



Les CNR (Centres nationaux de référence) de la résistance aux antibiotiques : quand faire appel à eux pour qualifier vos bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) ?

Loïc Simon¹, Anne Berger-Carbonne², Patrick Plésiat³

CCLin Est, Nancy¹, Santé publique France, Saint Maurice², CNR de la résistance aux antibiotiques, Besançon³

l.simon@chru-nancy.fr

Depuis le 1^{er} janvier 2012, le CNR de la résistance aux antibiotiques est coordonné par le laboratoire de bactériologie du Pr Plésiat (CHRU de Besançon). Ce CNR est accompagné dans ses missions par 3 autres laboratoires situés aux CHU de Caen, Clermont-Ferrand et Bicêtre à l'AP-HP.

Les missions des CNR

Elles sont multiples :

- Détection et caractérisation des mécanismes émergents de résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, les entérobactéries et les entérocoques.
- Mise en place de collaborations avec les réseaux nationaux et régionaux de surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques.
- Diffusion d'une information nationale à destination des biologistes hospitaliers sur les phénotypes de résistance à surveiller.
- Mise à disposition d'un arbre décisionnel pour le repérage phénotypique des souches suspectes à adresser au CNR et diffusion de recommandations pour l'identification des principaux mécanismes émergents détectés en France.
- Restitution dans les congrès nationaux et les revues professionnelles des informations recueillies par le CNR.

Sauf accord préalable avec Santé publique France, le CNR n'a pas pour mission de participer à des investigations épidémiologiques locales impliquant des souches résistantes ou non, en réalisant à la demande des analyses génotypiques (par exemple, électrophorèse en champ pulsé). Celles-ci sont réservées aux souches multirésistantes produisant des mécanismes de résistance émergents (BLSE, carbapénémases) isolées de villes ou de régions différentes, afin d'évaluer le risque épidémique de ces souches.

Financement des CNR

Les activités des CNR contribuant à la Santé Publique sont en partie financées par Santé publique France (ex-InVS).

- Les "expertises" qui sont demandées aux CNR sont réalisées à titre gracieux lorsque les prélèvements ou les souches d'origine humaine leur parviennent dans les conditions requises et accompagnées des renseignements cliniques mentionnés sur la fiche CNR.
- L'arrêté du 29 novembre 2004, définissant les missions des CNR, mentionne que les examens et "les diagnostics sérologiques qui constituent les activités habituelles de diagnostic des LAM ne devraient être confiés aux CNR que de façon exceptionnelle et dans ce cas pourraient donner lieu à facturation". Cela signifie que les CNR n'ont, en aucun cas, à se substituer aux laboratoires d'analyses de biologie médicale pour exécuter, gratuitement ou pas, des

examens relevant de leurs compétences, ni pour répondre à des contrôles de qualité.

Où envoyer votre souche ?

Pour chaque souche résistante aux antibiotiques, il faut prendre en compte les particularités qui sont détaillées en cliquant sur le nom de la bactérie ci-dessous. Un formulaire-type par bactérie vous sera proposé :

- [Acinetobacter baumannii](#)
- [Entérobactérie \(si carbapénémase\)](#)
- [Entérobactérie \(hors carbapénémase\)](#)
- [Entérocoque](#)
- [Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii](#)

Cas particulier des entérobactéries productrices de carbapénémase

Les entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) restent rares en France. Elles doivent cependant être activement recherchées par les laboratoires de biologie médicale, publics ou privés, et faire l'objet d'un signalement.

Cette recherche systématique repose, selon les moyens du laboratoire, sur divers tests phénotypiques, enzymatiques et/ou de biologie moléculaire. Elle s'applique à toute souche d'entérobactérie de sensibilité I ou R à l'ertapénème (CMI > 0,5 mg/L ou un diamètre d'inhibition < 25 mm) et, ou de sensibilité diminuée à d'autres carbapénèmes.

A minima, le dépistage doit être phénotypique grâce à des tests de synergie réalisés selon la méthode de l'antibiogramme par diffusion en gélose (cf. note technique du CNR, disponible sur le site <http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr>). Un algorithme est proposé par le CA-SFM sur la base des données 2011-2012 de l'ONERBA pour optimiser la sensibilité et la spécificité du dépistage par la méthode des disques :

<http://www.sfm-microbiologie.org>

La production de carbapénémase par une souche d'entérobactérie peut être mise en évidence plus directement et plus rapidement par des tests enzymatiques commercialisés (par exemple, RAPIDEC® CARBA-NP, bioMérieux; β -CARBA test, Biorad) ou faisant appel à la spectrométrie de masse de type Maldi-Tof (sous réserve de la validation de la méthode par le laboratoire). De plus,

il existe des tests immuno-chromatographiques permettant d'identifier rapidement certaines carbapénémases dont OXA-48 et KPC (Biorad).

Toutefois, pour des raisons épidémiologiques, le dépistage phénotypique ou enzymatique des EPC est insuffisant et doit être complété par des techniques de biologie moléculaire.

Afin de mieux pouvoir évaluer l'ampleur des phénomènes épidémiques par rapport aux cas dits "sporadiques", le CNR souhaite recevoir rapidement la première souche suspecte d'EPC pour chaque nouveau patient (une seule souche par patient, la première isolée quelle que soit l'espèce) pour en déterminer le génotype et identifier l'enzyme produite (type et variant). L'avis du comité local d'hygiène sera nécessaire pour l'envoi au CNR des isolats ultérieurs recueillis chez un même patient.

Si au niveau local ou régional (CHU, par exemple) les ressources en biologie moléculaire existent, permettant de confirmer la nature de l'enzyme chez les isolats secondaires, il n'est pas utile d'adresser ces derniers au CNR, sauf si l'équipe opérationnelle d'hygiène en lien avec leur Arlin-CCLin après accord de Santé publique France souhaite disposer de comparaisons génotypiques particulières pour orienter son action.

Dans tous les cas, les demandes d'analyses (caractérisation des enzymes et comparaisons génotypiques) portant sur plus de 5 souches par épisode doivent faire l'objet d'un accord préalable avec Santé publique France.

Une note technique informe sur les modalités de détection des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase :

http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/ressources/pages/Note_technique_v5_05_16.pdf

Modalités d'envoi des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est principalement due à deux mécanismes. Le premier associe la production d'une céphalosporinase (d'origine chromosomique ou plasmidique) ou d'une BLSE à une diminution de perméabilité membranaire par perte ou altération de porines. Le second mécanisme met en jeu des β -lactamases capables d'hydrolyser les carbapénèmes, les carbapénémases. Les principales carbapénémases produites par les entérobactéries appartiennent aux types KPC, OXA-48 et ses variants, NDM et VIM. La distinction de ces deux mécanismes est importante pour

la mise en place d'un éventuel traitement antibiotique des patients infectés, ainsi que le déploiement des mesures d'hygiène nécessaires pour limiter la diffusion des souches productrices de carbapénèmase.

Toute souche d'entérobactérie de sensibilité intermédiaire ou résistante à au moins un des carbapénèmes testés, est suspecte de produire une carbapénèmase, quelle que soit la méthode utilisée pour réaliser l'antibiogramme. L'ertapénème est l'un des marqueurs antibiotiques pour lequel la variation de sensibilité est la plus fine.

L'absence de carbapénèmase ne peut être affirmée que si la souche considérée n'hydrolyse pas effectivement les carbapénèmes. Cette hydrolyse est détectée par un test chromogénique rapide, le Carba NP test, dont le protocole est disponible sur cette page :

<http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/modalites-denvoi-des-souches-1.html>

Chez les entérobactéries produisant naturellement une céphalosporinase (par exemple, *E. cloacae*, *C. freundii* et *S. marcescens*), la diminution de sensibilité aux carbapénèmes est principalement due à l'hyperproduction de cette céphalosporinase associée à une diminution de perméabilité membranaire. Ce mécanisme peut être mis en évidence par la réalisation d'un antibiogramme sur une gélose Mueller-Hinton contenant de la cloxacilline (250 mg/L) en testant l'ertapénème. Seule une restauration totale de la sensibilité aux carbapénèmes sur la gélose contenant de la cloxacilline permet d'exclure l'expression d'une carbapénèmase.

L'une des missions du CNR est d'infirmer ou de confirmer la présence d'une carbapénèmase dans les souches d'entérobactéries suspectes, et, si nécessaire, d'identifier cette carbapénèmase par des techniques de biologie moléculaire.

Modalités d'envoi des souches

1. Réisolement sur gélose ou tube gélosé correctement identifié (ne pas envoyer de culture bactérienne résultant d'un Hodge Test).
2. Le nom de l'espèce à laquelle appartient la souche est à indiquer.
3. Les souches doivent être envoyées dans un triple emballage, selon la réglementation en vigueur pour le transport des échantillons infectieux.
4. Une fiche de renseignements téléchargeable sur

le site du CNR doit accompagner chaque envoi de souche. Il est conseillé d'y joindre une copie de l'antibiogramme.

5. Les coordonnées du laboratoire expéditeur doivent être précisées, ainsi que l'adresse e-mail du correspondant auquel le résultat sera transmis.

Délai et rendu des résultats

- Les résultats sont disponibles en général au plus tard 48 h après la réception de la souche.
- Toute nouvelle détection de carbapénèmase est communiquée par téléphone et par mail au correspondant indiqué sur la fiche de renseignements.
- Les résultats négatifs sont communiqués par mail.
- Un compte-rendu papier est envoyé ultérieurement par courrier avec le résultat définitif.

Les responsables des CNR sont les seuls juges de la finalité des actes qu'ils acceptent d'effectuer. Il faut donc les contacter directement pour toute précision à ce sujet.

Pour en savoir plus :

<http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/>

<http://invs.santepubliquefrance.fr/Espace-professionnels/Centres-nationaux-de-referenc>

