

Note technique : Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase

Janvier 2014

Dr. Laurent DORTET, Dr. Gaëlle Cuzon et Pr. Patrice Nordmann

CNR associé de la résistance aux antibiotiques, « Entérobactéries productrices de carbapénémases ». Hôpital de Bicêtre, Service de Bactériologie-Hygiène, 78 avenue du Général Leclerc, 94270 Le Kremlin-Bicêtre

L'émergence des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) impose une identification rapide des patients infectés et porteurs (1-3). Il est donc essentiel de disposer de techniques efficaces de diagnostic.

Les gènes codant pour les carbapénémases les plus répandues sont le plus souvent localisés sur des plasmides pouvant être transférés de souches à souches, mais aussi entre 2 espèces proches. C'est pourquoi il est essentiel d'identifier les souches hébergeant ce type de mécanismes transférables en raison du danger potentiel qu'elles représentent en tant que sources, réservoirs, et véhicules de gènes de carbapénémases. Il est ainsi possible d'observer chez certains patients des souches appartenant à des espèces d'entérobactéries différentes et produisant la même carbapénémase, probablement en raison d'un transfert de plasmides entre les deux espèces dans le tube digestif de l'hôte.

Entre janvier et septembre 2013, 1487 souches suspectes d'entérobactérie productrices de carbapénémases ont été adressées au CNR à Bicêtre (4): 392 exprimaient une carbapénémase (26,4%). Parmi celles-ci, *K. pneumoniae* représentait 253 souches (64,5%), *E. coli* 68 souches (17,3%) et *Enterobacter* sp. 39 souches (9,9%). La distribution des carbapénémases identifiées était la suivante : très majoritairement OXA-48-like (78,1%) puis NDM (10,2%) suivie de KPC (5,6%) VIM (3,6%), IMP (0,8%) et IMI (0,5%).

1. Identification des EPC à partir de prélèvements cliniques: patients infectés

Critères à appliquer afin d'optimiser la détection des EPC

1.1 *Enterobacteries* productrices de carbapénémases

a. Les espèces les plus fréquemment concernées sont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*.

b. *Proteus* sp. et *Morganella morganii* sont naturellement moins sensibles à l'imipénème : la présence de carbapénémases est rare dans ces espèces bactériennes.

1.2 Résistance vis-à-vis des carbapénèmes

Il faut donc considérer comme **SUSPECTE d'EPC** toute souche de **SENSIBILITE DIMINUEE (I/R)** à au moins l'une des carbapénèmes.

La détection des EPC par de simples tests phénotypiques n'est pas aisée car le niveau de résistance aux carbapénèmes est variable et peut parfois être à la limite du seuil de sensibilité. **L'ertapénème est le carbapénème qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC.** Ainsi toute souche possédant une diminution de sensibilité à l'ertapénème (CMI $\geq 0,5$ mg/L ou un diamètre d'inhibition < 28 mm; disques de 10 μ g) par test de diffusion en gélose est à considérer comme suspecte d'EPC. En outre, dans certains cas, la sensibilité de détection de la production de carbapénémase peut être améliorée par l'utilisation d'au moins 2 carbapénèmes différents (ex : imipénème ET ertapénème).

1.3 Méthodes phénotypiques de détection des EPC

1.3.1 Test de Hodge modifié

Ce test permet la mise en évidence d'une synergie d'activité enzymatique entre souches productrices de carbapénémases (souche à tester) et souches sauvages de référence sensibles.

Avantages :

- Peu coûteux
- Bonne détection des souches productrices de carbapénémases de type OXA-48 et KPC (1^{ère} et 3^{ème} carbapénémase en France en 2013 respectivement)

Inconvénients :

- **Faux négatifs** : essentiellement souches produisant une carbapénémase de type NDM, 2nd carbapénémase en France en 2013
- Nombreux faux positifs : essentiellement *Enterobacter* spp. surexprimant leur céphalosporinase naturelle
- Nécessite un **délai de 24 h à 48 h** après obtention de l'antibiogramme incompatible avec une identification rapide des carbapénémases
- A abandonner

1.3.2 Test biochimique de détection de la production d'une carbapénémase

Deux techniques, répondant bien aux besoins actuels, ont été mises au point récemment. La première correspond à la recherche d'une modification du spectre d'un carbapénème sous l'effet d'une carbapénémase. Il s'agit d'une application de la technique de spectrométrie de masse (**MALDI-TOF**). Cette technique nécessite une

mise au point fine, du personnel particulièrement entraîné et un spectromètre de masse (système ouvert). Cette technique est basée sur la détection par spectrométrie de masse, après mise en contact pendant quelques heures (en général 2-3h) de la souche à tester avec une solution de carbapénème, de la disparition du pic correspondant au carbapénème testé et de l'apparition d'un pic correspondant au(x) produit(s) d'hydrolyse de ce même carbapénème. Cette technique n'a pas été évaluée en pratique courante au CNR (5, 6).

La seconde technique de diagnostic rapide est le **Carba NP test (Carba Nordmann-Poirel test)**. Le principe de ce test repose sur la mise en évidence d'une acidification du milieu lors de l'hydrolyse de l'imipénème par une carbapénémase. L'indicateur de pH change de couleur (du rouge au jaune) lorsque le milieu devient acide, traduisant la présence d'une carbapénémase. Ce test a été largement évalué au sein du CNR (> 4000 souches d'entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes). Il possède une excellente spécificité et une excellente sensibilité (7-9). Le protocole du Carba NP test est disponible sur le site du CNR (<http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/expertise-des-souches-1.html>)

Avantages :

- Peu coûteux
- Peut être réalisé sur les souches isolées voir directement à partir des hémocultures positives
- Facile à mettre en place dans n'importe quel laboratoire (nécessite peu de moyens : matériels et réactifs)
- Sensible et spécifique (100%)
- Rapide (< 2h) sur souches isolées
- Excellente sensibilité et spécificité de **détection de TOUTES les carbapénémases**

Inconvénients :

- nécessité de mettre au point la technique au laboratoire. Un kit Carba NP test sera disponible en 2014 et validé par le CNR.

NB: un kit diagnostic s'inspirant du Carba NP test a été mis sur le marché (Rapid Carba Screen Rosco, distribué par Eurobio) Il n'a pas été validé par le CNR et nos premiers résultats montrent un défaut de sensibilité important notamment pour les souches productrice d'OXA-48 (1^{ère} carbapénémase en France).

1.3.3 Tests phénotypiques d'inhibition

Ces tests phénotypiques sont basés sur les propriétés inhibitrices de l'acide boronique vis-à-vis des carbapénémases de type KPC, de l'acide dipicolinique ou de l'EDTA vis-à-vis des métallo- β -lactamases et de la cloxacilline vis-à-vis des céphalosporinases (AmpC) (10). Afin de pouvoir détecter également les carbapénémases de type OXA-48, un disque contenant de la témocilline est présente dans certain kits commerciaux. En effet, la grande majorité des souches produisant une carbapénémase de type OXA-48 (98.2%) sont très résistantes à la témocilline (diamètre d'inhibition inférieur à 12 mm pour des disque chargé à 30 μ g) (11). La résistance à la témocilline possède une bonne valeur prédictive positive pour les EPC de types OXA-48, cependant certaines espèces sont naturellement

résistance à cet antibiotique (ex. *H. alvei*) et d'autres mécanismes (assez rares) peuvent induire une résistance à la témocilline.

Avantages :

- Kits commerciaux (ex : KPC, MBL & OXA-48 confirm kit, ROSCO, ref. # 98015)

Inconvénients :

- Quelques faux positifs : essentiellement *Enterobacter* spp. surexprimant leur céphalosporinase naturelle qui peut être inhibée par l'acide boronique
- **Difficultés** d'interprétation pour certaines souches d'**EPC possédant de bas niveaux de résistance au méropénème**
- **Difficultés** d'interprétation pour certaines souches d'**EPC produisant plusieurs carbapénémases de différent types** (ex : NDM + OXA-48-like, KPC + VIM, ces souches sont encore assez rares en France)
- Nécessite un **délai additionnel de 24 h à 48 h** après obtention de l'antibiogramme incompatible avec l'identification rapide de carbapénémases

1.3 Méthodes moléculaires de détection des gènes EPC

Ces techniques reposent sur l'utilisation de la PCR, complétée ou non par une technique de séquençage de l'ADN amplifié (utile uniquement à des fins épidémiologiques). Les données épidémiologiques actuelles des EPC en France impliquent la nécessité d'utiliser des techniques moléculaires capables de détecter au moins les gènes codant pour les carbapénémases de type OXA-48 (76%), NDM (11%), KPC (6%) et VIM (4%) couvrant ainsi 97% des EPC. Les 3% restant correspondant à des carbapénémases de type IMP et IMI.

Avantages :

- Excellente spécificité et sensibilité
- Permet de déterminer le type de carbapénémase

Inconvénients :

- Coût élevé
- **Ne détecte que les gènes recherchés; à utiliser en seconde intention après identification de l'activité carbapénémase**

Des kits de détection des gènes de carbapénémases basés sur l'utilisation de puces à ADN (ex : Check-MDR CT103 kit, Check-Points) sont également disponibles sur le marché. Ces derniers sont encore plus onéreux, nécessitent un appareil dédié, et demandent une certaine expertise (12).

Fiche résumée : Recommandations pour l'identification des EPC au laboratoire à partir de prélèvements cliniques (patients infectés)

1) Tester **au moins** l'ertapénème

2) Pour les entérobactéries produisant naturellement une céphalosporinase (ex : *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., ect...), effectuer en parallèle une **détermination de la sensibilité aux carbapénèmes** (au moins à l'ertapénème) en milieu solide sur une gélose de **Mueller-Hinton ET** sur une gélose de **Mueller-Hinton contenant de la cloxacilline** (utiliser de préférence des géloses commerciales provenant du même fabricant).

Toute restauration complète de la sensibilité aux carbapénèmes sur le milieu complémenté avec cloxacilline (une zone de > 28 mm à l'ertapénème; disques de 10 µg) indiquerait que la résistance aux carbapénèmes est le résultat d'une surexpression de la céphalosporinase associée à un certain degré d'imperméabilité. De plus, en général ces souches possèdent peu ou pas de résistances associées aux autres familles d'antibiotiques (aminosides, sulfamides, chloramphénicol, quinolones, cyclines). En cas de **non restauration ou de restauration incomplète** de la sensibilité aux carbapénèmes sur le milieu complémenté en cloxacilline, la souche devra être **expertisée pour la recherche de carbapénémase** (envoi au CNR associé de la résistance aux antibiotiques).

3) La **témocilline** est un bon marqueur pour les souches productrices d'une carbapénémase de type **OXA-48**. En effet, la grande majorité des souches produisant une carbapénémase de type OXA-48 (98.2%) sont très résistantes à la témocilline (diamètre d'inhibition inférieur à 12 mm pour des disque chargé à 30 µg).

4) Il est recommandé d'utiliser une technique biochimique rapide de détection des carbapénémases (**Carba NP test**) afin d'affirmer la présence ou l'absence de carbapénémase. Le test de Hodge modifié n'est plus recommandé.

5) Les tests phénotypiques d'inhibition et les techniques moléculaires de détection des carbapénémases peuvent permettent de suggérer dans un second temps le type de carbapénémase impliquée. Les tests phénotypiques d'inhibition peuvent être utilisées si le laboratoire ne possède pas d'expertise dans le domaine de la biologie moléculaire.

6) Toute souche suspecte de produire une carbapénémase est à envoyer au CNR associé Résistance aux antibiotiques, entérobactéries productrices de carbapénémase. (<http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/presentation-de-lequipe-1.html>) pour expertise.

CHU de Bicêtre
Service de Bactériologie-Hygiène
CNR associé Résistance aux antibiotiques
78 avenue du Général Leclerc
94270 Le Kremlin-Bicêtre

La souche à expertiser doit être accompagnée du formulaire d'envoi téléchargeable sur le site du CNR associé Résistance aux antibiotiques (http://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/ressources/laboratoires_2/Demande_CNR_Bicetre.pdf).

2. Dépistage des patients porteurs d'EPC

La détection des porteurs sains est particulièrement importante pour prévenir le développement d'épidémies à EPC en milieu hospitalier. Elle s'adresse essentiellement à 2 types de patients : les patients transférés de tout hôpital étranger et les patients des unités à risque (réanimation, chirurgie importante, immunodéprimés, greffés). Ce dépistage repose actuellement sur un dépistage réalisé à partir des selles des patients avec l'utilisation de géloses sélectives permettant d'identifier des souches suspectes, résistantes aux carbapénèmes.

2.1 Quels patients dépister ?

Les patients devant subir un dépistage pour la recherche d'EPC sont d'après la circulaire de juillet 2013 du Haut Conseil de la Santé Publique : « Prévention de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe) », les patients suivants:

- Patient ayant eu dans les 12 derniers mois une hospitalisation de plus de 24 h (quel que soit le secteur) ou une prise en charge dans une filière de soins spécifique (dialyse) à l'étranger.
- Patient transféré d'un établissement sanitaire français et ayant été en contact avec un patient porteur de BHRe
- Patient ré-hospitalisé ou admis dans une structure type EHPAD et ayant été antérieurement connu porteur de BHRe
- Patient ré-hospitalisé ou admis dans une structure type EHPAD et ayant été au contact d'un cas porteur d'une BHRe

2.2 Types et nombre de prélèvements

Les entérobactéries faisant partie de la flore digestive, il est recommandé de rechercher les EPC à partir de prélèvements de **selles** ou d'**écouvillonnages rectaux**. Les prélèvements de selles n'ont pas un rendement supérieur aux écouvillonnages rectaux dès lors que ces derniers sont réalisés correctement. En effet, il est important de **vérifier visuellement la présence de matières fécales sur l'écouvillon**. Dans le cas contraire, il convient de demander un nouveau prélèvement.

Des données récentes indiquent que certains patients colonisés (1 à 5%) par des EPC le sont à des taux proches des limites de détection. Ainsi, à l'occasion d'une antibiothérapie ces patients se retrouvent fortement colonisés et potentiellement « fortement excréteurs » d'EPC. Il est donc conseillé de **répéter les prélèvements** en cas de forte suspicion de colonisation par une EPC (notamment suite à la mise en place d'une antibiothérapie).

2.3 Une étape d'enrichissement est-elle nécessaire ?

Bien qu'il ait été démontré qu'une étape d'enrichissement améliore la détection des entérobactéries productrices des carbapénémases de type KPC (13), l'apport d'une telle étape dans la détection des autres EPC n'a pas été établi. Le désavantage majeur de cette étape d'enrichissement est le délai additionnel qu'elle impose (18 h à 24 h) dans la confirmation ou l'infirmerie de la détection d'une EPC

dans les prélèvements de dépistage. A l'inverse, en situation épidémique, cette étape d'enrichissement pourrait augmenter la sensibilité du dépistage des patients colonisés.

Recommandation :

1) Situation non épidémique :

Ensemencement des prélèvements directement sur des géloses sélectives (cf. ci-dessous)

2) Situation épidémique (connaissance de premiers cas de colonisation ou infection)

J0 : Ensemencement des prélèvements directement sur des géloses sélectives + ensemencement d'un bouillon liquide d'enrichissement (Brain Heart Infusion ou Trypticase soja) additionné d'ertapénème à 0.5 µg/ml

J1 : Si absence de colonies sur les géloses sélectives, ensemencement des mêmes géloses sélectives à partir du bouillon d'enrichissement

2.4 Milieux à ensemer pour la détection des EPC

Les différents milieux décrits comme pouvant être utilisés dans la détection des EPC peuvent être répartis en 3 groupes :

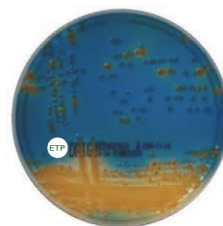
- Milieux ne contenant pas d'antibiotiques
- Milieux additionnés de céphalosporine de 3^{ème} génération
- Milieux additionnés de carbapénème

2.4.1 Milieux ne contenant pas d'antibiotique

Ce type de milieu correspond à des milieux sélectifs des bacilles à Gram négatif, généralement Drigalski ou McConkey.

Ensemencement

Le prélèvement de dépistage (écouvillonnage rectal ou selle) est ensemercé en quadrant et un disque d'ertapénème est placé dans la première partie du deuxième quadrant.



Interprétation

Toute colonie ayant poussé dans un diamètre inférieur 28 mm autour du disque d'ertapénème est à considérer comme suspecte d'EPC.

Avantage

Faible coût.

Inconvénient

Risque important de faux négatif fréquent en cas d'inoculum faible.

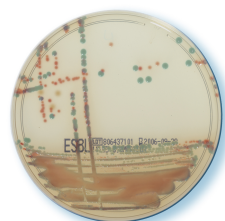
Absence de sélectivité de l'ensemble de la gélose, la sélectivité n'a lieu que proche du disque d'ertapénème

Recommandation

Ce milieu n'est **PAS recommandé** pour la détection des EPC.

2.4.2 Milieux de dépistage supplémentés avec une céphalosporine

Ce type de milieu correspond à des milieux sélectifs classiques pour la détection des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE) (ex : ChromID® ESBL - bioMérieux, CHROMagar® ESBL - CHROMagar, Brilliance® ESBL – Oxoid, etc...).



Ex : ChromID ESBL (Biomérieux)

Ensemencement

Le prélèvement de dépistage (écouvillonnage rectal ou selle) est ensemencé directement sur la gélose sélective.

Interprétation

Toute colonie ayant poussée sur ce type de milieux est suspecte de produire une BLSE.

Avantage

Milieux commerciaux facilement disponibles

Inconvénient

20% à 25% des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase de type OXA-48 restent sensibles aux céphalosporines de 3^{ème} génération (pas de BLSE ou de céphalosporinase plasmidique associée). Cette carbapénémase étant largement majoritaire en France ce type de milieu n'est **PAS recommandé** pour la détection des EPC.

2.4.2 Milieux de dépistage additionnés d'un carbapénème

Ces derniers mois quelques milieux sélectifs ont été développés pour la détection des EPC. Parmi ces milieux on distingue essentiellement 4 milieux commerciaux (CHROMagar KPC – CHROMagar, ChromID® Carba – bioMérieux, ChromID® OXA-48 – bioMérieux et Brilliance® CRE – Oxoid) et un milieu de réalisation au laboratoire (SUPERCARBA medium) (14, 15).

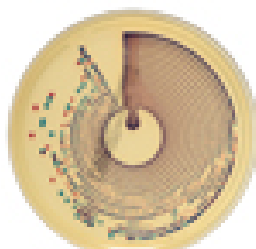
2.4.2.1 CHROMagar KPC

Ce milieu contient du méropénème à de fortes concentrations et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes. Il en résulte une détection médiocre des EPC possédant de bas niveaux de résistance aux carbapénèmes (notamment OXA-48).

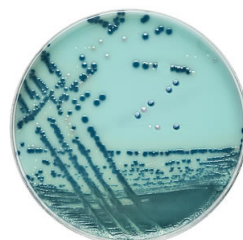
Ainsi, en prenant en compte l'épidémiologie française des EPC ce milieu n'est **PAS recommandé** pour le dépistage des EPC.

2.4.2.2 ChromID® Carba (bioMérieux) et Brilliance® CRE (Oxoid)

Ces deux milieux contiennent un carbapénème et des chromogènes facilitant l'identification rapide des espèces bactériennes d'entérobactéries. Les études réalisées avec ces deux milieux ont montré de bonnes sensibilité et spécificité pour la détection des EPC, hormis pour certaines souches productrices d'OXA-48 (15-19).



ChromID® Carba
(bioMérieux)



Brilliance® CRE
(OXOID)

Recommandation

Ces deux milieux sont donc **recommandés** pour la détection des EPC **en complément d'un milieu additionnel possédant une meilleure sensibilité de détection des entérobactéries productrices d'OXA-48.**

2.4.2.3 SUPERCARBA medium

Ce milieu mis au point spécifiquement pour la détection des EPC est le milieu qui possède la meilleure sensibilité de détection vis-à-vis de tous les types d'EPC notamment les souches productrices d'OXA-48. Ce milieu contient de l'ertapénème (0,25 mg/L), du sulfate de zinc (70 mg/L) et de la cloxacilline (250 mg/L) (14, 15).

Avantage

Milieu possédant la meilleure sensibilité pour la détection des EPC

Inconvénient

Milieu non commercial nécessitant une préparation extemporanée

Recommandation

Ce milieu est **recommandé pour la détection de tous types d'EPC.**

2.4.2.3 ChromID® OXA-48 (bioMérieux)

La gélose ChromID® OXA-48 est un milieu chromogène sélectif destiné au dépistage des entérobactéries productrices de carbapénémases de type OXA-48 (20).

Avantage

Milieu commercial chromogène possédant une bonne sensibilité pour la détection des souches productrices d'OXA-48.

Inconvénient

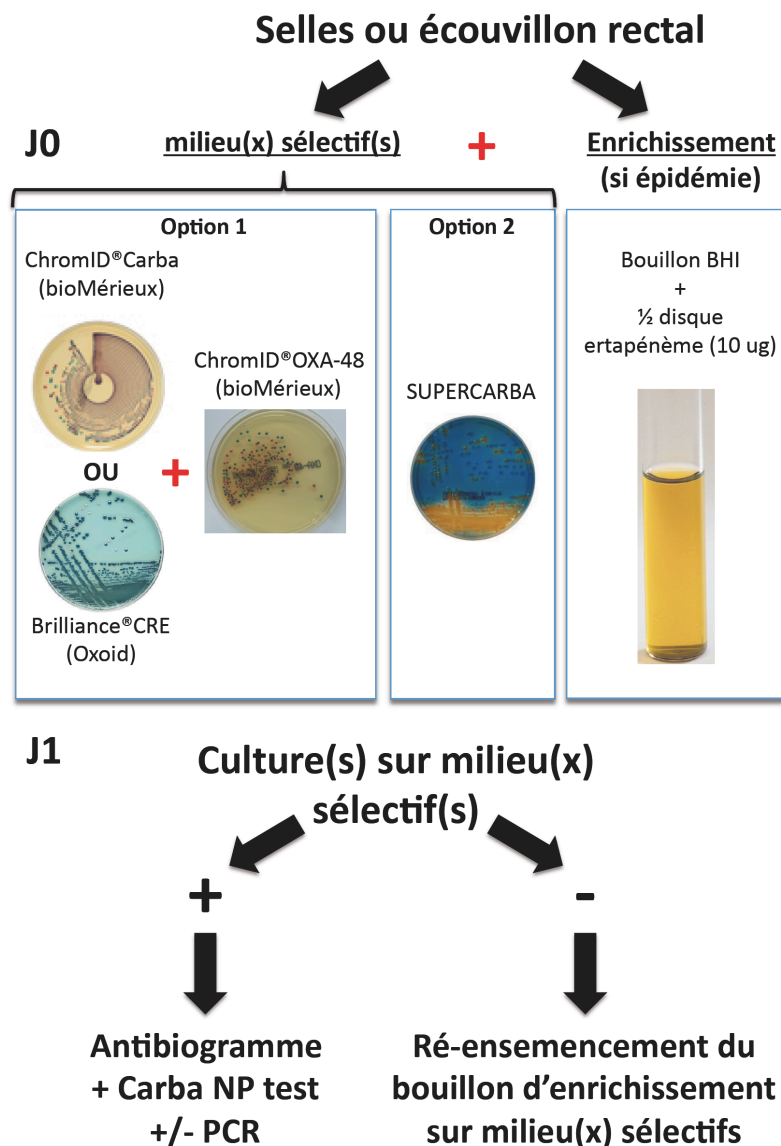
Sensibilité médiocre pour la détection des EPC produisant une autre carbapénémase qu'OXA-48 (KPC, NDM, VIM ou IMP).

Recommandation

Ce milieu est **recommandés** pour la détection des EPC en complément d'un milieu additionnel possédant une bonne sensibilité de détection des entérobactéries productrices de carbapénèmases autres que OXA-48 (ChromID® Carba, Brilliance® CRE).

Fiche résumée : Recommandations pour le dépistage des patients porteurs d'une souche d'EPC (patients colonisés)

- 1) Patient ayant eu dans les 12 derniers mois une hospitalisation de plus de 24 h quel que soit le secteur ou de prise en charge dans une filière de soins spécifique (dialyse) à l'étranger.
- 2) Types de prélèvements : **selles** ou **écouvillonnages rectaux**. il est important de **vérifier visuellement la présence de matières fécales sur l'écouvillon**.
- 3) Il est conseillé de **répéter les prélèvements** en cas de forte suspicion de colonisation par une EPC (3 prélèvements à 5 jours d'intervalle). Ne pas hésiter à réaliser un nouveau dépistage après la mise sous antibiothérapie.
- 4) Méthodologie recommandée pour le dépistage des patients porteur d'une EPC :



REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **Nordmann P, Dortet L, Poirel L.** 2012. Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! Trends Mol Med. **18**:263-272.
2. **Dortet L, Poirel L, Nordmann P.** 2013. Epidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. Feuilles de Biologie. **312**.
3. **Poirel L, Dortet L, Nordmann P.** 2013. Epidémiologie des carbapénèmases. La lettre de l'infectiologue. **27**:124-127.
4. **Dortet L, Cuzon G, Nordmann P.** 2013. Dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in France, 2012. J Antimicrob Chemother.
5. **Hrabak J, Walkova R, Studentova V, Chudackova E, Bergerova T.** 2011. Carbapenemase activity detection by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol. **49**:3222-3227.
6. **Hrabak J, Chudackova E, Walkova R.** 2013. Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight (maldi-tof) mass spectrometry for detection of antibiotic resistance mechanisms: from research to routine diagnosis. Clin Microbiol Rev. **26**:103-114.
7. **Dortet L, Poirel L, Nordmann P.** 2012. Rapid identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. Antimicrob Agents Chemother. **56**:6437-6440.
8. **Nordmann P, Poirel L, Dortet L.** 2012. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Emerg Infect Dis. **18**:1503-1507.
9. **Dortet L, Brechard L, Poirel L, Nordmann P.** 2013. Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* from blood cultures. Clin Microbiol Infect.
10. **Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V, European Network on C.** 2012. Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. Clin Microbiol Infect. **18**:432-438.
11. **Huang TD, Poirel L, Bogaerts P, Berhin C, Nordmann P, Glupczynski Y.** 2013. Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. J Antimicrob Chemother. In press.
12. **Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P.** 2012. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). J Antimicrob Chemother. **67**:1865-1869.
13. **Landman D, Salvani JK, Bratu S, Quale J.** 2005. Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures. J Clin Microbiol. **43**:5639-5641.
14. **Nordmann P, Girlich D, Poirel L.** 2012. Detection of carbapenemase producers in *Enterobacteriaceae* by use of a novel screening medium. J Clin Microbiol. **50**:2761-2766.
15. **Girlich D, Poirel L, Nordmann P.** 2013. Comparison of the SUPERCARBA, CHROMagar KPC, and Brilliance CRE screening media for detection of

- Enterobacteriaceae* with reduced susceptibility to carbapenems. *Diagn Microbiol Infect Dis*. **75**:214-217.
16. **Vrioni G, Daniil I, Voulgari E, Ranellou K, Koumaki V, Ghirardi S, Kimouli M, Zambardi G, Tsakris A.** 2012. Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs. *J Clin Microbiol*. **50**:1841-1846.
 17. **Bracco S, Migliavacca R, Pini B, Corbo N, Nucleo E, Brigante G, Piazza A, Micheletti P, Luzzaro F.** 2013. Evaluation of brilliance CRE agar for the detection of carbapenem-resistant gram-negative bacteria. *New Microbiol*. **36**:181-186.
 18. **Cohen Stuart J, Voets G, Rottier W, Voskuil S, Scharringa J, Van Dijk K, Fluit AC, Leverstein-Van Hall M.** 2013. Evaluation of the Oxoid Brilliance CRE Agar for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. **32**:1445-1449.
 19. **Papadimitriou-Olivgeris M, Bartzavali C, Christofidou M, Bereksi N, Hey J, Zambardi G, Spiliopoulou I.** 2013. Performance of chromID(R) CARBA medium for carbapenemases-producing *Enterobacteriaceae* detection during rectal screening. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*.
 20. **Girlich D, Anglade C, Zambardi G, Nordmann P.** 2013. Comparative evaluation of a novel chromogenic medium (chromID OXA-48) for detection of OXA-48 producing *Enterobacteriaceae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. **77**:296-300.