

EVALUATION DES PERFORMANCES DE 2 MILIEUX CHROMOGÈNES POUR LA DÉTECTION D'ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE CARBAPÉNÉMASES (CPE)



Jessica Vandenhoeck
Laboratoire de microbiologie
ULB, Hôpital Erasme, Bruxelles

Table des matières

Ç Introduction :

- Ç Résistance aux carbapénèmes des entérobactéries
- Ç Epidémiologie des Entérobactérie Productrice de Carbapénémase (CPE) en Belgique

Ç Objectifs de l'étude

Ç Matériel et méthodes

- Ç Evaluation des boîtes chromID OXA-48 et CARBA sur des souches caractérisées génotypiquement
- Ç Evaluation prospective des 2 milieux, et d'un milieu d'enrichissement pour la détection des CPE dans des frottis rectaux

Ç Résultats

Ç Conclusions

Introduction

Entérobactéries productrices de carbapénèmases - Problématique

- Ç Carbapénèmes = classe d'antibiotiques à large spectre active sur les bactéries à Gram-négatif multirésistantes → impasse thérapeutique
 - Ç Taux de mortalité élevé
 - Ç Potentiel de dissémination important (élément génétique mobile) → risque d'épidémie
 - Ç Contraction de CPE par un nombre croissant de patients dans la communauté
- Difficulté de définir le profil des patients à risque chez lesquels un dépistage doit être effectué dès l'admission

Introduction

Résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries -
2 mécanismes :

- Ç Association **céphalosporinase/BLSE** + ↓ **de perméabilité** par perte ou altération de porines
- Ç **Production de carbapénémases**

Introduction

Carbapénèmases chez les entérobactéries - Classification de Amber:

Classification	Enzyme	Spectre d'activité
A type sérine enzyme	KPC, GES	Toutes les β -lactamines
D type sérine enzyme	OXA-48	Résistance de bas niveau aux carbapénèmes et de haut niveau à la témocilline
B type métallo-enzyme à zinc	NDM, VIM, IMP	Toutes les β -lactamines sauf la zétronam

KPC = Klebsiella pneumoniae Carbapenemase;

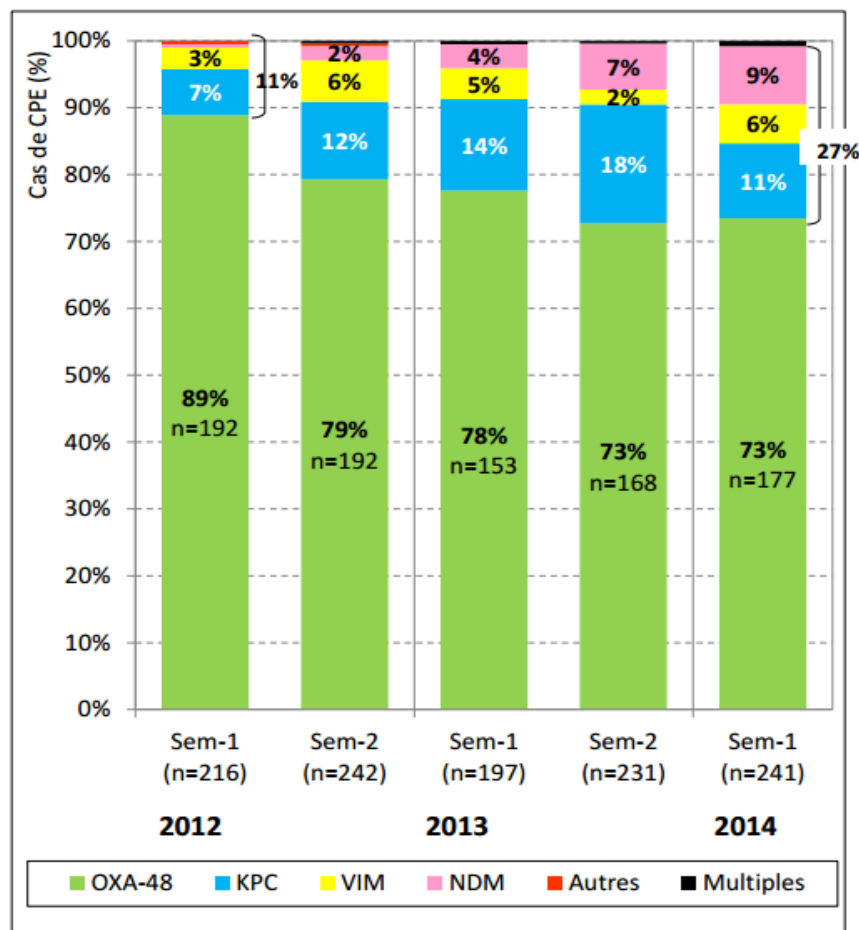
VIM = Verona Imipenase;

GES = Guyanna Extended Spectrum beta lactamase

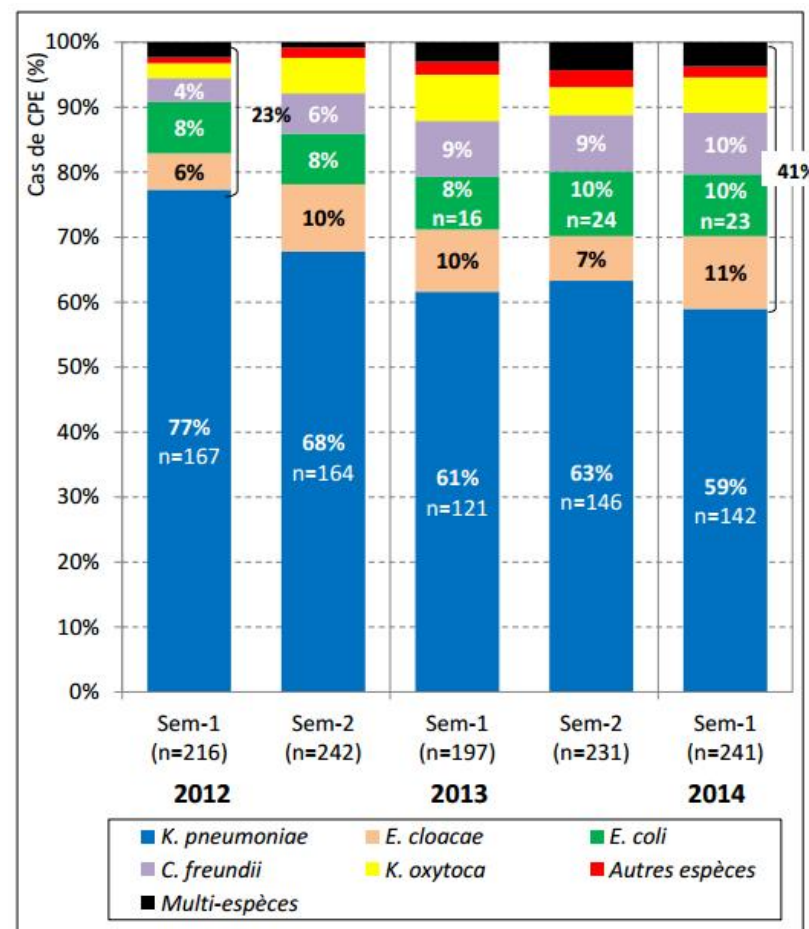
Introduction

Epidémiologie : CPE en Belgique (2012-mi 2014)

Par type d'enzyme



Par espèce bactérienne



Objectifs de l'étude

- Evaluation de deux milieux chromogènes (BioMérieux) pour la détection de CPE sur

 - souches bien caractérisées génotypiquement

 - frottis rectaux (en prospectif) de janvier à mars 2015

- Evaluation de l'apport d'un milieu d'enrichissement (bouillon MacConkey, BD)

Matériel et méthodes

Ç Milieux évalués :

- Ç ChromID OXA-48 (BioMérieux)

- Ç ChromID CARBA (BioMérieux)

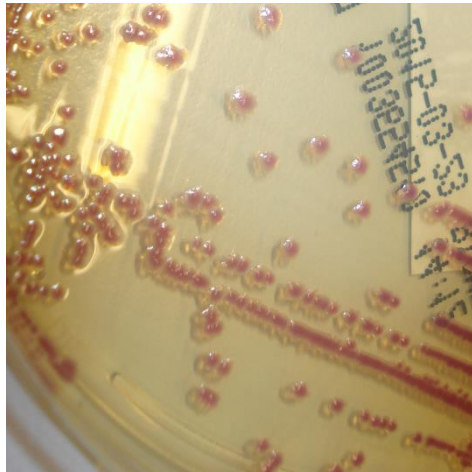
Ç Frottis rectaux : ESwab (BD)

- Ç Boite MacConkey (témoin de croissance) (BD)

- Ç Milieu d'enrichissement : bouillon MacConkey (BD)

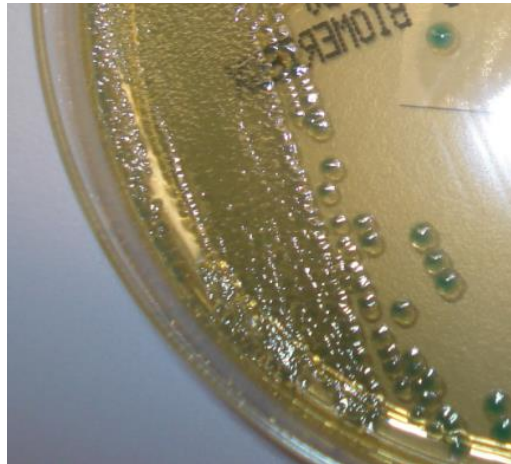
Matériel et méthodes

E. coli OXA-48

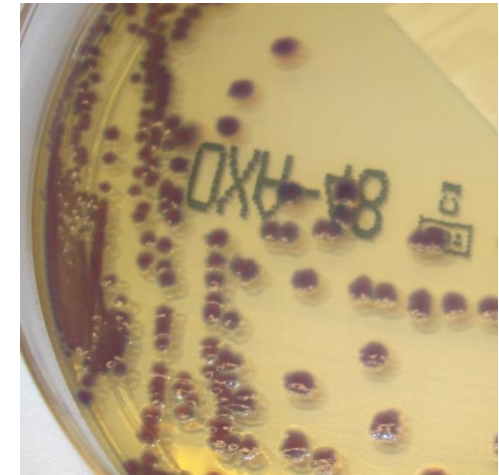


Milieu
ChromID
OXA-48

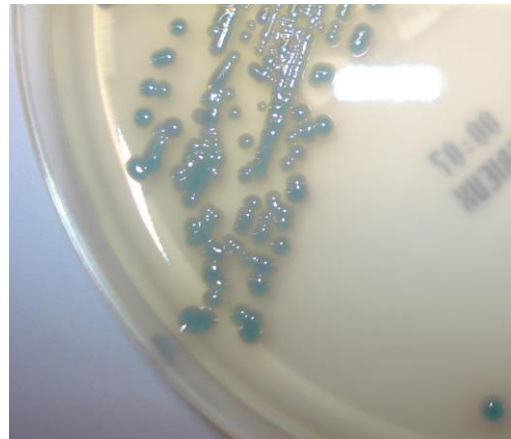
E. cloacae OXA-48



C. freundii OXA-48



Milieu
ChromID
CARBA



Matériel et méthodes

1. Evaluation des milieux sur souches phénotypiquement et génotypiquement bien caractérisées (n=44)

44 souches :

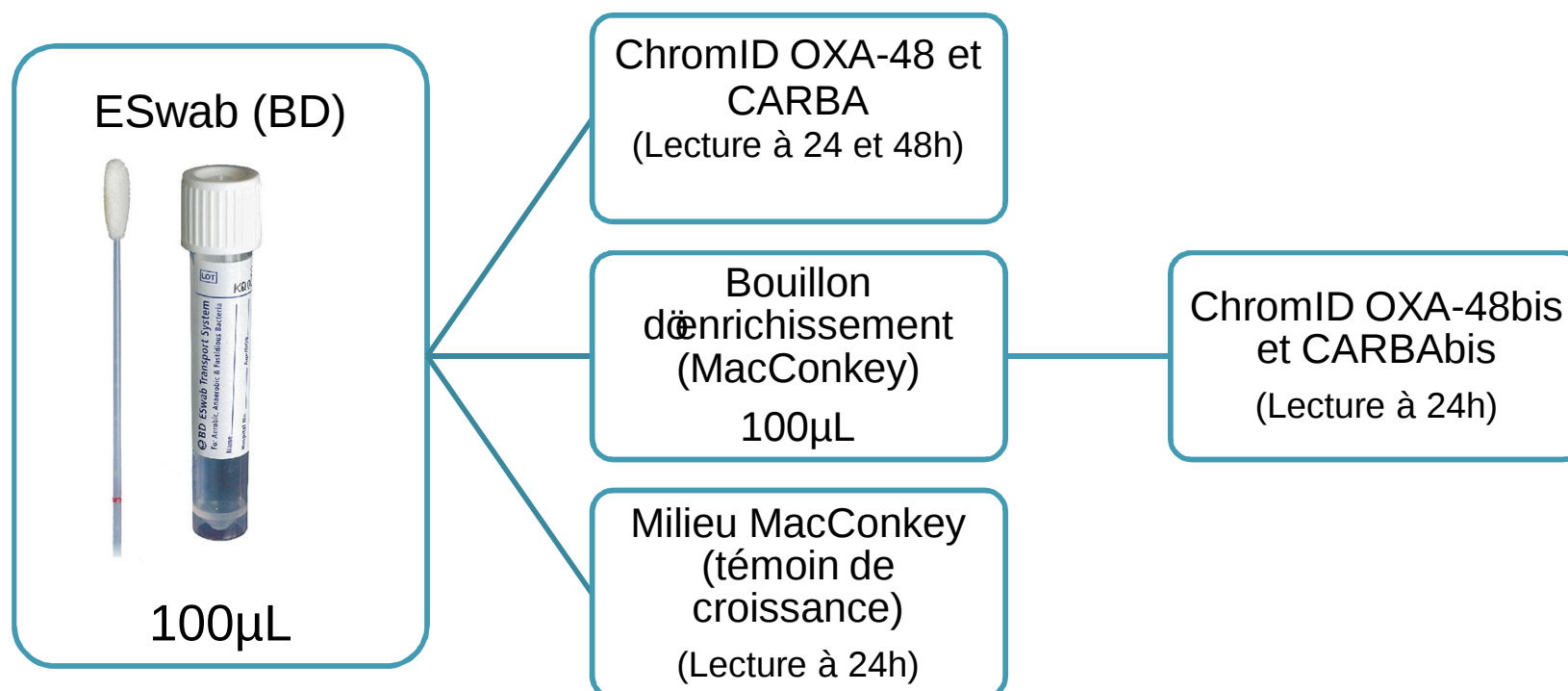
- ☺ CPE : OXA-48 (n=6), KPC (n=3), VIM (n=4), NDM (n=3)
- ☺ Entérobactéries BLSE de type CTX-M (n=11)
- ☺ Autres : *A. baumannii* (n=3 ; OXA-58, OXA-23 et NDM), *P. aeruginosa* (n=2 ; VIM, IMP)
- ☺ Entérobactéries présentant un profil « sauvages » (n=12)

➔ **Evaluation de la croissance, de la morphologie et de la couleur**

Matériel et méthodes

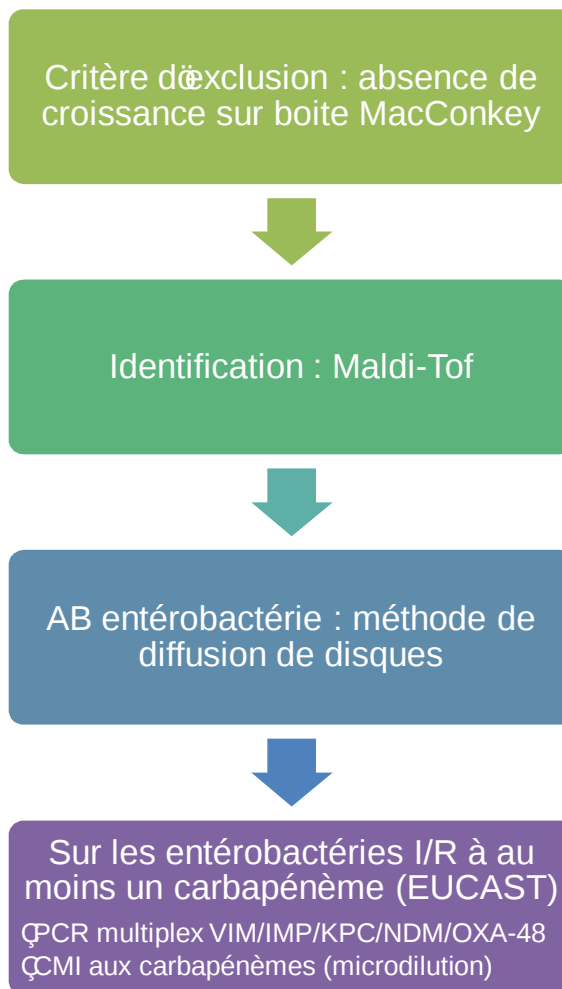
2. Evaluation prospective des 2 milieux et d'un milieu d'enrichissement pour la détection des CPE

- Dans des frottis rectaux de patients hospitalisés
- Frottis réalisés dans la cadre de dépistage systématiques de patients à risque ou d'un suivi de porteurs connus



Matériel et méthodes

Lecture, identification et test de sensibilité aux carbapénèmes



Résultats

1. Evaluation des milieux sur souches phénotypiquement et génotypiquement bien caractérisées (n=44)

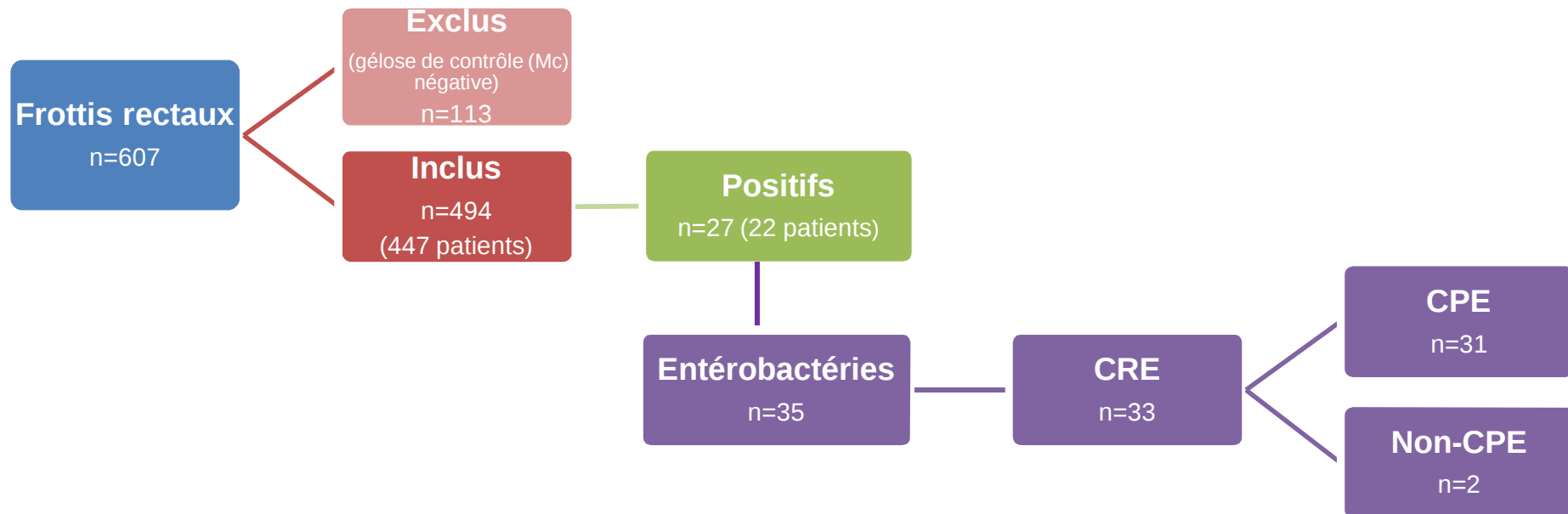
Types	N	ChromID OXA-48	ChromID Carba
CPE OXA-48	6	6	4
CPE VIM,IMP,KPC,NDM	10	0	10
BGN non fermentant VIM/NDM/IMP/OXA-58/OXA-23	5	2 ^a	5 ^a
Entérobactéries BLSE	11	0	2 ^b
Entérobactéries multisensibles	12	0	0

^a coloration non spécifique

^b 1 présentait une coloration spécifique

Résultats

2. Evaluation prospective des 2 milieux et d'un milieu d'enrichissement pour la détection des CPE



Résultats

Type de CPE par espèce bactérienne

Espèces	N souches	KPC	NDM	VIM	OXA-48	OXA-48 + VIM	IMP	Aucune
<i>K. pneumoniae</i>	8	1	3	0	2	0	0	2
<i>K. oxytoca</i>	6	1	0	0	5	0	0	0
<i>C. freundii</i>	15	0	0	0	14	1	0	0
<i>E. coli</i>	4	0	0	0	3	0	0	1
<i>E. cloacae complex</i>	2	0	0	0	1	0	0	1
Total	35	2	3	0	25	1	0	4

494 échantillons inclus

ChromID OXA-48

ChromID Carba

Timing

24h

48h

Enrichissement

24h

48h

Enrichissement

N échantillons pos

29

64

28

50

116

66

N entérobactéries

24

24

24

16

18

24

N CRE

24

24

24

14

16

24

N CPE

24

24

24

13

15

22

N Oxa48

23

23

23

7

9

16

N Oxa48 + VIM

1

1

1

1

1

1

N NDM

3

3

3

N KPC

2

2

2

Résultats

Sensibilités des différents des milieux

		N cultures positives pour entérobactérie(s) sur			N CPE sur			Sensibilité %				
		ChromID OXA-48	ChromID CARBA	ChromID OXA-48 + CARBA	ChromID OXA-48	ChromID CARBA	ChromID OXA-48 + CARBA	ChromID OXA-48 pour la détection de		ChromID CARBA pour la détection de		ChromID OXA-48 + CARBA
								CPE	classe D	CPE	Autres classes	CPE
après 24h	Frottis rectaux (n=494)	18	14	25	18 (3.6%)	11 (2.2%)	22 (4.45%)	78,3%	94,7%	47,8%	100,0%	95,7%
	Souches Entérobactéries (n=35)	24	16	32	24 (68.6%)	13 (37.1%)	29 (82.9%)	77,4%	92,3%	41,9%	100,0%	93,5%
après 48h	Frottis rectaux (n=494)	18	16	25	18 (3.6%)	13 (2.6%)	22 (4.45%)	78,3%	94,7%	56,5%	100,0%	95,7%
	Souches Entérobactéries (n=35)	24	18	32	24 (68.6%)	15 (42.9%)	29 (82.9%)	77,4%	92,3%	48,4%	100,0%	93,5%
après enrichissement	Frottis rectaux (n=494)	18	20	25	18 (3.6%)	18 (3.6%)	22 (4.45%)	78,3%	94,7%	78,3%	100,0%	95,7%
	Souches Entérobactéries (n=35)	24	24	31	24 (68.6%)	22 (62.9%)	29 (82.9%)	77,4%	92,3%	71,0%	100,0%	93,5%

classe D : OXA-48

autres classes : VIM/KPC/NDM

Conclusions

1. ChromID OXA-48

Incubation à 48h vs 24h

- Ç **Pas de support** d'une **incubation à 48h** pour la détection de CPE

Enrichissement vs 24h

- Ç Récupération de 2 souches OXA-48
- Ç Perte d'un échantillon présentant 2 souches OXA-48

Sensibilité

- Ç **94.7%** (18/19 échantillons) pour la **détection d'OXA-48**

Spécificité

- Ç **100%** → **Pas de faux positifs** sur les boîtes ChromID OXA-48
- Ç Pas de diminution de la Sp si prolongation incubation ou enrichissement

 **milieux performant pour la détection des OXA-48**

Conclusions

2. ChromID CARBA

Incubation 48h vs 24h

- Ç Récupération d'2 souche OXA-48 (poussant sur ChromID OXA-48)

Enrichissement vs 24h

- Ç Pas de CPE supplémentaires autres qu'OXA-48
- Ç Récupération de 9 souches CPE OXA-48 (8 échantillons) (pos. sur ChromID OXA-48)

Sensibilité

- Ç **100% pour la détection de CPE non OXA-48** (5 frottis, 6 souches)

Spécificité

- Ç **99.4% → 3 entérobactéries non CPE** sur ChromID CARBA

 **Croissance de toutes les CPE non OXA-48** (3 NDM, 2 KPC, 1 OXA-48+VIM)

Conclusions finales

Combinaison ChromID OXA-48 et CARBA

- Ç **Pas d'apport d'une incubation à 48h**
- Ç Le bouillon d'**enrichissement** à permis de **recupérer un échantillon avec une CPE OXA-48** (connu dans des prélèvements antérieurs → traité?)
- Ç La combinaison des 2 milieux avec une incubation de 24h nous permet de détecter :
 - Ç 22 des 23 échantillons positifs pour une CPE ou 29 des 31 souches CPE
 - ➔ **En combinant les 2 milieux à 24h toutes les CPE non OXA-48 sont détectées et seul 1 échantillons OXA-48 n'est pas détecté**
- ➔ **En combinant les 2 milieux avec une incubation de 24h et en ajoutant un bouillon d'enrichissement, toutes les CPE sont détectées**



Merci pour votre attention !

Remerciements

- aux microbiologistes de l'hôpital Erasme, Bruxelles
Dr O. Denis, Dr S. Roisin, Ph M. Dodemont
- à la cadre scientifique C. Nonhoff
- l'équipe de technologues du service de microbiologie de l'hôpital Erasme