



Nationales Referenzlaboratorium zur Früherkennung
neuer Antibiotikaresistenzen und Resistenzmechanismen

Centre National de Référence des Résistances Emergentes aux Antibiotiques

**Rapport d'activité 2017
(1/01/2017-15/09/2017)**

Prof. Patrice Nordmann (Directeur), MD, PhD, Spec. Microbiologie
Professeur Ordinaire de Microbiologie Médicale et Moléculaire, Université de
Fribourg
Directeur de l'Unité « Résistances Emergentes aux antibiotiques »,
Université de Fribourg,
Directeur de l'Unité « Résistances Emergentes aux antibiotiques », Unité de
Recherche à titre étranger de l'Institut National de la Santé et de la Recherche
Médicale (INSERM, Paris, France), Université de Fribourg,
Médecin-Chef Adjoint, Institut de Microbiologie, CHUV, Lausanne,
Médecin Agréé, Département de Biologie, Hôpital Cantonal de Fribourg,
Fribourg

P.D. Dr. Dominique Blanc (Directeur adjoint), PhD
Chef de laboratoire, Service de Médecine préventive hospitalière et Institut de
Microbiologie, CHUV, Lausanne
Maître d'Enseignement et de Recherche, Faculté de Biologie et de Médecine,
Université de Lausanne

Fribourg le 27/09/2017. Pr. P. Nordmann

Table des matières

1. OBJECTIFS ET ORGANISATION DU NARA	3
1.1. Objectifs	3
1.2. Personnel du NARA	3
1.3. Locaux du NARA	4
2. ACTIVITES D'EXPERTISE ET DE CONSEIL	4
2.1. Expertise des mécanismes de résistance émergents aux antibiotiques	4
2.1.1. Méthodes et modes opératoires	6
2.1.1.1 Bactéries à Gram positif	6
2.1.1.2 Bactéries à Gram négatif	8
2.1.2. Souches résistantes analysées au NARA, 1 ^{er} janvier 2017-15 septembre 2017	10
2.1.3. Comparaison de souches et épidémies	13
3. MISE AU POINT ET EVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTICS DES RESISTANCES EMERGENTES ET DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES	14
3.1. Mise au point de tests de diagnostic rapide des résistances émergentes 14	
3.2. Evaluation des tests de diagnostic des résistances émergentes	15
3.2.1 Evaluation des tests rapides RAPIDEC CARBA NP et β -CARBA pour la détection des carbapénèmases	15
3.2.2 Evaluation des panels Sensititre, Microscan et UMIC pour la détection de la résistance à la colistine	16
3.3. Evaluation de l'activité de nouveaux antibiotiques/antiseptiques	17
4. DEVELOPPEMENT D'UN SITE INTERNET	17
5. ENSEIGNEMENTS ET FORMATION	18
6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS	18
6.1. Activités de recherche	18
6.2. Publications	19
6.3. Conférences invitées aux congrès internationaux	21
6.3.1 Pr P. Nordmann	21
6.3.2 Dr L. Poirel	21
6.4. Présentations aux congrès	22
6.4.1 Nationaux	22
6.4.2 Internationaux	23
7. RELATIONS INTERNATIONALES	24
8. CONCLUSION	25

1. OBJECTIFS ET ORGANISATION DU NARA

1.1. Objectifs

L'objectif général du NARA est notamment de mettre en évidence rapidement de nouvelles résistances aux antibiotiques et d'en apprécier la diffusion sur le territoire helvétique. Le NARA est proactif en proposant de nouveaux outils de diagnostic et de prévenir dans la mesure du possible le développement de nouvelles résistances.

1.2. Personnel du NARA

Le NARA groupe des compétences complémentaires sur les résistances chez les bactéries à Gram négatif et sur celles des bactéries à Gram positif et sur les résistances aux antibiotiques d'interface Homme/Animal. L'activité du NARA est adossée à celles d'équipes de recherche plus fondamentales (Unités de recherche UniFr et Unité INSERM à titre étranger, Résistances Emergentes aux antibiotiques localisée également à l'Université de Fribourg, Unité de recherche, Institut de Microbiologie, Lausanne), des réseaux de recherche nationaux (FNS) et internationaux (FP7/H2020 EU research ITRIBIS (Improving Translational Research Potential Institute of Seville) (FP7/H2020 EU research R-GNOSIS (Resistance in Gram-Negative Organisms: Studying Intervention Strategies), ERA-Net (ANIHWA [Animal Health and Welfare FP7/H2020 EU]).

Le personnel du NARA groupe microbiologistes médecins, pharmaciens et scientifiques et personnel technique. Il comprend notamment le Prof P. Nordmann ayant des compétences plus particulières en Maladies Infectieuses et Microbiologie médicale avec un domaine de prédilection, les résistances des Gram négatifs en médecine humaine, le Dr. D. Blanc plus particulièrement dans le domaine des résistances chez les Gram positifs en médecine humaine et le Dr L. Poirel dont les compétences se situent à l'interface entre les résistances émergentes observées chez l'Homme et celles observées chez l'Animal. La Dre A. Jayol, Pharmacien et Microbiologiste possédant des compétences dans le domaine des résistances émergentes aux antibiotiques, a été recrutée au NARA comme microbiologiste à temps partiel (30%). Le personnel technique du NARA comprend un technicien à 100% localisé à Fribourg et un technicien à 50% localisé à Lausanne et une secrétaire (20%) localisée à Fribourg. Le personnel du NARA est restreint à 1,4 équivalent temps plein à Fribourg, et 0.5 équivalent temps plein temps à Lausanne. Autour de ce personnel propre au NARA, trois équivalents temps plein à Fribourg (Pr. P. Nordmann, Dr L. Poirel, Dr S. Mancini, N. Kieffer) et un équivalent temps plein (Dr Blanc) participent, parmi leurs nombreuses activités, aux travaux du NARA.

Le comité du NARA comprend le Pr P. Nordmann, le Dr D. Blanc, le directeur de l'OFSP ou son représentant, le Dr L. Poirel, le Pr V. Perreten, le Pr R. Stephan, le Dr. Zbinden (directeur du SAC) et le Dr A. Kronenberg (directeur d'ANRESIS). Une réunion de lancement a été effectuée en présence de MM Blanc, Nordmann, Poirel, Zbinden et Kronenberg à la mi-février 2017. Il a été convenu les modalités de relations entre ANRESIS et le NARA avec la transmission mensuelle et systématique à ANRESIS de toutes les données recueillis par NARA. Il avait été convenu également que les activités du NARA seraient présentées au board du SAC mais aucune réunion du SAC n'a été fixée depuis cette date. Le Dr

Zbinden a d'autre part a participé avec efficacité à la correction des feuilles de demandes d'examen à adresser au NARA.

1.3. Locaux du NARA

L'Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire « Résistances Emergentes aux Antibiotiques » a été fondée en juillet 2013 et est localisée au sein du Département de Médecine de la Faculté des Sciences de l'UniFr. Son transfert était prévu pour mars 2017. Or la construction de ce nouveau bâtiment a pris du retard et le transfert de la Microbiologie de l'Université de Fribourg n'a été effectif que le 7 septembre 2017 (Chemin du Musée 18, 1700 Fribourg). Ce bâtiment totalement neuf comprend notamment 380 m² de surface dédiée à la Microbiologie (laboratoires BLS2, laboratoire BSL3 en voie de finalisation, bureaux, locaux communs...). Ce nouveau laboratoire dans ses composantes BSL2 et BLS3 disposera de tous les éléments de fonctionnement les plus modernes pour effectuer le travail de recherche sur tous types de pathogènes émergents. Il s'agira de l'unique laboratoire classé L3 du canton de Fribourg.

Le laboratoire d'épidémiologie du CHUV est rattaché au service de médecine préventive hospitalière (Prof. Giorio Zanetti) du CHUV et à l'Université de Lausanne. Le Dr Blanc est chef de ce laboratoire depuis 1991. Les missions du laboratoire sont notamment d'assumer le dépistage des bactéries multi-résistantes et de conduire une recherche fondamentale dans ce domaine. Ce laboratoire est situé dans le bâtiment principal du CHUV et partage des locaux avec l'Institut de Microbiologie (Prof. G. Greub). Le laboratoire est accrédité ISO 17025 depuis 2005 avec les laboratoires de diagnostics de l'Institut de Microbiologie. Le total des surfaces dédiées est de l'ordre de 100 m².

Les deux laboratoires disposent du matériel adapté à la réalisation des analyses microbiologiques et génétiques nécessaires à une activité de recherche et de surveillance épidémiologique dans le domaine de la résistance aux antibiotiques (cultures bactériennes, sensibilité aux antibiotiques, biochimie, biologie moléculaire). Le premier semestre 2017 a permis notamment la mise en place de techniques de séquençage de génomes complets à Fribourg (Illumina MiniSeq).

2. ACTIVITES D'EXPERTISE ET DE CONSEIL

L'un des objectifs principaux du NARA est de constituer une alerte afin de détecter et de prévenir la diffusion de toute nouvelle résistance qui pourrait avoir un impact réel en Santé publique en Suisse.

2.1. Expertise des mécanismes de résistance émergents aux antibiotiques

Le NARA fait partie des huit laboratoires experts du SAC. A ce titre il propose comme les autres laboratoires experts du SAC, l'étude de mécanismes de résistances déjà identifiés et relativement prévalents comme l'étude entérobactéries produisant une BLSE, une β -lactamase de type AmpC, une carbapénèmase connue, des staphylocoques résistants à la méthicilline ou résistants de bas niveau aux glycopeptides (VISA, GISA), des entérocoques résistants aux glycopeptides.

La liste des espèces bactériennes et de leurs résistances émergentes dont l'expertise est réalisée plus spécifiquement par le NARA a été communiquée aux laboratoires hospitaliers et de ville en juin 2017 (Tableau 1). C'est l'envoi spontané de toute souche exprimant une nouvelle résistance phénotypique (qu'elle soit avérée ou supposée) qui constitue la base des souches étudiées par le NARA.

Tableau 1. Liste des espèces bactériennes et des résistances émergentes dont l'expertise est réalisée par le NARA

Espèce ou famille bactérienne	Résistance
<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. equisimilis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i>	Pénicilline G
Streptocoques <i>Staphylococcus aureus</i> et staphylocoques à coagulase-négative (SCN)	Vancomycine Vancomycine (haut niveau ; CMI >8 mg/L) Tigécycline
<i>Staphylococcus aureus</i> et SCN	Linézolide, daptomycine, ceftaroline, ceftobiprole
<i>Enterococcus sp.</i>	Daptomycine, linézolide, tigécycline,
Enterobactéries en particulier <i>Escherichia coli</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Serratia marcescens</i> , <i>M. organii</i>	Carbapénèmes (carbapénémases)
Enterobactéries	Résistance aux polymyxines (colistine) à l'exception des résistances naturelles de <i>H. alvei</i> , <i>Serratia sp</i> , <i>Proteus sp</i> et <i>Morganella sp</i> . Résistance à tous les aminosides Résistance à la fosfomycine Résistant aux nouvelles associations β -lactamines/inhibiteurs de β -lactamases (ex ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam) Toto-résistance
<i>Pseudomonas spp</i> , <i>Acinetobacter spp</i>	Résistance aux carbapénèmes (carbapénémases) Résistance aux polymyxines (colistine) Résistance à tous les aminosides Toto-résistance
<i>Burkholderia sp</i> , <i>Stenotrophomonas sp</i> et Gram négatif apparentés (<i>Achromobacter...</i>)	Toto-résistance Résistance aux polymyxines (colistine) Résistance à tous les aminosides Toto-résistance

Le NARA est désormais en contact étroit avec les structures de soins suisses (publics et privés) pour identifier tout phénomène émergent. Cette mission de service public repose sur une réactivité maximale, c'est-à-dire, dans la mesure du possible, tous les résultats ont été fournis dans les 48-72 h (sauf pour une résistance totalement nouvelle dont l'identification nécessite parfois plus de temps afin de prévenir la diffusion de ces résistances, voire de proposer la thérapeutique la plus adaptée. Ce délai de 48-72 h est en partie dû à la nécessité de réisoler (de recultiver) et de réidentifier toutes les souches envoyées ainsi que

de vérifier la réalité de leur phénotype de résistance attendu. L'expérience acquise en 2017 dans les activités du NARA nous a montré l'absolue nécessité de cette étape.

2.1.1. Méthodes et modes opératoires

Parmi les techniques d'études de la résistance que possède le NARA, on note les techniques classiques d'études phénotypiques de sensibilité aux antibiotiques, de détection rapide de la sensibilité aux antibiotiques, des milieux de culture de screening de bactéries résistantes, PCR, clonage, séquençage, séquençage de haut débit (DNA-seq), analyse bioinformatique, expression des gènes (mARN), techniques de comparaison de souches par électrophorèse en champ pulsé, par MLST ou par séquençage complet du génome.

2.1.1.1 Bactéries à Gram positif

Tigecycline

La résistance à tigécycline (une tétracycline) est rare chez les staphylocoques, exceptionnelle chez les entérocoques et non rapportée chez les streptocoques A, B, C et G. Une résistance diminuée *in vitro* a été rapportée chez les entérocoques et *S. aureus*.

Phénotype

Détermination de la CMI à la tigécycline selon norme EUCAST par dilution en milieu liquide ; staphylocoques: MIC>0.5 mg/L, enterocoques: MIC>0.5 mg/L

Dans le cas où le phénotype de résistance est confirmé, envisager un séquençage complet du génome.

Génotype

Chez les staphylocoques : présence d'une pompe à efflux (gène *mepA*) dont l'expression serait dérégulée à la suite d'une mutation dans le gène *mepR*. La méthode est en cours de développement.

Ce test diagnostic est en cours de développement.

Linézolide

La résistance est rare et non encore rapportée chez les streptocoques A, B, C et G (EUCAST). Elle est de plus en plus fréquente chez les entérocoques et les staphylocoques. Des mutations dans le domaine V de la boucle central du 23S rRNA représente le mécanisme le plus commun de résistance aux oxazolidinone chez les entérocoques, avec une mutation G2576T comme étant la plus fréquente. La présence de mutations dans les gènes codant pour le domaine V du rRNA 23S et dans les protéines ribosomales L3 (rplC) et L4 (rplD) confère une résistance chromosomique. Les bactéries à Gram+ possèdent 4-6 copies de ce gène et la résistance est cliniquement relevant lorsque plus d'un de ces gènes a subi une mutation, ce qui explique la fréquence basse de cette résistance. C'est le mécanisme de résistance le plus commun.

La résistance transférable (plasmidique) est due au gène multirésistant *cfr*. Ce gène est hautement transférable entre espèces et a été retrouvé chez les streptocoques, les staphylocoques et les entérocoques. Ce gène code une méthyltransferase rRNA qui modifie le résidu adénine à la position 2503 du domaine V du 23S RNA et ainsi confère une résistance aux oxazolidinones, aux phenicols, aux lincosamides, aux pleuromutilines et à la streptogramine A (antibiotiques PhLOPSA). Un nouveau gène *cfr(C)* a été identifié chez *Clostridium difficile*, mais apparemment pas encore chez les entérocoques.

Le gène *optrA* a également été décrit comme conférant une résistance transférable (plasmidique) aux oxazolidinones et phénicolés. Sa présence a été décrite chez les entérocoques et *S. suis*

L'acquisition des gènes *cfr* ou *optrA* entraînent en général une résistance croisée au linézolide et au chloramphénicol. Une résistance plasmidique au linézolide est donc fortement suspectée en cas de résistance au linézolide et au chloramphénicol.

Phénotype

Détermination de la CMI au linézolide selon la norme EUCAST par microdilution en milieu liquide et/ou bandelettes (Etest).

Génotype

Résistance chromosomique

L'analyse consiste en l'amplification du gène 23S rRNA et de son séquençage pour identifier d'éventuelles mutations.

Résistance plasmidique

L'analyse consiste à la recherche des gènes *cfr* et/ou *optrA* par PCR, et, le cas échéant, la détermination de leur type par séquençage du produit PCR.

Ce test diagnostic est entièrement développé et fait partie du domaine d'accréditation des laboratoires de Lausanne (IMU-DAM (STS0328) selon la norme ISO 17025).

Daptomycine

Cette résistance est rare chez staphylocoques et non rapportée streptocoques A, B, C, et G (EUCAST). La résistance chez *Staphylococcus aureus* est due principalement à des mutations ponctuelles dans le gène chromosomique *mprF*.

Phénotype. Détection phénotypique par CMI selon la technique de l'E-test selon les normes EUCAST.

Génotype. L'analyse consiste à séquencer le gène *mprF* dans les souches de *S. aureus* et de comparer la séquence avec des séquences de références.

Ce test diagnostic est en phase de finalisation.

Ceftaroline

La ceftaroline, comme le ceftobiprole, est une céphalosporine de dernière génération utilisée dans le traitement des infections à MRSA. Une sensibilité diminuée (CMI entre 0.2 et 2 µg/ml) a été rapportée dans certaines souches qui serait associée avec les séquences types ST228, 239 et 247 Ce bas niveau de résistance serait associé à des mutations dans la PBP2a. Un haut niveau de résistance a récemment été rapporté mais une seule fois.

Phénotype

Méthode par disque confirmée par Etest selon les normes EUCAST.

- Sensibilité diminuée : CMI values of > 1 µg/ml
- Haut niveau de résistance : CMI >32 µg/ml

Génotype

Le génotype de résistance se détecte par le séquençage du gène PBP2a. Certaines mutations dans ce gène sont associées à la résistance à bas ou haut niveau à la ceftaroline. Le gène étant de grande taille (3 kb), son séquençage se réalise en plusieurs segments.

La séquence obtenue est analysée pour détecter des mutations déjà décrites (bas niveau : N146K, E150K, N204K, E239K, G246E, H351N, Y446N, E447K; haut niveau: Y446N) voir de toutes nouvelles mutations.

Ce test diagnostic est en cours de développement.

Pénicilline G

La résistance est exceptionnelle voir non rapportée chez *Streptococcus pyogenes*, *S. equisimilis*, *S. agalactiae*, *S. dysgalactiae*

Phénotype

Tester l'amoxicilline et l'association amoxicilline/acide clavulanique

Amoxicilline	Amoxicilline/a.clavulanique	Mécanisme
R	S	β -lactamase
R	R	PBP mosaïque

Génotype

Le mécanisme de résistance attendue chez un streptocoque serait la présence de mutations en mosaïques dans des PBPs qui sont difficile à détecter. En présence d'une souche suspectée de produire une beta-lactamase, le séquençage complet du génome sera effectué.

Ce test diagnostic est en cours de développement.

2.1.1.2 Bactéries à Gram négatif

Des modes opératoires détaillés pour la détermination des mécanismes de résistance en fonction des phénotypes de résistance des bacilles à Gram négatifs ont été mis au point et validés sur souches cliniques (sensibles et résistantes) depuis janvier 2017. La liste des modes opératoires complets est disponible et est résumée ci-dessous :

Carbapénèmases chez les bacilles Gram négatifs

Tests phénotypiques : Réalisation d'un antibiogramme complet selon les recommandations de l'EUCAST 2017 et mesure des diamètres d'inhibition pour les carbapénèmes.

Test rapide : Carba NP ou CarbAcineto NP tests (résultats en 2 à 4h)

Carbapénèmases chez les Entérobactéries

Tests génotypiques : PCR à discuter au cas par cas selon l'antibiogramme. Rechercher en priorité par PCR les gènes des carbapénèmases les plus fréquentes chez les Entérobactéries : OXA-48, KPC, NDM, VIM, et IMP.

Carbapénèmases chez *P. aeruginosa*

Tests génotypiques : PCR à discuter au cas par cas. Rechercher les gènes de carbapénèmases VIM, IMP et NDM par PCR en cas de diminution de la CMI imipénème EDTA de 3 dilutions par rapport à la CMI imipénème. Sinon rechercher les gènes de carbapénémase GES et KPC

Carbapénèmases chez *A. baumannii*

Tests génotypiques : PCR à discuter au cas par cas. Rechercher en priorité par PCR les gènes de carbapénèmases les plus fréquentes chez *A. baumannii* : OXA-23, OXA-40 et OXA-58.

Panrésistance aux aminosides (16S rNAMéthylases) chez les bacilles à Gram négatif

La recherche de méthylases plasmidiques responsable de panrésistance aux aminosides est effectuée en plusieurs étapes :

Tests phénotypiques : Réalisation d'un antibiogramme complet selon les recommandations de l'EUCAST 2017 et mesure des diamètres d'inhibition pour l'amikacine, la gentamicine, la tobramicine et la netilmicine.

La suspicion de méthylases plasmidiques est forte en cas de résistance à tous les aminosides testés, et en particulier si zone dite « fantôme » (double zone) autour des disques d'aminosides.

Test rapide : Rapid Aminoglycoside NP test comme publié récemment (résultat en 2h).

Tests génotypiques : Recherche des gènes plasmidiques *armA* et *rmtC* (méthylases les plus fréquentes) par PCR. Si la PCR est négative, rechercher les autres gènes (*rmtA*, *rmtB*, *rmtD*, *rmtE*, *rmtF*, *rmtG*, *rmtH* et *npmA*).

Résistances à la fosfomycine chez les entérobactéries

La recherche de résistances à la fosfomycine est effectuée en plusieurs étapes :

Tests phénotypiques : réalisation d'un antibiogramme complet selon les recommandations de l'EUCAST 2017 et mesure du diamètre d'inhibition pour la fosfomycine.

Détermination de la CMI à la fosfomycine : Détermination par Etest selon les recommandations du fournisseur.

Test d'inhibition avec le phosphonoformate : Ensemencer une gélose Mueller Hinton avec 25 mg/L de glucose-6-phosphate avec la suspension bactérienne et mettre un disque de fosfomycine 200 µg, un disque de fosfomycine 200 µg avec 20 µl d'une solution de phosphonoformate à 50 mg/ml et un disque stérile avec 20 µl d'une solution de phosphonoformate à 50 mg/ml (contrôle négatif). Une résistance plasmidique est fortement suspectée s'il y a restauration de la sensibilité avec le phosphonoformate. Une résistance chromosomique est suspectée s'il y a absence de restauration de la sensibilité avec le phosphonoformate.

Résistances plasmidiques à la fosfomycine chez les entérobactéries

Tests génotypiques : Recherche des gènes plasmidiques les plus fréquents *fosA1/A2* et *fosA3/A4* par PCR. Si la PCR est négative, rechercher les gènes plasmidiques *fosA5/A6* et *fosC2*.

Résistances chromosomiques à la fosfomycine chez *Escherichia coli*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes *murA*, *glpT* et *uhpT* pour rechercher des mutations. Si les gènes *murA*, *glpT* et *uhpT* sont sauvages, amplification et séquençage des gènes *uhpA*, *ptsI* et *cyaA* pour rechercher des mutations.

Résistances chromosomiques à la fosfomycine chez *Klebsiella pneumoniae*

Tests génotypiques : amplification et séquençage des gènes *murA*, *glpT* et *uhpT* pour rechercher des mutations. Si les gènes *murA*, *glpT* et *uhpT* sont sauvages, amplification et séquençage des gènes *uhpA* et *ptsI* pour rechercher des mutations.

Résistances à la colistine chez les bacilles Gram négatif

Recherche de résistances à la colistine est effectuée en plusieurs étapes :

Tests phénotypiques : Réalisation d'un antibiogramme complet selon les recommandations de l'EUCAST 2017.

Détermination de la CMI à la colistine : Détermination par dilutions en milieu liquide dans un milieu Mueller Hinton ajusté en cations (MHB-CA préparé au laboratoire) selon les recommandations de l'EUCAST.

Test rapide : Rapid Polymyxin NP test comme publié récemment (résultat en 2h).

Résistances plasmidiques à la colistine chez les Entérobactéries

Tests génotypiques : Recherche des gènes de résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*, *mcr-2*, *mcr-3*, et *mcr-4*) par PCR puis séquençage.

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Klebsiella pneumoniae*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier d'abord le gène *mgrB* pour rechercher des mutations, des délétions ou des insertions de séquences. Si le gène *mgrB* est sauvage, amplifier et séquencer ensuite les gènes *pmrA*, *pmrB*, *phoP*, *phoQ*, *crrA* et *crrB* pour rechercher des mutations

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Klebsiella oxytoca*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier d'abord le gène *mgrB* pour rechercher des mutations, des délétions ou des insertions de séquences. Si le gène *mgrB* est sauvage, amplifier et séquencer ensuite les gènes *pmrA*, *pmrB*, *phoP*, et *phoQ* pour rechercher des mutations.

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Escherichia coli*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier et séquencer d'abord les gènes *pmrA* et *pmrB* pour rechercher des mutations. Si les gènes *pmrA* et *pmrB* sont sauvages, amplifier et séquencer les gènes *phoP*, *phoQ*, et *mgrB* pour rechercher des mutations

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Salmonella enterica*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier et séquencer d'abord les gènes *pmrA* et *pmrB* pour rechercher des mutations. Si les gènes *pmrA* et *pmrB* sont sauvages, amplifier et séquencer le gène *mgrB* pour rechercher des mutations.

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Pseudomonas aeruginosa*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier et séquencer d'abord les gènes *pmrA*, et *pmrB* pour rechercher des mutations. Si les gènes *pmrA* et *pmrB* sont sauvages, séquencer les gènes *phoP*, et *phoQ*, puis les gènes *parR* et *parS*, *colS* et *cprS*.

Résistances chromosomiques à la colistine chez *Acinetobacter baumannii*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage des gènes impliqués dans la régulation de la modification du LPS. Amplifier et séquencer les gènes impliqués dans la régulation de la modification du lipopolysaccharide (*pmrA* et *pmrB*) pour rechercher des mutations. Si les gènes *pmrA* et *pmrB* sont sauvages, amplifier et séquencer les gènes impliqués dans la synthèse du lipopolysaccharide (*lpxA*, *lpxB*, *lpxC* et *lpxD*).

Résistances au ceftazidime-avibactam et au ceftolozane-tazobactam

La recherche de résistances au ceftazidime-avibactam et au ceftolozane-tazobactam est effectuée en plusieurs étapes :

Tests phénotypiques : réalisation d'un antibiogramme complet selon les recommandations de l'EUCAST 2017.

Détermination de la CMI au ceftazidime-avibactam et au ceftolozane-tazobactam : détermination par Etest selon les recommandations du fournisseur.

Recherche de résistances au ceftazidime-avibactam et au ceftolozane-tazobactam chez les entérobactéries

Tests génotypiques : Recherche par PCR du gène de carbapénémase *blaKPC*. Si la PCR est positive, séquençage pour rechercher des mutations.

Recherche de résistances au ceftazidime-avibactam et au ceftolozane-tazobactam chez *Pseudomonas aeruginosa*

Tests génotypiques : Amplification et séquençage du gène *ampC*, ainsi que ses régulateurs (*ampR*, *ampD* et *dacB*) pour rechercher des mutations ou des délétions.

Les protocoles développés et validés sont proposés à tout laboratoire suisse qui en ferait la demande. Ils seront notamment présentés lors de la prochaine réunion du SAC dont la date n'est pas fixée.

2.1.2 Souches résistantes analysées au NARA, 1^{er} janvier 2017-15 septembre 2017

Entre le 1^{er} janvier 2017 et le 15 septembre 2017, 128 souches de cocci à Gram positif et de bacilles à Gram négatif ont été analysées au NARA.

L'origine géographique cantonale des souches recues est indiquée dans la figure ci-dessous

Figure : origine cantonale des souches reçues par le NARA pour expertise, du 1^e janvier 2017 au 15 septembre 2017 (en bleu les cantons ayant envoyés des souches)



Laboratoire d'Epidémiologie, CHUV Lausanne

Au total, 8 souches de bactéries à Gram positif ont été reçues pour analyse de leurs résistances aux antibiotiques comme indiqué ci-dessous :

Résistance à la vancomycine	Résultats
<i>Enterococcus faecium</i>	Détection du gène <i>vanA</i>
<i>Enterococcus faecium</i>	Phénotype de faible niveau de résistance à la vancomycine. Pas de croissance sur les milieux chromogènes spécifique VRE. Détection du gène <i>vanB</i> .
<i>Enterococcus faecium</i>	Souche dépendante à la vancomycine.
<i>Enterococcus faecalis</i>	Pas de résistance phénotypique détectée. Absence des gènes <i>vanA</i> et <i>vanB</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Mauvaise identification initiale de la souche : <i>Staphylococcus epidermidis</i>
Résistance à la teicoplanine	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Confirmation phénotypique de la résistance à la teicoplanine (9% de résistance rapportée en Suisse)
Résistance à la daptomycine	
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Pas de résistance phénotypique détectée.

Une investigation plus étendue a été faite sur la souche de *E. faecium* de bas niveau résistance à la vancomycine afin de déterminer les conditions de culture optimales pour sa détection lors de dépistage (frottis rectal, selles) (voir ci-dessous)

Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire de l'Université de Fribourg

Depuis janvier 2017, 121 souches de bacilles Gram négatif ont été expertisées. La majorité des demandes ont concerné les espèces du genre *Klebsiella* (n=39, 32,2 %), *Escherichia* (n=28, 23,1 %), *Enterobacter* (n=24, 19,8 %), *Pseudomonas* (n=15, 12,4 %) et *Acinetobacter* (n=11, 41,3 %). Deux souches de *Aeromonas* sp ont également été analysées.

Une très grande partie des souches (119/121) a été envoyée pour l'expertise tout d'abord de la résistance aux β -lactamines, en particulier aux carbapénèmes. Plus d'un tiers des souches (39/119) produisaient une carbapénémase. Les trois principales carbapénémases décrites chez les entérobactéries ont été identifiées (Tableau 2), à savoir les enzymes de type KPC, NDM, OXA-48 (et dérivés de OXA-48). Chez *Pseudomonas* sp, seule la carbapénémase VIM a été identifiée, tandis que

chez *A. baumannii*, les carbapénèmases de classe D (OXA-23, OXA-40 et OXA-72) prédominaient.

Répartition des carbapénèmases selon l'espèce bactérienne chez les Entérobactéries

Espèces	N	% (n/N)	KPC	NDM	OXA-48	OXA-181	OXA-232	OXA-244
<i>K. pneumoniae</i>	22	64,7 (22/34)	10	-	6	10	5	-
<i>K. oxytoca</i>	1	0,2 (1/5)	-	1	-	-	-	-
<i>E. coli</i>	12	44,4 (12/27)	2	3	3	3	-	1
<i>E. cloacae</i>	1	7,1 (1/14)	-	-	1	-	-	-

n : nombre de souches produisant une carbapénémase

N : nombre de souches totales

Répartition des carbapénèmases selon l'espèce bactérienne chez les bacilles à Gram négatif non fermentants

Espèces	N	% (n/N)	VIM	NDM	OXA-23	OXA-40	OXA-58	OXA-72
<i>A. baumannii</i>	6	60 (6/10)	-	1	3	1	-	1
<i>A. guillouiae</i>	1	100 (1/1)	-	-	-	-	1	-
<i>P. aeruginosa</i>	5	35,7 (5/14)	5	-	-	-	-	-

n : nombre de souches produisant une carbapénémase

N : nombre de souches totales

La présence de 16S rRNA méthyltransférases a été détectée dans tous les isolats cliniques qui avaient un phénotype de pan-résistance aux aminosides (amikacine, gentamicine, tobramycine et kanamycine). Neuf souches cliniques (4 *A. baumannii*, 3 *K. pneumoniae* and 1 *Enterobacter aerogenes*) ont été trouvées exprimant ces méthylases (6 *armA*, 2 *rmtF*, 1 *rmtG*). A l'exception de la souche de *E. cloacae* toutes ces souches produisaient une carbapénémase (3 *bla*_{OXA23}, 1 *bla*_{OXA-40}, 2 *bla*_{KPC-2}, 1 *bla*_{OXA-232} and 1 *bla*_{NDM-1}). Les souches exprimant RmtG et KPC-2 et RmtF et OXA-232 représentaient leur première identification en Suisse. L'identification de ces doubles caractères de résistance, signalée à l'OFSP, est l'un des évolutions ultimes vers la résistance à tous les antibiotiques

Les souches RmtF/OXA-232 étaient d'autre part résistantes à l'association ceftolozane/tazobactam qui est l'un des nouveaux antibiotiques en cours de mise sur le marché suisse. Le mécanisme moléculaire précis de cette résistance phénotype n'a pas été encore étudié.

La sensibilité aux polymyxines a été étudiées pour 36 souches d'entérobactéries (3 *K. oxytoca*, 18 *K. pneumoniae*, 9 *E. coli* and 6 *E. cloacae*) et 3 bacilles à Gram négatif non fermentants (2 *P. aeruginosa* and *A. baumannii*) et déterminée au niveau moléculaire dans trois cas. Pour les entérobactéries, la sensibilité aux polymyxines a été tout d'abord étudiée avec le Rapid Polymyxin NP test. Parmi ces 36 souches, 8 étaient résistantes (2 *K. pneumoniae*, 3 *E. coli*, 1 *E. cloacae*) (résultats obtenus en 1h). La CMI de la colistine de ces souches résistantes a été ensuite déterminée par la technique de dilution en milieu liquide et variait de 8 à 256 mg/L selon la souche. Des mutations dans les gènes gouvernant la biosynthèse du LPS ont été trouvés dans 3 souches de *K. pneumoniae* résistantes à la colistine par PCR et analyses de séquences (souche 1: PhoQ Arg16Ser, CcrB Cys68Ser, PmrB Thr246Ala et Arg256Gly; souche 2: PhoQ Arg16Ser, CcrB Cys68Ser, PmrB Thr246Ala et Arg256Gly; souche 3: CcrB Cys68Ser, Gln296Leu, PmrB thre157Pro, Thr246Ala et 288-E-N-289 > 288-M-A-V-E-D-291). Aucun gène de résistance plasmidique de type *mcr* (*mcr-1* à *mcr-4*) n'a été identifié.

Un gène de résistance acquise à la fosfomycine (*fosA-1-6*) a été recherché dans toutes les souches de *E. coli* recues en utilisant le phosphonoformate, inhibiteur

de la glutathione transferase inhibitor. Aucune souche avec ce type de résistance à la fosfomycine n'a été identifiée.

Cette activité d'expertise de souches bactériennes ainsi que celle mentionnée ci-dessus s'est accompagné d'une intense activité de conseils diagnostics et thérapeutiques afin de préciser diagnostic et thérapeutique des patients infectés ou colonisés par ces bactéries multirésistantes.

2.1.3 Comparaison de souches et épidémies

L'identification de plusieurs souches de même mécanisme de résistance a été suivie de la caractérisation de leur variabilité génétique par des études de comparaison de plasmides, d'analyse de génomes complets afin de mettre en évidence d'éventuelles épidémies.

Nous avons ainsi détecté une épidémie de six souches de *K. pneumoniae* multirésistantes à partir de cinq patients dont trois étaient hospitalisés dans le Nord Ouest de la Suisse et deux non hospitalisés mais suivis dans des cabinets médicaux de ville. Une enquête sur site n'a pas mis en évidence une voie de transmission évidente interindividuelle de ces souches. Ces souches étaient résistantes aux aminosides, pour la plupart d'entre elles aux carbapénèmes (4/6), à l'association ceftolozane/tazobactam et aux aminosides. Elles produisaient toutes une même 16s rRNA méthylase, RmtF, une même BLSE CTX-M-15 et les souches résistantes aux carbapénèmes exprimaient une même carbapénémase, OXA-232. Les gènes de la BLSE et de la méthylase étaient transférables ce qui n'était pas le cas du gène de OXA-232. L'analyse de plasmides montrait la co-localisation des gènes de CTX-M-15 et de la méthylase sur plasmide de 160 kb alors que le gène de OXA-232 était localisé sur un plasmide différent de 6,2 kb. Les six souches de *K. pneumoniae* étaient génétiquement indistinguables de même sequence type ST231. Le génome complet de l'une de ces souches de *K. pneumoniae* a permis d'identifier notamment une multiplicité de gènes de résistance plasmidique et chromosomique expliquant le phénotype de multirésistance observée. Il s'agissait de la première identification en Europe et donc en Suisse de ce clone multirésistant dont la diffusion a été déjà relevée en Asie du Sud Est et au Moyen-Orient.

L'identification par le NARA de cette épidémie de souches multirésistantes qui était passée totalement inaperçue, faisant fi de toute barrière cantonale, a été notifié à l'OFSP correspond à l'une des missions premières du NARA.

Bien que ce ne fasse pas partie des missions propres du NARA, nous avons été sollicités pour l'analyse épidémique de 6 souches de *K. pneumoniae* exprimant une même BLSE de type CTX-M-15. L'analyse a conclu à la diffusion clonale (transmission) pour 4 des patients alors que les deux autres sont uniques. Nous avons également été sollicités pour l'analyse épidémique hospitalière de 28 souches de *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine provenant. Les résultats ont montré l'existence de 4 clusters de souches distingués, dont 3 étaient similaires à celles isolées chez des patients du CHUV. Trois chaînes de transmissions ont été mises en évidence et un patient unique. Un lien étroit a été démontré par le transfert de patients entre ces deux hôpitaux. Il est à relever que le taux de VRE en Suisse a augmenté de 1.2% en 2014 à 4.8 en 2016 (www.anerisis.ch).

L'analyse de comparaisons des souches a été faite par séquençage complet de génome et les frais ont été assumés par les hôpitaux respectifs.

3. MISE AU POINT ET EVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTICS DES RESISTANCES EMERGENTES ET DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES

3.1. Mise au point de tests de diagnostic rapide des résistances émergentes

La mise au point de tests de diagnostic rapide de résistances est l'un des enjeux majeurs à venir pour le contrôle de l'antibiothérapie. Ces tests de diagnostic ne peuvent être basés sur les seules techniques de biologie moléculaire qui ne détectent que les gènes connus de résistances et non pas tous phénotypes nouveaux de résistance. Une approche phénotypique (culture rapide) ou biochimique de première intention est souvent indispensable. Ces tests restent difficiles à développer car pour qu'ils puissent être utiles en Clinique, ils nécessitent des niveaux de spécificité et de sensibilité élevées, l'intervention d'un partenaire industriel qui est prêt à en assurer le développement technique et l'investissement financier. Toutes ces conditions rendent compte de la difficulté de leur mise au point.

3.1.1- Nous avons développé et validé un test de diagnostic permettant la détection rapide de la pan résistance aux aminosides (Rapid Aminoglycoside NP test) et un milieu de screening (SuperAminoglycoside) pour identifier les patients porteurs de souches exprimant cette panrésistance essentiellement associée à l'expression de 16S rRNA méthylases. Ces méthylases méthylent l'ARN 16S et empêchent la fixation des aminosides. Ces deux techniques ont fait l'objet d'un dépôt de brevet par l'Université de Fribourg et d'une publication au sujet du test rapide. Le test de diagnostic rapide a déjà été utilisé à plusieurs reprises dans le cadre des activités du NARA notamment pour la mise en évidence de cette épidémie de souches RmtF/OXA-232 et pour l'identification de cette souche Rmt G /KPC-2 (voir plus haut).

3.1.2- Nous avons d'autre part tenté de mettre au point une technique de diagnostic rapide de la résistance à la fosfomycine qui est un antibiotique de plus en plus utilisé dans le traitement des infections à bactéries à Gram négatif. Le développement de ce test s'est pour l'instant heurté à la sélection rapide et de un haut niveau de mutants de résistance en milieu liquide.

3.1.3- Une technique immunologique de détection des souches productrices de souches MCR-1 est en cours de développement dans le but de réaliser tests ELISA et tests individuels de détection de ce déterminant de résistance aux polymyxines. A cet effet, des anticorps polyclonaux ont été produits chez le lapin de grande spécificité, semble-t-il pour la protéine MCR-1.

3.1.4- Le Rapid Polymyxin NP test (entérobactéries) a été évalué dans sa version industrielle ainsi que son utilisation directe à partir des hémocultures. Nous validons d'autre part actuellement les versions Rapid Polymyxin tests pour le diagnostic des résistances aux polymyxines chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* sur des souches sensibles et résistantes aux polymyxines. Cette validation va bénéficier du collectif de ces souches résistantes uniques d'un point de vue international et que possède le NARA.

3.1.5- Ayant mis au point, un « home-made test » pour le diagnostic rapide des souches exprimant un BLSE, nous développons actuellement en partenariat avec un industriel, une version commerciale de ce test dit Rapid ESBL NP. Il permettrait une large diffusion de cette technique qui est déjà utilisée dans plusieurs laboratoires suisses dans sa version « home-made ». Nous utilisons d'ailleurs ce test en première intention pour le diagnostic des souches adressées au NARA et suspectes d'exprimer une BLSE, ce qui permet un rendu de résultat en moins d'une heure.

3.1.6- Détection optimale de la résistance aux glycopeptides chez *E. faecium*. En juillet 2017, le NARA a reçu une souche de *E. faecium* pour confirmation de la résistance à la vancomycine. Le gène *vanB* a été mis en évidence. Or, comme le suggérait le laboratoire d'origine (LabOr), nous constatons une croissance difficile de cette souche sur les milieux sélectifs chromogènes utilisées pour détection ces souches résistantes à la vancomycine, rendant leur emploi difficile pour un dépistage épidémique. Ceci nous a conduits à l'optimisation des méthodes de laboratoire pour ce dépistage.

Les résultats de l'investigation ont confirmés que la CMI de cette souche était basse (2-3 mg/L) et qu'il fallait prolonger l'incubation à 48 h, voire utiliser un McFarland 2.0, pour mettre en évidence la résistance phénotypique (>4 mg/L). Pour l'optimisation du dépistage, deux bouillons d'enrichissement différent ont été testé (BHI avec 3.3 mg/L de vancomycine et mStaphylococcus broth, milieu hypersalé pour le dépistage des Staphylocoques) et quatre géloses sélectives (VRE select, Biorad; ChromID VRE, bioMérieux; VRE Brilliance, Oxoid; Enterococcosel, BD). L'essai a porté sur une simuilton de frottis de selles inoculé avec la souche à tester, des souches contrôles vancomyne résistantes et sensible et un témoin négatif. Les résultats ont montrés que pour le dépistage VRE chez des patients potentiellement porteur d'une souche génotype *vanB* et ayant des CMI basse, le milieu chromogène VRE Brilliance (Oxoid) est le plus adéquate. Nous recommandons qu'une primo-culture et un bouillon BHI vanco soient effectués pour augmenter les chances de mettre en évidence ce type de souche. Une incubation de la gélose jusqu'à 48h est nécessaire. La spécificité des milieux chromogènes étant plus faible à 48h, nous recommandons de contrôler l'identité et la résistance des colonies caractéristiques observées.

3.2. Evaluation des tests de diagnostic des résistances émergentes

3.2.1 Evaluation des tests rapides RAPIDEC CARBA NP et β -CARBA pour la détection des carbapénèmases

Les performances préanalytiques du RAPIDEC CARBA NP® (bioMérieux) et du β -CARBA® (Bio-Rad) tests ont été évaluées pour la détection des carbapénèmases des entérobactéries. La collection internationale de 149 souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes comprenait 111 souches produisant une carbapénémase (CPE) and 38 souches non productrices de carbapénèmases, a servi de base à cette évaluation. Les souches CPE incluiaient 32

souches productrices de carbapénèmases de classe A (18 KPC-2, 1 FRI-1, 5 SME et 8 IMI), 33 de classe B (13 NDM, 11 VIM et 9 IMP) et 46 de classe D (15 OXA-48, 14 OXA-181, 10 OXA-204, 3 OXA-232 et 4 OXA-162). Le RAPIDEC CARBA NP® et le β -CARBA® tests ont été réalisés selon les recommandations des industriels respectifs et les résultats lus en 2 h et 30 min, respectivement. Le RAPIDEC CARBA NP® détectait 104/111 CPE isolates alors que le β -CARBA® test détectait uniquement 72/111 CPE. Les sensibilités et spécificité étaient de 93.7% and 100%, respectivement, pour le RAPIDEC CARBA NP® test et de 64.9% and 90%, respectivement, pour le β -CARBA® test. Le β -CARBA® test ne détectait pas la plupart des CPE de class A à l'exception des KPC (14/14) and la plupart (24/31) des souches productrices d'enzymes de type OXA-48 (OXA-48, OXA-162, OXA-181, OXA-204 and OXA-232). Ce même test détectait 1/1 OXA-163 and 1/1 OXA-405 comme des producteurs de carbapénémaes alors que ces enzymes n'ont pas d'activité carbapénémase notoire mais une activité BLSE. Le RAPIDEC CARBA NP® test possédait donc des performances meilleures que celles du β -CARBA® test notamment en ce qui concernait la détection des enzymes de type OXA-48 dont la diffusion est importante en particulier en Europe (Suisse comprise).

Le 22 mars 2016, l'EUCAST a publié de nouvelles recommandations pour la détermination des CMI à la colistine (www.eucast.org). Ces recommandations indiquaient que seule la méthode de dilution en milieu liquide devait être utilisée pour la détermination des CMI et que les méthodes de diffusion par disque ou par bandelettes Etest devaient être abandonnées. La méthode de dilution en milieu liquide n'étant pas utilisable en routine à l'hôpital, les automates permettant la détermination des CMI par dilution en milieu liquide comme le Phoenix semblaient être une alternative intéressante. Cependant, leurs performances pour la détection de la résistance à la colistine étaient peu connues.

L'objectif de cette étude était de tester les performances du Phoenix pour la détection de la résistance à la colistine et de comparer les résultats obtenus à ceux du test rapide (Rapid Polymyxin NP) et de la méthode de référence.

123 souches d'entérobactéries d'espèces variées, incluant 83 souches résistantes (résistances naturelles ou acquises, chromosomiques ou plasmidiques) et 40 souches sensibles à la colistine ont été testés et les résultats comparés à ceux de la méthode de référence (dilution en milieu liquide manuelle).

L'automate Phoenix possède une excellente sensibilité pour la détection des souches présentant une résistance plasmidique à la colistine (gènes *mcr-1* et *mcr-2*). Un taux élevé de fausse sensibilité (12 %) a cependant été trouvé comparé à la méthode de référence du à une mauvaise détection des souches présentant une hétérorésistance à la colistine.

3.2.2 Evaluation des panels Sensititre, Microscan et UMIC pour la détection de la résistance à la colistine

A la suite de l'émergence des résistances plasmidiques aux polymyxines, il est apparu urgent d'évaluer les techniques commercialisées d'étude de la sensibilité aux polymyxines. Les techniques de dilution en milieu liquide comme les systèmes UMIC, MicroScan et Sensititre semblaient également être une alternative intéressante. Cependant, leurs performances pour la détection de la résistance à la colistine étaient peu connues

L'objectif de cette étude était donc de tester les performances des systèmes UMIC (Biocentric), MicroScan (Beckman Coulter) et Sensititre (ThermoFisher

Diagnostics) pour la détection de la résistance à la colistine et de comparer les résultats à ceux obtenus par la méthode de référence.

Nous avons donc testé 185 souches de bacilles Gram négatif d'espèces variées, incluant 133 souches résistantes (résistances naturelles ou acquises, chromosomiques ou plasmidiques) et 52 souches sensibles à la colistine) et avons comparé les résultats à la méthode de référence (dilution manuelle en milieu liquide).

Le système UMIC a donné le taux de fausse sensibilité le plus important (11,3 %), comparé aux systèmes Sensititre et MicroScan (3 % et 0,8 %, respectivement). Un taux de élevé de fausse résistance (26,9 %) a été trouvé avec le système MicroScan en raison d'une surestimation des CMI's pour les bacilles Gram négatifs non fermentants, tandis qu'aucune fausse résistance n'a été observée qu'avec les systèmes Sensititre et UMIC.

Pour résumer système UMIC est facile à utiliser mais ne détecte pas plus de 10 % des souches résistantes à la colistine, y compris des souches présentant des résistances plasmidiques. Le système MicroScan donne d'excellents résultats pour les Entérobactéries mais les résistances détectées avec ce système chez les non fermenteurs doivent être confirmées par une autre méthode. Le système Sensititre est le système commercial qui a donné les meilleurs résultats avec une catégorisation correcte des souches dans 97,8 % des cas.

3.3. Evaluation de l'activité de nouveaux antibiotiques/antiseptiques

Nous avons participé à l'évaluation de plusieurs molécules ayant une activité vis à vis des bactéries à Gram négatif multirésistants :

- le cefiderocol est une association d'une céphalosporine et d'une sidérophore, ce qui permet une diffusion intracellulaire excellente. Cette molécule montrée sa remarquable efficacité vis à vis de quasiment tous types de bacilles à Gram négatif multirésistants (producteurs de BLSE, de carbapénèmes, résistants aux polymyxines ou à tous les aminosides). Cette molécule est l'une des plus prometteuses dans le domaine de l'antibiothérapie à venir.
- l'octénidine, une molécule antiseptique, s'est révélée être particulièrement efficace vis à vis des principaux clones de bacilles à Gram négatifs multirésistants qui circulent dans le monde (entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*). Elle pourrait trouver son application dans l'éradication des clones multirésistants diffusant dans l'environnement hospitalier des patients notamment ceux de réanimation.
- la plazomicine, un nouveau aminoside, est très actif vis à vis de tous types de bactéries à Gram négatif résistants aux polymyxines sauf ceux qui expriment une 16S rRNA méthylase. Ces méthylases modifient en effet le site de fixation ribosomal des aminosides y compris le nouvel aminoside, la plazomicine.

4. DEVELOPPEMENT D'UN SITE INTERNET

Un site internet est en cours de développement avec l'aide d'une société privée d'informatique localisée à Fribourg (Studio2SC) pour mettre en ligne les informations jugées utiles sur le fonctionnement du NARA et les espèces bactériennes et leurs nouvelles résistances aux antibiotiques telles que :

- Procédure d'envoi des souches, heures d'ouvertures, contacts.
- Modes opératoires sur le dépistage des résistances émergentes

- Phénotypes de résistance émergents caractéristiques
- Données épidémiologiques récentes
- Bilan d'activité et principaux résultats du NARA.
- Données internationales sur les résistances émergentes

La mise en ligne du site internet est prévue pour le 15 décembre 2017 au plus tard.

5. ENSEIGNEMENTS ET FORMATION

Le NARA est un centre d'accueil pour tout stagiaire intéressé par la mise en place de l'analyse et de la détection des résistances émergentes aux antibiotiques. Il accueille désormais tous types de stagiaires suisses et étrangers, et participe de ce fait au rayonnement de la Médecine et de la Microbiologie suisse.

6. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS

6.1. Activités de recherche

Les résultats scientifiques issus de l'Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire et de l'Unité associée INSERM de l'UniFR et du laboratoire d'Epidémiologie du CHUV ont fait l'objet de publications dans des journaux scientifiques, de présentations à des congrès nationaux et internationaux (Congrès de Microbiologie et Maladies Infectieuses suisse, ECCMID, ASM...). **Ces activités de recherche ne sont que partiellement liées à l'activité de NARA.** Cependant, dans la mesure où le NARA est cité dans les co-authorships, ces activités contribuent au rayonnement national et international du NARA qui, dans le domaine des résistances émergentes aux antibiotiques, est un acteur totalement nouveau.

A noter que les membres des laboratoires ou cliniciens suisses qui ont adressé leurs souches présentant des mécanismes nouveaux de résistance ont été toujours associés comme co-auteurs des publications ou présentations ci-dessous. Nous avons noué des liens particuliers de recherche notamment avec les laboratoires hospitaliers de Neuchâtel, de Fribourg, de Lausanne, le laboratoire de référence vétérinaire de Zürich (Institute for Food Safety and Hygiene) et certaines structures privés. Certaines de ces activités sont également associées à celle d'ANRESIS.

Les activités de recherche ont abordé des domaines d'intérêt divers :

- Résistances aux polymyxines chez les bacilles à Gram négatif ; origine, transfert, diagnostics rapides, analyses plasmidiques, transposition et épidémiologie internationale.
- Caractérisation de nouveaux mécanismes de résistance en Suisse, association de carbapénèmes et de 16S rRNA méthylases
- Etude des mécanismes de résistances émergents aux nouvelles associations de céphalosporines et d'inhibiteurs.
- Evaluation de nouvelles thérapeutiques antibiotiques.
- Epidémiologie moléculaire des épidémies à *S. aureus* résistant à la méthicilline, à *E. faecium* résistant aux glycopeptides et *P. aeruginosa* multirésistants.

6.2. Publications

- 1- Dénervaud-Tendon V, Poirel L, Nordmann P. Transferability of the *mcr-1* colistin resistance gene. 2017, *Microb Drug Resist*, DOI :10/1089 mdr.2016.091.
- 2- Alvarez-Marin R, Aires-De-Sousa M, Nordmann P, Poirel L. Antimicrobial activity of octenidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. 2017. *Eur J Clin Infect Dis* DOI 10.1007/s10096-017-3070-0.
- 3- Buetti N, Atkinson A, Marschall K, Kronenberg A, Swiss Centre for Antibiotic Resistance (ANRESIS). Incidence of bloodstream infections: a nationwide surveillance of acute care hospitals in Switzerland 2008-2014. 2017. *Brit Med J Open* DOI:10.1136
- 4- Dénervaud-Tendon V, Poirel L, Connolly LE, Krause KM, Nordmann P. 2017. Plazomicin activity against polymyxin-resistant *Enterobacteriaceae*, including MCR-1 producing isolates. *J Antimicrob Chemother*. DOI:10.1093/jac/dkx239
- 5- Dobias J, Dénervaud-Tendon V, Poirel L, Nordmann P. Activity of the novel siderophore cephalosporin cefiderocol against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. 2017. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, DOI 10.1007/s10096-017-3063-z.
- 6- Dobias J, Poirel L, Nordmann P. Cross-resistance to human cationic antimicrobial peptides and to polymyxins mediated by the plasmid-encoded MCR-1 ? 2017. *Clin Microbiol Infect* 23:676 e1-4.
- 7- Decousser JW, Poirel L, Nordmann P. Recent advances in biochemical and molecular diagnostics for the rapid detection of antibiotic-resistant *Enterobacteriaceae*. 2017. *Exp Rev Mol Diag*. <http://dx.DOI.org/10.1080/14737159.2017.1289087>.
- 8- Jayol A, Nordmann P, André C, Dubois V, Poirel L. Increased colistin resistance upon acquisition of the plasmid-mediated *mcr-1* gene in *Escherichia coli* isolates with chromosomally encoded reduced susceptibility to polymyxins. 2017. *Intern J Antimicrob Agents* 50:503-504.
- 9- Jayol A, Nordmann P, Brink A, Villegas MV, Dubois V, Poirel L. High level resistance to colistin mediated by various mutations in the *ccrB* gene among carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. 2017. *Antimicrob Agents Chemother*, DOI:10:1128/AAC 0423-17
- 10- Jayol A, Nordmann P, Lehours P, Poirel L, Dubois V. Comparison of the methods for detection of plasmid-and chromosomally-encoded colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. 2017. *Clin Microb Infect*, DOI:10.1016/j.cmi.2017.06.002.
- 11- Jayol A, Nordmann P, Poirel L, Dubois V. Ceftazidime-avibactam alone or in combination with aztreonam against colistin resistant and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. 2017. *Antimicrob Agents Chemother*, sous presse.
- 12- Jiang L, Poirel L, Nordmann P. Lack of polymyxin resistance among carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in a university hospital in China. 2017. *Infect Dis* <http://dx.DOI.org/10.1080/23744235.2017.1292543>.
- 13- Kieffer N, Aires-De-Sousa M, Nordmann P, Poirel L. High rate of MCR-1 producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in pigs in Portugal. 2017. *Emerg Infect Dis*, sous presse.
- 14- Kieffer N, Nordmann P, Poirel L. *Moraxella* species as the potential sources of MCR-like determinants. 2017. *Antimicrob Agents Chemother* 61:e00129-17.

- 15- Mancini S, Kieffer N, Poirel L, Nordmann P. Evaluation of the Rapidec Carb NP and β -Carba tests for detection of the carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. 2017. *Diag Microb Infect Dis*. 88:293-297.
- 16- Nordmann P, Jayol A, Dobias J, Poirel L. Rapid Aminoglycoside NP Test for rapid detection of multiple aminoglycoside resistance in *Enterobacteriaceae*. 2017. *J Clin Microbiol* 55:1074–1079.
- 17- Poirel L, Jayol A, Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. 2017. *Clin Microbiol Rev* 30: 557-596.
- 18- Poirel L, Kieffer N, Fernandez-Garay-Zabal JF, Vela AI, Larpin Y, Nordmann P. MCR-2 polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella plurianimalium*. 2017. *J Antimicrob Chemother* DOI:10.1093/jac/dkx225.
- 19- Poirel L, Kieffer N, Nordmann P. In-vitro study of IS*Ap1*-mediated mobilization of the colistin resistance gene *mcr-1*. 2017. *Antimicrob Agents Chemother*, sous presse.
- 20- Poirel L, Larpin Y, Stephan R, Decousser JW, Madec JY, Nordmann P. Rapid polymyxin NP test for the detection of polymyxin resistance mediated by the *mcr-1/mcr-2* genes; *Diag Microb Infect Dis*, sous presse.
- 21- Zurfluh, Nüsch-Inderbinnen M, Klumpp J, Poirel L, Nordmann P, Stephan R. Key features of MCR-1 bearing plasmids from *Escherichia coli* isolated from humans and food. 2017. *Antimicrob Resist Infect Control*. DOI 10.1186/s13756-017-0250-8.
- 22- Uwuaezuoke, NS, Kieffer N, Iregbu KG, Nordmann P. First report of OXA-181 and NDM-1 from a clinical *Klebsiella pneumoniae* from Nigeria. 2017. *Int J Infect Dis* DOI;10.1016/j.ijid.2017.05.004.
- 23- Gordon NC, Pichon B, Golubchik T, Wilson DJ, Paul J, Blanc DS, Cole K, Collins J, Cortes N, Cubbon M, Gould FK, Jenks PJ, Llewelyn M, Nash JQ, Orendi JM, Paranthaman K, Price JR, Senn L, Thomas HL, Wyllie S, Crook DW, Peto TEA, Walker AS, Kearns AM. Whole-genome sequencing reveals the contribution of long-term carriers in *Staphylococcus aureus* outbreak investigation 2017.. *J Clin Microbiol* 55:2188 –2197.
- 24- Abdelbary MMH, Prod'hom G, Greub G, Senn L, Blanc DS. Draft genome sequences of two carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clinical strains isolated from Albanian and Togolese patients. 2017. *Genome Announc* 5:e00115-17.
- 25- Héquet D, Rousson V, Blanc DS, Büla C, Qalla-Widmer L, Masserey E, Zanetti G, Petignat C. Universal screening and decolonization for control of MRSA in nursing homes: follow-up of a cluster randomized controlled trial. 2017. *J Hosp Infect*.96:69-71. doi: 10.1016/j.jhin.2017.03.019.
- 26- Treepong P, Kos VN, Guyeux C, Blanc DS, Bertrand X, Valot B, Hocquet D. 2017. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *Clin Microbiol Infect*, sous presse.
- 27- Abdelbary MMH, Blanc DS, Feil EJ. The evolution and dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. 2017. In "Genetics and Evolution of Infectious Diseases. Editor-in-chief: Michel Tibayrenc. Elsevier, 2nd edition, sous presse.
- 28- Abdelbary MMH, Senn L, Moulin E, Prod'hom G, Croxatto A, Greub G, Blanc DS. Evaluating the use of whole-genome sequencing for outbreak investigations in the lack of closely related reference genome. 2017. *Infect Gen Evol*, sous presse.

- 29- Mancini S, Poirel L, Corthesy M, Greub G, Nordmann P. *Klebsiella pneumoniae* co-producing KPC and RmtG, finally targeting Switzerland. *Diag Microb Infect Dis*.
- 30- Mancini S, Tritten ML, Lienhard R, Bassi C, Poirel L, Nordmann P. Spread of multidrug-resistance sequence type 231 *Klebsiella pneumoniae* producing OXA-232 and RmtF in Switzerland. *J Antimicrob Chemother*.
- 31- Labarca J, Jimenez M, Anabalon j, Roman JC, Garces C, Zegna-Rata F, Carvajal C, Contreras S, Bernabeu S, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in blood cultures in Chile. *Eur J Clin Microb Infect Dis*.

6.3. Conférences invitées aux congrès internationaux

6.3.1 Pr P. Nordmann

- 1-Résistance : quelles tendances épidémiologiques en 2017 ?
Congrès annuel de la Société Française de Réanimation de Langue française. Paris/France, 11- 13 janvier 2017.
- 2- Is the antibacterial drug pipeline really empty?. Festveranstaltung symposium workshop. Frankfurt / Germany, 10-11 avril 2017.
- 3- Emerging Resistance in Gram negatives. European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Vienna /Austria, 22-25 avril 2017.
- 4- Resistance to polymyxins: the fall of the last soldier. Turning the tide of antimicrobial resistance. Oslo/Norway, 27-28 avril 2017
- 5- Rapid diagnostic of emerging antibiotic resistance. Turning the tide of antimicrobial resistance. Oslo/Norway, 27-28 avril 2017
- 6- Tour du monde des résistances. Journées Nationales d'Infectiologie Saint-Malo/France, 20-22 juin 2017.
- 7- Pan-aminoglycoside resistance. ESCMID Postgraduate technical workshop, Emerging antibiotic resistance, problems and solution. Fribourg, 14-15 septembre 2017.
- 8- Rapid diagnostics of emerging antibiotic resistances. ESCMID Postgraduate technical workshop, Emerging antibiotic resistance, problems and solution. Fribourg, 14-15 septembre 2017.
- 9- Multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. 11th international symposium on the biology of *Acinetobacter*. Sevilla/Spain, 20-22 septembre 2017.

6.3.2 Dr L. Poirel

- 1- The threatening problem of multidrug-resistant Gram negatives in healthcare settings; new problems, new strategies » 8th International Congress of the Asia Pacific Society of Infection Control, Bangkok, Thailand, Feb 2017, 14.
- 2- Plasmid-mediated colistin resistance; the ultimate menace. ASM Microbe meeting, New Orleans, Plasmid-mediated resistance to polymyxins; animals as reservoirs for humans? 2017 June 1-5.
- 3- 7th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and the Environment, Braunschweig, Germany, 2017, June 12.

- 4- Resistance to polymyxins: mechanisms, detection, recent emerging issues
16th European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Summer School, Borstel, Germany, 2017 July 1-8,
- 5- Role of rapid diagnostics in prevention and control of multidrug-resistant bacteria; the tools are here. Singapore International Infectious Disease Conference (SIIDC), Singapore, 2017, August 10.
- 6- Carbapenemase-producing bacteria: genetic transmission. ESCMID Postgraduate technical workshop, Emerging antibiotic resistance, problems and solutions. Fribourg, 2017, September 14-15 .
- 7- Polymyxin resistance. ESCMID Postgraduate technical workshop, Emerging antibiotic resistance, problems and solutions. Fribourg, 2017, September 14-15

6.4. Présentations aux congrès

6.4.1 Nationaux

- 1-Alvarez Marin R, Aires de Sousa M, Kieffer N, Nordmann P, Poirel L. Evaluation of antimicrobial activity of octenidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 2- Kieffer N, Nordmann P, Poirel L. In-vitro study of IS*Apl1*-mediated mobilization of the colistin resistance gene *mcr-1*. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 3-Kieffer N, Dobias J, Poirel L, Stephan R, Decousser JW, Madec JY, Nordmann P. Rapid Polymyxin NP test for the detection of *mcr-1/mcr-2* mediated polymyxin resistance. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 4-Mancini S, Kieffer N, Poirel L, Nordmann P. Transposition of Tn1213 encoding the PER-1 extended spectrum β -lactamase. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 5- Kieffer N, Nordmann P, Poirel L. *Moraxella* as sources of MCR-like polymyxin resistance determinants. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017
- 6- Mancini S, Tritten ML, Lienhard R, Bassi C, Poirel L, Nordmann P. OXA-232- and RmtF-producing *Klebsiella pneumoniae* ST231 outbreak in Switzerland. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 7-Jayol A, Poirel L, Dubois V, Nordmann P. Evaluation of three commercialized broth microdilution systems to determine colistin susceptibility in Gram negative rods. Annual meeting 2017 of the Swiss Societies for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017
- 8-Jayol A, Poirel L, Dubois V, Nordmann P. Evaluation of the Phoenix automated microbiology system to detect plasmid-mediated and chromosomally-encoded colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017.
- 9-Nordmann P, Mazé A, Dobias J, Jayol A, Poirel L. Screening culture medium for multiple aminoglycoside-resistant Gram negatives. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30th-Sept 1st, 2017

6.4.2 Internationaux

- 1- Nordmann P, Jayol A, Dobias J, Poirel L. Rapid detection of multiple aminoglycoside resistance in Enterobacteriaceae. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017
- 2- Poirel L, Kieffer N, Nordmann P. IS*Apl1*-mediated mobilization of the colistin resistance gene MCR-1. ASM Microbe meeting (Microbe), New Orleans, June 1-5, 2017.
- 3- Nordmann P, Kieffer N, Poirel L. The RAPIDEC CARBA NP test as compared to the BETA-CARBA test for detection of carbapenemase-producing Gram-negative isolates. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 4- Bocanegra-Ibarias P, Kieffer N, Poirel L, Garza Gonzalez E, Del Rayo Morfin-Otero M, Rodriguez-Noriega E, Nordmann P. Emergence of colistin resistance among NDM-1-producing and carbapenem-resistant. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 5- Poirel L, Nordmann P, Mazé A, Dobias J, Jayol A. Screening culture medium for multiple aminoglycoside-resistant Gram-negative bacteria. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25 2017
- 6- Poirel L, Alvarez-Marin R, Aires De Sousa M, Kieffer N, Nordmann P. Antimicrobial activity of octenidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 7- Poirel L, Kieffer N, Nordmann P, Aires de Sousa M. High prevalence of MCR-1-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in pigs, Portugal. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 8- Poirel L, Kieffer N, Nordmann P. *Moraxella* as a source of MCR-like polymyxin resistance determinants. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 9- Jayol A, Saly M, Poirel L, Mégraud F, Nordmann P, Dubois V. Prevalence of faecal carriage of colistin resistant Gram negative rods in a university hospital in western France, 2016. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 10- Nordmann P, Denervaud V, Connolly L, Krause K. In-vitro activity of plazomicin against colistin-resistant Enterobacteriaceae including plasmid-encoded MCR-1-producing isolates. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 11- Poirel L, Dobias J, Denervaud V, Nordmann P. Activity of the novel siderophore cephalosporin cefiderocol (S-649266) against Gram-negative pathogens. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 12- Ricci V, Piddock L, Woodward S, Jayol A, Decousser JW, Nordmann P, Poirel L. A novel PhoP substitution in *Klebsiella pneumoniae* with decreased susceptibility to colistin. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 13- Jayol A, Nordmann P, Dubois V, Poirel L. Contribution of plasmid-mediated MCR-1 for providing high level of colistin resistance. 27th European Congress

of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25 2017

- 14- Nordmann P, Kieffer N, Poirel L. Rapid polymyxin NP test for rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae. 27th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID), Vienna, Austria, April 22-25, 2017.
- 15- Jayol A, Nordmann P, Dubois V, Poirel L. Contribution of plasmid-mediated resistance MCR-1 in high level of colistin resistance. ASM Microbe meeting (Microbe), New Orleans, June 1-5, 2017.
- 16- Poirel L, Kieffer N, Nordmann P. *Moraxella*, source of MCR-like determinants responsible for acquired polymyxin resistance. ASM Microbe meeting (Microbe), New Orleans, June 1-5, 2017.
- 17- Poirel L, Kieffer N, Aires-de-Sousa M, Nordmann P. Occurrence of MCR-1-producing Enterobacteriaceae in pigs, Portugal. 7th Symposium on Antimicrobial Resistance in animals and the environment. Braunschweig, Germany, June 26-28, 2017,
- 18- Foguena AF, Blanc DS, Croxatto A, Pagani JL, Laurence Senn L. Performance of *Acinetobacter baumannii* screening among patients admitted in ICU in Swiss tertiary care hospital. International conference on prevention and infection control (ICPIC) Geneva, June 20-23, 2017.
- 19- Moulin F, Senn L, Blanc DS, Abdelbary M, Chaillou G, Demartines N, Greub G. Whole genome sequencing highlighted two small ST117 vancomycin-resistant Enterococcus outbreaks withing a large ST80. International conference on prevention and infection control (ICPIC) Geneva, June 20-23, 2017.
- 20- Seth-Smith H, Dominik Meinel D, Dominique S. Blanc DS, Abdelbary MMH, Droz S, Führer U, Casanova C, Lang C, Dubuis O, Schlegel M, Sommerstein R, Widmer A, Keller K, Marschall J, Egli A. *Burkholderia stabilis* outbreak in ICU patients from contaminated wipes: description and genome sequence of an opportunistic pathogen. European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) Vienna, April 22-25, 2017.
- 21- Abdelbary MMH, Moulin E, Foguena AF, Berthod D, Greub G, Hequet D, Zanetti G, Senn L, Blanc DS. Analysis of two years sequential outbreaks of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* at a tertiary care hospital using whole-genome sequencing. European Congress Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID) Vienna, April 22-25, 2017.
- 22- Magalhães B, Abdelbary MMH, Eggimann P, Prod'hom G, Greub G Senn L, S. Blanc DS. Application of whole genome sequencing to investigate an increase in *Pseudomonas aeruginosa* incidence in ICUs. Applied Bioinformatics and Public Health Microbiology, London, May 17-19 2017.7

7. RELATIONS INTERNATIONALES

Nous avons poursuivi le développement de nos relations internationales notamment grâce à notre Laboratoire Européen Associé au sein de l'Unité INSERM UMR1137 (France). Nous sommes en particulier en cours de réalisation d'une vaste étude ayant pour objet d'analyser la diffusion de la résistance aux polymyxines dans cinq hôpitaux parisiens, ce qui va permettre de connaître l'étendue réelle de cette résistance en médecine humaine. Nous poursuivons également nos collaborations avec le Centre National Français des Résistances Emergentes aux Antibiotiques (que nous avons contribué à créer en 2012) sur la caractérisation et l'épidémiologie des souches productrices de carbapénèmases

(Dortet L, Cuzon G, Ponties V, Nordmann P. Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. Euro Surveill 2017;22. doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.6.30461.) Au Portugal, nous avons mené des travaux sur l'épidémiologie de la résistance aux polymyxines dans le monde animal. Sur le plan européen nous participons à un réseau de surveillance de la diffusion des souches productrices de carbapénèmases sous le patronage du ECDC de Stockholm. (Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, Cantón R, Carmeli Y, Friedrich AW, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Nordmann P, Poirel L, Rossolini GM, Seifert H, Vatopoulos A, Walsh T, Woodford N, Monnet DL; European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) Working Group.. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. Lancet Infect Dis 2017;17:153–63. doi:10.1016/S1473-3099(16)30257).

En dehors du continent européen, au-delà des partenariats universitaires et industriels déjà développés sur les cinq continents (incluant la participation aux comités d'organisation de plusieurs congrès internationaux et aux comités éditoriaux de plusieurs journaux scientifiques), nous avons développé en 2017 de nouvelles relations scientifiques avec des collègues de Singapour, de Birmanie, du Brésil, d'Angola, de Sao Tomé et Príncipe, de Thaïlande, d'Indonésie et dernièrement d'Iran.

Enfin nous débutons un projet intitulé « *Escherichia coli* ST131: a model for high-risk transmission dynamics of antimicrobial resistance » en tant que partenaire au sein du projet international JPI-AMR (dirigé par le Pr J. Pitout, Calgary, Canada), en partenariat avec des équipes de France, d'Espagne, et du Royaume-Uni). Notre rôle est ici de mieux comprendre quels sont les facteurs qui peuvent influencer les événements génétiques à l'origine de l'acquisition des gènes codant pour les β -lactamases à spectre étendu de type CTX-M dans le clone pandémique mondial de *E. coli* ST131.

8. CONCLUSION

Le NARA est en pleine expansion depuis sa création début 2107 avec des activités multiples notamment du travail très important de mise au point des techniques d'étude des résistances émergentes aux antibiotiques. Le nombre des demandes en forte progression témoigne de l'importance de ce centre de référence d'un point de vue stratégique en Suisse. En six mois, ce centre a permis notamment la mise en évidence de nouveaux mécanismes de résistances (ex; association de carbapénèmases KPC et de 16sRNA méthylases) ou d'épidémies de souches multirésistantes passées inaperçues. Il a développé de nouveaux tests de diagnostic rapide des résistances émergentes aux antibiotiques et a évalué un certain nombre de tests de résistances commercialisés. D'un point de vue national et international, le NARA a une activité de communication très soutenue, se positionnant comme l'un des acteurs majeurs sur le sujet de l'antibiorésistance en Suisse. Les objectifs nationaux pour l'année à venir sont de poursuivre son implantation en Suisse alémanique et italophone et de renforcer ses collaborations avec le SAC, ANRESIS (réunions trimestrielles) et la Société suisse de Microbiologie. La diffusion de protocoles d'analyse des résistances émergentes et des résultats d'évaluation de kits diagnostics sera effectuée dans ce but afin d'aider notamment le SAC dans le choix des tests de diagnostic rapide et des méthodes de référence d'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Sur le plan international, une amplification des liens avec les centres de références de

résistances aux antibiotiques britanniques, français, allemands, italiens et espagnols sera réalisée.

Au vu des résultats déjà obtenus et pour limiter la dissémination des résistances aux antibiotiques en Suisse, il apparaît utile de proposer, à l'OFSP dès le 1er janvier 2018, de recommander, que pour toute souche de bacilles à Gram négatif exprimant une carbapénèmase, un screening de la résistance aux polymyxines et de la résistance à tous les aminosides soit réalisé. Cette recommandation permettra d'identifier le plus vite possible des souches dont l'évolution et la diffusion vers la "pandrug" résistance deviennent désormais possible sur le territoire helvétique.
