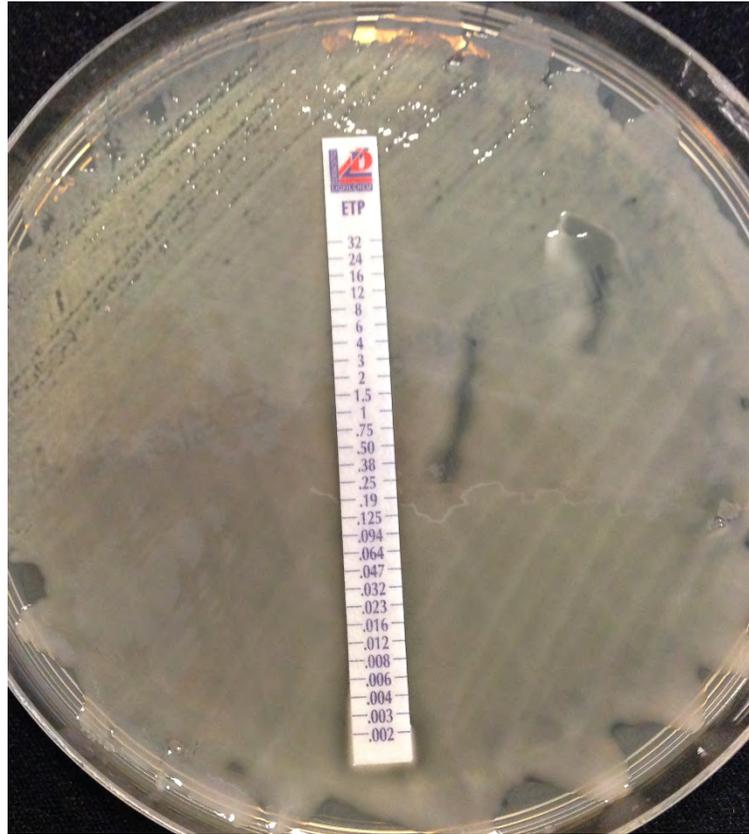




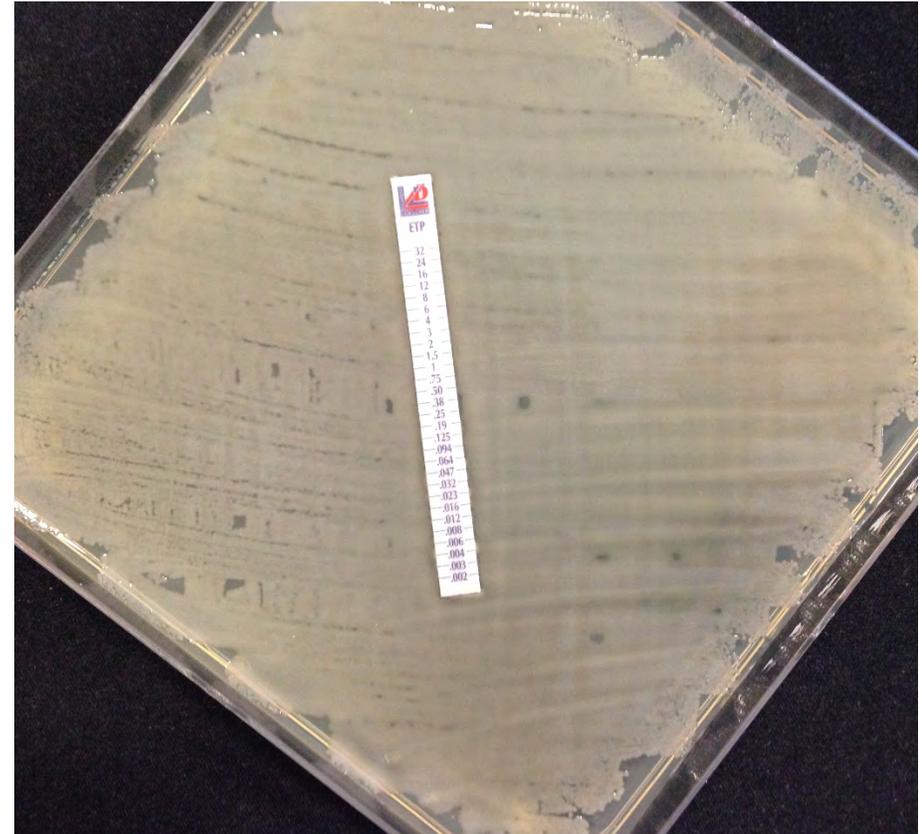
BLSE à 3 cm



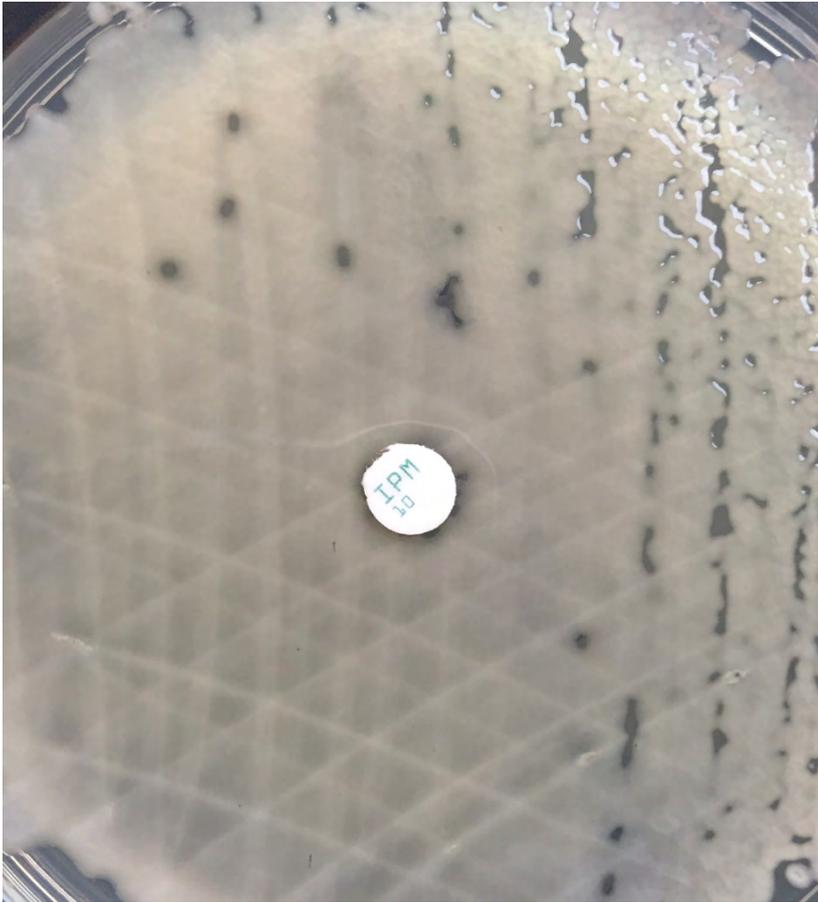
MH cloxa



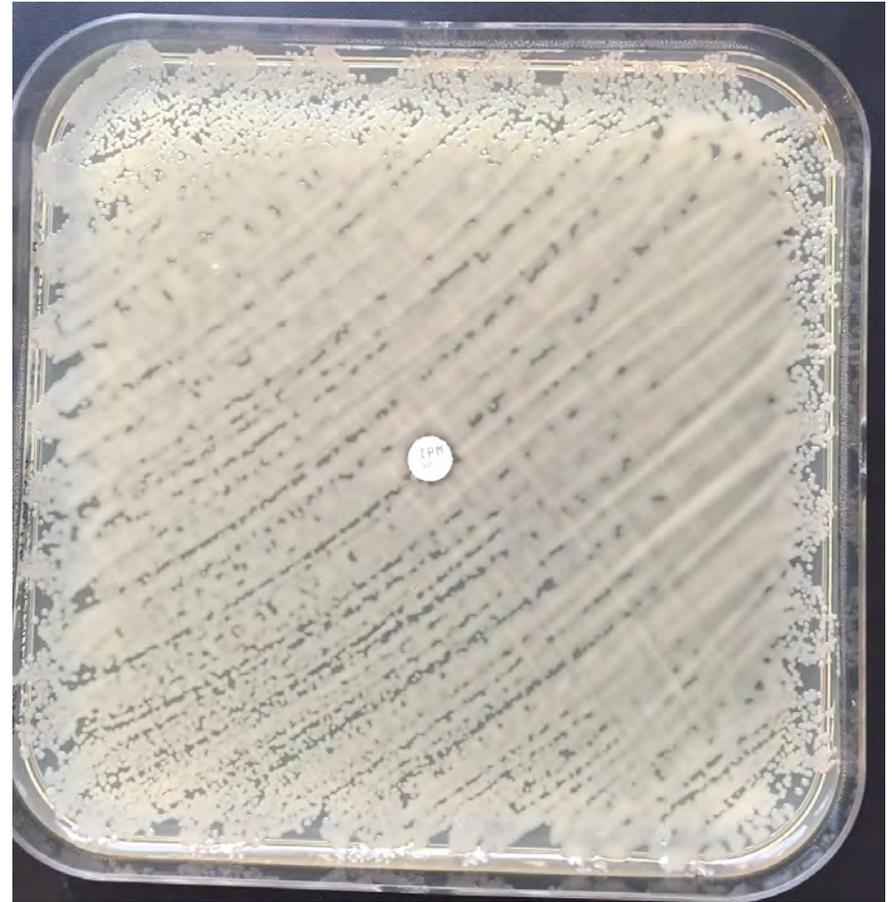
CMI ertapénème



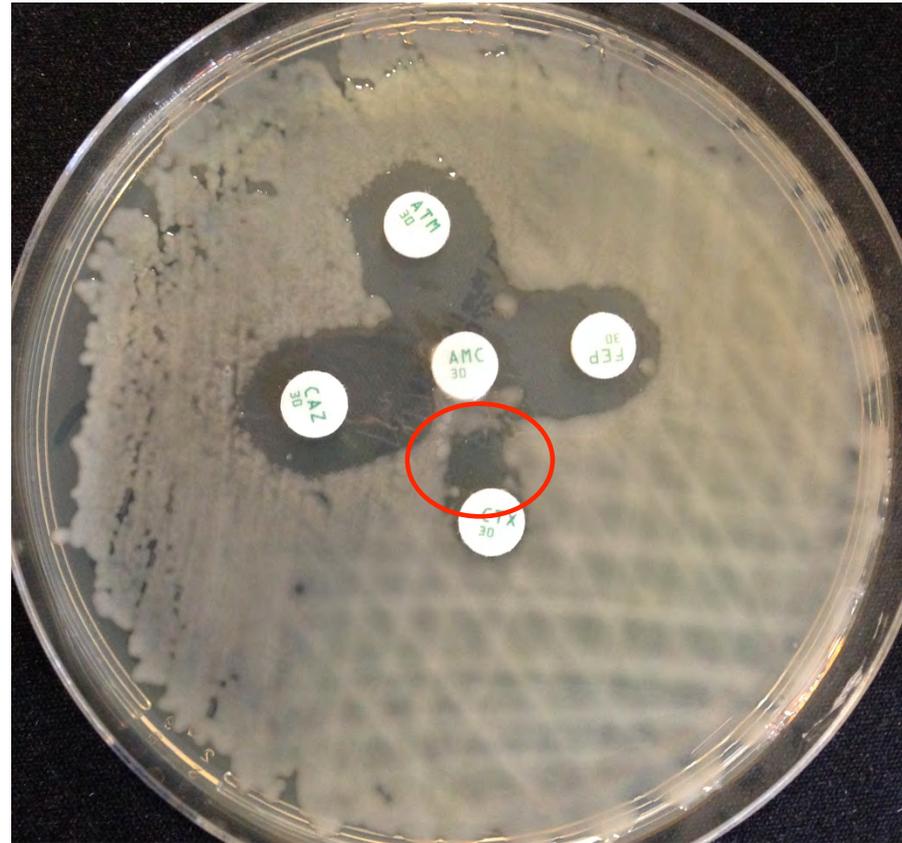
CMI ertapénème sur cloxa



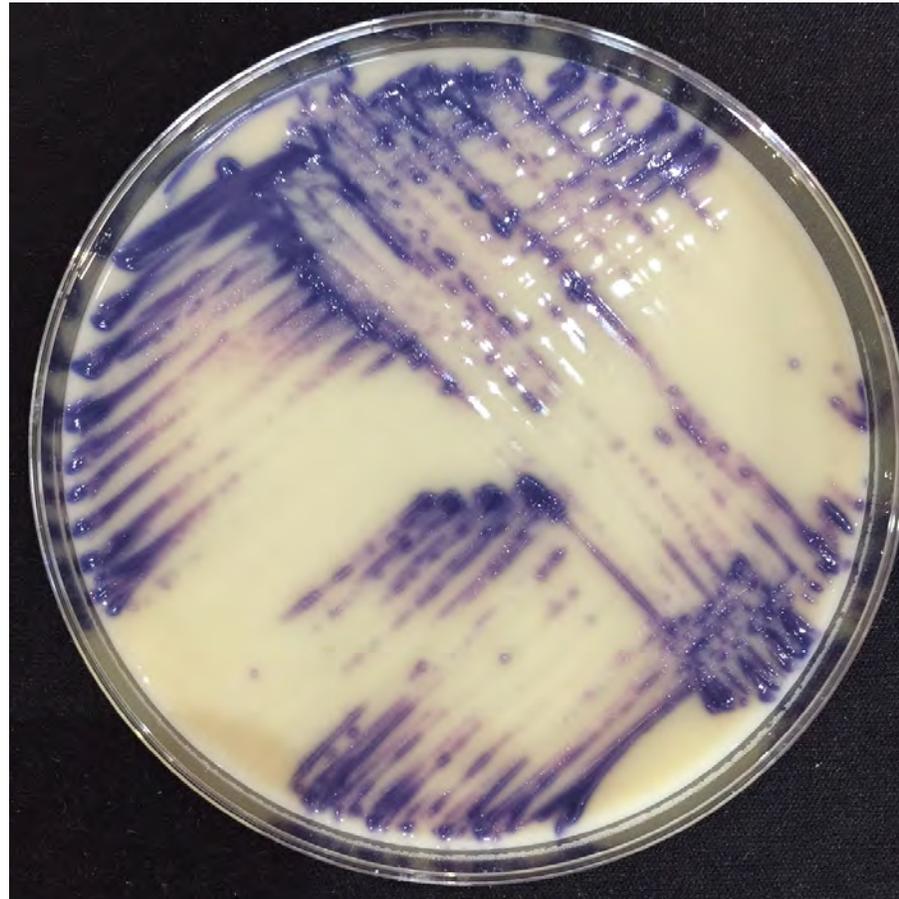
Imipénème



Imipénème sur cloxa



BLSE à 1,5 cm



Milieu chromogène VRE (*E. Faecium*)

MERCI DE VOTRE ATTENTION

