

# Quel avenir pour les carbapénémases ?

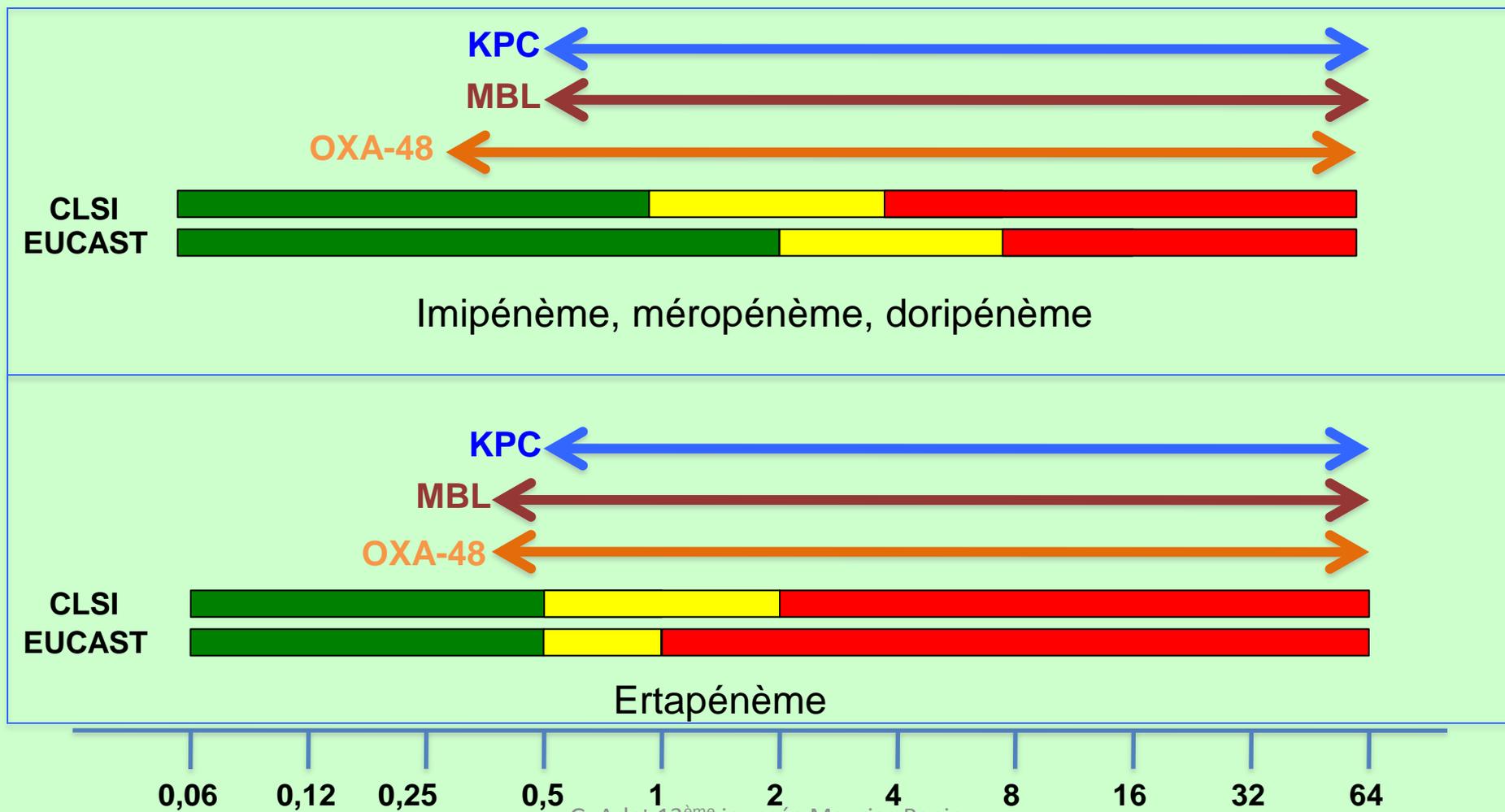
## *Le point sur les méthodes de détection*

Guillaume Arlet

UPMC

AP-HP

# Activité des carbapénèmes sur les producteurs de carbapénémases



## *le test de Hodge modifié*



### 1. Détection spécifique

- +++ KPC & OXA-48
- + MBL

### 1. Faux positifs et douteux

- ampC producteurs (X et plasmidiques)
- CTX-M-15 imp avec erta

### 1. Faux négatifs et douteux

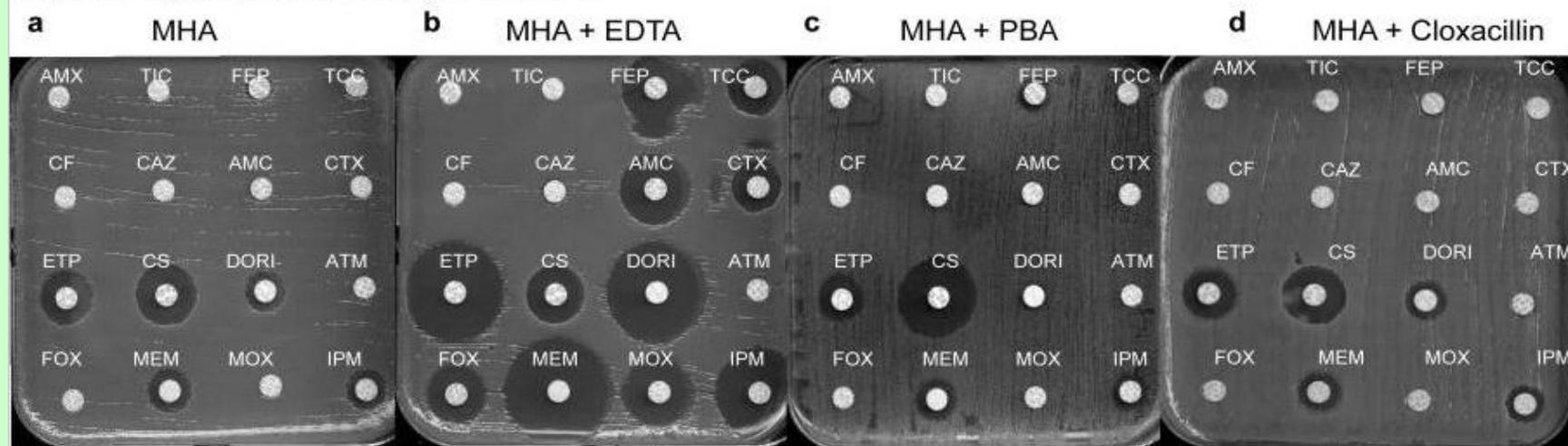
- E. coli MBL (NDM-1 et VIM-4)
- Sulfate de zinc +

# Activité des carbapénèmes et inhibiteurs

	TMC	C3G	ATM	MOX	EDT A	PBA	CLOXA	Ac Clav
KPC	I/R	I/R	I/R	I/R	-	+	-	+/-
MBL	R	R	S	R++	+	-	-	-
OXA	R++	S	S	S	-	-	-	+/-
BLSE + imp	I	I/R	I/R	S	-	-	-	+
AmpC + imp	I	I/R	I/R	I/R	-	+	+	-

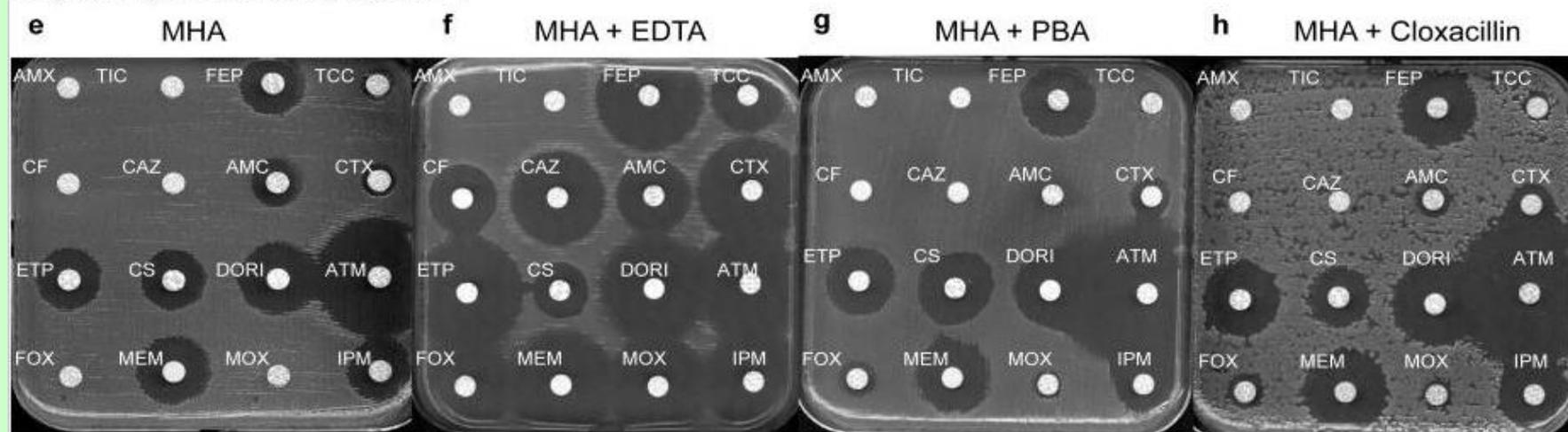
# Détection phénotypique des carbapénémases la diffusion et l'utilisation des inhibiteurs

A (strain 10) : *K. pneumoniae* VIM-4, SHV-5



B (strain 9): *E. coli* NDM-1, OXA-1

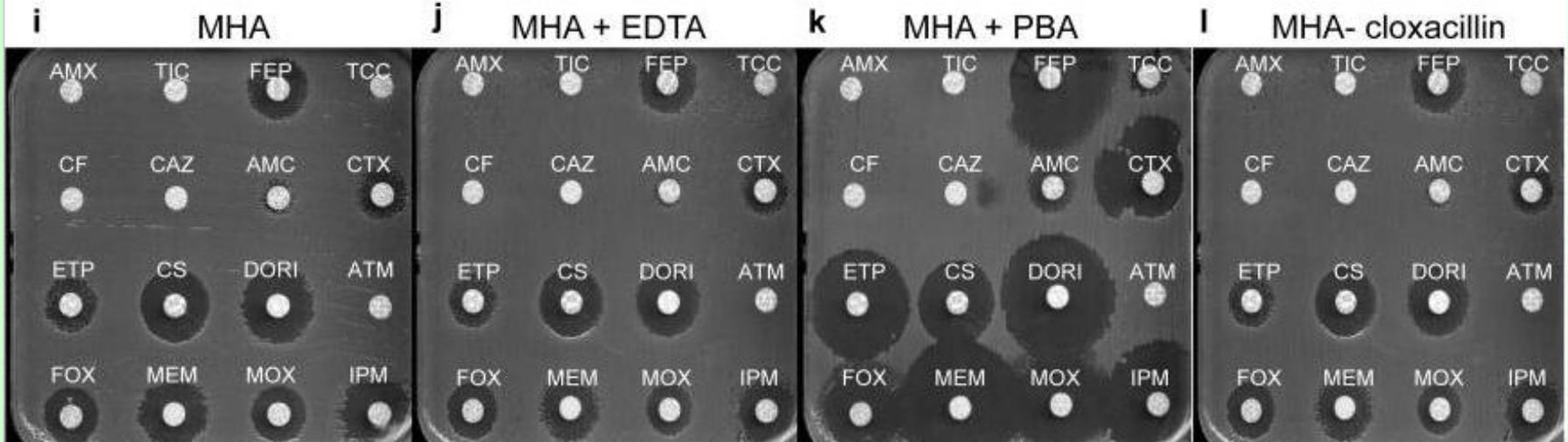
2 ml EDTA 5mM, 750 µl de PBA à 10 mg/ml



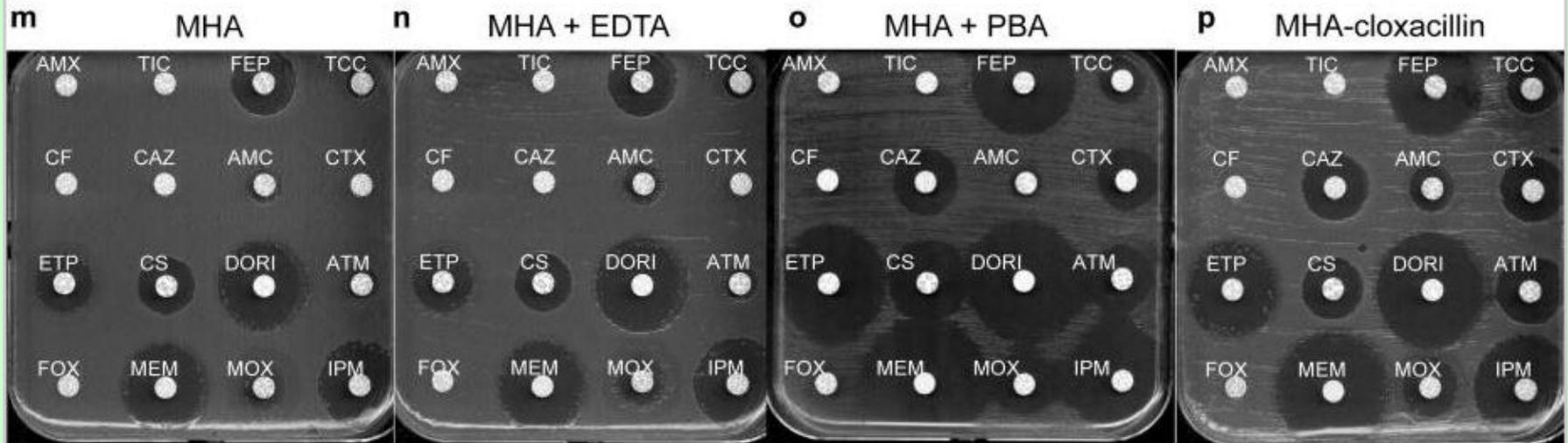


# Détection phénotypique des carbapénémases la diffusion et l'utilisation des inhibiteurs

C (strain 25) : *K. pneumoniae* : KPC-2, CTX-M-15, TEM-1



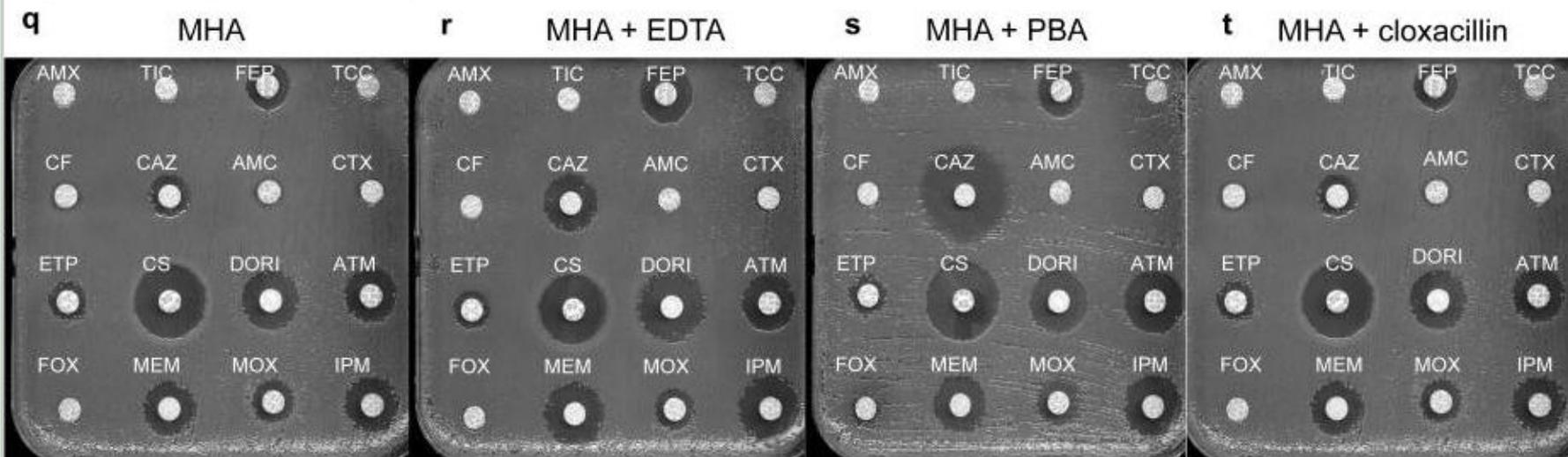
D (strain 23): *E. cloacae* hyperproduced AmpC, decreased permeability



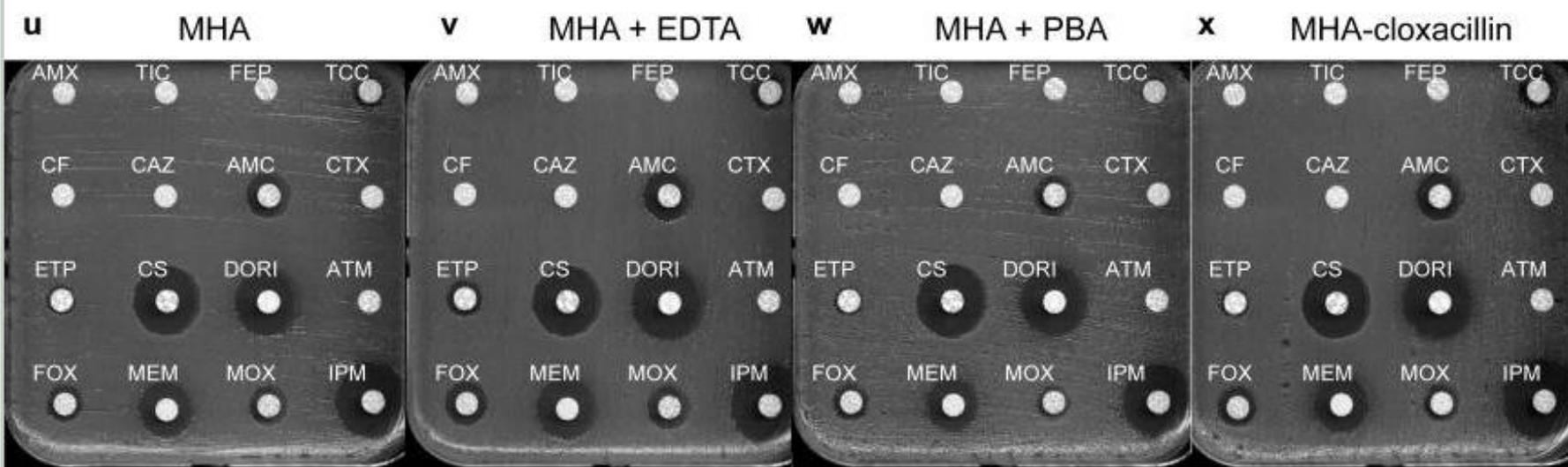


# Détection phénotypique des carbapénémases la diffusion et l'utilisation des inhibiteurs

E (strain 27) : *E. coli* OXA-48, CTX-M-9

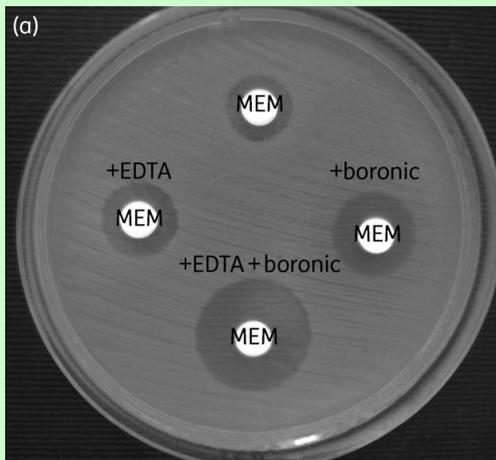


F (strain 20) : *K. pneumoniae* : CTX-M-15, OXA-1, TEM-1, decreased permeability

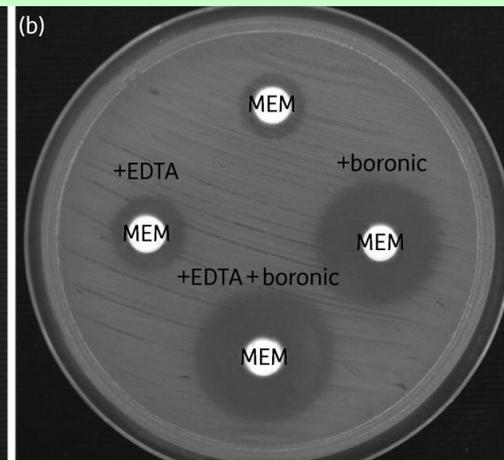


# Détection phénotypique disques combinés

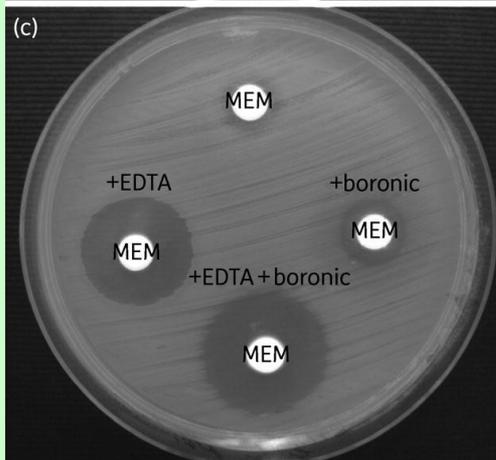
**KPC + VIM + BLSE**



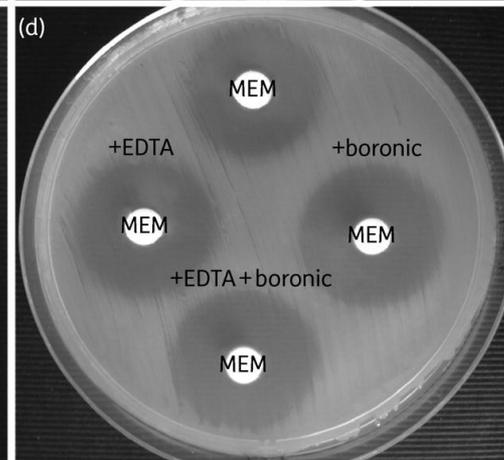
**KPC + BLSE**



**VIM**



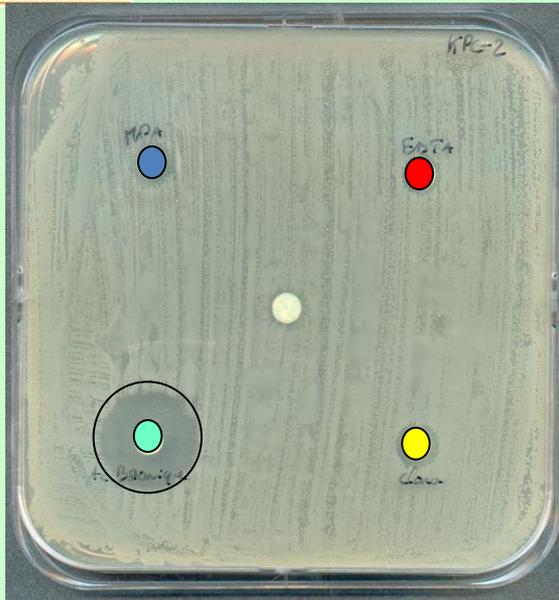
**AmpC + BLSE**



Tsakris A et al. *J. Antimicrob. Chemother.* 2010;jac.dkq210

# Détection phénotypique disques combinés

KPC



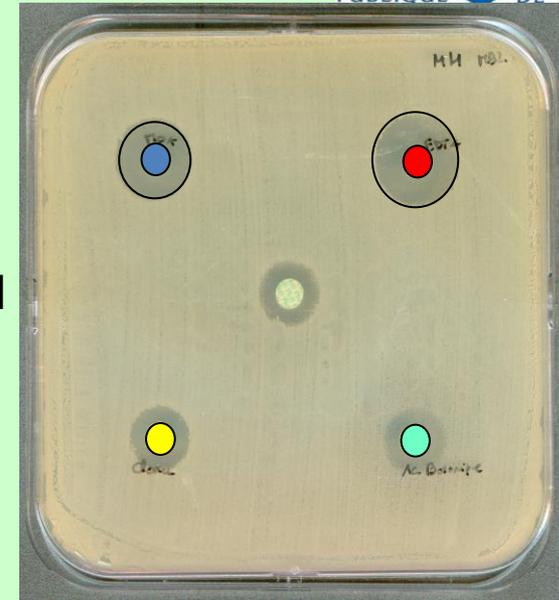
EDTA

VIM

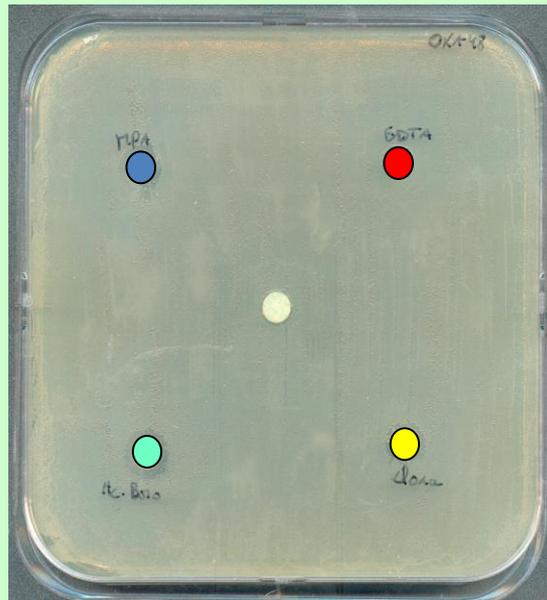
MPA

Ac.  
boronique

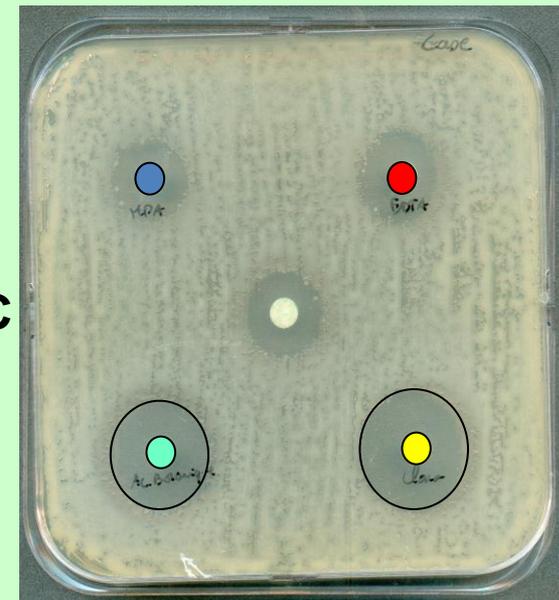
Cloxacilline



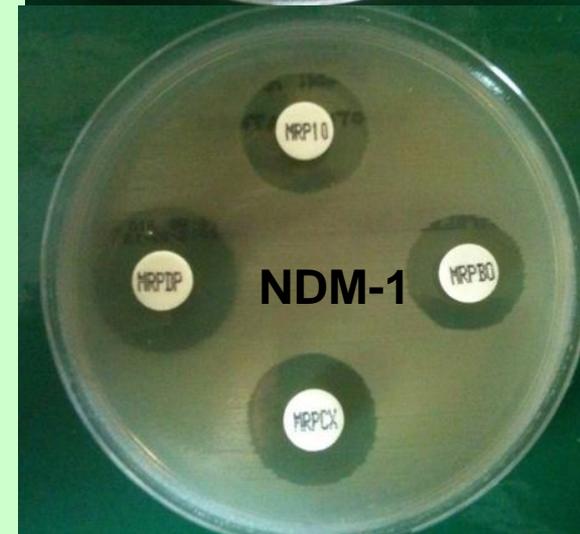
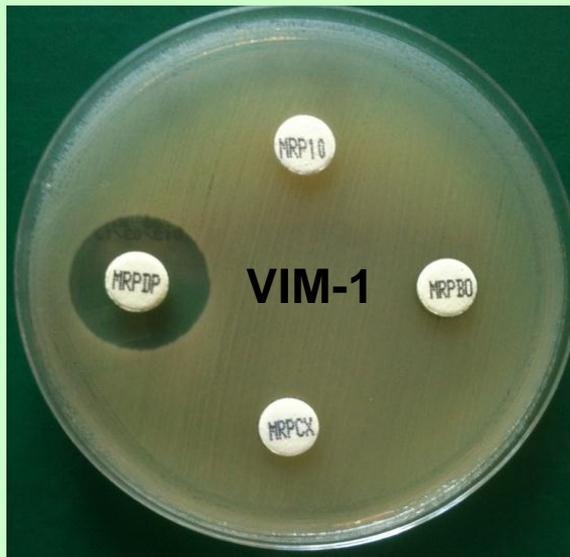
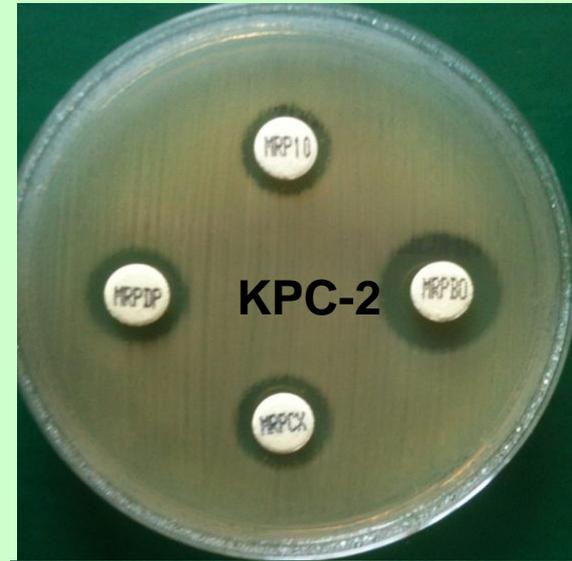
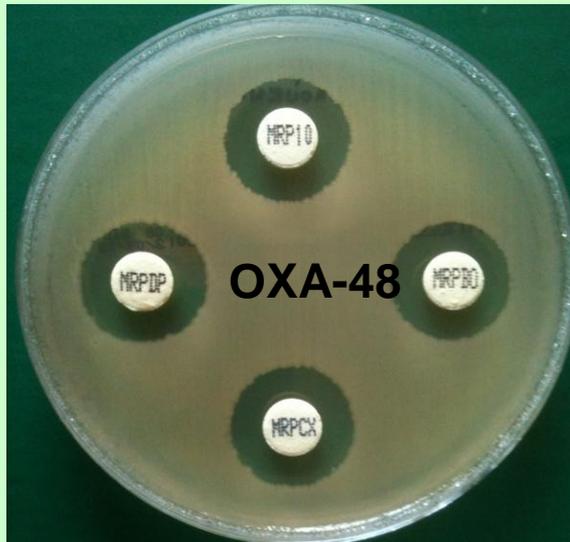
OXA-48



AmpC



# Détection phénotypique disques combinés

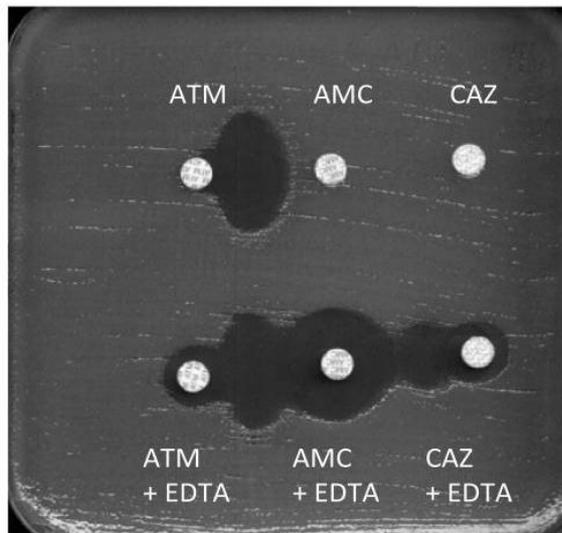


# Détection phénotypique des carbapénémases

## la diffusion et l'utilisation des inhibiteurs

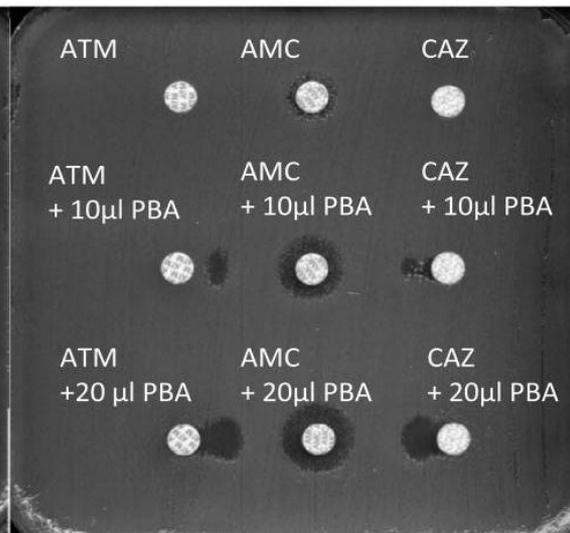
**A**

Strain 10 : *K. pneumoniae* VIM-4, SHV-5  
 Synergy +/- EDTA



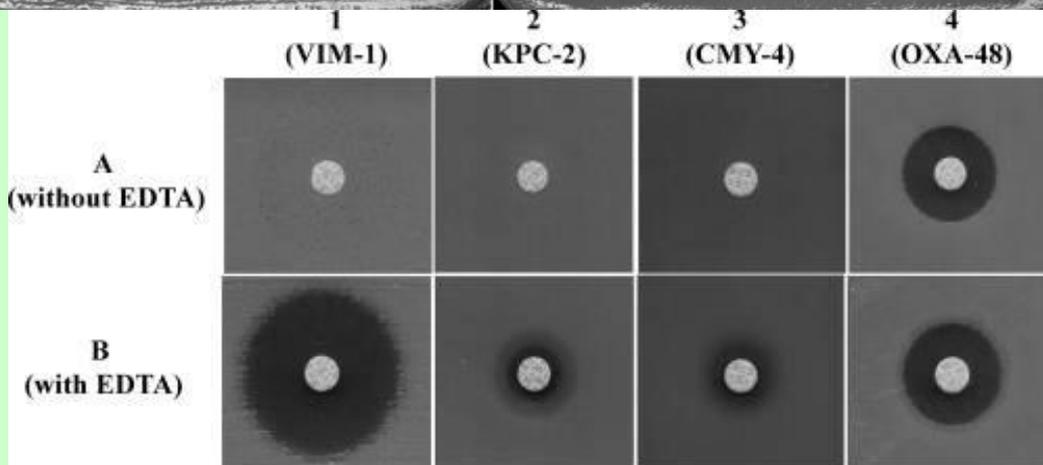
**B**

Strain 25 : *K. pneumoniae* KPC-2,  
 CTX-M-15, TEM-1  
 Synergy +/- PBA



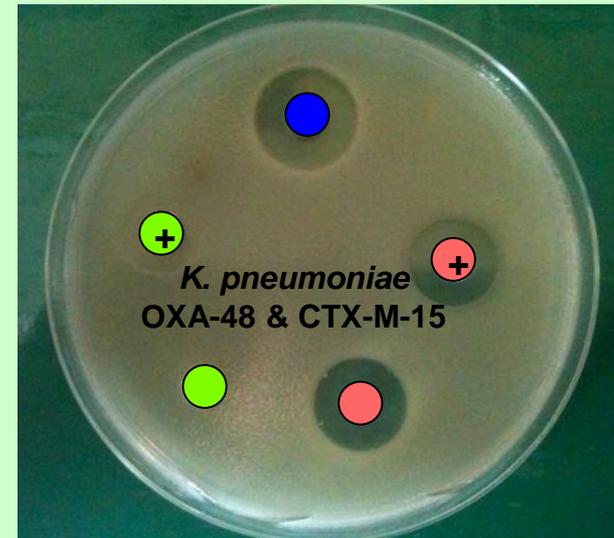
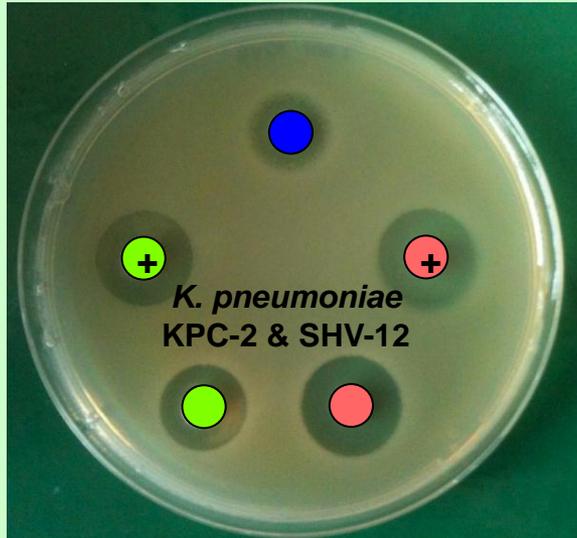
Birgy et al. JCM 2012,  
 50:1295-1302

Pluquet et al. JCM, 2011,  
 49: 2667-70

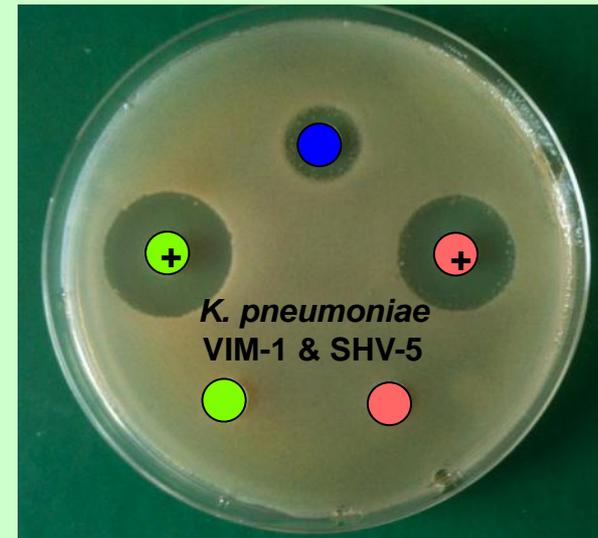
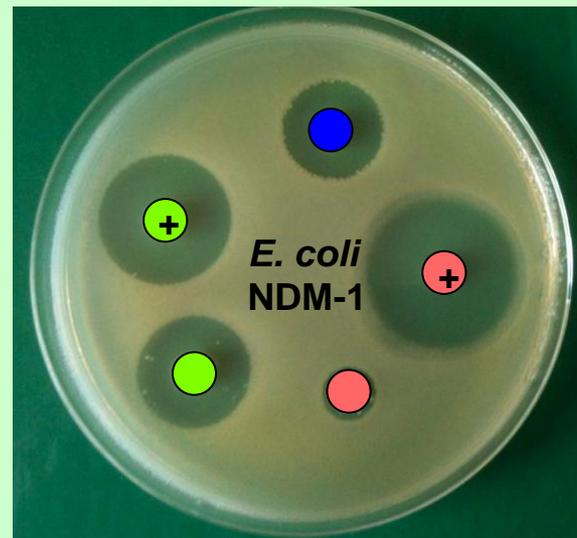


# Détection phénotypique disques combinés

IPM   
 TEM   
 + EDTA



MOX   
 + EDTA



# Les systèmes automatisés en milieu liquide

Woodford et al. JCM, 2010, 48:2999-3002

Panel Testé : 55 EB R carbapénèmes

## 39 carbapénémases

8 KPC (7 KP, 1 E. cloacae)  
11 OXA-48 (10 KP, 1 E. coli)  
10 IMP (7 KP, 2 E. cloacae, 1 E. coli)  
3 VIM (3 KP)  
7 NDM-1 (3 E. coli, 2 CF, 1 E. cloacae, 1 KP)

## 16 non carbapénémases

9 KP BLSE + imperméabilité  
6 E. cloacae ampC et imperméabilité  
1 E. coli CTX-M-15 et imperméabilité

	39 Carbase +	16 non carbase	Sensibilité %	Spécificité %
Phoenix NMIC/id76	39	16	100	0
Microscan NM36	33	15	85	6
Microscan NBC39	32	13	82	19
Vitek2 AST-N054	29*	10	74	38

KPC et MBL : OK - OXA-48 : moyen

\* 4IMP

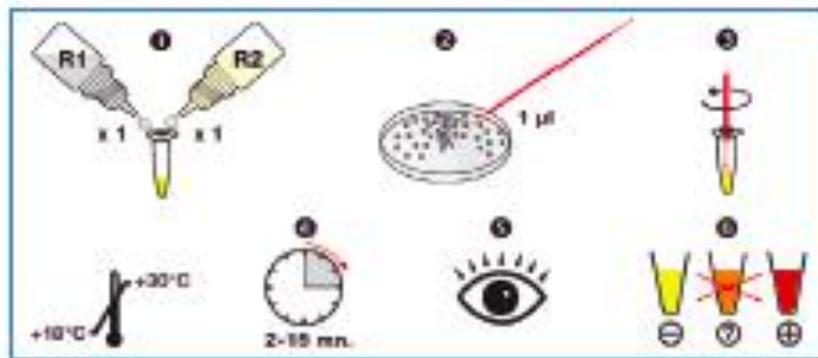
# Les milieux sélectifs

	Sensibilité %	Spécificité %	Commentaires
ChromID ESBL	88-96	20-85	ESBL or not OXA-48 bof
ChromID Carba	91-92,4	89-97	++ OXA-48 sf si bas niveau
ChromAgar KPC	85	40 - 89	OXA-48 bof
Colorex KPC	56	47	
Brillance CRE	78	66	OXA-48 bof
SuperCarba	95,5	82,2	

1. PCR maisons, multiplex ou non
1. PCR temps réel maisons  
Taqman, Light Cyclor
3. PCR temps réel commerciales
  - ✓ MBL : hyplex®-MBL ID Multiplex PCR-Elisa (VIM, IMP)  
échantillons cliniques sensibilité 98%, spécificité 98,6%  
Long et fastidieux
  - ✓ New NucliSENS EasyQ KPC test : Sensibilité 100% sur isolats
4. PCR temps réel sur selles inoculées : 4 heures  
Naas T sur NDM-1 et OXA-48  
NDM : détection de 10 à 30 CFU pour 100 mg de selles  
OXA-48 : détection de 10 à 50 CFU pour 100 mg de selles



## Le test beta-lacta® (Bio-Rad)



- No change in color → negative (●) - Change to red or purple → positive (●) - Change to orange → non-interpretable (x)

Test développé pour détecter la résistance aux C3G sur colonies  
L'évaluation a montré que ce test fonctionne aussi avec les KPC et MBL.  
Pour les OXA-48 isolées, les résultats sont positifs lent ou douteux.

Test très bon sur la détection directe des BLSE à partir des urines.

## Spectrophotométrie :

Culot de 1,5 ml de TCS O/N repris dans 0,5 ml PBS, soniqué et centrifugé.

Le surnageant est testé avec imipénème avec un spectrophotomètre.

Lecture en 10 minutes

Sensibilité 100% et spécificité 95% (E. cloacae hyperproducteur)

*Bernabeu S. et al. DMID 2012, 74:88-90*

## Acidimétrie :

A partir de colonies dans un tampon de lyse (30') puis centrifugation.

30  $\mu$ l du surnageant testé avec le substrat avec ou sans inhibiteur et un indicateur de pH.

Lecture en 2 heures à 37° C

Sensibilité 100% et spécificité 100%

*Dortet L. et al. AAC 2012 doi:10.1128/01395-12*

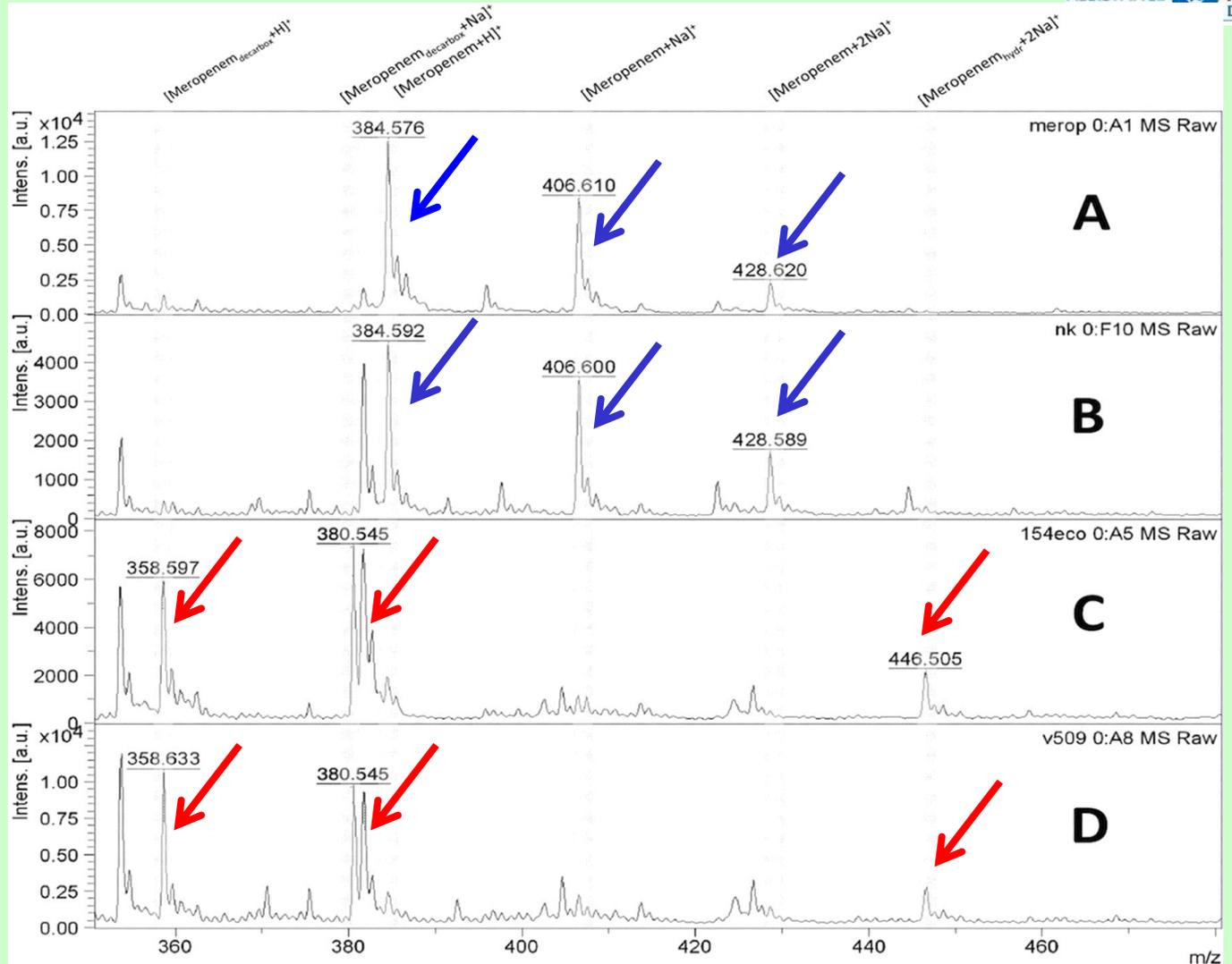
# MALDI-TOF MS spectrum showing meropenem, sodium salts of meropenem, and degradation products.

Contrôle négatif

Contrôle *K. pneumoniae*

*E. coli* NDM-1

*A. baumannii* NDM-1



Culot 1ml Mc Farland 3 incubé 2h 35° C

Hrabák J et al. J. Clin. Microbiol. 2012;50:2441-2443

Journal of Clinical Microbiology

# Quand et comment utiliser ces tests

	Tests enzymatiques	Tests moléculaires	MS-Tof	Milieux selectifs	Hodge Test	Tests phénotypiques
prélèvements	+/-	+	ND	+	-	-
selles	-	+	-	++	-	-
Colonies	+	+	+		+	+
ATB	+	+	+		+	+
délai	≤ 3 h	≤ 6 h	≤ 4 h	24 h	24-48 h	24-48h

# Remerciements

**Dr Dominique Decré  
Nathalie Genel**

**Pr Edouard Bingen  
André Birgy**

**Dr Hedi Mammeri**

Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, Poirel L, Woodford N, Miriagou V; European Network on Carbapenemases. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. Clin Microbiol Infect. 2012; 18: 432-8.

Doyle D, Peirano G, Lascols C, Lloyd T, Church DL, Pitout JD. The Laboratory Diagnosis of Enterobacteriaceae that produce Carbapenemases. J Clin Microbiol. 2012 Sep 19. [Epub ahead ofprint]