

2019-2020

**THÈSE**

pour le

**DIPLOÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Spécialité Biologie Médicale**

**Détection des Entérobactéries  
productrices de  
carbapénèmases par  
dépistage rectal : comparaison  
d'une méthode de biologie  
moléculaire avec la culture**

**Fournel Etienne**

**Sous la direction de Madame le Docteur** |  
**PAILHORIES Hélène**

Membres du jury

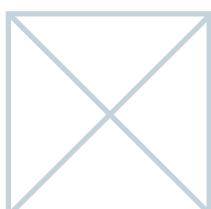
Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD | Président

Madame le Docteur Hélène PAILHORIES | Directrice

Madame le Docteur Carole LEMARIE | Co-directrice

Monsieur le Professeur Vincent DUBEE | Membre

Monsieur le Docteur Tchamba Achille KOUATCHET | Membre



Soutenu publiquement le :  
19/10/2020





**L'auteur du présent document vous autorise à le partager, reproduire, distribuer et communiquer selon les conditions suivantes :**

- Vous devez le citer en l'attribuant de la manière indiquée par l'auteur (mais pas d'une manière qui suggérerait qu'il approuve votre utilisation de l'œuvre).
- Vous n'avez pas le droit d'utiliser ce document à des fins commerciales.
- Vous n'avez pas le droit de le modifier, de le transformer ou de l'adapter.



## ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT

Je, soussigné FOURNEL Etienne, déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

Signé par l'étudiant le 13/10/2020

Ces conditions d'utilisation (attribution, pas d'utilisation commerciale, pas de modification) sont symbolisées par les icônes positionnées en pied de page.



# LISTE DES ENSEIGNANTS DE LA FACULTÉ DE SANTÉ D'ANGERS

---

**Doyen de la Faculté** : Pr Nicolas Lerolle

**Vice-Doyen de la Faculté et directeur du département de pharmacie** : Pr Frédéric Lagarce

**Directeur du département de médecine** : Pr Cédric Annweiler

## PROFESSEURS DES UNIVERSITÉS

ABRAHAM Pierre	Physiologie	Médecine
ANNWEILER Cédric	Gériatrie et biologie du vieillissement	Médecine
ASFAR Pierre	Réanimation	Médecine
AUBE Christophe	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
AUGUSTO Jean-François	Néphrologie	Médecine
AZZOUIZI Abdel Rahmène	Urologie	Médecine
BAUFRETON Christophe	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
BELLANGER William	Médecine Générale	Médecine
BENOIT Jean-Pierre	Pharmacotechnie	Pharmacie
BIGOT Pierre	Urologie	Médecine
BONNEAU Dominique	Génétique	Médecine
BOUCHARA Jean-Philippe	Parasitologie et mycologie	Médecine
BOUVARD Béatrice	Rhumatologie	Médecine
BOURSIER Jérôme	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
BRIET Marie	Pharmacologie	Médecine
CALES Paul	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CAMPONE Mario	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CAROLI-BOSC François-Xavier	Gastroentérologie ; hépatologie	Médecine
CHAPPARD Daniel	Cytologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
CONNAN Laurent	Médecine générale	Médecine
COPIN Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
COUTANT Régis	Pédiatrie	Médecine
CUSTAUD Marc-Antoine	Physiologie	Médecine
DE BRUX Jean-Louis	Chirurgie thoracique et cardiovasculaire	Médecine
DE CASABIANCA Catherine	Médecine Générale	Médecine
DESCAMPS Philippe	Gynécologie-obstétrique	Médecine
D'ESCATHA Alexis	Médecine et santé au travail	Médecine
DINOMAIS Mickaël	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
DIQUET Bertrand	Pharmacologie	Médecine
DUBEE Vincent	Maladies Infectieuses et Tropicales	Médecine
DUCANCELLE Alexandra	Bactériologie-virologie ; hygiène	Médecine
	hospitalière	
DUVAL Olivier	Chimie thérapeutique	Pharmacie
DUVERGER Philippe	Pédopsychiatrie	Médecine
EVEILLARD Mathieu	Bactériologie-virologie	Pharmacie
FAURE Sébastien	Pharmacologie physiologie	Pharmacie
FOURNIER Henri-Dominique	Anatomie	Médecine
FURBER Alain	Cardiologie	Médecine
GAGNADOUX Frédéric	Pneumologie	Médecine
GARNIER François	Médecine générale	Médecine
GASCOIN Géraldine	Pédiatrie	Médecine

GOHIER Bénédicte	Psychiatrie d'adultes	Médecine
GUARDIOLA Philippe	Hématologie ; transfusion	Médecine
GUILET David	Chimie analytique	Pharmacie
HAMY Antoine	Chirurgie générale	Médecine
HENNI Samir	Médecine Vasculaire	Médecine
HUNAULT-BERGER Mathilde	Hématologie ; transfusion	Médecine
IFRAH Norbert	Hématologie ; transfusion	Médecine
JEANNIN Pascale	Immunologie	Médecine
KEMPF Marie	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
LACCOURREYE Laurent	Oto-rhino-laryngologie	Médecine
LAGARCE Frédéric	Biopharmacie	Pharmacie
LARCHER Gérald	Biochimie et biologie moléculaires	Pharmacie
LASOCKI Sigismond	Anesthésiologie-réanimation	Médecine
LEGENDRE Guillaume	Gynécologie-obstétrique	Médecine
LEGRAND Erick	Rhumatologie	Médecine
LERMITE Emilie	Chirurgie générale	Médecine
LEROLLE Nicolas	Réanimation	Médecine
LUNEL-FABIANI Françoise	Bactériologie-virologie ; hygiène hospitalière	Médecine
MARCHAIS Véronique	Bactériologie-virologie	Pharmacie
MARTIN Ludovic	Dermato-vénéréologie	Médecine
MAY-PANLOUP Pascale	Biologie et médecine du développement et de la reproduction	Médecine
MENEI Philippe	Neurochirurgie	Médecine
MERCAT Alain	Réanimation	Médecine
PAPON Nicolas	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie
PASSIRANI Catherine	Chimie générale	Pharmacie
PELLIER Isabelle	Pédiatrie	Médecine
PETIT Audrey	Médecine et Santé au Travail	Médecine
PICQUET Jean	Chirurgie vasculaire ; médecine vasculaire	Médecine
PODEVIN Guillaume	Chirurgie infantile	Médecine
PROCACCIO Vincent	Génétique	Médecine
PRUNIER Delphine	Biochimie et Biologie Moléculaire	Médecine
PRUNIER Fabrice	Cardiologie	Médecine
REYNIER Pascal	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
RICHARD Isabelle	Médecine physique et de réadaptation	Médecine
RICHOMME Pascal	Pharmacognosie	Pharmacie
RODIEN Patrice	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques	Médecine
ROQUELAURE Yves	Médecine et santé au travail	Médecine
ROUGE-MAILLART Clotilde	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
ROUSSEAU Audrey	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROUSSEAU Pascal	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique	Médecine
ROUSSELET Marie-Christine	Anatomie et cytologie pathologiques	Médecine
ROY Pierre-Marie	Thérapeutique	Médecine

SAULNIER Patrick	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
SERAPHIN Denis	Chimie organique	Pharmacie
SCHMIDT Aline	Hématologie ; transfusion	Médecine
TRZEPIZUR Wojciech	Pneumologie	Médecine
UGO Valérie	Hématologie ; transfusion	Médecine
URBAN Thierry	Pneumologie	Médecine
VAN BOGAERT Patrick	Pédiatrie	Médecine
VENIER-JULIENNE Marie-Claire	Pharmacotechnie	Pharmacie
VERNY Christophe	Neurologie	Médecine
WILLOTEAUX Serge	Radiologie et imagerie médicale	Médecine

## MAÎTRES DE CONFÉRENCES

ANGOULVANT Cécile	Médecine Générale	Médecine
BAGLIN Isabelle	Chimie thérapeutique	Pharmacie
BASTIAT Guillaume	Biophysique et Biostatistiques	Pharmacie
BEAUVILLAIN Céline	Immunologie	Médecine
BEGUE Cyril	Médecine générale	Médecine
BELIZNA Cristina	Médecine interne	Médecine
BELONCLE François	Réanimation	Médecine
BENOIT Jacqueline	Pharmacologie	Pharmacie
BIERE Loïc	Cardiologie	Médecine
BLANCHET Odile	Hématologie ; transfusion	Médecine
BOISARD Séverine	Chimie analytique	Pharmacie
BRIET Claire	Endocrinologie, Diabète et maladies métaboliques	Médecine
BRIS Céline	Biochimie et biologie moléculaire	Pharmacie
CAPITAIN Olivier	Cancérologie ; radiothérapie	Médecine
CASSEREAU Julien	Neurologie	Médecine
CHEVALIER Sylvie	Biologie cellulaire	Médecine
CLERE Nicolas	Pharmacologie / physiologie	Pharmacie
COLIN Estelle	Génétique	Médecine
DERBRE Séverine	Pharmacognosie	Pharmacie
DESHAYES Caroline	Bactériologie virologie	Pharmacie
FERRE Marc	Biologie moléculaire	Médecine
FORTRAT Jacques-Olivier	Physiologie	Médecine
HAMEL Jean-François	Biostatistiques, informatique médicale	Médicale
HELESBEUX Jean-Jacques	Chimie organique	Pharmacie
HINDRE François	Biophysique	Médecine
JOUSSET-THULLIER Nathalie	Médecine légale et droit de la santé	Médecine
JUDALET-ILLAND Ghislaine	Médecine générale	Médecine
KHIATI Salim	Biochimie et biologie moléculaire	Médecine
KUN-DARBOIS Daniel	Chirurgie maxillo-faciale et stomatologie	Médecine
LACOEUILLE Franck		Pharmacie
LANDREAU Anne	Botanique/ Mycologie	Pharmacie
LEBDALI Souhil	Urologie	Médecine
LEGEAY Samuel	Pharmacocinétique	Pharmacie
LEMEE Jean-Michel	Neurochirurgie	Médecine
LE RAY-RICHOMME Anne-Marie	Pharmacognosie	Pharmacie
LEPELTIER Elise	Chimie générale	Pharmacie
LETOURNEL Franck	Biologie cellulaire	Médecine
LIBOUBAN Hélène	Histologie	Médecine
LUQUE PAZ Damien	Hématologie biologique	Médecine
MABILLEAU Guillaume	Histologie, embryologie et cytogénétique	Médecine
MALLET Sabine	Chimie Analytique	Pharmacie
MAROT Agnès	Parasitologie et mycologie médicale	Pharmacie

MESLIER Nicole	Physiologie	Médecine
MIOT Charline	Immunologie	Médecine
MOUILLIE Jean-Marc	Philosophie	Médecine
NAIL BILLAUD Sandrine	Immunologie	Pharmacie
PAILHORIES Hélène	Bactériologie-virologie	Médecine
PAPON Xavier	Anatomie	Médecine
PASCO-PAPON Anne	Radiologie et imagerie médicale	Médecine
PECH Brigitte	Pharmacotechnie	Pharmacie
PENCHAUD Anne-Laurence	Sociologie	Médecine
PIHET Marc	Parasitologie et mycologie	Médecine
PY Thibaut	Médecine Générale	Médecine
RAMOND-ROQUIN Aline	Médecine Générale	Médecine
RINEAU Emmanuel	Anesthésiologie réanimation	Médecine
RIOU Jérémie	Biostatistiques	Pharmacie
ROGER Emilie	Pharmacotechnie	Pharmacie
SAVARY Camille	Pharmacologie-Toxicologie	Pharmacie
SAVARY Dominique	Médecine d'urgence	Médecine
SCHMITT Françoise	Chirurgie infantile	Médecine
SCHINKOWITZ Andréas	Pharmacognosie	Pharmacie
SPIESSER-ROBELET Laurence	Pharmacie Clinique et Education	Pharmacie
TESSIER-CAZENEUVE Christine	Thérapeutique	
TEXIER-LEGENDRE Gaëlle	Médecine Générale	Médecine
VIAULT Guillaume	Chimie organique	Pharmacie

#### AUTRES ENSEIGNANTS

##### **PRCE**

AUTRET Erwan	Anglais	Médecine
BARBEROUSSE Michel	Informatique	Médecine
BRUNOIS-DEBU Isabelle	Anglais	Pharmacie
FISBACH Martine	Anglais	Médecine
O'SULLIVAN Kayleigh	Anglais	Médecine

##### **PAST**

CAVAILLON Pascal	Pharmacie Industrielle	Pharmacie
DILÉ Nathalie	Officine	Pharmacie
MOAL Frédéric	Pharmacie clinique	Pharmacie
PAPIN-PUREN Claire	Officine	Pharmacie
POIROUX Laurent	Soins Infirmiers	Médecine

##### **ATER**

BOUCHENAKI Hichem	Physiologie	Pharmacie
MESSAOUDI Khaled	Immunologie	Pharmacie
MOUHAJIR Abdelmounaim	Biotechnologie	Pharmacie

##### **PLP**

CHIKH Yamina	Economie-gestion	Médecine
--------------	------------------	----------

**AHU**

IFRAH Amélie  
LEBRETON Vincent

Droit de la Santé  
Pharmacotechnie

Pharmacie  
Pharmacie

## **Monsieur le Professeur Matthieu EVEILLARD**

Je tiens à vous remercier de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse et d'évaluer ce travail. Merci pour votre encadrement et votre bienveillance pendant cet internat de Biologie Médicale.

## **Madame le Docteur Hélène PAILHORIES**

Je vous remercie d'avoir de m'avoir proposé ce sujet et d'avoir eu la disponibilité et la patience de m'accompagner pendant la rédaction de cette thèse. Vos conseils ont été précieux.

## **Madame le Docteur Carole LEMARIE**

Un grand merci pour votre aide et pour tout ce que vous m'avez appris pendant mes stages au laboratoire de Bactériologie.

## **Monsieur le Professeur Vincent DUBEE et Monsieur le Docteur Tchamba Achille KOUATCHET**

Merci de me faire l'honneur d'être membres de ce jury et de juger ce travail.

## **Les techniciens du laboratoire de Bactériologie du CHU d'Angers**

Merci à tous pour l'aide que vous m'avez apportée. C'est avec grand plaisir que j'ai travaillé avec vous.

## **Mes parents**

Merci d'avoir fait de moi ce que je suis et d'avoir toujours été présents, pendant toutes ces années.

## **Mon frère, William**

Pour tout ce qu'on a vécu ensemble. Tu as toujours la réponse à mes questions.

## **Les internes**

Merci à tous, anciens et nouveaux, pour les bons moments passés ensemble en stage et en dehors.

## **Mes amis**

À tout ce que nous avons partagé.

# Sommaire

<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>11</b>
<b>ABREVIATIONS .....</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>GENERALITES.....</b>	<b>14</b>
1.    Caractéristiques des carbapénèmes .....	14
2.    Mécanismes de résistance aux carbapénèmes.....	18
3.    Classification des carbapénèmases.....	21
4.    Epidémiologie des EPC .....	24
5.    Détection des EPC .....	29
6.    Techniques de confirmation des EPC .....	34
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>41</b>
1.    Echantillons.....	41
2.    Algorithme de diagnostic des carbapénèmases .....	41
3.    Mise en culture : WASP .....	42
4.    Mise en culture : bouillon d'enrichissement.....	42
5.    Test immunochromatographique .....	42
6.    PCR Multiplex GeneXpert .....	42
7.    Dépistage de carbapénémase par BD-MAX .....	43
8.    Interprétation des résultats.....	43
<b>RESULTATS .....</b>	<b>45</b>
1.    Données démographiques.....	45
2.    Culture (WASP) .....	45
3.    Culture après enrichissement .....	46
4.    BD-MAX .....	47
5.    Concordance entre le BD-MAX et les techniques de culture .....	49
6.    Performances analytiques.....	50
<b>DISCUSSION .....</b>	<b>51</b>
<b>CONCLUSION .....</b>	<b>55</b>
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>56</b>
<b>TABLE DES FIGURES .....</b>	<b>63</b>
<b>TABLE DES TABLEAUX .....</b>	<b>64</b>
<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>65</b>
<b>ANNEXES.....</b>	<b>67</b>

## Abréviations

<b>BLIBL</b>	Association $\beta$ -Lactamine/Inhibiteur de $\beta$ -Lactamase
<b>BLSE</b>	$\beta$ -Lactamase à Spectre Etendu
<b>BHRe</b>	Bactérie Hautement Résistante
<b>C3G</b>	Céphalosporines de Troisième Génération
<b>CA-SFM</b>	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
<b>CNR</b>	Centre National de Référence
<b>Ct</b>	Cycle threshold
<b>E-BLSE</b>	Entérobactéries productrices de BLSE
<b>ECDC</b>	European Center for Disease Prevention and Control
<b>EHPAD</b>	Etablissement d'Hébergement pour Personnes Âgées Dépendantes
<b>EPC</b>	Entérobactéries Productrices de Carbapénèmases
<b>EUCAST</b>	European Committee on Antimicrobial Sensibility Testing
<b>EURGenNet</b>	European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network
<b>HAS</b>	Haute Autorité de Santé
<b>NA</b>	Non Applicable
<b>OPC</b>	Organismes Producteurs de Carbapénèmases
<b>RT-PCR</b>	Real Time Polymerase Chain Reaction
<b>PTZ</b>	Association Pipéracilline/Tazobactam
<b>SE</b>	Sensibilité
<b>SP</b>	Spécificité
<b>UFC</b>	Unité Formant Colonie
<b>VPP</b>	Valeur Prédictive Positive
<b>VPN</b>	Valeur Prédictive Négative

# Introduction

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines de spectre très étendu utilisées pour traiter des infections sévères. Elles peuvent cependant être mises en échec, notamment par la production de carbapénémases. Les études réalisées entre 2015 et 2018 par l'EURGenNet (European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network) montrent que la dissémination des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) se poursuit au sein des hôpitaux européens [1, 2]. Une détection rapide et performante de ces organismes est essentielle pour limiter la diffusion au sein des services hospitaliers de bactéries hautement résistantes (BHRe) n'offrant pas ou peu d'opportunités de traitement. En conséquence, le dépistage des EPC par des méthodes dédiées s'impose chez les patients à risque. Afin d'assurer ce dépistage, la mise en culture d'écouvillons rectaux et de prélèvements de selles sur milieux spécifiques est recommandée par le Centre National de Référence (CNR) de la résistance aux antibiotiques [3]. De plus, de nombreuses méthodes de détection se sont développées durant ces dernières années, parmi lesquelles des techniques de biologie moléculaire pouvant être réalisées directement sur les prélèvements de dépistage rectal. Malgré une sensibilité et une spécificité élevées, ces tests ont montré des résultats discordants avec d'autres méthodes, notamment avec la culture [2-3, 5] et ne sont généralement pas utilisés de façon isolée. Dans ce contexte, il paraît intéressant d'évaluer les performances du kit de PCR multiplex BD MAX Checkpoints CPO assay (BD Diagnostic Systems®, Le Pont de Claix, France) dans le dépistage des EPC par comparaison avec la mise en culture sur milieu spécifique.

# Généralités

## 1. Caractéristiques des carbapénèmes

### 1.1. Définition

Les carbapénèmes sont des antibiotiques à large spectre de la famille des  $\beta$ -lactamines. Il s'agit de molécules hydrophiles responsables d'une activité bactéricide temps dépendante [6]. Les plus utilisés en France sont l'ertapénème, l'imipénème associé à la cilastatine et le méropénème. Leur spectre d'activité inclut la plupart des bactéries à Gram positif (*Staphylococcus* spp sensibles à la méticilline, *Streptococcus* spp dont *S. pneumoniae*, *Enterococcus* hormis *Enterococcus faecium* résistant dans 40 à 80% des cas) et à Gram négatif (Entérobactéries, *Acinetobacter baumanii*, *Pseudomonas aeruginosa*) rencontrées en pathologie humaine, y compris les anaérobies strictes excepté *Clostridium difficile*. Ils n'ont cependant pas d'effet sur les bactéries intracellulaires, et l'ertapénème n'est pas actif sur *Pseudomonas aeruginosa*, ni sur les entérocoques [7]. Elles sont plus stables face à l'activité des  $\beta$ -lactamases que la plupart des autres  $\beta$ -lactamines, et sont donc un traitement recommandé dans les infections sévères à entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (E-BLSE), résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G).

### 1.2. Place des carbapénèmes dans l'arsenal thérapeutique

La Haute Autorité de Santé (HAS) préconise l'utilisation des carbapénèmes dans le traitement probabiliste des infections graves (« choc septique ou dysfonction d'organe mettant en jeu le pronostic vital ») en cas de facteur de risque d'infection à entérobactérie résistante aux C3G (« traitement par amoxicilline/acide clavulanique, C2G, C3G et fluoroquinolones dans les trois mois précédents, infection nosocomiale ou liée aux soins, antécédent de colonisation ou d'infection par une entérobactérie résistante aux C3G dans les

trois mois, voyage à l'étranger dans les trois mois dans les zones géographiques à risque, ou chez un patient atteint d'une anomalie de l'arbre urinaire en cas d'infection urinaire »). Le traitement est ensuite adapté aux résultats de l'antibiogramme, en privilégiant des molécules de spectre plus étroit et d'impact écologique plus faible [8].

Dans cette optique d'épargne des carbapénèmes, plusieurs travaux les ont comparées avec des antibiotiques utilisés dans le traitement des infections à E-BLSE. Dans une étude rétrospective de 2015 sur 213 patients atteints de bactériémie à E-BLSE entre 2007 et 2014, le taux de mortalité à 14 jours ajusté à l'âge et à la sévérité clinique était 1,92 fois plus haut pour les patients traités de manière probabiliste par l'association Pipéracilline/Tazobactam (PTZ) que pour ceux traités par carbapénèmes [9]. Tamma *et al.* concluent donc que les patients suspects de bactériémie à E-BLSE devraient être traités par carbapénèmes plutôt que par PTZ, en tenant compte du terrain et des traitements antibiotiques antérieurs. Une revue de la littérature de 2018 réalisée par Zoi *et al.* recommande l'utilisation des carbapénèmes pour le traitement des infections invasives à E-BLSE de fort inoculum et chez des patients en état critique [10]. En effet, l'efficacité de la PTZ n'est selon eux prouvée que dans le cadre d'une infection à E-BLSE contrôlée, chez des patients en état stable, avec une CMI basse, et préférentiellement avec une porte d'entrée urinaire pour optimiser la diffusion de l'antibiotique. Concernant le Céfémipe, des études sur des patients bactériémiques à E-BLSE montrent un taux de mortalité supérieur aux carbapénèmes et au PTZ [11-12]. En définitive, les auteurs déconseillent l'utilisation de ces deux antibiotiques en dehors du contexte sus-cité.

Les nouvelles associations entre  $\beta$ -lactamines et inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (BLIBL) introduites ces dernières années dans le traitement des infections à E-BLSE ont également été comparées aux carbapénèmes. Dans 7 essais randomisés sur 4093 patients atteints d'infections intra-abdominales (IIA) ou du tractus urinaire (ITU) compliquées, dont environ

25% à E-BLSE, le taux de mortalité à 30 jours des patients traités par Ceftazidime-avibactam (5,9%) n'était pas significativement différent de celui des patients traités par un autre antibiotique (5,4%), principalement par un carbapénème [13]. Quant au Ceftolozane-tazobactam, les essais réalisés sur des patients atteints d'infections à E-BLSE n'ont pas montré de différence significative sur le taux de guérison par comparaison avec le méropénème dans des infections intra-abdominales (IIA) (98,1% contre 88,5%) et avec la levofloxacine dans les infections du tractus urinaire (ITU) (95,8% contre 82,6%) [14]. Le Ceftolozane-tazobactam étant peu actif sur les bactéries anaérobies, il était associé au métronidazole pour le traitement des IIA. Les nouvelles BLIBL peuvent donc potentiellement être utilisées dans une stratégie d'épargne des carbapénèmes, bien que plusieurs équipes s'accordent à dire que d'avantage de travaux les comparant dans un contexte d'infection à E-BLSE, et notamment de sepsis, sont nécessaires [13-16].

### 1.3. Impact écologique

L'impact écologique d'un antibiotique correspond à la possibilité d'émergence de bactéries résistantes par pression de sélection lors du traitement d'un patient, soit au niveau du site infectieux, soit au sein de la flore commensale, avec un risque de dissémination vers d'autres patients ou au personnel soignant. Les bactéries anaérobies du microbiote intestinal forment une barrière qui lui confère une résistance à la colonisation, mais qui peut être altérée par un traitement antibiotique. Cet impact est lié au spectre de l'antibiotique utilisé, et plus particulièrement à son activité anti-anaérobie et à sa part d'élimination hépatique [17, 18]. Les caractéristiques de la souche bactérienne comme le phénotype de résistance et l'inoculum auraient aussi un rôle dans l'émergence de la résistance.

Etant donné la relation entre l'étendue du spectre d'une molécule antibiotique et son effet sur le microbiote, les carbapénèmes sont classées par plusieurs études au premier rang d'impact écologique potentiel (**Annexe I**) [8, 19]. Une distinction est toutefois effectuée

entre l'ertapénème et les autres carbapénèmes en raison de son spectre plus étroit. De plus, leur impact sur la flore intestinale est variable et dépend de leur part d'élimination biliaire [18]. En 2017, Grall *et al.* ont étudié les effets d'un traitement par imipénème - éliminé presque exclusivement par voie urinaire – pendant une médiane de 9 jours sur le microbiote digestif de 17 patients hospitalisés, par culture et par méta-génomique, et n'ont pas mis en évidence de différence significative entre l'abondance d'E-BLSE, de CRO et de levures avant, pendant et après traitement [20]. L'impact du méropénème est moins connu, mais il partage sa voie d'élimination et son spectre avec l'imipénème, hormis une activité réduite sur les entérocoques. On pourrait donc s'attendre à des effets comparables à ceux de l'imipénème. Cependant, dans une étude sur 10 volontaires sains, l'administration de méropénème pendant 7 jours diminuait modérément le nombre d'entérobactéries, de streptocoques et d'anaérobies, et augmentait grandement celui des entérocoques [21]. Toutefois, ce travail a été réalisé seulement par culture sur un petit échantillon, et ne précise pas ces résultats. En ce qui concerne l'ertapénème, les études sont peu nombreuses sur des patients, avec une étude sur des souris retrouvant une diminution de la flore intestinale anaérobie et des entérobactéries ainsi qu'une augmentation du nombre d'entérocoques et de levures [22].

## 2. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes

La résistance *in vivo* des bactéries aux carbapénèmes est induite par différents mécanismes [2, 4]. La surexpression d'une enzyme de type  $\beta$ -lactamase dont l'activité sur les carbapénèmes est isolément très faible, - notamment une BLSE ou une céphalosporinase AmpC - associée à un mécanisme d'imperméabilité ou à une modification de cible, peut conférer une résistance aux carbapénèmes à une souche bactérienne [4, 23-25]. La production de carbapénèmases, enzymes capables d'hydrolyser les carbapénèmes, peut aussi être responsable de cette résistance, isolément ou non.

### 2.1. Modification des protéines de liaison aux pénicillines

Les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) sont les cibles de toutes les bêta-lactamines, y compris les carbapénèmes. Ces cibles varient selon l'espèce et l'antibiotique concerné. Ainsi, chez les bacilles gram négatif, l'imipénème montre une affinité forte pour les PLP2, 1a et 1b, et faible pour la PLP3. L'ertapénème et le méropénème se lient préférentiellement avec la PLP2 mais aussi avec les PLP3, 1a et 1b [7]. La liaison des pénicillines aux PLP inhibe la formation de la paroi cellulaire, entraînant la destruction de la bactérie. La modification des PLP par mutation ou acquisition de gènes peut diminuer l'affinité des enzymes pour leur cible et donc être à l'origine d'une résistance. Ce mécanisme de résistance aux carbapénèmes a été démontré pour *P. aeruginosa* ou *A. baumanii* par diminution de l'expression des PLP 1a, 1b et 4 [26], mais n'a jamais été rapporté sur un prélèvement clinique chez un patient infecté par une entérobactérie. Dans un article de 2013, Yamachika *et al.* ont confirmé cette possibilité en créant artificiellement une souche d'*E. coli* résistante aux carbapénèmes par modification de la PLP2 [27].

## 2.2. Imperméabilité de la membrane

Ces mécanismes peuvent minimiser l'action des antibiotiques en réduisant leur disponibilité au sein des bactéries. Ils peuvent être multiples et synergiques pour une même souche, mais sont en revanche rarement partagés entre bactéries, et de ce fait d'importance minime dans le cadre de la transmission de résistances [24, 28].

### 2.2.1. Déséquilibre de la régulation des porines

Les porines sont des molécules permettant le passage des protéines à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif. La modification de la régulation des porines peut donc diminuer la sensibilité de ces bactéries aux carbapénèmes en diminuant l'accès aux protéines de liaison aux pénicillines. La perte de la porine D2 (*oprD*) de *Pseudomonas aeruginosa* est ainsi associée à une résistance aux carbapénèmes [29], mais perturbe également le fonctionnement normal de la bactérie et affecte sa virulence. De même, un déficit en porines *OmpK35* et *OmpK36* chez *Klebsiella pneumoniae* pourrait réduire l'efficacité des carbapénèmes en diminuant leur pénétration dans la bactérie [30]. A l'inverse, la surexpression d'*impR*, une porine de la membrane externe de *Proteus mirabilis*, peut provoquer une perte de sensibilité à l'imipénème [31].

### 2.2.2. Dérégulation des systèmes d'efflux

Les pompes d'efflux présentes sur la membrane des bactéries à Gram négatif leur permettent d'excréter ou d'adsorber des molécules ayant une affinité avec elle, dont certains antibiotiques [7]. Un haut niveau d'expression de différentes pompes à efflux dont *MexAB-oprM* est à l'origine de la résistance aux carbapénèmes de *P. aeruginosa*, et plus particulièrement à l'ertapénème [29].

## 2.3. Production de carbapénèmases

Les carbapénèmases sont des  $\beta$ -lactamases capables d'hydrolyser la plupart des  $\beta$ -lactamines dont les carbapénèmases, avec une efficacité variable. Les organismes producteurs de carbapénèmases (OPC) sont notamment des entérobactéries commensales du tube digestif (dont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* et *Citrobacter freundii* sont les plus fréquentes en France [3, 32]) ainsi que d'autres bacilles Gram négatif (en particulier non fermentants comme *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumanii* et *Aeromonas* spp.). Les OPC sont souvent résistants à une grande partie de l'arsenal thérapeutique disponible à ce jour [33]. La majorité des gènes permettant l'expression des carbapénèmases est codée par des éléments génétiques mobiles de transmission fréquente entre bactéries, en particulier chez les entérobactéries, et dès lors entre humains par voie oro-fécale [34]. De plus, il existe une association entre la mise en place rapide de mesures d'isolement - en moins de 48 heures – et la diminution du nombre de cas contacts [35]. Il est donc capital de détecter les EPC pour limiter leur diffusion dans les services cliniques, en particulier dans les secteurs hébergeant des patients à risque (Médecine intensive et réanimation).

### 3. Classification des carbapénèmases

A la différence des Entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) et *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) pour lesquels les gènes de résistances impliqués - *VanA/VanB* et *mecA/mecC*, respectivement - sont peu nombreux, la résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactamines met en jeu de multiples mécanismes. La production de  $\beta$ -lactamases en représente une part conséquente, avec plus de 1300 enzymes décrites. La nomenclature des  $\beta$ -lactamases encore admise aujourd’hui a été établie par Ambler en 1980 [36] et les différencie en quatre classes A, B, C, et D distinctes par leurs propriétés moléculaires. Des classifications fonctionnelles plus précises ont ensuite été établies et modifiées [37, 38], et divisent ces classes en sous-groupes selon leur affinité pour leurs substrats. Les carbapénèmases sont représentées dans trois des quatre catégories d’Ambler (A, B et D) et montrent une capacité variable à détruire les  $\beta$ -lactamines [39] en fonction de leur affinité pour celles-ci, du nombre de copies de gènes présentes dans l’ADN de la bactérie, de la stabilité de ces antibiotiques vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases, et des mécanismes de résistance associés.

#### 3.1. Carbapénèmases de Classe A

Les enzymes de la classe A sont des sérines  $\beta$ -lactamases, et sont caractérisées par une susceptibilité à l’imipénème pouvant aller d’une sensibilité diminuée à un haut niveau de résistance [40]. La première carbapénèmase de ce groupe rapportée pour la première fois en 2001 aux Etats-Unis est KPC (« *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase ») et est la plus fréquemment retrouvée puisqu’elle est généralement codée sur un plasmide et transmise entre différentes espèces bactériennes [4, 41]. D’autres enzymes appartiennent à la classe A mais sont plus rarement mises en évidence : SME (« *Serratia marcescens* Enzyme »), le groupe IMI (« Imipenem hydrolyzing  $\beta$ -lactamase »), dont NMC-A (« Non Metallo

Carbapenemase ») fait partie ; et GES (« Guiana Extended Spectrum »), plus récemment décrite. Ces enzymes peuvent être dotées d'une forte capacité d'hydrolyse des pénicillines, des céphalosporines, de l'aztréonam et des carbapénèmes, mais sont sensibles aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases *in vitro* [38].

### **3.2. Carbapénèmases de Classe B : métallo- $\beta$ -lactamases**

Les enzymes de la classe B sont des métallo-enzymes qui contiennent au moins un site actif utilisant un ion Zinc ( $Zn^{2+}$ ). Elles sont actives sur la plupart des  $\beta$ -lactamines hormis l'aztréonam, et sont résistantes aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases. Ce sont les carbapénèmases possédant le plus fort potentiel hydrolytique. Elles ont d'abord été observées chez des bactéries de l'environnement comme *Aeromonas* spp., *P. aeruginosa* ou *Stenotrophomonas maltophilia*, en tant qu'enzymes chromosomiques non transférables. D'autres enzymes codées sur des intégrons et potentiellement transmises entre bactéries ont ensuite été décrites. Parmi celles-ci, NDM (« New Dehli metallo- $\beta$ -lactamase »), VIM (« Verona integron-encoded metallo- $\beta$ -lactamase ») et IMP (« Imipenemase ») se sont répandues de manière internationale et chez des entérobactéries, tandis que SPM (« Sao Paulo metallo- $\beta$ -lactamase »), GIM (« German Imipenemase ») et SIM (« Seoul imipenemase ») sont apparues dans certains pays mais n'ont pas été signalées au-delà de leurs frontières [2].

### **3.3. Carbapénèmases de Classe D : « oxacillinases »**

Représentées par OXA-48, les enzymes de la classe D sont les plus décrites, avec plus de 700 molécules répertoriées [42], différentes par un petit nombre de mutations (substitutions ou délétions d'acides aminés) pouvant modifier leur pouvoir d'hydrolyse. Elles possèdent une activité carbapénèmase variable, parfois faible (OXA-163, OXA-232, OXA-244) ou insuffisante pour induire une résistance (OXA-405). Elles hydrolysent les pénicillines

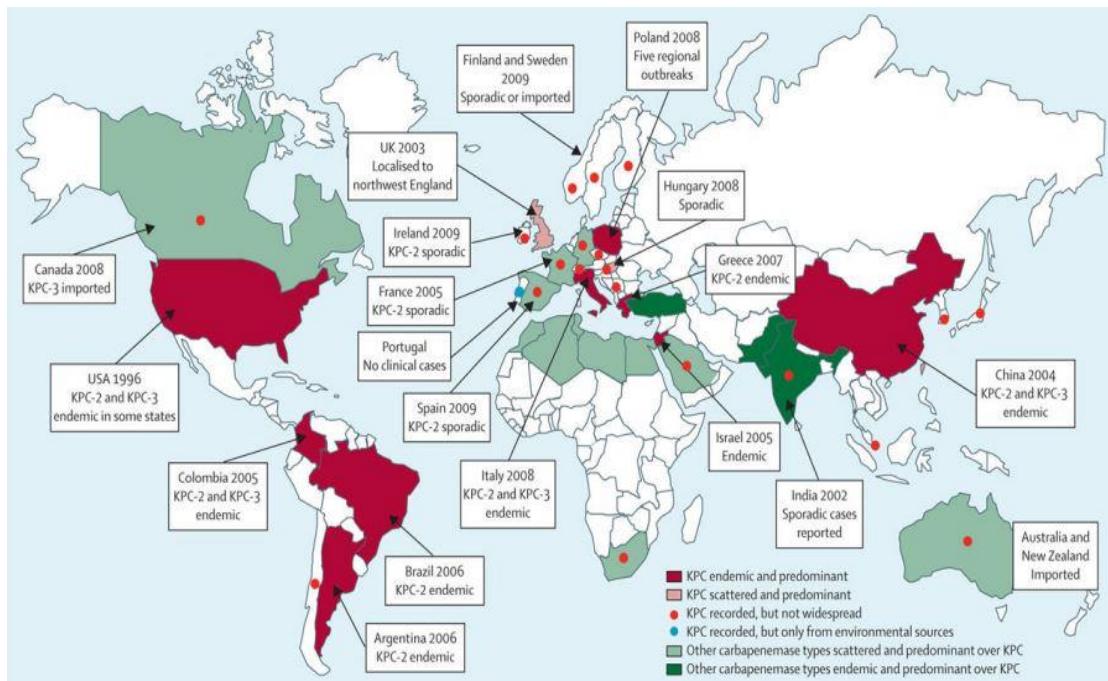
dont la témocilline, sont peu actives sur les céphalosporines à partir de la troisième génération, mais sont souvent associées à une BLSE et ne sont pas atteintes par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases [43]. L'activité faible de ces OXA-48 like vis-à-vis des carbapénèmes rend leur détection plus délicate malgré la culture sur milieu spécifique [44]. Une étude de Hoyos-Mallecot *et al.* a montré que la production d'OXA-244 chez *Escherichia coli* peut être difficile à mettre en évidence en utilisant des techniques de détection habituellement recommandées, ici un milieu spécifique ChromID Carba Smart (bioMérieux) [3, 45]. Cependant, l'association avec une BLSE rendait possible la culture de ces bactéries sur un milieu spécifique des E-BLSE chromID BLSE (bioMérieux). De plus, la CMI de la témocilline était élevée parmi les bactéries productrices d'OXA-48 [45]. Un diamètre faible du disque de témocilline sur l'antibiogramme pourrait ainsi augmenter la sensibilité des tests [46]. Cependant, certaines enzymes OXA-48 like sont moins actives sur la témocilline et resteraient indétectables par cette méthode (OXA-163).

## 4. Epidémiologie des EPC

La prévalence des infections à entérobactéries multirésistantes (BLSE) est en augmentation depuis plusieurs années [33, 47]. Ainsi, l'incidence des bactériémies à E-BLSE en France pour 1000 jours d'hospitalisation est passée de 0.012 en 2007 à 0.13 en 2017. En tant que traitement de référence de ces agents infectieux, l'utilisation des carbapénèmes suit la même évolution, avec pour conséquence la sélection de bactéries résistantes aux carbapénèmes [48].

### 4.1. Situation épidémiologique internationale

Le portage d'EPC est variable sur le plan international, tant au point de vue de la classe d'enzyme prédominante que de la proportion de patients colonisés [49], mais la prévalence exacte dans la population mondiale est inconnue. La carbapénémase KPC est la plus répandue en termes de pays touchés et de population atteinte (**Figure 1**), avec de nombreux pays en situation endémique (Etats-Unis, Chine, Grèce, Italie, Israël, Brésil) à *K. pneumoniae* appartenant pour la plupart aux clones ST258 et ST11 selon le pays, ce qui témoigne de la propagation de cette enzyme [2, 50]. Dans certains pays comme l'Italie ou la Grèce, jusqu'à 33 et 62% respectivement des souches de *K. pneumoniae* isolées de prélèvements cliniques sont résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémase KPC [33].



**Figure 1 : Épidémiologie des entérobactéries productrices de KPC par pays d'origine**

[50]

En Inde et dans plusieurs pays du Moyen-Orient, les enzymes NDM sont les plus répandues [51]. VIM et IMP sont isolées de façon plus sporadique. En Turquie, la plupart des EPC produisent des enzymes de type OXA-48 like, de même qu'en France, en Espagne, en Belgique et en Roumanie [52, 53].

Le réseau European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance (EURGen-Network) réalise une surveillance des EPC dans 37 pays d'Europe depuis 2010 [1]. La situation épidémiologique dans chaque pays est définie par 6 stades allant de l'absence de cas rapportée à une situation endémique – correspondant à une détection fréquente d'EPC dans la plupart des hôpitaux -, et rapportée par des experts dans chaque pays. Entre 2015 et 2018, la situation est restée stable dans la majorité des pays, tandis que 11 sont passés au stade supérieur.

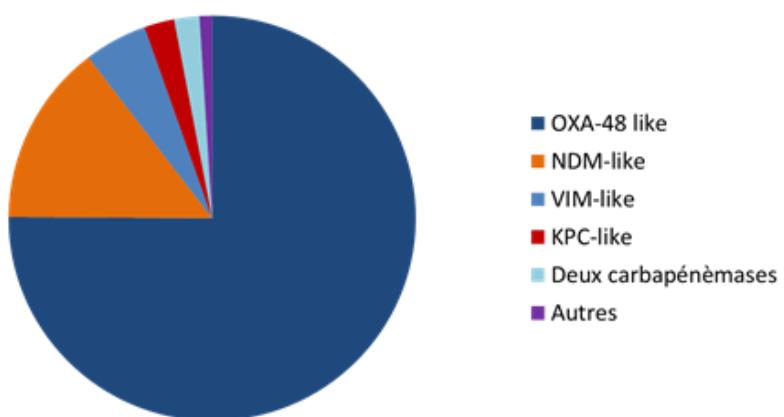
De nombreuses épidémies hospitalières impliquant parfois plusieurs centres ont été rapportées. Une revue de la littérature de 2016 a recensé 13 épidémies causées par *K.*

*pneumoniae* productrice de KPC dans 9 pays [54]. En 2011, une épidémie de 18 cas d'infections à *K. pneumoniae* productrice de KPC dans un service de soins intensifs aux Etats-Unis a pu être reliée par séquençage à une seule patiente hospitalisée 3 semaines avant les premiers cas [55]. Certaines épidémies sont dues à la contamination d'endoscopes, et soulignent la nécessité d'une désinfection appropriée du matériel [56-57].

La transmission communautaire des EPC est peu décrite dans la littérature, mais est probablement sous-estimée et participe à leur diffusion globale. Dans une étude de Paño-Pardo *et al.* sur 1886 patients infectés et/ou colonisés par des EPC, environ 23% n'étaient pas hospitalisés et sont susceptibles d'agir comme réservoir [58].

## 4.2. Situation épidémiologique en France

En France en 2017, le CNR a analysé 3070 souches productrices de carbapénèmases, et a dénombré une majorité d'OXA-48 like (75,1%), suivies des NDM (14,5%), VIM (5%), KPC (2,4%), IMI (0,7%), OXA-23 (0,2%), IMP (0,1%) ainsi que 2% de souches produisant plus d'une carbapénèmase [3]. Les carbapénèmases majoritairement retrouvées en France restent donc de type OXA-48 like, bien que le nombre de souches productrices de NDM soit en augmentation depuis quelques années.



**Figure 2 : Répartition des EPC par carbapénèmase en France en 2017**

La colonisation par une EPC en France n'est pas toujours en lien avec un séjour à l'étranger. Entre 2004 et 2016, Santé Publique France a recensé 3604 épisodes (de 1 à 200 patients contaminés) impliquant des EPC, dont 1663 (46%) ont pu être associés avec un pays étranger [32]. Les cas « autochtones » sont d'ailleurs en augmentation, de 29% en 2010 à 56% en 2016, leur nombre réel étant toutefois probablement surestimé par manque d'information sur les patients [32].

#### **4.3. Carbapénèmases dans l'environnement**

Les EPC sont transmises entre patients par voie oro-fécale, de manière communautaire ou nosocomiale, mais il est aussi possible qu'un réservoir environnemental – c'est-à-dire au-delà des hôpitaux et des patients - permette leur diffusion. Dans une revue de la littérature de 2019, Mills *et al.* ont recensé des réservoirs potentiels des quatre principales carbapénèmases rencontrées en clinique humaine – KPC, OXA, VIM et NDM – parmi lesquels de nombreux milieux aquatiques : les eaux usées des hôpitaux, contaminées dans de nombreux pays, parfois après un traitement des eaux adéquat, les eaux usées communautaires et l'eau potable, voire des rivières et lacs naturels [59]. L'agriculture peut aussi constituer une source de contamination par les EPC, de par l'utilisation massive des antibiotiques et la sélection d'organismes résistants. En effet, plusieurs carbapénèmases ont été retrouvées chez des animaux d'élevage, ainsi que dans des viandes crues et des légumes destinés à la consommation [59]. Un article de 2018 par Köck *et al.* rappelle que les EPC sont présentes chez le bétail et les animaux de compagnie, et que ce réservoir pourrait constituer une source de contamination par la nourriture, notamment via les fermiers en contact avec ces animaux. La prévalence de la colonisation de la plupart de ces animaux par des EPC reste faible, mais les données ne sont pas exhaustives [60]. Dans une évaluation des risques liés aux EPC de 2016, l'ECDC (European Center for Disease Prevention and Control) préconise d'ailleurs un dépistage approfondi des animaux les plus touchés (porcs et

veaux) ainsi que le maintien de l’interdiction de l’utilisation des carbapénèmes chez le bétail [61]. Au final, des ERC sont retrouvées dans de nombreux endroits, mais le lien entre l’existence de ces réservoirs et la dissémination de bactéries résistantes reste à déterminer pour mettre en œuvre des moyens de limiter leur propagation.

## 5. Détection des EPC

Les antibiogrammes réalisés en routine ne permettent pas de détecter les EPC avec une sensibilité acceptable [2]. En effet, une souche productrice de carbapénémase peut être classée sensible aux carbapénèmes si l'augmentation de la CMI est insuffisante, tandis que des isolats non producteurs peuvent être considérés comme résistants s'ils expriment d'autres mécanismes de résistance.

La détection des EPC repose donc sur des techniques spécifiques, nécessaires dans deux cas distincts ; d'une part dans le cadre du dépistage de patients à risque, et d'autre part en cas d'isolement d'une souche de sensibilité diminuée à un carbapénème sur un prélèvement réalisé chez un patient infecté.

### 5.1. Dépistage des patients à risque

Le risque d'infection par ERC subséquente à une colonisation a été estimé par Tischendorf *et al.* à 16,5% sur 1806 patients colonisés par des ERC [62]. De plus, la mortalité associée à la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est importante [63]. Concernant la mortalité des infections à ERC, tous mécanismes confondus, la plupart des travaux publiés rendent compte d'un taux proche de 30% [63, 64]. L'issue semble d'autant plus grave s'il s'agit d'EPC. Entre 2013 et 2016, sur 83 patients atteints de bactériémie dont 37 à EPC, Tanma *et al.* notent un taux de mortalité à 14 jours de 32% dans les cas d'infections à EPC, contre 13% pour les autres mécanismes [64]. Tzouvelekis *et al.* ont passé en revue 20 études réalisées sur un total de 889 patients atteints d'infections à EPC dont 75% productrices de carbapénémase KPC et 21% de VIM, et retrouvent un taux de mortalité entre 30 et 50% [65]. Dans une étude de Balkan *et al.* de 2014 sur 36 patients bactériémiques dont 34 porteurs d'EPC productrices d'OXA-48, le taux de mortalité à 14 jours était de 42% [66]. En parallèle, un patient porteur d'EPC peut rester colonisé plusieurs

mois, les sujets contacts contaminés peuvent ainsi être nombreux et être à l'origine d'épidémies difficilement contrôlables [67]. Le dépistage du portage d'EPC est donc un enjeu majeur de santé publique.

Le Haut Conseil de la Santé Publique a établi dans un rapport de juillet 2013 des critères définissant les patients devant bénéficier du dépistage (**Annexe II**) [68]. Il s'agit soit de patients ayant été hospitalisés à l'étranger, soit de patients d'établissement de santé de type établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) connus porteur d'EPC, ou ayant eu un contact avec un patient porteur.

Le dépistage des EPC est effectué sur prélèvement de selles ou écouvillon rectal, et peut être répété en cas d'échantillon négatif malgré une forte suspicion de colonisation. Le CNR conseille l'association de milieux spécifiques aux EPC de type ChromID Carba (bioMérieux) ou Brillance CRE (Oxoid) et d'un milieu plus sensible vis-à-vis d'OXA-48 comme la gélose ChromID OXA-48 (bioMérieux) [3]. Certains milieux sont suffisamment sensibles pour être utilisés seuls, comme le milieu CHROMagar mSuperCARBA dérivé d'un milieu développé par le CNR, ainsi que le milieu ChromID Carba Smart (bioMérieux) qui rassemble sur la même gélose les milieux Carba et OXA-48 [69].

En cas de situation épidémique dans un service, le dépistage peut être étendu à tous les patients. Le CNR recommande alors d'enrichir le prélèvement dans un bouillon additionné d'un disque d'ertapénème, qui seraensemencé en plus des géloses spécifiques afin d'améliorer la sensibilité [3].

## 5.2. Isolement de souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes

En dehors du dépistage systématique des patients à risque, il est important de ne pas exclure d'EPC à tort dans l'ensemble des autres prélèvements à visée diagnostique. Or, comme évoqué précédemment, les bactéries de sensibilité intermédiaire ou résistantes aux carbapénèmes ne sont pas systématiquement productrices de carbapénèmases. Des tests supplémentaires s'avèrent alors indispensables pour mettre en évidence la nature des mécanismes de résistance dans un but de santé publique et de contrôle de la dissémination des EPC. L'EUCAST et le CA-SFM proposent des seuils de sensibilité aux carbapénèmes pour la détection des mécanismes de résistance d'importance clinique et/ou épidémiologique, avec un seuil différent pour le dépistage dans les recommandations de l'EUCAST (**Figure 3**) [70].

Carbapenem	MIC (mg/L)		Disk diffusion zone diameter (mm) with 10 µg disks	
	S/I breakpoint	Screening cut-off	S/I breakpoint	Screening cut-off
Meropenem <sup>1</sup>	≤2	>0.125	≥22	<28 <sup>2</sup>
Ertapenem <sup>3</sup>	≤0.5	>0.125	≥25	<25

<sup>1</sup>Best balance of sensitivity and specificity

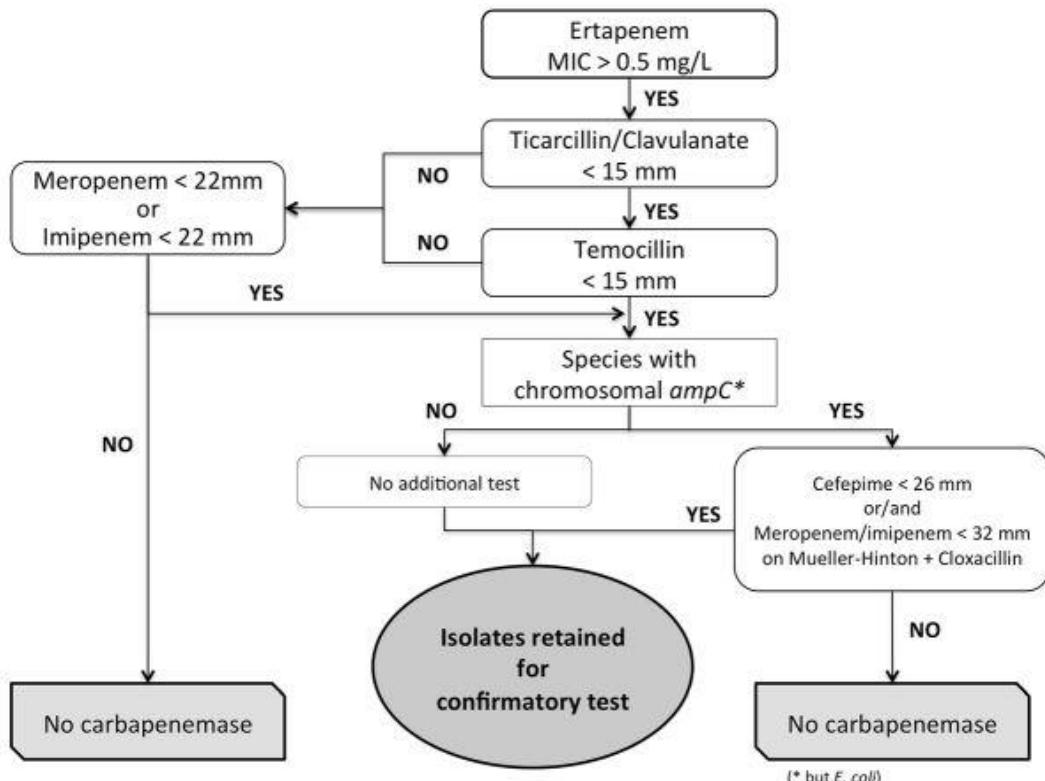
<sup>2</sup>Isolates with 25-27 mm only need to be investigated for carbapenemase-production if they are resistant to piperacillin-tazobactam and/or temocillin (temocillin contributes more to the specificity). Investigation for carbapenemases is always warranted if zone diameter of meropenem is <25 mm.

<sup>3</sup>High sensitivity but low specificity. Can be used as an alternative screening agent, but isolates with ESBL and AmpC may be resistant without having carbapenemases.

**Figure 3 : Seuils de sensibilité aux carbapénèmes pour la détection des ERC [70]**

L'utilisation de l'ertapénème permet d'obtenir une bonne sensibilité [71] puisque les CMI des EPC sont moins hautes que pour les autres carbapénèmes, mais souffre d'une spécificité faible au vu des nombreuses espèces bactériennes pouvant être résistantes à cet antibiotique par d'autres mécanismes. Plusieurs algorithmes de screening ont été formulés afin d'obtenir une sensibilité proche de 100%, et une spécificité la plus élevée possible pour éviter de réaliser des tests superfétatoires. Dans une étude sur 349 bactéries non sensibles à

l'ertapénème – avec une CMI > 0,5 mg/L – isolées entre 2011 et 2012 dans 80 laboratoires français, la sensibilité d'un disque d'imipénème ou de méropénème seul était insuffisante avec environ 40% pour une spécificité de 85% [72]. Dans ce travail, l'algorithme en **Figure 4** permettait d'obtenir la meilleure spécificité (69%) tout en conservant une sensibilité d'environ 100%, et a été ensuite recommandé par le CA-SFM.



**Figure 4 : Algorithme de détection des EPC [72]**

Le CNR associé de la résistance aux antibiotiques a développé en 2017 une méthode alternative plus spécifique des OXA-48 like majoritaires en France, en utilisant des disques de faropénème (CAT-ID™) et de témocilline (**Figure 5**) [73]. Sur 211 isolats d'entérobactéries de sensibilité diminuée aux carbapénèmes, cet algorithme permettait d'obtenir une sensibilité et une valeur prédictive négative comparables à l'algorithme adopté par le CA-SFM (99,1% et 98,6% contre 98,1% et 97,5%, respectivement), tout en ayant une spécificité (96,9%) et valeur prédictive positive (92,5%) satisfaisantes pour la détection des OXA-48 like, permettant de conclure d'emblée et de limiter les tests complémentaires.

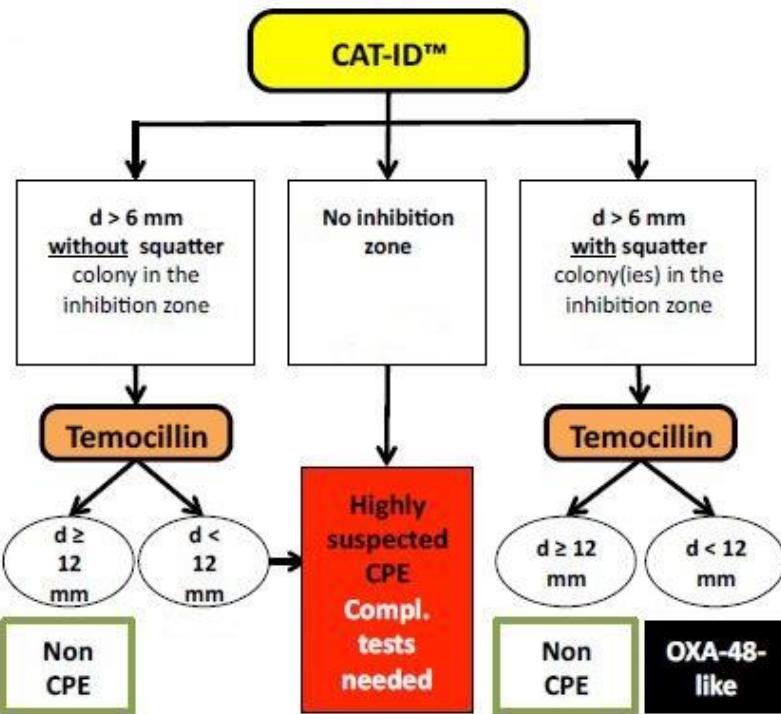


Figure 5 : Algorithme de détection des EPC [73]

## 6. Techniques de confirmation des EPC

### 6.1. Tests biochimiques

Les tests biochimiques de détection des EPC peuvent utiliser une méthode colorimétrique, qui exploite la variation de couleur d'un agent chimique chromogénique résultant d'une modification de la composition du milieu par l'activité hydrolytique d'une carbapénémase, par exemple un changement de pH. Le rouge phénol passera ainsi du rouge au jaune par l'acidification du milieu successive à l'hydrolyse de l'imipénème. Ce changement de couleur peut être observé à l'œil nu ou de façon plus précise en utilisant un spectrophotomètre. Dans le cadre de la détection des EPC, les performances de ces tests sont inégales. En comparant 3 tests sur 150 isolats d'entérobactéries dont 132 présentant une sensibilité diminuée aux carbapénèmes, Doret *et al.* ont obtenu des sensibilités et spécificités proches de 100% pour deux de ces techniques, et 90% et 70% pour un autre test [74]. Dans une étude sur 149 isolats d'entérobactéries, Mancini *et al.* ont constaté une sensibilité et une spécificité de 93,7% et 100% pour le Rapidec® Carba NP Test contre 64,9% et 90% pour le  $\beta$ -CARBA® test [75].

Ces techniques biochimiques sont d'usage rapide et aisés, et ont un coût relativement faible. Elles ne nécessitent généralement pas d'outil supplémentaire, et sont capables de détecter tout type de carbapénémase indépendamment de sa classe, contrairement à d'autres techniques ciblées. L'hydrolyse peut cependant être perturbée ou associée à d'autres enzymes, avec un retentissement sur la spécificité analytique. Ces tests peuvent aussi se révéler moins performants dans l'analyse d'un échantillon de selles ou d'un écouvillon rectal, où le faible inoculum ne garantit pas une quantité d'enzyme produite suffisante pour dépasser la limite de détection. En outre, le type de gélose utilisé pour la culture peut affecter la sensibilité, notamment si les souches ont été ensemencées sur

Drigalski et Mac Conkey, et peuvent souffrir de mauvaises performances dans la détection des carbapénèmases de faible activité comme les OXA 48 like, majoritaires en France [76].

## 6.2. Tests immuno-chromatographiques

Ces tests reposent sur la migration d'anticorps monoclonaux spécifiques des enzymes recherchées sur une membrane de nitrocellulose contenant des nanoparticules d'or colloïdal. Il existe des tests simplex capables de détecter seulement KPC ou OXA-48, dont l'attrait est limité en dehors d'un contexte épidémiologique particulier tel qu'une épidémie, et des tests multiplex permettant de rechercher plusieurs carbapénèmases, comme le Coris RESIST-4 O.K.N.V. (Coris BioConcept, Gembloux, Belgique) et le NG-Test Carba 5 (NG Biotech). Les performances de ces techniques sont excellentes [77]. Dans une étude multicentrique de Jenkins *et al.*, sur 309 isolats - dont 240 entérobactéries - analysés par le NG-Test Carba 5, les pourcentages de concordance positif et négatif étaient de 100% avec la méthode de référence [78]. La sensibilité et la spécificité ont été évaluées pour le Coris RESIST-4 O.K.N.V à 100% par Kolenda *et al.*, hormis pour la détection de NDM (83%) [79]. Ces tests ont été développés pour détecter les carbapénèmases à partir d'une colonie bactérienne isolée sur gélose, mais certains auteurs ont montré une sensibilité et une spécificité de 100% pour KPC et OXA-48 en utilisant ce dernier test directement à partir de 98 hémocultures positives [80]. Dans le cas de VIM et NDM, une subculture de 4 heures sur gélose était nécessaire pour atteindre des performances semblables. Pour le NG-Test Carba 5, un travail réalisé directement sur 205 hémocultures positives à EPC retrouvait une sensibilité de 97,7% et une spécificité de 96,1% pour KPC, VIM, IMP, NDM et OXA-48. De plus, les résultats peuvent être lus aisément en 15 minutes, et ne nécessitent pas de matériel supplémentaire.

### 6.3. Tests phénotypiques d'inhibition par disques combinés

Ces méthodes de culture bactérienne sur gélose utilisent des disques de carbapénèmes combinés ou non à des molécules spécifiquement inhibitrices des différentes classes de carbapénèmases (**Figure 6**), permettant leur détection par une différence de diamètre. En effet, l'acide boronique, l'acide dipicolinique ou l'EDTA, et l'oxacilline inhibent respectivement KPC, les métallo-enzymes, et les céphalosporinases. Quant aux bactéries produisant une OXA-48 like, elles sont la plupart du temps très résistantes à la témcilline, avec un diamètre <12 mm pour un disque de 30µg. Une étape de culture supplémentaire d'au moins 24 heures est nécessaire et l'interprétation peut être difficile pour les souches peu résistantes aux carbapénèmes ou produisant plus d'une carbapénémase. Cette technique est sensible mais souffre d'un manque de spécificité, notamment en ce qui concerne la témcilline [81].

### 6.4. CIM (Carbapenem Inactivation Method)

Cette méthode décrite pour la première fois en 2015 consiste à diluer une öse de 10µL de colonies bactériennes dans de l'eau et d'y immerger un disque de méropénème [82]. Après une incubation de deux heures à 35°C, le disque est déposé sur une gélose sur laquelle a été ensemencé un *Escherichia coli* sensible aux carbapénèmes, servant d'indicateur : en cas d'absence d'inhibition de la pousse après une incubation de 6 heures au minimum, le méropénème a été hydrolysé par une carbapénémase. Dans le cas contraire, un diamètre d'inhibition autour du disque est observé. Dans cette étude, la comparaison des résultats avec une PCR multiplex *in-house* et le Carba NP Test a montré une bonne sensibilité et spécificité. De plus, le test est peu coûteux et relativement rapide, mais nécessite plusieurs étapes de manipulation. Il permet de différencier résistance aux carbapénèmes par production d'enzyme et autres mécanismes. Toutefois, les performances n'ont été prouvées que sur gélose Mueller Hinton et Columbia sang de mouton, et étaient mauvaises sur gélose

chromogénique additionnée de carbapénème (Oxoid CRE). Plusieurs modifications ont été apportées à ce test pour augmenter sa sensibilité (mCIM, rCIM).

## **6.5. Détection de l'activité carbapénémase par spectrométrie de masse MALDI-TOF**

Depuis quelques années, la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization - Time Of Flight) remplace progressivement les techniques biochimiques pour l'identification des bactéries. Cette technologie a déjà été utilisée pour rechercher une activité carbapénémase chez des entérobactéries par analyse de la modification du spectre de l'imipénème par les carbapénémases, indépendamment du gène de résistance [83, 84]. L'activité carbapénémase se traduit par la disparition du pic du carbapénème testé et apparition d'un pic correspondant aux produits d'hydrolyse. Il s'agit d'une méthode rapide, réalisée en trente minutes après quelques heures d'incubation, et permettant l'analyse de nombreuses bactéries simultanément. Elle est associée à de bonnes performances, avec une sensibilité et une spécificité de 99% et 100% respectivement dans l'étude de Lasserre *et al.* [85]. Un faux négatif a été rapporté et associé à une souche de *K. pneumoniae* productrice d'OXA-204 connue, avec une faible activité hydrolytique. Cette méthode est peu coûteuse dès lors que le laboratoire dispose du matériel nécessaire, mais requiert du personnel formé car l'interprétation des données n'est pas encore automatisée. En revanche, elle ne permet pas de déterminer le type de carbapénémase responsable de l'hydrolyse.

## **6.6. Biologie moléculaire**

Les avancées récentes de la PCR d'un processus complexe en plusieurs étapes vers la PCR en temps réel automatisée, fermée et miniaturisée, ont diminué les délais de rendu des résultats de ces techniques et les risques de contamination. Il existe aujourd'hui de

nombreux automates accessibles capables de remplacer les anciennes techniques de PCR maison et de détecter les principales carbapénèmases à l'aide de sondes spécifiques. Cependant, le coût reste élevé dans un but de dépistage, évalué à environ 30 euros par test [86]. La sensibilité est bonne mais dépend des gènes ciblés, dans le cadre d'un prélèvement présentant une diversité bactérienne faible. La limite de détection dans le cas d'une culture est de 10 UFC/mL environ, et 10 à 1000 UFC/mL pour le BD-MAX [87]. Ce chiffre est cependant discordant avec les résultats observés dans plusieurs études, dont certaines pointent des cas de culture négative associées à des PCR positives dont l'interprétation est sujette à débat [5]. Parmi les hypothèses retenues, il peut être supposé la présence de gènes de résistance dans le prélèvement non associés à des bactéries viables, potentiellement présents dans l'alimentation et issus d'animaux d'élevage, ou la présence d'autres bactéries porteuses de carbapénèmases non détectées via la culture, ou encore de bactéries n'exprimant pas ou peu des gènes de carbapénèmases [88].

La biologie moléculaire est la méthode de détection des carbapénèmases la plus rapide puisqu'aucune étape de culture préalable n'est nécessaire, l'analyse pouvant être réalisée en quelques heures directement sur un échantillon clinique sans exclure les prélèvements avec une flore bactérienne riche comme les selles (contrairement aux tests immunologiques et biochimiques qui nécessitent d'isoler une souche bactérienne). Néanmoins, des inhibiteurs de la PCR présents dans les selles peuvent influencer les performances de l'analyse et diminuer la sensibilité de ces techniques. Les techniques de biologie moléculaire ne détectent que certains gènes et les carbapénèmases non recherchées ne seront pas retrouvées.

#### **6.6.1. BD MAX Checkpoints CPO**

Il s'agit d'un test de PCR en temps réel (RT-PCR) automatisé pour la détection des carbapénèmases KPC, NDM, VIM/IMP et OXA-48 à partir d'écouvillons rectaux chez des

patients à risque de colonisation rectale par des OPC. Le temps de réalisation est de deux heures et demie avec douze échantillons maximum par analyse. L'échantillon est tout d'abord homogénéisé, une aliquote est ensuite transférée dans un tube de tampon. Une première étape d'extraction de l'ADN a lieu avant concentration sur des billes magnétiques, puis l'ADN est élué et ajouté aux réactifs de PCR (dont les amorces spécifiques aux gènes des carbapénèmases  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{OXA-48}$ ,  $bla_{NDM}$  et  $bla_{VIM/IMP}$ ). Les cibles amplifiées sont détectées via des sondes d'ADN fluorescentes tandis qu'un contrôle interne est analysé en parallèle. Les performances de l'automate ont été évaluées par plusieurs études, avec dans deux articles récents une sensibilité entre 93 et 97% et une spécificité entre 97 et 99% [87, 89].

#### **6.6.2. GeneXpert Carba-R (Cepheid)**

Le geneXpert (Cepheid, Belgique) est un autre automate fermé de PCR multiplex pouvant être utilisé pour détecter les carbapénèmases dans un échantillon clinique ou sur une colonie bactérienne unique, à l'aide du kit Carba-R. Il s'agit du premier instrument entièrement automatisé qui a permis d'utiliser la RT-PCR au laboratoire. Chacune des étapes a lieu dans une cassette unique, avec un protocole différent selon l'utilisation (selles ou isolat). Il utilise des sondes spécifiques des carbapénèmases les plus fréquentes (KPC, NDM, VIM, OXA 48, IMP-1 et OXA 181).

#### **6.6.3. Amplidiag Carba-R (Mobidiag)**

Le test Amplidiag Carba R (Mobidiag) est une autre technique de RT-PCR permettant de détecter les gènes  $bla_{KPC}$ ,  $bla_{NDM}$ ,  $bla_{VIM}$ ,  $bla_{IMP}$ ,  $bla_{OXA-48}$  et  $bla_{OXA181}$ . Les performances testées par Oueslati *et al.* sur 100 CPO et 200 isolats de sensibilité diminuée aux carbapénèmases étaient excellentes, avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 99% [90]. Ces résultats ont cependant été obtenus sur des colonies et non directement sur écouvillon rectal. Une étude de Del Bianco *et al.* réalisée sur 1015 écouvillons rectaux avec 4

techniques de détection des carbapénèmases par PCR retrouvait une sensibilité de 83% et une spécificité de 98,9% pour ce test [91].

#### **6.6.4. Eazyplex Superbug CRE (OptiGene)**

Il s'agit d'une technique d'amplification isotherme à médiation par boucle (LAMP), utilisant un réactif prêt à l'emploi et pouvant être lue en 15 minutes sur le GENIE II (OptiGene, Horsham, UK). Le test est cependant unitaire et peu adapté à un dépistage massif. Au demeurant, le gène *bla<sub>IMP</sub>* ne fait pas partie des cibles détectées. Concernant les performances de cette technique, dans une étude sur 140 souches dont 16 porteuses de carbapénèmases, Zalas-Wiecek *et al.* ont retrouvé des résultats concordant dans 100% des cas avec le BD-MAX [92].

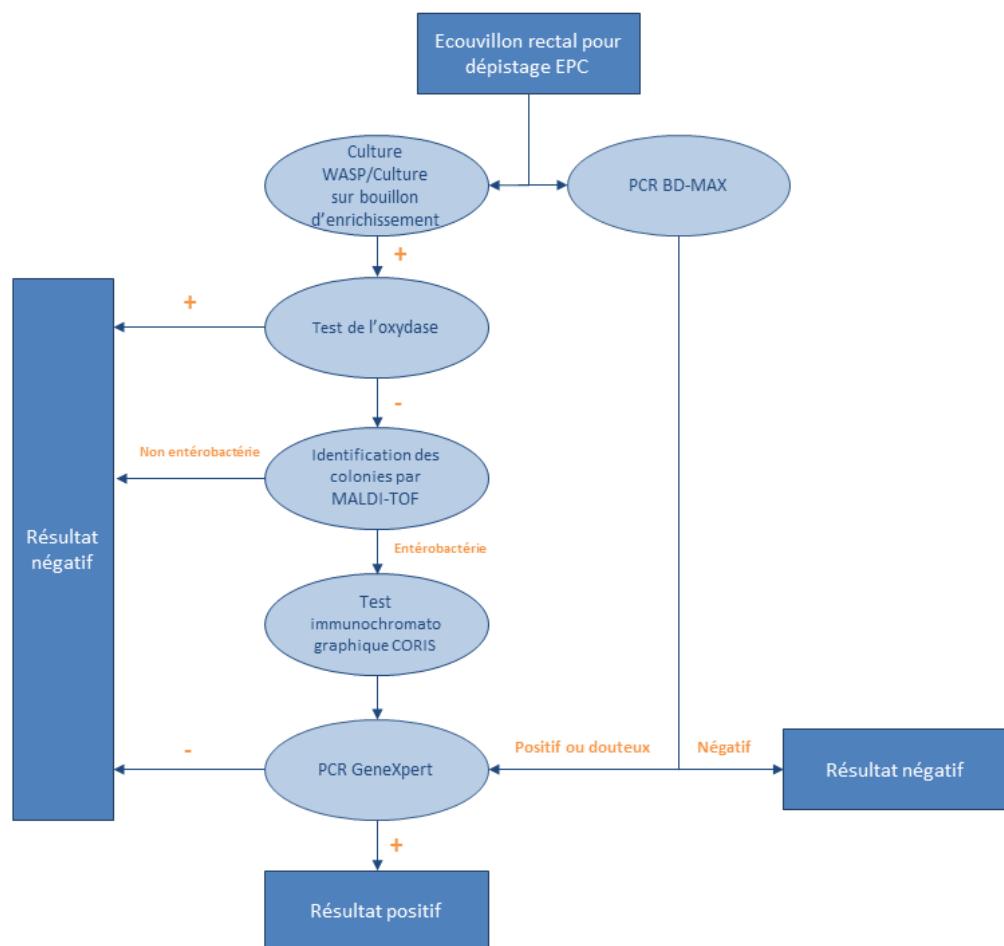
# Matériels et méthodes

## 1. Echantillons

Ce travail a été mené sur l'ensemble des écouvillons rectaux prélevés entre le 16 juin et le 8 juillet 2020 à visée de dépistage rectal pour la présence de carbapénèmases, soit 279 prélèvements sur 183 patients.

## 2. Algorithme de diagnostic des carbapénèmases

Les échantillons ont été analysés au laboratoire de Bactériologie et d'Hygiène du CHU d'Angers selon l'arbre décisionnel en **Figure 6**.



**Figure 6 : Arbre décisionnel de diagnostic des EPC**

### **3. Mise en culture : WASP**

L'étape de mise en culture de routine a été réalisée par l'automate WASP (Copan), avec l'ensemencement de 60µL de prélèvement sur gélose spécifique ChromID Carba Smart (bioMérieux) et une incubation de 18 à 24 heures à 35 +/- 2°C en atmosphère aérobie.

### **4. Mise en culture : bouillon d'enrichissement**

En parallèle de l'ensemencement par le WASP, un enrichissement a été réalisé manuellement pour chacun des écouvillons en ajoutant 100µL de prélèvement à un tube de 9mL de bouillon cœur-cervelle (Brain-Heart BHI-T, bioMérieux) contenant un disque de 10µg d'ertapénème afin d'obtenir une concentration en antibiotique d'environ 1 µg/mL. Les bouillons ont ensuite été mis à l'étuve à 35 +/- 2°C pendant 18 à 24 heures, et 50µL de la culture en bouillon ont été remis en culture sur chaque côté d'une gélose ChromID Carba Smart (bioMérieux), incubée 18 à 24 heures à 35 +/- 2°C.

### **5. Test immunochromatographique**

Pour mettre en évidence les EPC parmi les souches d'entérobactéries isolées par le WASP et sur les géloses ensemencées à partir du bouillon d'enrichissement, un test immuno-chromatographique CORIS Resist-4 O.K.N.V. (CORIS Bioconcept) a été réalisé et lu après 15 minutes, conformément à la notice du fournisseur. Ce test détecte OXA-48, KPC, NDM et VIM, soient les 4 principales carbapénémases retrouvées en France.

### **6. PCR Multiplex GeneXpert**

Les résultats positifs, discordants ou douteux ont été confirmés par PCR multiplex sur le GeneXpert (Cepheid) avec le kit Carba-R.

## 7. Dépistage de carbapénémase par BD-MAX

Parallèlement à la culture, les prélèvements ont été analysés pour la recherche de carbapénémase par PCR multiplex sur le BD-MAX à l'aide du kit BD-MAX Checkpoints CPE.

Les échantillons avec un résultat invalide répété ont été exclus de ce travail. Pour l'interprétation des résultats, les analyses ont été considérées positives avec des résultats inférieurs à 30 Ct, tandis qu'elles ont été considérées comme négatives pour des résultats supérieurs à 40 Ct. Une zone douteuse a été définie entre 30 et 40 Ct et ces prélèvements ont été traités comme des positifs avec relecture des courbes et confirmation par test immuno-chromatographique et biologie moléculaire.

## 8. Interprétation des résultats

Les résultats de la culture sont considérés comme la référence. Les résultats des autres techniques (BD-MAX et culture après enrichissement) sont comparés aux résultats de la culture. Le calcul des performances analytiques (SE = Sensibilité, SP = Spécificité, VPP = Valeur Prédictive Positive, VPN = Valeur prédictive négative) pour chaque méthode a été réalisé comme formulé dans le **Tableau I** (où VP = Vrai Positif, VN = Vrai Négatif, FP = Faux Positif, FN = Faux Négatif).

**Tableau I : Formules de calcul des performances analytiques**

	<b>SE</b>	<b>SP</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>
<b>Formule</b>	$VP/(VP+FN)$	$VN/(VN+FP)$	$VP/(VP+FP)$	$VN/(VN+FN)$

La concordance entre le BD-MAX et la culture a été calculée par la méthode du Kappa de Cohen à l'aide du logiciel SPSS. Il s'agit d'un indice statistique situé entre -1 et 1 permettant d'établir la force de l'accord entre deux juges. L'interprétation a été faite selon

les catégories présentées en **Tableau II** [93]. Le coefficient Kappa de Cohen a été calculé pour évaluer l'accord entre le BD-MAX et chacune des méthodes de culture.

**Tableau II : Interprétation du coefficient Kappa de Cohen**

<b>Valeur de Kappa</b>	<b>Concordance</b>
<0	Nulle
0,01 – 0,20	Minime
0,21 – 0,40	Passable
0,41 – 0,60	Modérée
0,61 – 0,80	Importante
0,81 – 1	Quasi-parfaite

# Résultats

## 1. Données démographiques

Ces dépistages ont été réalisés dans les services de médecine intensive et réanimation (MIR), de soins de suite et réadaptation (SSR), de maladies infectieuses et tropicales, de gériatrie, de rhumatologie, de médecine interne, de cardiologie, de neurologie, de néphrologie, de pneumologie, d'hépatologie/gastro-entérologie et de chirurgie du CHU d'Angers.

## 2. Culture (WASP)

Sur les 279 écouvillons mis en culture sur gélose ChromID Carba Smart par le WASP, 28 étaient positifs. Parmi ceux-ci, 4 souches d'entérobactéries ont été confirmées positives par technique immuno-chromatographique et par biologie moléculaire dont 2 OXA-48 et 2 VIM. Les 275 prélèvements restants étaient négatifs. Le **Tableau III** détaille ces résultats.

**Tableau III : Résultats de la culture (WASP) positifs**

Identification	Cultures WASP positives (ChromID Carba Smart)	CORIS/genex pert
<i>Acinetobacter johnsonii</i>	1	NR
<i>Enterobacter cloacae</i> cplx	2	2 VIM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	2 OXA-48
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	3	NR
Oxydase +	20 (1)	NR
<b>Total d'échantillons positifs</b>	<b>28 (1)</b>	<b>4</b>

### 3. Culture après enrichissement

Sur les 279 écouvillons enrichis et mis en culture sur gélose ChromID Carba Smart, 63 étaient positifs. Parmi ceux-ci, 9 souches d'entérobactéries ont été isolées dont 2 confirmées positives à OXA-48 par technique immuno-chromatographique et par biologie moléculaire. Les **Tableaux IV** et **V** détaillent ces résultats.

**Tableau IV : Résultats de la culture de l'enrichissement positifs**

Identification	Enrichissements positifs (sur OXA)	CORIS/geneXpert
<i>Acinetobacter pittii</i>	3	NR
<i>Enterobacter cloacae complexe</i>	2	Négatif
<i>Enterococcus faecalis</i>	2	NR
<i>Escherichia coli</i>	2	Négatif
<i>Klebsiella aerogenes</i>	2	Négatif
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (2)	2 OXA-48
<i>Klebsiella oxytoca</i>	1	Négatif
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5	NR
Oxydase +	45 (3)	NR
<b>Total</b>	<b>64 (5)</b>	<b>2</b>

**Tableau V : Résultats de la culture de l'enrichissement**

	Vrais positifs	Vrais négatifs	Faux positifs	Faux négatifs
<b>OXA-48</b>	2	277	0	0
<b>VIM/IMP</b>	0	277	0	2
<b>NDM</b>	0	279	0	0
<b>KPC</b>	0	279	0	0
<b>Total</b>	<b>2</b>	<b>275</b>	<b>0</b>	<b>2</b>

Les performances analytiques de la culture de l'enrichissement sont détaillées dans le **Tableau VI**. Au total, la sensibilité et la spécificité pour la détection des carbapénémases étaient de 50% et 100%.

**Tableau VI : Performances analytiques de la culture de l'enrichissement**

	<b>OXA-48</b>	<b>VIM/IMP</b>	<b>NDM</b>	<b>KPC</b>	<b>Total</b>
<b>Sensibilité</b>	100%	0%	NA	NA	<b>50%</b>
<b>Spécificité</b>	100%	100%	100%	100%	<b>100%</b>
<b>VPP</b>	100%	100%	NA	NA	<b>100%</b>
<b>VPN</b>	100%	99,3%	100%	100%	<b>99,3%</b>

#### 4. BD-MAX

Au total, 7 échantillons sur 279 ont été rendus positifs ou douteux par le BD-MAX (**Tableau VII**). Les 272 autres écouvillons analysés sur le BD-MAX étaient négatifs.

**Tableau VII : Tests BD-MAX Positifs ou douteux**

<b>Carbapénémase</b>	<b>OXA-48</b>	<b>VIM/IMP</b>	<b>NDM</b>	<b>KPC</b>	<b>Total</b>
<b>Tests positifs ou douteux</b>	3	2	2	0	7

Parmi ces résultats, 4 étaient positifs avec des valeurs de Ct de 15 à 27 (2 OXA-48 et 2 VIM/IMP). Ces 4 résultats positifs ont été confirmés par test immuno-chromatographique et par geneXpert.

Trois prélèvements ont présenté un résultat douteux avec des CT entre 33 et 37. Il s'agissait d'un écouvillon positif à OXA-48 et de deux écouvillons positifs à NDM, qui étaient rendus négatifs en culture et n'ont été confirmés ni par test immuno-chromatographique ni par geneXpert. L'échantillon faux positif à OXA-48 a étéensemencé sur une gélose spécifique

BLSE additionnée d'un disque de témocilline qui est restée négative. Les résultats sont résumés dans le **Tableau VIII**.

**Tableau VIII : Résultats du BD-MAX**

	<b>Vrais positifs</b>	<b>Vrais négatifs</b>	<b>Faux positifs</b>	<b>Faux négatifs</b>
<b>OXA-48</b>	2	276	1	0
<b>VIM/IMP</b>	2	277	0	0
<b>NDM</b>	0	277	2	0
<b>KPC</b>	0	279	0	0
<b>Total</b>	<b>4</b>	<b>272</b>	<b>3</b>	<b>0</b>

La sensibilité et la spécificité du test ainsi que les valeurs prédictives positives et négatives totales et pour chaque enzyme sont renseignées dans le **Tableau IX**.

**Tableau IX : Performances analytiques du BD-MAX**

	<b>OXA-48</b>	<b>VIM/IMP</b>	<b>NDM</b>	<b>KPC</b>	<b>Total</b>
<b>Sensibilité</b>	100%	100%	NA	NA	<b>100%</b>
<b>Spécificité</b>	99,6%	100%	99,2%	100%	<b>98,9%</b>
<b>VPP</b>	66,7%	100%	0%	NA	<b>57%</b>
<b>VPN</b>	100%	100%	100%	100%	<b>100%</b>

## 5. Concordance entre le BD-MAX et les techniques de culture

Le nombre de cas concordants et discordants entre le BD-MAX et les autres techniques est répertorié dans le **Tableau X**.

**Tableau X : Nombre de cas concordants et discordants entre le BD-MAX et la culture (avec ou sans enrichissement)**

	BD-MAX négatifs concordants	BD-MAX positifs concordants	BD-MAX positifs discordants	BD-MAX négatifs discordants	Total
<b>Culture (WASP)</b>	272	4	3	0	279
<b>Culture (Enrichissement)</b>	275	2	2	0	279

Le coefficient de concordance estimé selon la méthode du kappa de Cohen entre le BD-MAX et la culture ensemencée par le WASP était de 0,722 ( $p < 0,005$ ) soit un accord fort. Pour le BD-MAX et la culture du bouillon d'enrichissement, il était de 0,438 ( $p < 0,005$ ) ce qui correspond à une concordance modérée (**Tableau XI**).

**Tableau XI : Concordance entre les méthodes**

Concordance ( $\kappa$ de Cohen)	Culture (WASP)	Culture (enrichissement)
<b>BD-MAX</b>	0,722	0,438

## 6. Performances analytiques

Les performances analytiques obtenues pour toutes les méthodes utilisées sont détaillés en **Tableau XII**.

**Tableau XII : Détail des performances analytiques**

	<b>Se</b>	<b>Sp</b>	<b>VPP</b>	<b>VPN</b>
<b>BD-MAX</b>	100%	98,9%	57%	100%
<b>Culture (Enrichissement)</b>	50%	99,3%	100%	99,3%

## Discussion

L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances du kit de PCR multiplex BD-MAX Checkpoints CPO assay (BD Diagnostic Systems®, Le Pont de Claix, France) par rapport à la culture qui est considérée comme la méthode de référence pour le dépistage des EPC, dans le but d'établir une stratégie diagnostique efficiente.

Dans ce travail, l'utilisation du BD-MAX a permis d'obtenir une sensibilité de 100%, et des valeurs prédictives positive de 99,3% et négative de 100%. La spécificité de la technique de 57% était médiocre, mais la concordance des résultats avec la culture ensemencée par le WASP était forte avec un kappa de Cohen à 0.722. Dans une étude de Girlich *et al.*, la sensibilité et la spécificité du BD-MAX étaient excellentes pour l'analyse d'isolats de souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (97,1% et 98,8%) ainsi que d'écouvillons rectaux confirmés positifs par PCR (92,8% et 97,8%) [89]. Dans un autre article, sur 557 écouvillons rectaux dont 29 positifs, Antonelli *et al.* ont obtenu une sensibilité et une spécificité de 93,1 et 97,1% [86]. Les performances calculées dans ces études diffèrent donc des nôtres puisque la spécificité de la technique était meilleure, mais le faible nombre d'échantillons positifs rend l'interprétation de ce résultat difficile. De plus, les résultats faux positifs que nous avons retrouvé étaient douteux, dont un gène *bla*<sub>OXA-48</sub> détecté à 33CT, ainsi que deux gènes *bla*<sub>NDM</sub> à 35CT et 37CT, avec dans chaque cas une courbe s'élevant tardivement. Il convient donc d'approfondir l'analyse de ces résultats douteux, d'une part en réitérant l'analyse, et d'autre part en utilisant des techniques de confirmation. En effet, des résultats discordants entre la culture et la biologie moléculaire ont été rapportés à plusieurs reprises. Certaines équipes ont notamment observé des résultats positifs en biologie moléculaire malgré une culture négative, mettant en doute la sensibilité de la culture [5].

Leur signification est difficile à déterminer, mais plusieurs hypothèses pourraient expliquer ce phénomène. Il est possible que ces gènes de carbapénèmases correspondent à des enzymes détectées à raison dans les prélèvements, mais n'étant pas associées à des bactéries vivantes. Celles-ci pourraient avoir été neutralisées par un traitement antibiotique antérieur, être productrices de carbapénèmases et ingérées dans la nourriture ou provenant de l'environnement, mais difficilement mises en évidence par la culture. Un défaut de sensibilité de la culture pourrait aussi être expliqué par la présence dans les prélèvements de bactéries n'exprimant peu ou pas des gènes codant pour des carbapénèmases, et de ce fait de croissance inhibée sur des milieux spécifiques. Par ailleurs, certaines enzymes OXA-48 like comme OXA-244 ont subi des mutations diminuant leur activité et peuvent être difficiles à détecter par culture, tandis qu'elles pourraient être résistantes *in vivo*. Dans une étude de Hoyos-Mallecot *et al.*, la mise en culture d'une gélose spécifique E-BLSE associée à un disque de témocilline avait permis de mettre en évidence des entérobactéries productrices d'OXA-244 alors qu'elles restaient indétectables sur une gélose spécifique des carbapénèmases [46]. Nous avons ensemencé de cette façon le prélèvement faux positif OXA-48 au BD-MAX, sans toutefois obtenir de résultat. A l'inverse, certains variants OXA-48 like sont dépourvus d'activité sur les carbapénèmases et peuvent être positives en biologie moléculaire alors que les bactéries productrices sont sensibles. Ainsi, dans l'étude de Girlich *et al.*, c'était le cas de deux enzymes OXA-163 et OXA-405 détectées faussement positives par le BD-MAX [89]. Toutefois, ces cas particuliers où la PCR peut être discordante avec les résultats de l'analyse phénotypique, et ne remettent pas en question son utilisation dans le cadre du dépistage puisqu'il est impératif d'écartier tout résultat faussement négatif.

Le coût unitaire d'un test par le BD-MAX est élevé, d'autant plus qu'il ne permet pas de réaliser l'identification et l'antibiogramme indispensables à la prise en charge des patients.

Cependant, la rapidité de rendu des résultats de la PCR par rapport aux techniques de culture – 4 à 6 heures contre environ 48 heures [94] - pourrait permettre de raccourcir le délai de mise en œuvre ou de levée des mesures d'isolement ainsi que les journées d'hospitalisation et de diminuer le coût total, ce que montre l'étude de Moloney *et al.* qui estime en réalisant la PCR le jour du prélèvement une économie de 462£ (511€) pour une hospitalisation de 5 jours et 850£ (940€) pour une hospitalisation de 15 jours en supprimant les mesures d'isolement [95].

Le petit nombre d'écouvillons positifs limite la pertinence de notre calcul de spécificité. Nous avons obtenu par la culture des prélèvements dans un bouillon d'enrichissement une sensibilité de seulement 50% malgré une étape supplémentaire de 18 à 24 heures. En effet, deux EPC détectées par la culture (WASP) et le BD-MAX étaient faux négatifs après enrichissement. Nous pouvons donc mettre en doute les performances et l'utilité de cette technique. Son usage n'est recommandé par le CNR que dans le cas d'épidémies d'EPC à l'hôpital. De plus, il n'existe pas de consensus quant à l'antibiotique qui devrait être incorporé au bouillon d'enrichissement. En effet, le CNR de la résistance aux antibiotiques conseille d'utiliser un demi disque d'ertapénème de 10µg [3], mais précise se baser sur des études réalisées uniquement sur des carbapénèmases KPC. D'autres études ont réalisé cette étape d'enrichissement en ajoutant un disque d'imipénème, d'ertapénème, ou de méropénème [96-98]. Nous avons choisi d'incorporer un disque de 10µg d'ertapénème au bouillon d'enrichissement pour plusieurs raisons. Tout d'abord, découper chaque disque en deux parties égales semble peu reproductible et la concentration en ertapénème serait donc variable. De plus, une concentration trop faible en carbapénèmes diminue grandement la spécificité de la culture, en particulier dans le cas d'un échantillon de selles dans lequel sont souvent isolées des bactéries résistantes à l'ertapénème comme *P. aeruginosa* ou *S.*

*maltophilia*. Ainsi, dans notre travail, 54 échantillons poussaient sur gélose après enrichissement avec des espèces n'appartenant pas au groupe des entérobactéries, contre 24 par culture (WASP). Leur isolement ne présente pas d'intérêt et nécessite de réaliser des tests supplémentaires.

En définitive, les performances et la rapidité des méthodes de biologie moléculaire pourraient rendre intéressante l'association avec la culture afin de diminuer les délais de rendu des résultats. La mise en culture des écouvillons rectaux garde une place essentielle dans la stratégie diagnostique des EPC, de par la nécessité d'identifier les bactéries responsables de la colonisation et de réaliser un antibiogramme. Il ne semble cependant pas nécessaire de mettre en culture systématiquement un bouillon d'enrichissement qui a montré des performances inégales et retarde l'obtention des résultats.

## Conclusion

Les résultats obtenus par ce travail confirment l'intérêt de l'utilisation des techniques de biologie moléculaire dans la stratégie de dépistage des EPC. Dans notre travail, le BD-MAX a montré de bonnes performances et pourrait être utilisé en complément de la culture afin d'accélérer la mise en place des méthodes préventives chez des patients colonisés, ou la levée de celles-ci chez les patients à risque. Des études supplémentaires seraient cependant nécessaires afin d'investiguer les résultats faux positifs obtenus par le BD-MAX et déterminer leur impact sur la prise en charge des patients.

# Bibliographie

- [1] A. Brolund, N. Lagerqvist, S. Byfors, M. J. Struelens, D. L. Monnet, B. Albiger, A. Kohlenberg (European Antimicrobial Resistance Genes Surveillance Network (EURGen-Net) capacity survey group), « Worsening epidemiological situation of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in Europe, assessment by national experts from 37 countries », *Euro Surveill.*, vol. 24, juill. 2018.
- [2] L. K. Logan et R. A. Weinstein, « The Epidemiology of Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae*: The Impact and Evolution of a Global Menace », *J. Infect. Dis.*, vol. 215, Suppl. 1, p. S28-S36, févr. 2017.
- [3] L. Dortet, A. Jousset, L. Gauthier, R. Bonnin, T. Naas (CNR associé de la résistance aux antibiotiques), « Note technique : Détection des souches d'entérobactéries productrices d'une carbapénémase ». Version 6.2. juill. 2018.
- [4] R. Viau *et al.*, « Intestinal Carriage of Carbapenemase-Producing Organisms: Current Status of Surveillance Methods », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 29, n°1, p.1-27, janv. 2016.
- [5] X. Angel Li *et al.*, « PCR versus culture for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) in patient and environmental samples ». ECCMID : 28<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Madrid, Espagne, 21-24 Avril 2018.
- [6] M. Wolff, M.-L. Joly-Guillou, O. Pajot, « Les carbapénèmes », *Réanimation*, Volume 18, Suppl. 2, p. S199-S208, sept. 2009.
- [7] GG. Zhanell, R. Wiebe, L. Dilay *et al.*, « Comparative review of the carbapenems ». *Drugs* vol. 67, n°7, p.1027-1052. 2007.
- [8] Haute Autorité de Santé, SPILF, SRLF, « Recommandation de bonne pratique : Antibiothérapie des infections à entérobactéries et à *Pseudomonas aeruginosa* chez l'adulte : place des carbapénèmes et de leurs alternatives » mai 2019.
- [9] P.D. Tamma, J.H. Han, C. Rock, A.D. Harris, E. Lautenbach, A.J. Hsu, E. Avdic, S.E Cosgrove (Antibacterial Resistance Leadership Group), « Carbapenem therapy is associated with improved survival compared with piperacillin-tazobactam for patients with extended-spectrum  $\beta$ -lactamase bacteremia ». *Clin Infect Dis.*, vol. 60, n°9, p. 1319-1325, mai 2015.
- [10] Z.D. Pana, T. Zaoutis, « Treatment of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBLs) infections: what have we learned until now? » *F1000Research*, vol.7, F1000 Faculty Rev-1347, Août 2019.
- [11] N. Y. Lee, C.C. Lee, W.H. Huang, K.C. Tsui, P.R. Hsueh, W.C. Ko, « Cefepime therapy for monomicrobial bacteremia caused by cefepime-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: MIC matters ». *Clin. Infect. Dis.* vol. 56, n°4, p. 488-495, Févr. 2013.
- [12] R. Wang, S.E. Cosgrove, S. Tschudin-Sutter, J.H. Han, A.E. Turnbull, A.J. Hsu, E. Avdic, K.C. Carroll, P.D. Tamma, « Cefepime Therapy for Cefepime-Susceptible Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase-Producing *Enterobacteriaceae* Bacteremia », *Open forum infectious diseases* vol. 3, Juin 2016.
- [13] N. Sternbach, Y. Leibovici Weissman, T.D. Avni, Yahav, « Efficacy and safety of ceftazidime/avibactam: a systematic review and meta-analysis ». *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, vol. 73, n°8, p. 2021-2029, Août 2018.

- [14] M.W. Popejoy, D.L. Paterson, D. Cloutier, J.A. Huntington, B. Miller, C.A. Bliss, J.N. Steenbergen, E. Hershberger, O. Umeh, K.S. Kaye, « Efficacy of ceftolozane/tazobactam against urinary tract and intra-abdominal infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: a pooled analysis of Phase 3 clinical trials ». *The Journal of antimicrobial chemotherapy*, vol. 72, n°1, p. 268-272, Janv. 2017.
- [15] L. Escolà-Vergé, C. Pigrau, B. Almirante, « Ceftolozane/tazobactam for the treatment of complicated intra-abdominal and urinary tract infections: current perspectives and place in therapy », *Infection and drug resistance*, vol. 12, p.1853-1867, juill. 2019.
- [16] D.R. Giacobbe, M. Bassetti, F.G. De Rosa, V. Del Bono, P.A. Grossi, F. Menichetti, F. Pea, G.M. Rossolini, M. Tumbarello, P. Viale, C. Viscoli, ISGRI-SITA (Italian Study Group on Resistant Infections of the Societa Italiana Terapia Antinfettiva) « Ceftolozane/tazobactam: place in therapy » *Expert review of anti-infective therapy* vol. 16, n°4, p. 307-320, Avril 2018.
- [17] C.J. Donskey, « Antibiotic regimens and intestinal colonization with antibiotic-resistant gram-negative bacilli », *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America* vol. 43, Suppl. 2, 2006.
- [18] P.L. Woerther, R. Lepeule, C. Burdet, J. Decousser, E. Ruppé, F. Barbier, « Carbapenems and alternative  $\beta$ -lactams for the treatment of infections due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*: What impact on intestinal colonisation resistance ? », *International journal of antimicrobial agents*, vol. 52, p. 762-770, Août 2018.
- [19] E. Weiss *et al.*, « Elaboration of a consensual definition of de-escalation allowing a ranking of  $\beta$ -lactams », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 21, n°7, p. 649.e1-649.e10, juill. 2015.
- [20] N. Grall, V. Lazarevic, N. Gaïa, C. Couffignal, C. Laouénan, E. Ilic-Habensus, I. Wieder, P. Plesiat, C. Angebault, M.E. Bougnoux, L. Armand-Lefevre, A. Andremont, X. Duval, J. Schrenzel, « Unexpected persistence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the faecal microbiota of hospitalised patients treated with imipenem », *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 50, p. 81-87, Juill. 2017.
- [21] T. Bergan, C.E. Nord, S.B. Thorsteinsson, « Effect of meropenem on the intestinal microflora », *European journal of clinical microbiology & infectious diseases: official publication of the European Society of Clinical Microbiology* vol. 10, n°6, Juin 1991.
- [22] U. Stiefel, N.J. Pultz, C.J. Donskey, « Effect of Carbapenem Administration on Establishment of Intestinal Colonization by Vancomycin-Resistant Enterococci and *Klebsiella pneumoniae* in Mice », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, p. 372-375, janv. 2007.
- [23] Y. Tsai, C.H. Liou, C.P. Fung, J.C. Lin, L.K. Siu, « Single or in combination antimicrobial resistance mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* contribute to varied susceptibility to different carbapenems », *PLoS one* vol. 8, n°11, nov. 2013.
- [24] P. Nordmann, M. Gniadkowski, C. G. Giske, L. Poirel, N. Woodford, et V. Miriagou, « Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Clinical Microbiology and Infection*, vol. 18, n° 5, p. 432-438, mai 2012.
- [25] X.D. Wang, J.C. Cai, H.W. Zhou, G.X. Chen, « Reduced susceptibility to carbapenems in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates associated with plasmid-mediated beta-lactamase production and *OmpK36* porin deficiency » *Journal of medical microbiology* vol. 58 , Pt. 9, p.1196-1202., sept. 2009.
- [26] B. Moyá *et al.*, « Pan- $\beta$ -lactam resistance development in *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains: molecular mechanisms, penicillin-binding protein profiles, and binding affinities », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 56, n° 9, p. 4771-4778, sept. 2012.

- [27] S. Yamachika, C. Sugihara, Y. Kamai, et M. Yamashita, « Correlation between penicillin-binding protein 2 mutations and carbapenem resistance in *Escherichia coli* », *Journal of Medical Microbiology*, vol. 62, n° 3, p. 429-436, 2013.
- [28] R.F. Potter, A.W. D'Souza, G. Dantas, « The rapid spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* », *Drug. Resist. Updat.*, vol. 29, p. 30-46, nov. 2016.
- [29] J. Quale, S. Bratu, J. Gupta, D. Landman, « Interplay of Efflux System, ampC, and oprD Expression in Carbapenem Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, n°5, p. 1633-1641, mai 2006.
- [30] Y. Tsai, C.P. Fung, J.C. Lin, J.H. Chen, F.Y. Chang, T.L. Chen, L.K. Siu, « *Klebsiella pneumoniae* outer membrane porins *OmpK35* and *OmpK36* play roles in both antimicrobial resistance and virulence », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, n°4, p. 1485-1493, avril 2011.
- [31] Y. Tsai, M.C. Wang, P.R. Hsueh, M.C. Liu, R.M. Hu, Y.J. Wu, S.J. Liaw, « Overexpression of an outer membrane protein associated with decreased susceptibility to carbapenems in *Proteus mirabilis* », *PLoS One*, vol. 10, mars 2015.
- [32] V. Pontiès, Y. Savitch, S. Soing-Altrach, M. Colomb-Cotinat, H. Blanchard, C. Bernet, L. Simon, H. Sénéchal, A-G. Venier, L. Doret, A. Berger-Carbonne, « Surveillance des EPC en France, bilan 2004-2016 », 37<sup>e</sup> RICAI : Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, Paris, 18-19 déc. 2017.
- [33] « Surveillance of antimicrobial resistance in Europe : Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) », 2018.
- [34] A. Carattoli, « Plasmids and the spread of resistance », *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 303, n° 6-7, p. 298-304, août 2013.
- [35] S. Fournier, C. Monteil, M. Lepainteur, C. Richard, C. Brun-Buisson, V. Jarlier, AP-HP Outbreaks Control Group, « Long-term control of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* at the scale of a large French multihospital institution: a nine-year experience, France, 2004 to 2012 », *Euro Surveill.*, vol. 19, mai 2014.
- [36] R.P. Ambler, « The structure of beta-lactamases », *Philosophical transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences* vol. 289, p. 321-331, mai 1980.
- [37] K. Bush, « Classification of beta-lactamases: groups 1, 2a, 2b, and 2b'», *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 33, p. 264-270, mars 1989.
- [38] K. Bush, G.A. Jacoby, « Updated functional classification of beta-lactamases », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, n°3, p. 969-976, mars 2010.
- [39] K. Bush, « Proliferation and significance of clinically relevant β-lactamases », *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, vol. 1277, p. 84-90, janv. 2013.
- [40] A.M. Queenan, K. Bush., « Carbapenemases: the versatile beta-lactamases », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 20, n°3, p. 440-458, juill. 2007.
- [41] Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, et al. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC-1 from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, p. 1151-1161, avril. 2001.
- [42] J.D.D. Pitout, G. Peirano, M. Kock, K.A. Strydom, Y. Matsumura, « The Global Ascendancy of OXA-48 Type Carbapenemases ». *Clinical Microbiology Reviews*, vol. 33, nov. 2019.

- [43] A. Potron, L. Poirel, E. Rondinaud, P. Nordmann, « Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* over a 11-year period, 2001 to 2011 », *Euro Surveill.*, vol. 18, août 2013.
- [44] M.J. Dautzenberg, J.M. Ossewaarde, M.E. de Kraker, A. van der Zee, S. van Burgh, S.C. de Greeff, H.A. Bijlmer, H. Grundmann, J.W. Cohen Stuart, A.C. Fluit, A. Troelstra, M.J. Bonten, « Successful control of a hospital-wide outbreak of OXA-48 producing *Enterobacteriaceae* in the Netherlands, 2009 to 2011 », *Euro Surveill.*, vol. 19, mars 2014.
- [45] Y. Hoyos-Mallecot, T. Naas, R.A. Bonnin, R. Patino, P. Glaser, N. Fortineau, L. Dortet, « OXA-244-Producing *Escherichia coli* Isolates, a Challenge for Clinical Microbiology Laboratories », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 61, août 2017.
- [46] T.D. Huang, L. Poirel, P. Bogaerts, C. Berhin, P. Nordmann, Y. Glupczynski, « 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.*, vol. 69, p. 445-450, févr. 2014.
- [47] Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) : rapport d'activité 2017, [www.onerba.org](http://www.onerba.org)
- [48] Santé Publique France, « Surveillance de la consommation des antibiotiques. Réseau ATB-Raisin. Résultats 2015 », avril 2017.
- [49] D. van Duin, Y. Doi, « The global epidemiology of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Virulence*, vol. 8, n°4, p. 460-469, 2017.
- [50] L.S. Munoz-Price *et al.*, « Clinical epidemiology of the global expansion of *Klebsiella pneumoniae* carbapénèmases », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 13, n°9, p. 785-796, sept. 2013.
- [51] L. Dortet, L. Poirel, P. Nordmann, « Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria », *Biomed. Res. Int.*, 2014.
- [52] I. Baran, N. Aksu, « Phenotypic and genotypic characteristics of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in a tertiary-level reference hospital in Turkey », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 15, avril 2016.
- [53] B. Barbara, C. Glasner, M.J. Struelens, H. Grundmann, D.L. Monnet (the European Survey of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* (EuSCAPE) working group) « Carbapenemase producing *Enterobacteriaceae* in Europe: assessment by national experts from 38 countries », *Euro Surveill.*, vol. 20, mai 2015.
- [54] A.C. Campos, J. Albiero, A.B. Ecker, C.M. Kuroda, L.E.F. Meirelles, A. Polato, M.C.B. Tognim, M.A. Wingeter, J.J.V. Teixeira, « Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*: A systematic review », *Am. J. Infect. Control*, vol. 44, n°11, p. 1374-1380, nov. 2016.
- [55] E.S. Snitkin, A.M. Zelazny, P.J. Thomas, F. Stock, NISC Comparative Sequencing Program Group; D.K. Henderson, T.N. Palmore, J.A. Segre, « Tracking a hospital outbreak of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* with whole-genome sequencing », *Sci. Transl. Med*, vol. 4, août 2012.
- [56] J.W. Marsh, M.G. Krauland, J.S. Nelson, J.L. Slackman, A.M. Brooks, A.W. Pasculle, K.A. Shutt, Y. Doi, A.M. Querry, C.A. Muto, L.H. Harrison, « Genomic Epidemiology of an Endoscope-Associated Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase (KPC)-Producing *K. pneumoniae* », *PLoS One*, vol. 10, déc. 2015.

- [57] C. Bourigault, F. Le Gallou, N. Bodet, N. Musquer, M. Juvin, S. Corvec, N. Ferronnière, S. Wiesel, J. Gournay, G. Birgand, M. Le Rhun, D. Lepelletier, « Duodenoscopy: an amplifier of cross-transmission during a carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* outbreak in a gastroenterology pathway », *J. Hosp. Infect.*, vol. 99, n°4, p. 422-426, août 2018.
- [58] J.R. Paño-Pardo *et al.* « Community-Onset Bloodstream and Other Infections, Caused by Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae*: Epidemiological, Microbiological, and Clinical Features » *Open forum infectious diseases* vol. 3, n°3, août 2016.
- [59] M.C. Mills, J. Lee, « The threat of carbapenem-resistant bacteria in the environment: Evidence of widespread contamination of reservoirs at a global scale », *Environmental Pollution*, vol. 255, Pt. 1, sept. 2019.
- [60] R. Köck, I. Daniels-Haardt, K. Becker, A. Mellmann, A.W. Friedrich, D. Mevius, S. Schwarz, A. Jurke, « Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in wildlife, food-producing, and companion animals: a systematic review », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 24, n° 12, p. 1241-1250, déc. 2018.
- [61] ECDC, Rapid Risk Assessment, « Carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* », avril 2016.
- [62] J. Tischendorf, R.A de Avila, N. Safdar, « Risk of infection following colonization with carbapenem-resistant *Enterobactericeae*: A systematic review », *Am. J. Infect. Control.*, vol. 44, n°5, p. 539-543, mai 2016.
- [63] M.E. Falagas, G.S. Tansarli, D.E. Karageorgopoulos, K.Z. Vardakas, « Deaths Attributable to Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Infections », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 20, n°7, p.1170-1175, juill. 2014.
- [64] P.D. Tammaro *et al.* « Comparing the Outcomes of Patients With Carbapenemase-Producing and Non-Carbapenemase-Producing Carbapenem-Resistant *Enterobacteriaceae* Bacteremia », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 64, n°3, p. 257-264, févr. 2017.
- [65] L. S. Tzouvelekis, A. Markogiannakis, E. Piperaki, M. Souli, et G. L. Daikos, « Treating infections caused by carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Clin Microbiol Infect*, vol. 20, n°9, p. 862-872, sept. 2014.
- [66] I.I. Balkan *et al.*, « Blood stream infections due to OXA-48-like carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*: treatment and survival », *Int. J. Infect. Dis.*, vol. 26, p. 51-56, sept 2014.
- [67] CDC: Centers for Disease Control and Prevention, « CRE Technical information », <https://www.cdc.gov/hai/organisms/cre/technical-info.html#Risk>
- [68] Haut Conseil de la Santé Publique, « Prévention de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRe) », <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372>, juill. 2013.
- [69] A. Ma'ayan, O. Shalom, A. Adler, « Comparative evaluation of a new commercial media, the CHROMAgar™ mSuperCARBA™, for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Diag. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 88, p. 20-22, févr. 2017.
- [70] EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, « EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance », version 2.0, juill. 2017.
- [71] P. Nordmann, L. Dortet, L. Poirel, « Carbapenem resistance in *Enterobacteriaceae*: here is the storm! », *Trends Mol Med.*, vol. 18, n°5, p. 263-272, mai 2012.

- [72] L. Dortet, G. Cuzon, P. Plésiat, et T. Naas, « Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *J Antimicrob. Chemother*, vol. 71, n° 1, p. 135-140, janv. 2016.
- [73] L. Dortet, S. Bernabeu, C. Gonzalez, et T. Naas, « Comparison of Two Phenotypic Algorithms To Detect Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* », *Antimicrob Agents Chemother*, vol. 61, n° 8, juill. 2017
- [74] L. Dortet, A. Agathine, T. Naas, G. Cuzon, L. Poirel, et P. Nordmann, « Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP, the Rapid CARB Screen® and the Carba NP test for biochemical detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, n° 11, p. 3014-3022, nov. 2015.
- [75] S. Mancini, N. Kieffer, L. Poirel, et P. Nordmann, « Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP and  $\beta$ -CARBA® tests for rapid detection of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, vol. 88, n° 4, p. 293-297, août 2017.
- [76] F. Compain *et al.*, « Assessment of Carbapenem Resistance in *Enterobacteriaceae* with the Rapid and Easy-to-Use Chromogenic  $\beta$  Carba Test », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 54, n° 12, p. 3065-3068, déc. 2016.
- [77] N. Kieffer, L. Poirel, et P. Nordmann, « Rapid immunochromatography-based detection of carbapenemase producers », *Infection*, vol. 47, n°4, p. 673-675, août 2019.
- [78] S. Jenkins *et al.*, « Evaluation of NG-Test Carba 5 for Rapid Phenotypic Detection and Differentiation of Five Common Carbapenemase Families: Results of a Multicenter Clinical Evaluation », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 58, n°7, juin 2020.
- [79] C. Kolenda, R. Benoit, A. Carricajo, R. Bonnet, O. Dauwalder, et F. Laurent, « Evaluation of the New Multiplex Immunochromatographic O.K.N.V. K-SeT Assay for Rapid Detection of OXA-48-like, KPC, NDM, and VIM Carbapenemases », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 56, n°11, oct. 2018.
- [80] A. Cointe *et al.*, « Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Positive Blood Culture Using an Immunochromatographic RESIST-4 O.K.N.V. Assay », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 62, n°12, nov. 2018.
- [81] S. Pournaras *et al.*, « A Combined Disk Test for Direct Differentiation of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* in Surveillance Rectal Swabs », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 51, n° 9, p. 2986-2990, sept. 2013.
- [82] K. van der Zwaluw, A. de Haan, G. N. Pluister, H. J. Bootsma, A. J. de Neeling, et L. M. Schouls, « The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods », *PLoS ONE*, vol. 10, n°3, 2015.
- [83] E. Carbonnelle et X. Nassif, « Utilisation en routine du MALDI-TOF-MS pour l'identification des pathogènes en microbiologie médicale », *Med. Sci. (Paris)*, vol. 27, n°10, Art. n°10, oct. 2011.
- [84] C. Mirande *et al.*, « Rapid detection of carbapenemase activity: benefits and weaknesses of MALDI-TOF MS », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 34, n°11, p. 2225-2234, nov. 2015.
- [85] C. Lasserre *et al.*, « Efficient Detection of Carbapenemase Activity in *Enterobacteriaceae* by Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight Mass Spectrometry in Less Than 30 Minutes », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, n°7, p. 2163-2171, juill. 2015.

- [86] H. Frickmann, W. O. Masanta, et A. E. Zautner, « Emerging rapid resistance testing methods for clinical microbiology laboratories and their potential impact on patient management », *Biomed. Res. Int.*, vol. 2014.
- [87] A. Antonelli *et al.*, « Performance of the BD MAX™ instrument with Check-Direct CPE real-time PCR for the detection of carbapenemase genes from rectal swabs, in a setting with endemic dissemination of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 86, n°1, p. 30-34, sept. 2016.
- [88] P. Bogaerts, S. Yunus, M. Massart, T.-D. Huang, et Y. Glupczynski, « Evaluation of the BYG Carba Test, a New Electrochemical Assay for Rapid Laboratory Detection of Carbapenemase-Producing *Enterobacteriaceae* », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 54, n°2, p. 349-358, févr. 2016.
- [89] D. Girlich *et al.*, « Evaluation of the BD MAX Check-Points CPO Assay for the Detection of Carbapenemase Producers Directly from Rectal Swabs », *The Journal of Molecular Diagnostics*, vol. 22, n°2, p. 294-300, févr. 2020.
- [90] S. Oueslati, D. Girlich, L. Dortet, et T. Naas, « Evaluation of the Amplidiag CarbaR+VRE Kit for Accurate Detection of Carbapenemase-Producing Bacteria », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 56, n°3, 2018.
- [91] F. Del Bianco *et al.*, « Comparison of Four Commercial Screening Assays for the Detection of *bla*<sub>KPC</sub>, *bla*<sub>NDM</sub>, *bla*<sub>IMP</sub>, *bla*<sub>VIM</sub>, and *bla*<sub>OXA48</sub> in Rectal Secretion Collected by Swabs », *Microorganisms*, vol. 7, n°12, déc. 2019.
- [92] P. Zalas-Więcek, E. Gospodarek-Komkowska, et A. Smalczewska, « Rapid Detection of Genes Encoding Extended-Spectrum Beta-Lactamase and Carbapenemase in Clinical *Escherichia coli* Isolates with eazyplex SuperBug CRE System », *Microb. Drug. Resist.*, vol. 26, n°10, p. 1245-1249, oct. 2020.
- [93] J. R. Landis et G. G. Koch, « The measurement of observer agreement for categorical data », *Biometrics*, vol. 33, n°1, p. 159-174, mars 1977.
- [94] C. E. Corless, A. M. Howard, et T. J. Neal, « Impact of different carbapenemase-producing *Enterobacteriales* screening strategies in a hospital setting », *Infection Prevention in Practice*, vol. 2, n°3, sept. 2020.
- [95] « A PCR-based diagnostic testing strategy to identify carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* carriers upon admission to UK hospitals: early economic modelling to assess costs and consequences », *Diagnostic and prognostic research*, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6471810/> (consulté le oct. 5, 2020).
- [96] D. Landman, J. K. Salvani, S. Bratu, et J. Quale, « Evaluation of techniques for detection of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in stool surveillance cultures », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 43, n°11, p. 5639-5641, nov. 2005.
- [97] G. Vrioni *et al.*, « Comparative evaluation of a prototype chromogenic medium (ChromID CARBA) for detecting carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in surveillance rectal swabs », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 50, n°6, p. 1841-1846, juin 2012.
- [98] F. C. Tenover *et al.*, « Detection of Colonization by Carbapenemase-Producing Gram-Negative Bacilli in Patients by Use of the Xpert MDRO Assay », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 51, n°11, p. 3780-3787, nov. 2013.

# Table des figures

<b>Figure 1 : Epidémiologie des entérobactéries productrices de KPC par pays d'origine [50]</b> .....	25
<b>Figure 2 : Répartition des EPC par carbapénémase en France en 2017</b> .....	26
<b>Figure 3 : Seuils de sensibilité aux carbapénèmes pour la détection des ERC [70]</b> .....	31
<b>Figure 4 : Algorithme de détection des EPC [72]</b> .....	32
<b>Figure 5 : Algorithme de détection des EPC [73]</b> .....	33
<b>Figure 6 : Arbre décisionnel de diagnostic des EPC</b> .....	41

# Table des tableaux

<b>Tableau I : Formules de calcul des performances analytiques .....</b>	43
<b>Tableau II : Interprétation du coefficient Kappa de Cohen .....</b>	44
<b>Tableau III : Résultats de la culture (WASP) positifs.....</b>	45
<b>Tableau IV : Résultats de la culture de l'enrichissement positifs .....</b>	46
<b>Tableau V : Résultats de la culture de l'enrichissement .....</b>	46
<b>Tableau VI : Performances analytiques de la culture de l'enrichissement .....</b>	47
<b>Tableau VII : Tests BD-MAX Positifs ou douteux .....</b>	47
<b>Tableau VIII : Résultats du BD-MAX.....</b>	48
<b>Tableau IX : Performances analytiques du BD-MAX .....</b>	48
<b>Tableau X : Nombre de cas concordants et discordants entre le BD-MAX et la culture (avec ou sans enrichissement) .....</b>	49
<b>Tableau XI : Concordance entre les méthodes .....</b>	49
<b>Tableau XII : Détail des performances analytiques .....</b>	50

# Table des matières

<b>SOMMAIRE .....</b>	<b>11</b>
<b>ABREVIATIONS .....</b>	<b>12</b>
<b>INTRODUCTION .....</b>	<b>13</b>
<b>GENERALITES.....</b>	<b>14</b>
<b>1. Caractéristiques des carbapénèmes .....</b>	<b>14</b>
1.1. Définition .....	14
1.2. Place des carbapénèmes dans l'arsenal thérapeutique.....	14
1.3. Impact écologique .....	16
<b>2. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes.....</b>	<b>18</b>
2.1. Modification des protéines de liaison aux pénicillines.....	18
2.2. Imperméabilité de la membrane .....	19
2.3. Production de carbapénèmases.....	20
<b>3. Classification des carbapénèmases.....</b>	<b>21</b>
3.1. Carbapénèmases de Classe A .....	21
3.2. Carbapénèmases de Classe B : métallo-β-lactamases .....	22
3.3. Carbapénèmases de Classe D : « oxacillinas » .....	22
<b>4. Epidémiologie des EPC .....</b>	<b>24</b>
4.1. Situation épidémiologique internationale .....	24
4.2. Situation épidémiologique en France .....	26
4.3. Carbapénèmases dans l'environnement .....	27
<b>5. Détection des EPC .....</b>	<b>29</b>
5.1. Dépistage des patients à risque .....	29
5.2. Isolement de souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes.....	31
<b>6. Techniques de confirmation des EPC .....</b>	<b>34</b>
6.1. Tests biochimiques .....	34
6.2. Tests immuno-chromatographiques .....	35
6.3. Tests phénotypiques d'inhibition par disques combinés .....	36
6.4. CIM (Carbapenem Inactivation Method).....	36
6.5. Détection de l'activité carbapénèmase par spectrométrie de masse MALDI-TOF .....	37
6.6. Biologie moléculaire.....	37
<b>MATERIELS ET METHODES .....</b>	<b>41</b>
<b>1. Echantillons.....</b>	<b>41</b>
<b>2. Algorithme de diagnostic des carbapénèmases .....</b>	<b>41</b>
<b>3. Mise en culture : WASP .....</b>	<b>42</b>
<b>4. Mise en culture : bouillon d'enrichissement.....</b>	<b>42</b>
<b>5. Test immunochromatographique .....</b>	<b>42</b>
<b>6. PCR Multiplex GeneXpert .....</b>	<b>42</b>
<b>7. Dépistage de carbapénèmase par BD-MAX .....</b>	<b>43</b>
<b>8. Interprétation des résultats.....</b>	<b>43</b>
<b>RESULTATS .....</b>	<b>45</b>
<b>1. Données démographiques.....</b>	<b>45</b>
<b>2. Culture (WASP) .....</b>	<b>45</b>

<b>3.</b>	<b>Culture après enrichissement .....</b>	<b>46</b>
<b>4.</b>	<b>BD-MAX .....</b>	<b>47</b>
<b>5.</b>	<b>Concordance entre le BD-MAX et les techniques de culture .....</b>	<b>49</b>
<b>6.</b>	<b>Performances analytiques.....</b>	<b>50</b>
	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>51</b>
	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>55</b>
	<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>56</b>
	<b>TABLE DES FIGURES .....</b>	<b>63</b>
	<b>TABLE DES TABLEAUX.....</b>	<b>64</b>
	<b>TABLE DES MATIERES .....</b>	<b>65</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>67</b>

## Annexes

### Annexe I : Classement des molécules antibiotiques par rang décroissant de spectre et d'impact écologique potentiel [8]

	Yamana,201 6 (199)	Niederman-2006 (200)	De Bus, 2016 (201)	Leone, 2014 (202)	Weiss, 2015 (203)
R A N G 1	CP	CP + autre molécule anti Gram négatif	CP + autre molécule anti Gram négatif	CP	Imipénème Méropénème
R A N G 2	BL à spectre anti-Pyo	CP	CP	Pipéracilline-tazobactam Ceftazidime Céfèpime Ertapénème	Ertapénème
R A N G 3	C3G	Pipéracilline-tazobactam Ceftazidime Ciprofloxacine	Ertapénème Ciprofloxacine	Ticarcilline	Pipéracilline-tazobactam Ticarcilline-acide clavulanique C4G Céphalosporines anti Pyo
R A N G 4	Ampicilline et inhibiteur de $\beta$ -lactamase	Pénicillines C2G/C3G Fluoroquinolones sans activité anti-Pyo Triméthoprime/sulfaméthoxazole	BL ou Fluoroquinolones sans activité anti-Pyo	C3G	C3G Uréido et carboxypénicillines
R A N G 5	Autres BL			Amoxicilline-acide clavulanique	Amoxicilline-acide clavulanique

## **Annexe II : Définition des patients à risque de colonisation par une EPC [68]**

Patients :

- 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
  - ou transféré d'un établissement sanitaire français et ayant été en contact avec un patient porteur de BHRe
  - ou ré-hospitalisé ou admis dans une structure type EHPAD et ayant été antérieurement connu porteur de BHRe ou ayant été au contact d'un cas porteur d'une BHRe
- « cas », avec identification d'une BHRe
- « contacts », patients pris en charge par la même équipe soignante qu'un cas (quels que soient les postes de travail considérés - jour ou nuit), soignants paramédicaux et/ou médicaux dès lors que des contacts physiques ont pu être générés lors de cette prise en charge.



### Détection des Entérobactéries productrices de carbapénémases par dépistage rectal : comparaison d'une méthode de biologie moléculaire avec la culture

#### RÉSUMÉ

Le dépistage sur écouvillon rectal du portage des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) chez les patients à risque est un enjeu de santé publique majeur. Les techniques de biologie moléculaire sont rapides et performantes, mais des discordances sont observées avec la culture considérée comme la méthode de référence. L'objectif de cette étude est d'évaluer les performances de l'automate de RT-PCR multiplex BD-MAX (kit Checkpoints CPO) et d'une technique d'enrichissement recommandé par le CNR. Le BD-MAX a obtenu de bonnes performances par rapport à la culture, avec une sensibilité de 100% et une spécificité de 98,9%, malgré une valeur prédictive positive de 57%, expliquée par des résultats faux positifs. Les performances de l'enrichissement étaient faibles, avec une sensibilité de 50%. L'utilisation du BD-MAX dans la stratégie diagnostique des EPC pourrait donc être envisagée en complément de la culture afin de diminuer le délai de rendu des résultats et supprimer le plus tôt possible des mesures d'isolement coûteuses. Des études supplémentaires seraient nécessaires afin d'investiguer les résultats faux positifs obtenus par le BD-MAX et d'établir l'impact de ces résultats sur la prise en charge des patients.

#### ABSTRACT

**mots-clés :** dépistage – carbapénémases – BD MAX - culture

### Screening carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* on rectal swabs : evaluation of a molecular biology assay in comparison with culture

Screening patients for the carriage of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) on rectal swabs is a major public health issue. Molecular biology techniques are fast and efficient, but discrepancies are observed with culture, which is considered as the reference method. The objective of this study was to evaluate the performance of the BD-MAX multiplex RT-PCR assay (Checkpoints CPO Kit) and broth culture recommended by the NRC. The BD-MAX had good performance results when compared to culture, with a sensitivity of 100% and a specificity of 98.9% despite a predictive positive value of 57%, which can be explained by false positive results. The performance of the enrichment was weak, with a sensitivity of 50%. The diagnostic strategy of CPEs could therefore consider using molecular biology in addition to culture, in order to reduce time to results and avoid costly prevention measures. Further study is required in order to explain these false positive results and analyze their impact on patient care.

**keywords :** screening – carbapenemase – BD MAX - culture