

Recommandations pour la détection de carbapénémase chez *Pseudomonas aeruginosa** et *Acinetobacter* spp. multi-résistants au laboratoire en Belgique

- L'envoi d'isolats appartenant à des espèces de *Pseudomonas* spp. autre que *P. aeruginosa* (p.ex.: *P. putida*, *P. monteilii*, *P. pseudoalcaligenes*,...) est accepté si celles-ci présentent les critères de multi-résistance requis

P. aeruginosa et *Acinetobacter* spp. multi-résistants aux antibiotiques

- **Les résistances naturelles aux beta-lactamines dépourvues d'activité ou à activité faible sur *Pseudomonas*/*Acinetobacter* (ampi, amox+clav, cephalos 1, cephalos 2, ceftriax/cefotax, temocilline, ertapénème) ne doivent pas être considérées dans les critères de multi-résistance**

L'Ertapénème utilisé comme molécule carbapénème pour le screening des CPE, n'est pas acceptable pour le screening des carbapénémases ni chez *P. aeruginosa* ni chez *Acinetobacter* spp. (car activité intrinsèque faible ou absente)

P. aeruginosa et *Acinetobacter* spp. sont intrinsèquement résistants à la témocilline. Cette molécule utilisée pour le screening de certains types de CPE (p.ex OXA-48) n'a pas de place pour la détection de carbapénémases chez *P. aeruginosa* ni chez *Acinetobacter* spp.

- **Absence de critères standardisés pour la définition de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. multi-résistants**

1) *P. aeruginosa* :

Résistance (I ou R) à au moins trois classes d'antibiotiques parmi les suivants (critères EUCAST ou CLSI):

- céphalosporines de 3^{ème} ou de 4^{ème} génération (ceftazidime, cefepime)
- uréidopénicillines (large spectre) (pipéracilline +/- tazobactam)
- carbapénèmes (méropenem, imipenem)
- fluoroquinolones (ciprofloxacine, levofloxacine),
- aminoglycosides (gentamicine, tobramycine, amikacine)

2) *Acinetobacter* spp. (surtout *A. baumannii*):

Résistance (I ou R) aux 3 classes d'antibiotiques suivantes (critères EUCAST ou CLSI):

- carbapénèmes (méropenem, imipenem)
- fluoroquinolones (ciprofloxacine, levofloxacine),
- aminoglycosides (gentamicine, tobramycine, amikacine)

NB: les souches d'*A. baumannii* MR sont habituellement également résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} ou de 4^{ème} génération ainsi qu'aux uréido-pénicillines. Pour ces deux classes, aucune valeur seuil (breakpoint) n'est définie par l'EUCAST.

Différents types de carbapénémases retrouvées chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. et compaisaon avec Entérobactéries (CPE)

Classe moléculaire de Ambler	Types de carbapenemases	Enterobacteriaceae	Non-Fermentants
A (sérine)	KPC GES, IMI, NMC, SME	+++ +	-/+ -/+
B (Métallo βL)	VIM, IMP NDM AIM, DIM, SIM, SPM, TMB	+++ +++ -	+++ (Pseudomonas) ++ (Acinetobacter) +
D (Sérine)	OXA-48-like OXA-198 OXA-23, -24, -58, -143, -235	+++ - +/-	- -/+ (Pseudomonas) +++ (Acinetobacter)

P. aeruginosa (Métallo- β L Classe B): VIM > IMP > NDM (rare)

Acinetobacter spp. (Classe D): OXA-23 > OXA-24 > OXA-58

(Classe B): NDM seule ou associée à OXA-23 > IMP/VIM très rare en Europe chez *Acinetobacter*

NB: Pas d'OXA-48 chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.

Présence de KPC rarissime en Europe chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. (Amérique du Sud, Chine)

Tests pour le screening de carbapénémases chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.

- **Résistance aux carbapénèmes:**
 - Chez *P. aeruginosa*: tester meropenem ET imipenem (I/R à imipenem seulement et S-meropenem est suggestif d'une résistance par imperméabilité de paroi (porine OprD déficiente)
 - Aucune valeur seuil définie pour le screening de carbapénémase (Imi ou Mero)
 - Ne pas tester l'ertapenem ! (résistance intrinsèque chez *Acinetobacter* spp. et activité faible chez *P. aeruginosa* (2/3 des souches sont résistantes)
- **ET profil répondant aux critères de MDR (cfr dia 2)**
- **Tests rapides d'hydrolyse des carbapénèmes (un test parmi les suivants):**
 - RAPIDEC (BioMérieux) (validé pour *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.)
 - Rapid CARB Screen Kit (ROSCO), Rapid CARB Blue Kit (ROSCO) (validé seulement pour *P. aeruginosa*)
- **Test de synergie imipenem + cloxacillin "High" (4000 µg) (ROSCO)**
 - Synergie (IMI + CLOXA vs IMI: zone ≥ 5 mm) -> absence de carbapénémase (AmpC hyperproduite et imperméabilité de paroi (défiance porine OprD)
 - Absence de Synergie (IMI + CLOXA vs IMI < 5 mm) -> Carbapénémase possible

Tests de confirmation pour la détection de carbapénémases chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp.

Pour la confirmation de métallo- β L

- **Tests de synergie avec inhibiteurs (EDTA/DPA):**

- Disques papier: IMI +/- EDTA
- Tablettes (ROSCO): IMI +/- EDTA ou IMI +/- DPA ou MERO +/- DPA
- Bandelette par gradient de diffusion: IMI +/- EDTA ou MERO +/- DPA...

NB: ces tests ne permettent pas la caractérisation précise du type de métallo- β L (VIM, IMP, NDM,...)

- **Tests moléculaires**

- PCR multiplex
- Biopuces/microarray à ADN
- Amplification par méthodes isothermes [LAMP],
- PCR in house
- ...

NB₁: Test de Hodge modifié non validé pour la détection de carbapénémases chez non-fermentants (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter*)

NB₂: Tests phénotypiques commerciaux avec inhibiteurs (ac. Phényl-boronique) ne sont pas validés pour la détection de carbapénémase de classe A (type KPC); résultats fréquemment "faux +" chez *P. aeruginosa* liés à la présence de β -lactamase AmpC hyperproduite)

NB₃: Il n'existe aucun tests phénotypiques avec inhibiteurs pour la détection de carbapénémase de classe D chez *Acinetobacter* spp. (résultats de synergie faux + avec EDTA chez *Acinetobacter* spp producteur de carbapénémase de type OXA (OXA-23, -24, -58)
-> caractérisation par tests moléculaires uniquement

Critères de rejet d'analyses pour confirmation de carbapénémases chez *Pseudomonas*/*Acinetobacter* par le CNR

- Réception d'échantillon sans formulaire d'envoi, sans références d'identification ou sans copie
- Echantillons endommagés (plaque gélose écrasées, tubes en verre brisés,....)
- Culture contaminée
- Isolats bactériens reçus identifiés par le CNR comme appartenant à une espèce différente de celle renseignée sur le formulaire d'envoi
- Isolats bactériens appartenant à un genre/espèce (non –fermentants) autres que *P. aeruginosa* ou *Acinetobacter* spp
- Isolats bactériens sensibles à tous les carbapénèmes (çad: avec valeurs des résultats en diamètre ou en CMI dans la catégorie sensible)
- Isolats bactériens “doublons” (même espèce, même antibiogramme et issus de plusieurs prélèvements répétés ou de plusieurs sites anatomiques chez un même patient)