



Rapport sur la surveillance de laboratoire des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes isolées au Québec en 2013

Rapport sur la surveillance de laboratoire des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes isolées au Québec en 2013

RAPPORT ANNUEL

Laboratoire de santé publique du Québec

Mai 2014

AUTEURE

Brigitte Lefebvre, Ph. D.
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

AVEC LA COLLABORATION DE

Simon Lévesque, Ph. D.
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

Christian Lavallée, M.D., président du SPIN-BGNPC
Hôpital Maisonneuve-Rosemont

DIRECTION SCIENTIFIQUE

Cécile L. Tremblay, M.D., directrice scientifique
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

MISE EN PAGE

Kim Bétournay, agente administrative
Laboratoire de santé publique du Québec
Institut national de santé publique du Québec

REMERCIEMENTS

Nos remerciements s'adressent à l'ensemble du personnel des laboratoires de microbiologie pour l'envoi des souches au Laboratoire de santé publique du Québec (LSPQ) de l'Institut national de santé publique du Québec.

Au LSPQ, nous remercions les équipes de travail des secteurs Identification bactérienne, Identification bactérienne - biologie moléculaire et Marqueurs épidémiologiques, particulièrement Simon Wong pour son travail technique ainsi que l'équipe ayant travaillé à la fabrication des milieux de culture nécessaires aux analyses d'identification et de sensibilité aux antibiotiques.

Au Laboratoire national de microbiologie (LNM), l'équipe du D^r Michael Mulvey incluant David Boyd et Laura Mataseje.

Ce document est disponible intégralement en format électronique (PDF) sur le site Web de l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

Les reproductions à des fins d'étude privée ou de recherche sont autorisées en vertu de l'article 29 de la Loi sur le droit d'auteur. Toute autre utilisation doit faire l'objet d'une autorisation du gouvernement du Québec qui détient les droits exclusifs de propriété intellectuelle sur ce document. Cette autorisation peut être obtenue en formulant une demande au guichet central du Service de la gestion des droits d'auteur des Publications du Québec à l'aide d'un formulaire en ligne accessible à l'adresse suivante : <http://www.droitauteur.gouv.qc.ca/autorisation.php>, ou en écrivant un courriel à : droit.auteur@cspq.gouv.qc.ca.

Les données contenues dans le document peuvent être citées, à condition d'en mentionner la source.

DÉPÔT LÉGAL – 1^{er} TRIMESTRE 2015
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES NATIONALES DU QUÉBEC
BIBLIOTHÈQUE ET ARCHIVES CANADA
ISSN : 1929-574x (PDF)
ISBN : 978-2-550-72055-3 (PDF)

©Gouvernement du Québec (2015)

Table des matières

Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	V
Contexte.....	1
Faits saillants de 2013	3
Introduction	5
1 Mécanismes de résistance	7
2 Détection phénotypique des carbapénèmases	9
2.1 Détection des carbapénèmases.....	9
2.2 Distinction entre les carbapénèmases et les autres mécanismes	9
3 Objectifs	11
4 Méthode	13
4.1 Mise place du programme.....	13
4.2 Critères de sélection des souches	13
4.3 Analyses de laboratoire	13
4.3.1 Sensibilité aux antibiotiques	13
4.3.2 Détection phénotypique de la résistance	13
4.3.3 Détection génotypique de la résistance	14
4.3.4 Caractérisation moléculaire par EGCP.....	14
5 Résultats de la surveillance et discussion	15
5.1 Souches reçues dans le cadre du programme de surveillance	15
5.2 Données démographiques.....	15
5.3 Mécanismes de résistance	18
5.3.1 Souches résistantes aux carbapénèmes pour la production de carbapénèmases de type KPC	19
5.3.2 Souches résistantes aux carbapénèmes par la production de carbapénèmases autres que KPC	24
5.3.3 Souches résistantes aux carbapénèmes par des mécanismes autres que la production de carbapénémase.....	26
5.4 Profils de sensibilité aux antibiotiques selon les mécanismes de résistance identifiés chez les ERC.....	28
6 Impact de la modification des critères d'inclusion des souches.....	31
7 Perspectives	33
Conclusion.....	35
Références	37
Annexe 1 Algorithme du programme de surveillance des ERC.....	41

Liste des tableaux

Tableau 1	Substrats et profils d'inhibition des β -lactamases de type carbapénémases.....	8
Tableau 2	Souches reçues et analysées dans le cadre de la surveillance des ERC	15
Tableau 3	Mécanismes de résistance des souches analysées (n = 157).....	19
Tableau 4	Détails relatifs aux souches KPC analysées dans le cadre de la surveillance des ERC	20
Tableau 5	Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches KPC (n = 47).....	21
Tableau 6	Profils d'EGCP chez les souches KPC	24
Tableau 7	Souches de type KPC isolées chez un même patient.....	24
Tableau 8	Profils de sensibilité aux antibiotiques pour les 14 souches productrices de carbapénémases autres que KPC	25
Tableau 9	Profils phénotypiques obtenus chez les ERC dont la résistance aux carbapénèmes est due à un mécanisme autre que la production de carbapénémase (n = 96).....	27
Tableau 10	Résumé des résultats phénotypiques obtenus selon les mécanismes de résistance identifiés chez les ERC	29
Tableau 11	Évolution des mécanismes de résistance chez les souches du programme de surveillance.....	31

Liste des figures

Figure 1	Distribution des souches analysées selon l'âge et le sexe des patients.....	16
Figure 2	Répartition du nombre de souches analysées et du nombre de souches KPC en fonction de la RSS d'appartenance des centres hospitaliers.....	17
Figure 3	Distribution des sites d'isolement des souches analysées (n = 157)	18
Figure 4	Distribution des 47 souches KPC de janvier à décembre 2013	20
Figure 5	Distribution des CMI à l'ertapénème chez les souches KPC (n = 38).....	22
Figure 6	Distribution des CMI à l'imipénème chez les souches KPC (n = 38).....	22
Figure 7	Distribution des CMI au méropénème chez les souches KPC (n = 38).....	23

Contexte

En 2010, une publication a décrit un nouveau mécanisme de résistance chez des souches d'entérobactéries en provenance d'Inde, du Pakistan et du Royaume-Uni. Cette étude présentait la découverte d'une nouvelle carbapénémase, la *New Delhi metallo-beta-lactamase* (NDM). Cette découverte a alerté la communauté médicale et scientifique internationale et secoué les autorités de santé publique. Suite à cette publication, le LSPQ a mis sur pied, en août 2010, un programme de surveillance provincial de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries visant à évaluer la présence des souches productrices de carbapénèmes au Québec et à soutenir la pratique clinique.

L'émergence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) est un problème de santé majeur puisque ces bactéries sont résistantes à plusieurs classes d'antibiotiques. La résistance aux carbapénèmes peut être secondaire à plusieurs mécanismes, dont la production de carbapénémases. Les trois catégories de carbapénémases en émergence chez les entérobactéries sont les enzymes KPC (*Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémases), NDM (*New-Delhi metallo-beta-lactamase*) et OXA-48. La détection des ERC par les tests de laboratoire phénotypiques classiques est difficile et représente un défi pour les laboratoires de microbiologie médicale.

La résistance aux carbapénèmes peut être séparée en deux catégories : production de carbapénémase et mécanismes autres que la production de carbapénémase. Depuis le début du programme de surveillance, ces mécanismes ont été retrouvés respectivement chez 25,7 % et 74,3 % des souches. Ainsi, 232 souches productrices de carbapénémases ont été identifiées soient 200 souches KPC (22,2 %); 12 souches de *S. marcescens* SME (1,3 %); 8 OXA-48 dont 5 *K. pneumoniae* et 3 *E. coli* (0,9 %); 11 souches de *K. pneumoniae* NDM (1,2 %) et 1 souche d'*E. cloacae* NMC (0,1 %).

Pour l'année 2013, 264 souches ont été reçues au LSPQ dans le cadre de la surveillance et 157 répondaient aux critères d'inclusion. La production de carbapénémases a été confirmée chez 61 (38,9 %) souches; parmi celles-ci, 47 étaient de type KPC (*K. pneumoniae*, n = 18). Les souches produisant une enzyme de type KPC étaient généralement résistantes à l'aztréoname et aux carbapénèmes et elles se sont avérées majoritairement sensibles à la tigécycline. Les taux de résistance aux aminosides, à la colistine et à la ciprofloxacine étaient variables.

Parmi les souches analysées en 2013, une possédait également le gène VIM. Le gène *bla*_{NDM} a été retrouvé chez 6 souches de *K. pneumoniae* et 2 souches de *E. coli*, le gène *bla*_{OXA-48} chez 2 souches de *K. pneumoniae* et 1 souche d'*E. coli* et le gène *bla*_{SME} (*Serratia marcescens* enzyme) chez 3 souches de *Serratia marcescens*. Des mécanismes de résistance autres que la production de carbapénémases ont également été identifiés chez 96 souches (61,1 %).

La poursuite du programme de surveillance en laboratoire des ERC permettra de suivre l'évolution des carbapénémases au Québec, d'analyser les profils génétiques des souches circulantes et de déterminer la sensibilité aux antibiotiques. Les résultats générés par ce programme fournissent des informations essentielles pour les laboratoires, les équipes de prévention des infections et les directions de santé publique (DSP).

De plus, les données du programme de surveillance contribuent à orienter les discussions du Comité d'expert sur la résistance aux antibiotiques (CERA) et du Comité sur les infections nosocomiales du Québec (CINQ) afin qu'ils recommandent des mesures visant à améliorer la surveillance et la prévention de ce problème émergent. Ainsi, en avril 2014, le comité SPIN-BGNPC (bâtonnets à Gram

négatifs producteurs de carbapénèmases) initiait un programme de surveillance des entérobactéries productrices de carbapénèmases et des *Acinetobacter baumannii* multi-résistants afin d'obtenir une meilleure caractérisation épidémiologique des cas.

Faits saillants de 2013

L'analyse des résultats obtenus dans le cadre du programme de surveillance en laboratoire des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes a permis de dégager les éléments suivants :

- Près de 32 % des souches reçues étaient résistantes aux carbapénèmes par une surexpression de leur AmpC chromosomique possiblement combinée à des mutations au niveau des porines. Parmi celles-ci, 74 % étaient des *E. cloacae*. Les autres souches possédant potentiellement ce même mécanisme étaient :
 - *E. aerogenes* (12 %)
 - *S. marcescens* (6 %)
 - *H. alvei* (4 %)
 - *C. freundii* (2 %)
 - *E. amnigenius* (2 %)
- Chez 29,4 % des souches, la résistance aux carbapénèmes était due à un mécanisme autre que la production de carbapénémases ou à la combinaison d'une AmpC chromosomique surexprimée combinée à une réduction de perméabilité membranaire;
- Une carbapénémase a été identifiée chez 61 souches (38,9 %);
- Le gène *bla*_{KPC} a été identifié chez 47 souches (29,9 %);
- Huit souches de *K. pneumoniae* (6 patients) ont été trouvées productrices de métallo-β-lactamase. Cette résistance a été confirmée par la présence du gène *bla*_{NDM};
- Trois souches de *S. marcescens* ont été trouvées porteuses du gène *bla*_{SME};
- Le gène *bla*_{OXA-48} a été identifié chez 2 souches de *K. pneumoniae* et 1 souche d'*E. coli*.

Introduction

Les carbapénèmes regroupent une classe d'antibiotiques bactéricides appartenant à la famille des β -lactamines. Elles constituent souvent une arme de dernier recours pour le traitement d'infections par des bactéries multi-résistantes et ont un large spectre d'activité. L'apparition de résistance à ces molécules représente donc une menace importante à la santé des populations. La première souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase de type KPC a été identifiée en Caroline du Nord aux États-Unis en 1996⁽²⁷⁾. Depuis, ces souches ont été identifiées à travers le monde. Plusieurs épidémies ont été documentées et le problème est endémique en Israël, en Colombie, en Grèce, dans les états de la Côte Est américaine et à Puerto Rico⁽¹⁵⁾. Depuis 2007 des éclosions causées par des souches de *Klebsiella* produisant une carbapénémase de type OXA-48 ont été rapportées en Europe et au Moyen-Orient^(19,20). Ces souches ont aussi été identifiées au Canada⁽¹⁰⁾. Enfin, la carbapénémase de type NDM (*New Delhi metallo-beta-lactamase*) a été décrite en 2009 en Suède chez un patient d'origine indienne hospitalisé précédemment en Inde⁽²⁸⁾ et identifiée par la suite en Inde⁽⁹⁾, au Pakistan⁽⁹⁾, en Angleterre⁽¹³⁾, aux États-Unis⁽⁴⁾ et au Canada^(12,16,24). Des éclosions nosocomiales et communautaires causées par des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases de type NDM-1 ont été rapportées à l'extérieur du Québec⁽¹⁵⁾. Une étude a également démontré la présence de bactéries porteuses du gène *bla*_{NDM-1} dans des échantillons environnementaux prélevés à New Delhi en Inde⁽²⁶⁾.

Les investigations en laboratoire d'éclosions à entérobactéries productrices de carbapénémases sont d'une grande complexité due à l'importante diversité des bactéries retrouvées dans la famille des entérobactéries, à l'existence d'une multitude de gènes de résistance aux carbapénèmes (carbapénémases), ainsi qu'à la possibilité de transmission de ces gènes inter- et intra-espèces.

Dans le cadre de l'émergence de ces nouvelles résistances, une surveillance prospective de la résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries a été instaurée en août 2010. Les objectifs du programme de surveillance étaient d'évaluer l'ampleur du problème au Québec et de proposer une approche diagnostique efficace pour la détection des souches résistantes aux carbapénèmes.

À la lumière de l'analyse des résultats obtenus au cours de la période de surveillance 2010-2011, un nouvel algorithme a été introduit en juillet 2012 afin de mieux cibler les souches à soumettre au Laboratoire de santé publique du Québec pour études phénotypiques et génotypiques supplémentaires. Cette nouvelle approche s'appuyait sur les derniers critères du document du Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) publié en 2012. Ces nouveaux critères ont permis d'améliorer la qualité du programme principalement en éliminant les souches d'*E. cloacae* avec de faibles CMI à l'ertapénème dont le mécanisme de résistance possible était la surexpression de l'AmpC chromosomique combinée à des mutations au niveau des porines. Cette modification s'est fait sentir lorsque l'on analyse les données pour l'année 2013.

Dans ce présent rapport, nous présentons les résultats de la surveillance provinciale des ERC pour l'année 2013.

1 Mécanismes de résistance

Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes est due essentiellement à des mécanismes impliquant la production de β -lactamases, soient :

- la production de carbapénémase;
- la production d'une β -lactamase de type AmpC combinée à une diminution de l'expression de certaines protéines transmembranaires (porines);
- la production d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) combinée à une diminution de l'expression de certaines protéines transmembranaires.

Le tableau 1 présente la classification des carbapénémases et leurs caractéristiques particulières. Ce tableau permet de mieux comprendre et d'interpréter les résultats phénotypiques des antibiogrammes (profils hydrolytiques) et les résultats des tests d'inhibition qui peuvent être utilisés dans les laboratoires cliniques.

Tableau 1 Substrats et profils d'inhibition des β -lactamases de type carbapénèmases

β -lactamases	Classification d'Ambler	Exemples d'enzymes	Profils hydrolytiques			Inhibiteurs
			Céphalosporines de 3 ^e , 4 ^e génération et céphamycines (céfoxitine / céfotétan)	Aztréoname	Carbapénèmes	
Carbapénèmases	A	NMC	+	+	+	Acide clavulanique (KPC) Acide boronique (KPC)
		IMI	+	+	+	
		SME	+/-	+	+	
		KPC	+	+	+	
		GES	+	-	+/-	
Métallo-β-lactamases	B	NDM	+	-	+	EDTA Acide dipicolinique
		IMP	+	-	+	
		VIM	+	-	+	
		GIM	+	-	+	
		SPM	+	-	+	
Oxacillinases de type carbapénèmases	D	OXA-23 OXA-24 OXA-48 OXA-58	+/-	-	+/-	Acide clavulanique +/-

Adapté de Queenan et Bush, 2007.

2 Détection phénotypique des carbapénémases

La détection phénotypique des différentes carbapénémases est basée sur leur capacité ou non à hydrolyser des substrats particuliers ainsi que sur leurs profils d'inhibition en présence de certains composés. Plusieurs tests phénotypiques sont disponibles commercialement, mais leur efficacité peut être limitée par la fréquente cohabitation de plusieurs β -lactamases différentes au sein d'une même souche bactérienne. Seule l'utilisation de tests moléculaires permet de confirmer l'interprétation des tests phénotypiques et d'identifier clairement le(s) gène(s) impliqué(s) dans le mécanisme de résistance⁽¹⁸⁾.

2.1 Détection des carbapénémases

L'analyse de l'antibiogramme est généralement la première étape dans la détection des carbapénémases. La non-sensibilité à l'ertapénème est un indicateur très fiable dû à sa grande sensibilité, mais elle est peu spécifique. Elle doit être couplée à la non-sensibilité à une autre carbapénème (ex. : méropénème) pour augmenter la spécificité. De plus, la résistance à une carbapénème n'implique pas automatiquement la présence d'une carbapénémase; des tests supplémentaires doivent être entrepris pour identifier le mécanisme de résistance.

2.2 Distinction entre les carbapénémases et les autres mécanismes

La détection des gènes de résistance par biologie moléculaire s'avère le seul outil permettant une identification précise des carbapénémases. La mise en évidence de souches productrices de carbapénémases de classes A et D peut être réalisée par le test de Hodge modifié. Ce test phénotypique consiste à placer la souche clinique en présence d'un disque de méropénème et/ou d'ertapénème sur une gélose où est ensemencée une souche sensible aux carbapénèmes. La présence d'une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque d'antibiotique au contact de la souche testée est interprétée comme un résultat positif⁽⁶⁾. Toutefois, ce test peut engendrer des résultats faussement positifs chez les souches possédant une AmpC surexprimée. D'autre part, les carbapénémases de classe B peuvent ne pas être détectées par ce test⁽²²⁾. Par contre, on peut utiliser différents inhibiteurs pour différencier les carbapénémases.

Classe A

Les carbapénémases de classe A sont habituellement inhibées par l'acide boronique et l'acide clavulanique.

Classe B

Les métallo- β -lactamases (MBL) nécessitent des ions Zn^{2+} pour leur activité enzymatique. L'EDTA et l'acide dipicolinique sont des chélateurs des ions de zinc et donc des inhibiteurs de ces enzymes. La propriété d'inhibition des enzymes de classe B par l'EDTA est mise à profit dans le E-test MBL qui contient un gradient de carbapénème (imipénème ou méropénème) avec et sans EDTA. Phénotypiquement, les MBL confèrent la résistance à diverses β -lactamines telles les pénicillines, les céphalosporines de 3^e génération, les céphamycines et les carbapénèmes. Seul l'aztréoname est généralement épargné. Toutefois, la présence d'autres β -lactamases chez les souches productrices de MBL peut conduire à une résistance à l'aztréoname.

Classe D

Les carbapénèmases de classe D ne sont habituellement pas inhibées par l'EDTA, l'acide dipicolinique ou l'acide boronique.

Finalement, les souches productrices d'AmpC ou de BLSE peuvent produire une résistance aux carbapénèmes si elles sont couplées à un changement dans la perméabilité membranaire ou à un mécanisme d'efflux. Les souches AmpC ne seront pas inhibées par l'acide clavulanique contrairement aux souches productrices de carbapénèmases de classe A et elles sont généralement sensibles aux céphalosporines de 4^e génération (céfépime).

3 Objectifs

Les objectifs du programme de surveillance des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC) sont de :

- documenter la présence des ERC au Québec;
- préciser les mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les souches résistantes;
- établir les profils de sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénèmases afin de soutenir la pratique clinique;
- déterminer les relations génétiques entre les souches d'entérobactéries de type KPC;
- détecter rapidement par PCR les gènes codant pour les carbapénèmases afin de soutenir les équipes de prévention et de contrôle des infections.

4 Méthode

4.1 Mise place du programme

Le 12 août 2010, le LSPQ a informé tous les laboratoires de microbiologie du Québec de la mise en place d'un programme de surveillance des ERC afin d'en suivre l'émergence.

Le 11 juillet 2012, le LSPQ a informé tous les laboratoires de microbiologie du Québec du changement d'algorithme pour la surveillance des ERC. Ce nouvel algorithme est illustré à l'annexe 1.

4.2 Critères de sélection des souches

Depuis le 11 juillet 2012, les critères pour la sélection des souches du programme de surveillance des ERC ont été modifiés selon l'algorithme de l'annexe 1.

4.3 Analyses de laboratoire

4.3.1 SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de microdilution en bouillon recommandée par le CLSI^(5,6) pour tous les antibiotiques sauf l'aztréoname, la céfoxitine et la tigécycline. Pour ces composés, les CMI ont été déterminées par une méthode de diffusion en gradient (E-test) en suivant les recommandations du fabricant. Les antibiotiques suivants (concentrations testées) ont été étudiés : amikacine (0,12 à 128 mg/L), aztréoname (0,016 à 256 mg/L), céfépime (0,06 à 64 mg/L), céfotaxime (0,03 à 32 mg/L), céfoxitine (0,016 à 256 mg/L), ceftazidime (0,06 à 64 mg/L), ciprofloxacine (0,06 à 64 mg/L), colistine (0,06 à 64 mg/L), ertapénème (0,03 à 32 mg/L), gentamicine (0,06 à 64 mg/L), imipénème (0,03 à 32 mg/L), méropénème (0,03 à 32 mg/L), pipéracilline (0,12 à 128 mg/L), pipéracilline-tazobactam (0,25/4 à 256/4 mg/L), tigécycline (0,016 à 256 mg/L) et tobramycine (0,06 à 64 mg/L). Les résultats des CMI ont été interprétés selon les critères du CLSI 2013 pour tous les antibiotiques lorsque disponibles⁽⁶⁾. Pour la colistine, les critères de l'EUCAST (http://www.eucast.org/clinical_breakpoints, janvier 2013) ont été utilisés ($S \leq 2$ mg/L et $R \geq 4$ mg/L). Pour la tigécycline, les critères ($S \leq 2$ mg/L, $I = 4$ mg/L, $R \geq 8$ mg/L) fournis par le fabricant du produit ont été utilisés (monographie du E-test, version 2009-09, BioMérieux). À partir de novembre 2013, les antibiogrammes pour l'amikacine (0,016 à 256 mg/L), la gentamicine (0,016 à 256 mg/L) et la tobramycine (0,064 à 1024 mg/L) ont été effectués par la méthode de diffusion en gradient (E-test).

4.3.2 DÉTECTION PHÉNOTYPIQUE DE LA RÉSISTANCE

La recherche de BLSE a été effectuée par l'utilisation des disques de céfotaxime et de ceftazidime combinés ou non à l'acide clavulanique tel que recommandé par le CLSI⁽⁶⁾. La recherche d'AmpC a été réalisée par le E-test AmpC (gradient de céfotétan et de céfotétan combiné à la cloxacilline). La recherche de carbapénémases a été réalisée par le test de Hodge modifié⁽⁶⁾ et la détection de métallob- β -lactamases par le E-test MBL (gradient d'imipénème et d'imipénème combiné à l'EDTA).

4.3.3 DÉTECTION GÉNOTYPIQUE DE LA RÉSISTANCE

Lorsqu'indiqué, c'est-à-dire en présence d'une souche résistante ou intermédiaire à la céfoxitine et positive ou indéterminée au E-test AmpC et qui n'est pas connue selon la littérature pour posséder une AmpC chromosomique, la recherche d'AmpC plasmidique a été réalisée par un test d'amplification d'acides nucléiques (TAAN)⁽¹⁷⁾. Trois familles d'enzymes ont été testées soit CIT, DHA et FOX en raison de leur prédominance. Les amorces CIT permettent l'amplification des gènes des β -lactamases LAT-1 à LAT-4, CMY-2 à CMY-7 et BIL-1, les amorces DHA amplifient les gènes des β -lactamases DHA-1 et DHA-2 et les amorces FOX amplifient les gènes des β -lactamases FOX-1 à FOX-5b.

La recherche du gène *bla*_{KPC} codant pour une carbapénémase a été effectuée par TAAN⁽²¹⁾. Au besoin, la recherche d'autres gènes codant pour des carbapénémases (*bla*_{NDM}, VIM, IMP, GES, OXA-48, NMC, SME) a été réalisée avec la collaboration du Laboratoire national de microbiologie de l'Agence de la santé publique du Canada.

4.3.4 CARACTÉRISATION MOLÉCULAIRE PAR EGCP

La caractérisation moléculaire des souches de type KPC a été effectuée par la technique d'électrophorèse sur gel en champ pulsé (EGCP). Le profil électrophorétique de chaque souche (pulsovar) est numérisé pour être ensuite comparé à tous ceux obtenus pour les souches des années précédentes. La nomenclature pour la désignation des génotypes suit les règles suivantes : chaque lettre représente un profil différent et une lettre accompagnée d'un chiffre représente le nombre de différences entre 2 profils reliés. Par exemple, le pulsovar A1 possède une différence avec le pulsovar A. Le pulsovar A1-a possède une différence avec le pulsovar A, mais cette différence n'est pas la même que celle du pulsovar A1. Selon les critères de Tenover, les souches ayant de 1 à 3 différences sont considérées comme probablement reliées tandis que les souches avec 4 à 6 différences sont considérées comme possiblement reliées. Les souches ayant 7 différences et plus sont considérées comme non reliées⁽²³⁾. Le coefficient Dice a été utilisé pour mesurer la similarité entre les profils. Les paramètres de tolérance et d'optimisation ont été fixés à 1 %. La construction des dendrogrammes était basée sur la méthode *unweighted pair group method with arithmetic mean* (UPGMA) en utilisant le logiciel BioNumerics.

5 Résultats de la surveillance et discussion

5.1 Souches reçues dans le cadre du programme de surveillance

Du 1 janvier 2013 au 31 décembre 2013, 264 souches ont été reçues dans le cadre du programme (tableau 2). Au total, 87 (33,0 %) souches ont été exclues puisqu'elles ne satisfaisaient pas aux critères d'inclusion. Des 177 souches admissibles, 19 ont été retranchées puisqu'elles représentaient des doublons sur la base des analyses phénotypiques et génotypiques effectuées au LSPQ. L'analyse détaillée a donc été réalisée sur 158 souches d'entérobactéries répondant aux critères du programme de surveillance.

Tableau 2 Souches reçues et analysées dans le cadre de la surveillance des ERC

Souches	Nombre	%
Reçues	264	
Exclues*	88	33,3
Doublons	19	7,2
Souches retenues (1 souche différente/patient)	157	59,5

* 43 souches non qualifiées pour la surveillance (selon l'antibiogramme des laboratoires hospitaliers); 45 souches non retenues pour la surveillance (selon l'antibiogramme effectué au LSPQ par la méthode de référence ou une erreur d'envoi).

Les 157 souches retenues provenaient de 29 des 88 laboratoires hospitaliers du Québec : 22 centres ont fait parvenir entre 1 et 5 souches, 3 centres entre 6 et 10 souches, 3 centres entre 11 et 20 souches et 1 centre entre 21 et 50 souches. Parmi les 157 souches analysées, la majorité (94,9 %) appartenait aux 7 espèces suivantes : *Klebsiella pneumoniae* (57 souches, 36,3 %), *Enterobacter cloacae* (44 souches, 28,0 %), *Escherichia coli* (17 souches, 10,8 %), *Citrobacter freundii* (9 souches, 5,7 %), *Serratia marcescens* (8 souches, 5,1 %), *K. oxytoca* (7 souches, 4,4 %) et *E. aerogenes* (7 souches, 4,4 %). Les 8 autres souches appartenaient à 6 espèces différentes (5,1 %).

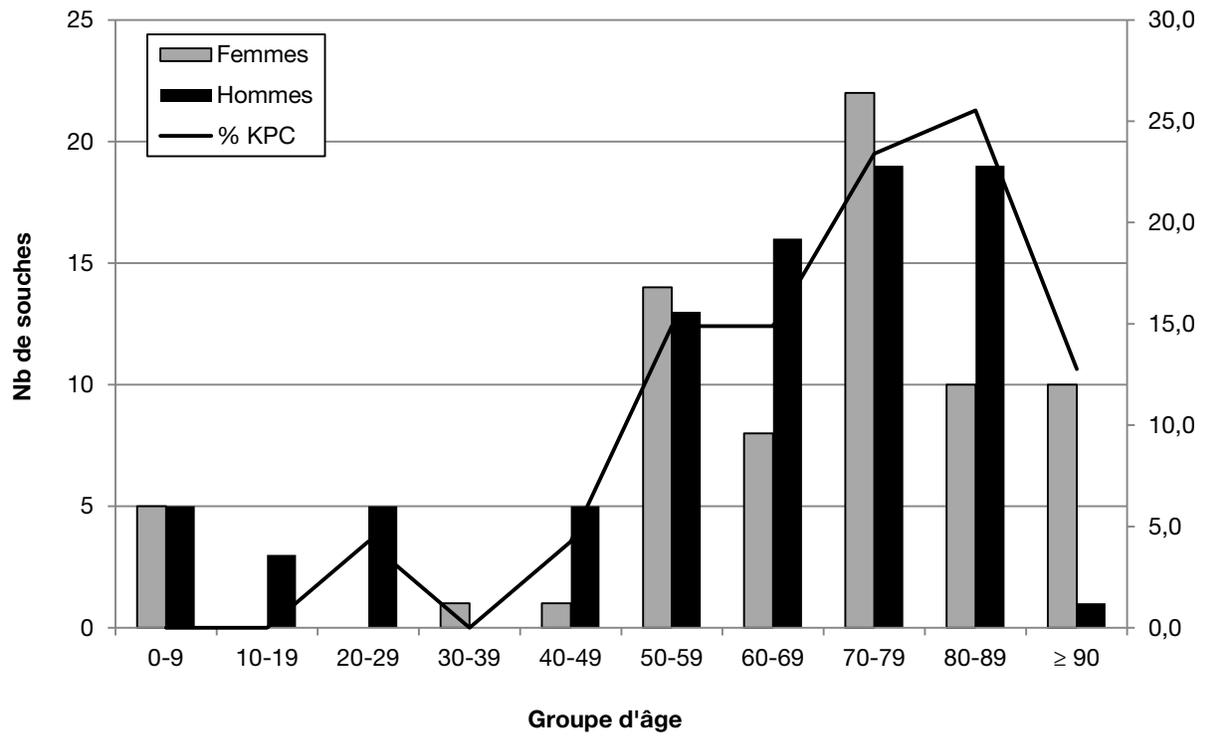
5.2 Données démographiques

Les 157 souches ont été isolées chez 133 patients ce qui signifie que pour un même patient, plusieurs souches de profils différents ont pu être analysées. Pour 21 patients (15,8 %), 2 souches différentes ou plus ont été soumises.

Les figures 1 et 2 présentent, respectivement, les données selon l'âge et le sexe des patients ainsi que la répartition des souches analysées par région sociosanitaire (RSS) et illustrent également la distribution des souches de type KPC identifiées.

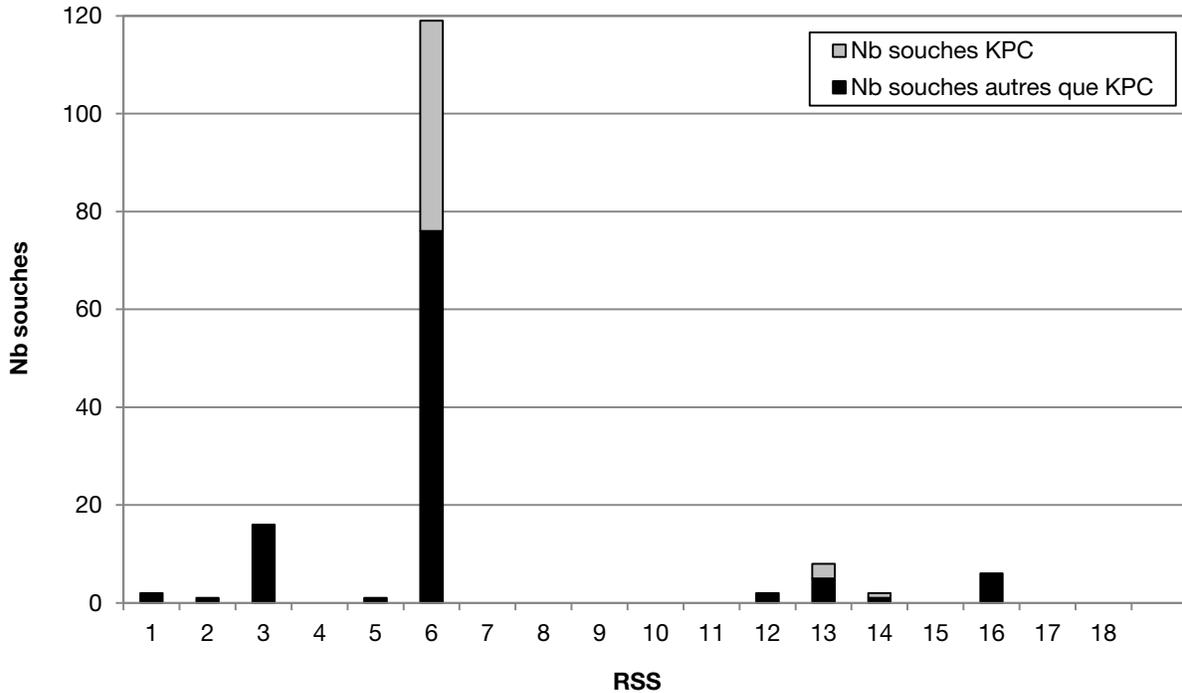
Soixante-et-onze souches (45,2 %) ont été isolées chez des femmes et 86 (54,8 %) chez des hommes. L'âge moyen était de 64 ans (écart : < 1 à 95 ans) et l'âge médian de 70 ans. Les souches de type KPC ont toutes été isolées chez des patients de 25 ans et plus. La majorité des souches est retrouvée chez des patients âgés entre 50 et 89 ans; la majorité des souches KPC (78,7 %) a été retrouvée dans ce groupe d'âge.

Figure 1 Distribution des souches analysées selon l'âge et le sexe des patients % KPC



La figure 2 illustre le nombre de souches acheminées au LSPQ durant la période étudiée selon les RSS des centres hospitaliers ainsi que le nombre de souches de type KPC. Les hôpitaux des RSS 03 (16 souches), 06 (119 souches), 13 (8 souches) et 16 (6 souches) ont acheminé 95 % des spécimens.

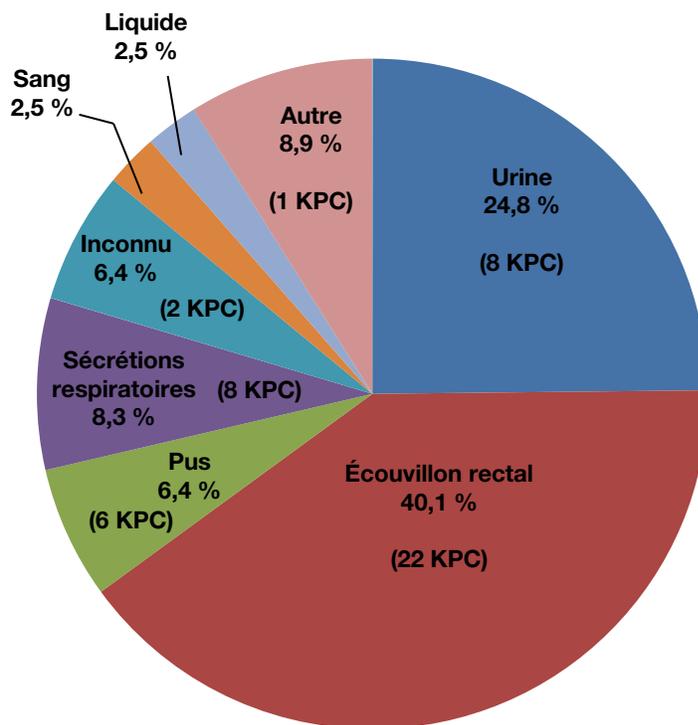
Figure 2 Répartition du nombre de souches analysées et du nombre de souches KPC en fonction de la RSS d'appartenance des centres hospitaliers



Légende : RSS 01 : Bas-St-Laurent; RSS 02 : Saguenay-Lac-St-Jean; RSS 03 : Capitale-Nationale; RSS 04 : Mauricie et Centre-du-Québec; RSS 05 : Estrie; RSS 06 : Montréal; RSS 07 : Outaouais; RSS 08 : Abitibi-Témiscamingue; RSS 09 : Côte-Nord; RSS 10 : Nord-du-Québec; RSS 11 : Gaspésie-Îles-de-la-Madeleine; RSS 12 : Chaudière-Appalaches; RSS 13 : Laval; RSS 14 : Lanaudière; RSS 15 : Laurentides; RSS 16 : Montérégie; RSS 17 : Nunavik; RSS 18 : Terres-Criées-de-la-Baie-James.

La figure 3 présente la répartition des souches analysées selon le site d'isolement. Elles provenaient de spécimens d'écouvillonnage rectal (63 souches), d'urine (39 souches), de sécrétions respiratoires (13 souches), de pus (10 souches), du sang (4 souches) et de liquides stériles (4 souches). Quatorze souches ont été isolées de divers autres sites. Pour 10 souches, le site de prélèvement n'était pas spécifié.

Figure 3 Distribution des sites d'isolement des souches analysées (n = 157)



5.3 Mécanismes de résistance

Le tableau 3 résume les différents mécanismes de résistance aux carbapénèmes identifiés. Parmi les 157 souches analysées, 47 souches de type KPC ont été identifiées (29,9 %) incluant une souche de *K. pneumoniae* aussi porteuse du gène VIM. Les informations détaillées concernant ces souches sont présentées à la section 5.3.1. Trois autres gènes correspondant à une carbapénémase (NDM, OXA-48 et SME) ont été identifiés chez 14 souches (section 5.3.2). La résistance aux carbapénèmes était due à un mécanisme autre que la production de carbapénémase chez 61 % des souches (section 5.3.3).

Tableau 3 Mécanismes de résistance des souches analysées (n = 157)

Mécanismes de résistance aux carbapénèmes		Nb
Carbapénémases		61
KPC	TOTAL	46
	<i>K. pneumoniae</i>	17
	<i>C. freundii</i>	8
	<i>E. cloacae</i>	6
	<i>K. oxytoca</i>	5
	<i>E. coli</i>	4
	<i>Kluyvera</i> sp.	2
	<i>S. marcescens</i>	2
	<i>C. braakii</i>	1
	<i>E. aerogenes</i>	1
KPC et VIM	TOTAL	1
	<i>K. pneumoniae</i>	1
NDM	TOTAL	8
	<i>K. pneumoniae</i>	6
	<i>E. coli</i>	2
OXA-48	TOTAL	3
	<i>K. pneumoniae</i>	2
	<i>E. coli</i>	1
SME	TOTAL	3
	<i>S. marcescens</i>	3
Autres mécanismes de résistance		
	TOTAL	96
	<i>E. cloacae</i>	38
	<i>K. pneumoniae</i>	31
	<i>E. coli</i>	10
	<i>E. aerogenes</i>	6
	<i>S. marcescens</i>	3
	<i>H. alvei</i>	2
	<i>K. oxytoca</i>	2
	<i>C. freundii</i>	1
	<i>E. amnigenus</i>	1
	<i>P. mirabilis</i>	1
	<i>P. vulgaris</i>	1

5.3.1 SOUCHES RÉSIDANTES AUX CARBAPÉNÈMES POUR LA PRODUCTION DE CARBAPÉNÈMASES DE TYPE KPC

Le gène *bla*_{KPC} a été retrouvé chez 47 souches (29,9 %), principalement chez *K. pneumoniae* (18 souches, 38,3 %) (tableau 4). Les souches de type KPC ont été isolées à partir d'écouvillonnages rectaux (22 souches, 46,8 %) réalisés dans le cadre d'un dépistage, d'urines (8 souches, 17,0 %), de

secrétions respiratoires (8 souches, 17,0 %), de pus (6 souches, 12,8 %) et d'autre site (1 souche, 2,1 %). Pour 2 souches (4,3 %), l'origine du prélèvement n'était pas spécifiée.

Les souches KPC ont été reçues de 10 centres hospitaliers : 8 situés à Montréal (RSS 06, 43 souches), 1 à Laval (RSS 13, 3 souches) et 1 dans Lanaudière (RSS 14, 1 souche). La distribution des souches KPC dans le temps est présentée dans la figure 4.

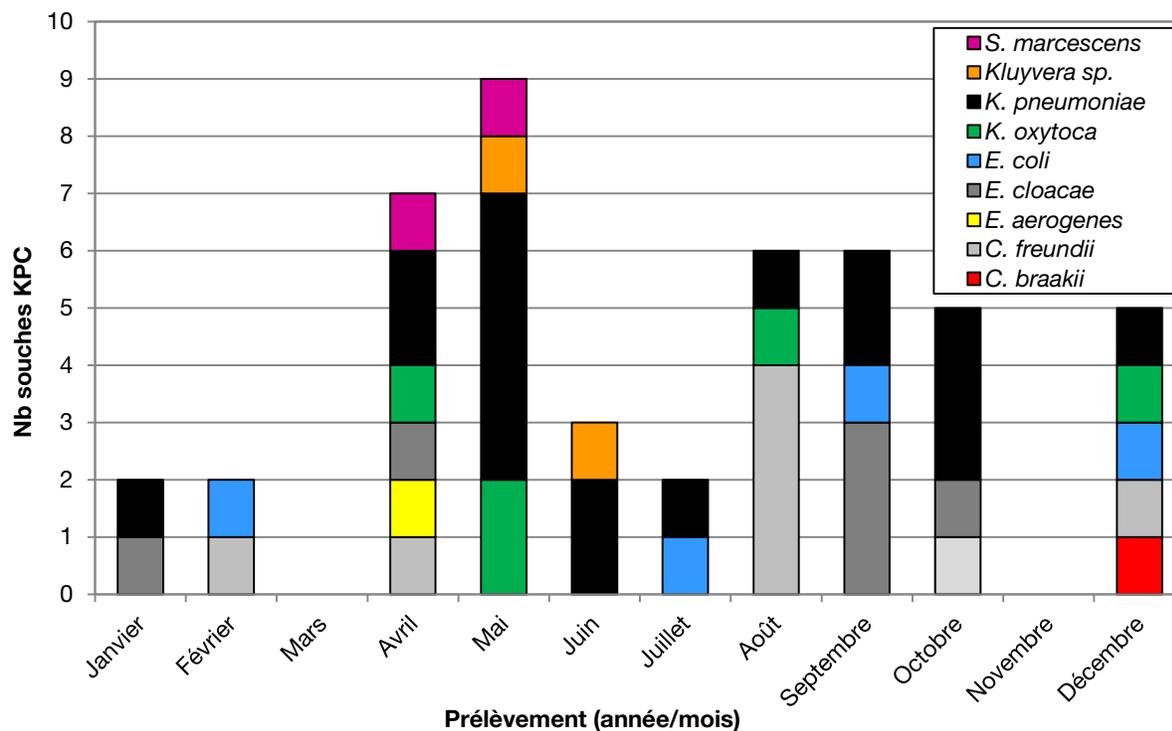
Tableau 4 Détails relatifs aux souches KPC analysées dans le cadre de la surveillance des ERC

Souches	Nb souches KPC	Spécimens de dépistage**	Spécimens cliniques	RSS (Nb d'hôpitaux)
<i>K. pneumoniae</i>	18*	10	8	06 (5), 13 (1) et 14 (1)
<i>C. freundii</i>	8	2	6	06 (3) et 13 (1)
<i>E. cloacae</i>	6	4	2	03 (3)
<i>K. oxytoca</i>	5	2	3	06 (3)
<i>E. coli</i>	4	2	2	06 (3) et 13 (1)
<i>Kluyvera</i> sp.	2	1	1	06 (2)
<i>S. marcescens</i>	2	1	1	06 (1)
<i>C. braakii</i>	1	1	0	06 (1)
<i>E. aerogenes</i>	1	1	0	06 (1)
Total	47	24	23	

* Incluant une souche porteuse du gène VIM.

** Incluant 2 souches dont l'origine de prélèvement était non spécifiée.

Figure 4 Distribution des 47 souches KPC de janvier à décembre 2013



Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches productrices de carbapénèmases de type KPC

L'analyse des profils de sensibilité aux antibiotiques a été effectuée sur les 47 souches de type KPC (tableau 5). La majorité des souches testées étaient résistantes à l'ertapénème (98 %) et à l'imipénème (96 %) et 83 % résistantes au méropénème. Presque toutes les souches analysées (94 %) étaient résistantes à l'aztréoname et, en excluant les souches de *S. marcescens*, 22 % étaient résistantes à la colistine. Plus de la moitié des souches se sont avérées résistantes à la ciprofloxacine (62 %). La majorité (81 %) des souches s'est avérée sensible à la tigécycline. La sensibilité des souches aux aminosides était variable et dépendait de la molécule testée, mais les souches étaient généralement plus sensibles à l'amikacine qu'à la gentamicine et à la tobramycine.

Tableau 5 Profils de sensibilité aux antibiotiques des souches KPC (n = 47)

Antibiotiques	Profils de sensibilité (%)			CMI ₅₀ (mg/L)	CMI ₉₀ (mg/L)	Écarts (mg/L)
	S*	I*	R*			
Céfoxitine	21	11	68	64	≥ 256	2 - ≥ 256
Céfotaxime	0	0	100	> 32	> 32	16 - > 32
Ceftazidime	2	4	94	> 64	> 64	2 - > 64
Céfépime	8	13	79	> 64	> 64	2 - > 64
Ertapénème	0	2	98	32	> 32	1 - > 32
Imipénème	0	4	96	8	> 32	2 - > 32
Méropénème	4	13	83	8	> 32	0,25 - > 32
Ciprofloxacine	19	19	62	2	> 64	≤ 0,06 - > 64
Tigécycline	81	17	2	1	4	0,25 - 8
Aztréoname	4	2	94	256	≥ 256	1 - ≥ 256
Colistine**	77	-----	22	2	4	1 - 64
Amikacine	85	11	4	8	32	0,5 - > 128
Gentamicine	53	19	28	4	16	0,25 - > 64
Tobramycine	32	6	62	16	64	0,25 - > 64

* S : sensible; I : intermédiaire; R : résistant.

** Les souches de *S. marcescens* (n = 2) ont été retirées du calcul puisque ces souches sont intrinsèquement résistantes.

Profils de sensibilité aux carbapénèmes

Les figures 5 à 7 illustrent la distribution des CMI pour l'ertapénème, l'imipénème et le méropénème chez les souches de type KPC. Les critères du CLSI 2013⁽⁶⁾ ont été utilisés pour déterminer les différentes catégories (sensible, intermédiaire ou résistant). Afin d'éliminer la surestimation attribuable à l'identification d'un même clone, une seule souche représentative par profil d'EGCP a été sélectionnée. Les données sont ainsi présentées pour 38 souches représentants des profils uniques.

Parmi les 38 souches de type KPC analysées, 84 % étaient résistantes aux 3 carbapénèmes testés. Des CMI relativement basses pour les carbapénèmes ont été notées pour 2 souches d'*E. cloacae*. Une souche résistante à l'ertapénème (2 mg/L) et à l'imipénème (4 mg/L) s'est avérée sensible au méropénème (1 mg/L). L'autre souche démontrait une sensibilité intermédiaire à l'ertapénème (1 mg/L) et l'imipénème (2 mg/L) et était sensible au méropénème (0,25 mg/L). Généralement, les souches de *K. pneumoniae* et de *S. marcescens* avaient des CMI aux carbapénèmes plus élevées comparativement aux souches d'autres espèces analysées.

Figure 5 Distribution des CMI à l'ertapénème chez les souches KPC (n = 38)

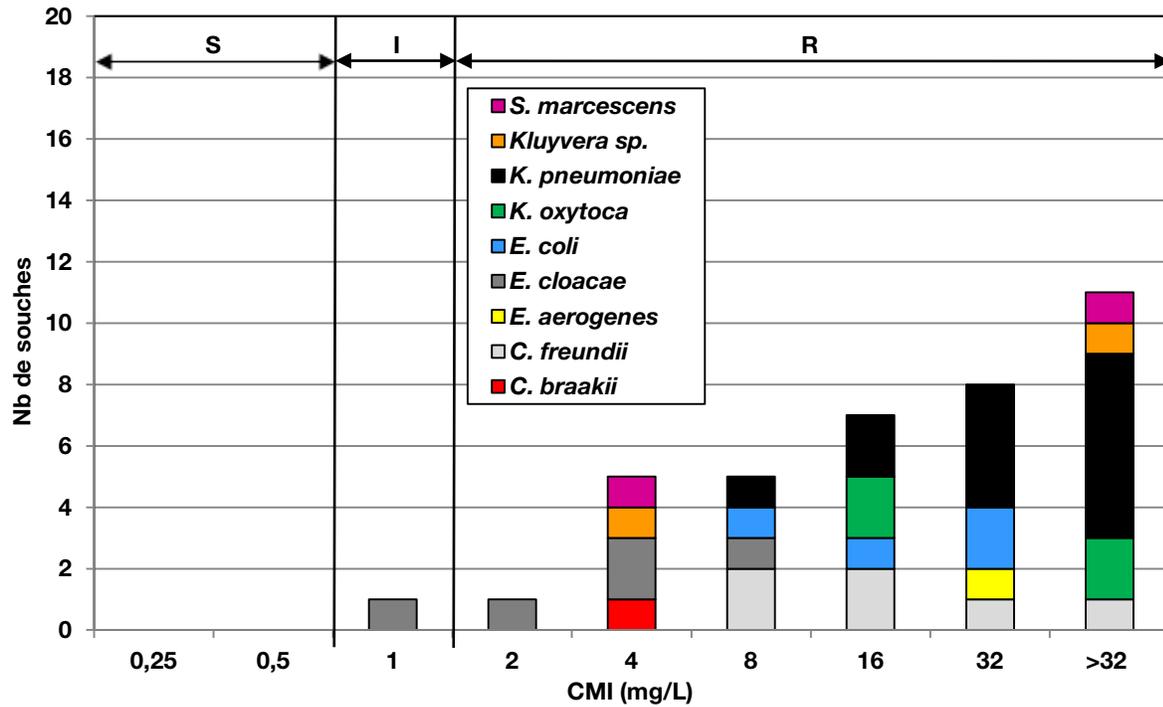


Figure 6 Distribution des CMI à l'imipénème chez les souches KPC (n = 38)

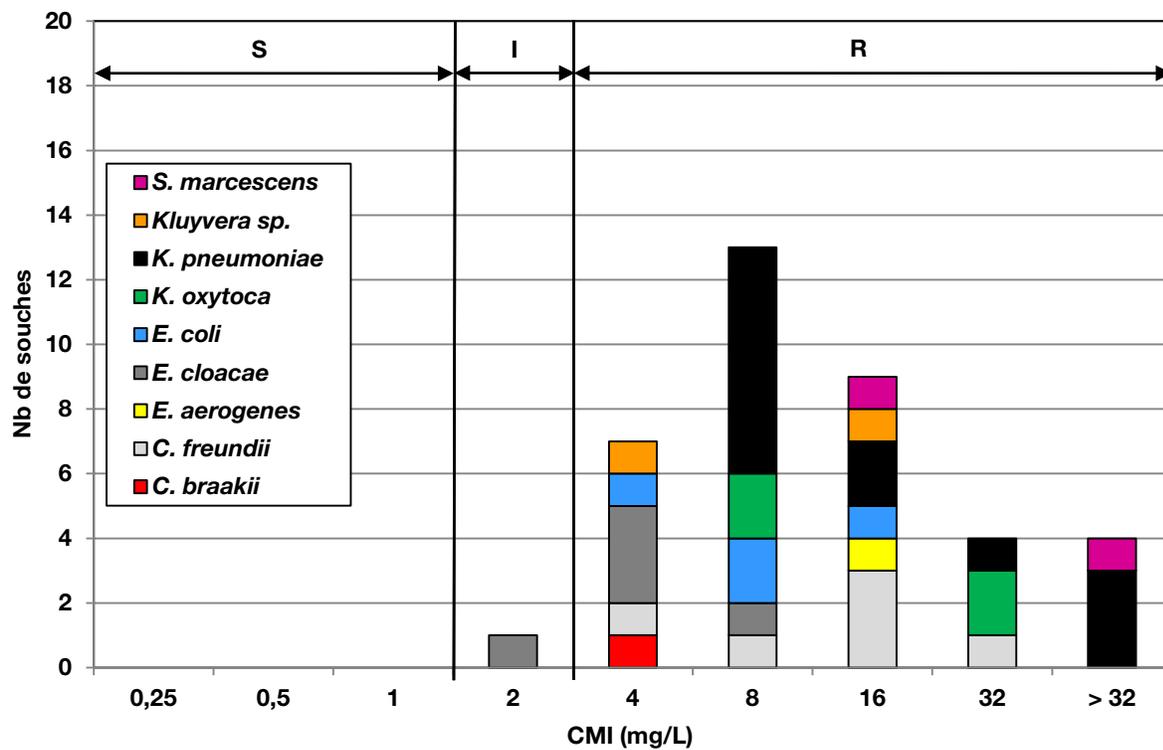
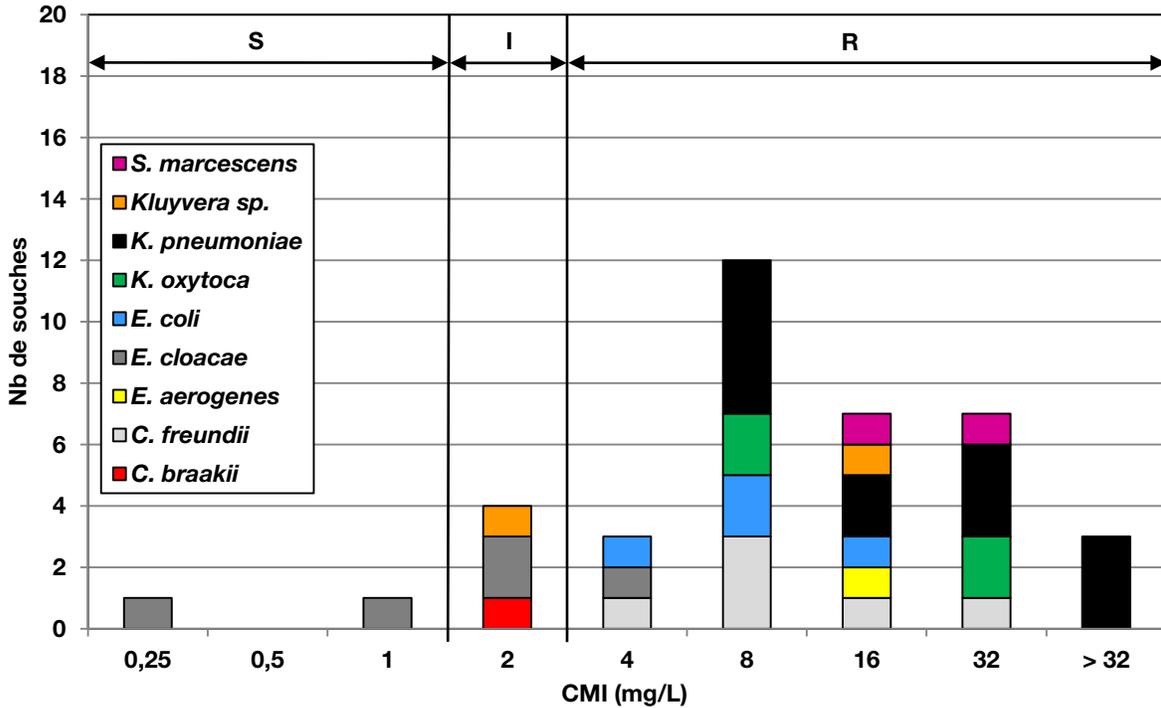


Figure 7 Distribution des CMI au méropénème chez les souches KPC (n = 38)



Analyse des profils moléculaires des souches KPC par EGCP

Le tableau 6 présente les profils d'EGCP retrouvés chez les souches KPC. Quelques souches reliées à une éclosion précédemment répertoriée (*K. pneumoniae* de pulsovar A et profils reliés) dans un centre (34 souches en 2010-2011 et 8 en 2011-2012) ont été retrouvées en 2013 (4 souches). Deux agrégats sont également à signaler dans un même centre : 3 souches de *C. freundii* de pulsovar H et profils reliés (1 autre souche identifiée en 2012) et 2 souches de *K. oxytoca* de pulsovar D et profils reliés (2 autres souches identifiées en 2011). Deux agrégats de 2 souches chacun ont été identifiés dans un autre centre (*E. cloacae* de pulsovar H reliés et *S. marcescens* de pulsovar B). De plus, un agrégat de 2 souches a aussi été retrouvé dans un autre centre (*K. pneumoniae* de pulsovar AD et profil relié). Les autres souches n'ont aucune relation clonale entre elles. Cependant, cette absence de relation clonale n'exclut pas la possibilité d'un transfert du plasmide et/ou de transposon portant le gène *bla_{KPC}* d'une souche à une autre, que ce soit de la même espèce ou non. Ceci a été démontré lors de la caractérisation d'une éclosion à *E. cloacae* KPC dans un centre de Montréal⁽⁷⁾. De plus, certains patients avaient plus d'une souche KPC d'espèces différentes ou de même espèce, mais avec des profils d'EGCP différents (tableau 7).

Tableau 6 Profils d'EGCP chez les souches KPC

Souches	Nb souches KPC	Nb profils EGCP différents*	Nb d'hôpitaux
<i>K. pneumoniae</i>	18	12	7
<i>C. freundii</i>	8	5	4
<i>E. cloacae</i>	6	5	3
<i>K. oxytoca</i>	5	4	3
<i>E. coli</i>	4	4	4
<i>Kluyvera</i> sp.	2	2	2
<i>S. marcescens</i>	2	1	1
<i>C. braakii</i>	1	1	1
<i>E. aerogenes</i>	1	1	1
Total :	47		

* Incluant les profils reliés selon les critères de Tenover⁽²³⁾.

Tableau 7 Souches de type KPC isolées chez un même patient

No. patient	Souches KPC*	
1	<i>C. freundii</i> (expectoration)	<i>K. oxytoca</i> (expectoration)
2	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i> (pus)
3	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S. marcescens</i> (pus)
4	<i>K. pneumoniae</i> (expectoration)	<i>S. marcescens</i>
5	<i>K. pneumoniae</i> (pus)	<i>K. oxytoca</i> (pus)
6	<i>K. oxytoca</i>	<i>Kluyvera</i> sp.
7	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
8	<i>C. freundii</i> (pus)	<i>Kluyvera</i> sp. (expectoration)
9	<i>C. freundii</i>	<i>K. pneumoniae</i>

* Les souches ont été isolées d'écouvillonnages rectaux (n = 9) à l'exception de 9 souches dont le site d'isolement est spécifié entre parenthèses.

5.3.2 SOUCHES RÉSISTANTES AUX CARBAPÉNÈMES PAR LA PRODUCTION DE CARBAPÉNÉMASES AUTRES QUE KPC

Cette surveillance a permis d'identifier 14 souches productrices de carbapénémases (9 %) autre que KPC : 8 souches NDM (6 *K. pneumoniae* et 2 *E. coli*), 3 souches OXA-48 (2 *K. pneumoniae* et 1 *E. coli*) et 3 souches de *S. marcescens* SME. Les antibiogrammes obtenus pour ces souches sont présentés au tableau 8.

Tableau 8 Profils de sensibilité aux antibiotiques pour les 14 souches productrices de carbapénèmases autres que KPC

	NDM* n = 8		OXA-48 n = 3		SME* n = 3
	<i>K. pneumoniae</i> n = 6	<i>E. coli</i> n = 2	<i>K. pneumoniae</i> n = 2	<i>E. coli</i> n = 1	<i>S. marcescens</i> n = 3
Céfotaxime	R	R	R	I	S
Ceftazidime	R	R	R	S	S
Céfépime	R	R	R	S	S
Céfoxitine	R	R	S / R	I	R
Ertapénème	R	R	R	R	R
Imipénème	R	R	I / R	I	R
Méropénème	R	R	R	S	R
Ciprofloxacine	R	R	R	R	I
Tigécycline	S / (I)	S	S	S	S
Aztréoname	R / (S)	R	R	S	I / (R)
Colistine	S / (R)	S	S	S	R**
Amikacine	R / (S)	R	S	S	S
Gentamicine	R / (S)	R	R	R	S
Tobramycine	R / (I)	R	R	R	S

Lorsque plus d'un profil est possible, les données sont séparées par une barre oblique.

* Profil minoritaire indiqué entre parenthèses.

** Résistance intrinsèque chez *S. marcescens*.

Huit souches isolées de 6 patients différents en provenance de 5 centres hospitaliers différents (région de Montréal et de Québec) ont été confirmées porteuses du gène *bla*_{NDM}. L'origine des patients était connue pour 5 des 6 patients; ces patients étaient originaires des continents africain et asiatique. Cinq de ces souches productrices de métallob- β -lactamase ont donné un résultat indéterminé au E-test MBL (< 4/< 1 mg/L) et ont été trouvées positives ou faiblement positives au test de Hodge modifié avec l'ertapénème et négatives ou faiblement positives avec le méropénème. Trois de ces souches ont été trouvées positives au E-test MBL et faiblement positives au test de Hodge modifié avec l'ertapénème et faiblement positives ou négatives avec le méropénème.

Le gène *bla*_{OXA-48} codant pour une carbapénémase de classe D, a été identifié chez 3 souches (2 *K. pneumoniae* et 1 *E. coli*) isolées de 3 centres hospitaliers différents (région métropolitaine et sa périphérie). Deux souches ont été isolées lors d'un prélèvement rectal et l'autre d'une aspiration endotrachéale. Un résultat positif ou faiblement positif au test de Hodge modifié a été obtenu pour ces souches tant avec l'ertapénème que le méropénème. L'origine des patients était connue pour 2 des 3 souches; ces patients étaient originaires du bassin méditerranéen. La présence de souches d'entérobactéries productrices de l'enzyme OXA-48 est rapportée dans les hôpitaux de plusieurs pays du pourtour méditerranéen (Turquie, Liban, Tunisie, Égypte, Israël), mais également en Europe, en Inde ainsi qu'en Afrique⁽¹⁴⁾. L'émergence de ce gène a été décrite au Canada⁽¹⁰⁾. Le profil de résistance aux antibiotiques pour les souches OXA-48 est variable d'une souche à l'autre tel que présenté au tableau 8.

Le gène *bla*_{SME}, codant pour une carbapénémase de classe A, a été retrouvé chez 3 souches de *S. marcescens* (urine n = 1, sang n = 1, sternum n = 1) en provenance de 3 centres hospitaliers distincts de Montréal et Québec. Le test de Hodge modifié était faiblement positif pour ces souches avec l'ertapénème tandis faiblement positif ou négatif pour le méropénème. À ce jour, l'enzyme SME a uniquement été retrouvée chez *S. marcescens* et se situe au niveau chromosomique^(2,21). Quelques souches productrices de cette β -lactamase ont été retrouvées aux États-Unis ainsi qu'au Royaume-Uni⁽²¹⁾ et maintenant au Canada⁽¹¹⁾.

5.3.3 SOUCHES RÉSISTANTES AUX CARBAPÉNÈMES PAR DES MÉCANISMES AUTRES QUE LA PRODUCTION DE CARBAPÉNÉMASE

Parmi les 157 souches envoyées au LSPQ, 96 souches (61,1 %) ne produisaient pas de carbapénémase. Le tableau 9 présente les profils de sensibilité à certains antibiotiques obtenus pour ces souches.

Le mécanisme de résistance présumé chez la majorité des souches (49/96, 51,0 %) était une surexpression d'une β -lactamase de type AmpC couplée à une modification de la perméabilité bactérienne aux carbapénèmes possiblement due à des mutations au niveau des porines. La majorité des souches possédant ce mécanisme était des *E. cloacae* (n = 36). Pour les 13 autres souches (13,5 %), le mécanisme de résistance présumé était également la présence d'une β -lactamase de type AmpC chromosomique surexprimée combinée à une diminution de la perméabilité membranaire : *E. aerogenes* (n = 6), *S. marcescens* (n = 3), *H. alvei* (n = 2), *C. freundii* (n = 1), *E. amnigenius* (n = 1).

Pour les autres souches (47/96, 49,0 %), les mécanismes de résistance présumés sont principalement : 1) BLSE et mutations des porines conduisant à une imperméabilité membranaire (43 %), 2) β -lactamase de type AmpC plasmidique combinée à une diminution de la perméabilité membranaire (13 %). Il est important de spécifier que la détection des mutations au niveau des porines n'a pas été effectuée ce qui représente une limite dans notre évaluation.

Tableau 9 Profils phénotypiques obtenus chez les ERC dont la résistance aux carbapénèmes est due à un mécanisme autre que la production de carbapénémase (n = 96)

Souches	Nb	Test Hodge modifié en %						Ertapénème					Imipénème					Méropénème					Céfépime				
		ETP			MEM			CMI ₅₀	CMI ₉₀	S	I	R	CMI ₅₀	CMI ₉₀	S	I	R	CMI ₅₀	CMI ₉₀	S	I	R	CMI ₅₀	CMI ₉₀	S	I	R
		+	+ f	-	+	+ f	-	mg/L	%			mg/L	%			mg/L	%			mg/L	%						
<i>E. cloacae</i>	38	23,7	13,2	63,2	13,2	13,2	73,7	16	>32	0	5,3	94,7	2	16	21,1	34,2	44,7	2	16	39,5	18,4	42,1	8	>64	52,6	10,5	36,8
<i>K. pneumoniae</i>	31	0	3,2	96,8	0,0	3,2	96,8	8	32	0	12,9	87,1	0,5	2	77,4	12,9	9,7	1	2	64,5	25,8	9,7	8	>64	51,6	3,2	45,2
<i>E. coli</i>	10	0	20,0	80,0	0	0	100,0	32	>32	0	0	100,0	2	8	30,0	20,0	50,0	2	8	30,0	20,0	50,0	>64	>64	10,0	10,0	80,0
<i>E. aerogenes</i>	6	83,3	0	16,7	33,3	50,0	16,7	32	>32	0	0	100,0	8	32	0	16,7	83,3	2	8	16,7	33,3	50,0	4	16	83,3	16,7	0
<i>S. marcescens</i>	3	0	0	100,0	0	0	100,0	16	>32	0	0	100,0	8	16	0	33,3	66,7	4	8	0	33,3	66,7	16	>64	33,3	33,3	33,3
<i>H. alvei</i>	2	0	0	100,0	0	0	100,0	32	>32	0	0	100,0	1	4	50,0	0	50,0	2	8	0	50,0	50,0	64	64	0	0	100,0
<i>K. oxytoca</i>	2	0	0	100,0	0	0	100,0	32	32	0	0	100,0	2	2	0	100,0	0	4	4	0	0	100,0	>64	>64	0	0	100,0
<i>C. freundii</i>	1	0	100,0	0	0	0	100,0	>32	>32	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	16	16	0	100,0	0
<i>E. amnigenus</i>	1	0	0	100,0	0	0	100,0	>32	>32	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	32	32	0	0	100,0	64	64	0	0	100,0
<i>P. mirabilis</i>	1	0	0	100,0	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	8	8	100,0	0	0
<i>P. vulgaris</i>	1	0	0	100,0	0	0	100,0	8	8	0	0	100,0	16	16	0	0	100,0	4	4	0	0	100,0	16	16	0	100,0	0
TOTAL	96	14,6	9,4	76,0	7,3	9,4	83,3	16	>32	0	6,3	93,8	2	16	37,5	24,0	38,5	2	8	40,6	21,9	37,5	16	>64	45,8	10,4	43,8

Légende : S : sensible; I : intermédiaire; R : résistant; ETP : ertapénème; MEM : méropénème; CMI : concentration minimale inhibitrice.

5.4 Profils de sensibilité aux antibiotiques selon les mécanismes de résistance identifiés chez les ERC

L'analyse des souches reçues dans le cadre du programme de surveillance des ERC a permis de décrire les profils phénotypiques obtenus propres aux mécanismes de résistance aux carbapénèmes identifiés (tableau 10).

Les résultats indiquent que la distinction entre une souche KPC et une souche NDM s'effectue principalement par le test de Hodge modifié. Les souches KPC sont généralement positives tandis que les souches NDM sont généralement négatives ou faiblement positives. L'utilisation d'un test phénotypique basé sur la propriété des enzymes métallo- β -lactamases à être inhibées par des chélateurs d'ions zinc tels l'EDTA ou l'acide dipicolinique s'avère également très utile dans la différenciation de ces 2 classes de carbapénémases.

Il est assez difficile de différencier les souches de type KPC et les souches dont la résistance aux carbapénèmes est due à la surexpression de leur AmpC chromosomique auquel s'ajoute possiblement des mutations au niveau des porines. Ces dernières sont généralement sensibles à la céfépime (53,1 %) contrairement aux souches KPC (8,5 %). De plus, les souches KPC sont généralement plus résistantes aux carbapénèmes que les souches dont la perméabilité membranaire est modifiée et l'AmpC chromosomique surexprimée.

Les souches de type OXA-48 sont difficiles à différencier des autres carbapénémases (KPC et NDM) sur la base des résultats phénotypiques. Le résultat du test de Hodge modifié est positif ou faiblement positif pour les souches OXA-48. Leur sensibilité *in vitro* sont variables d'une souche à l'autre. Quant à elles, les souches SME, se différencient des autres carbapénémases par leur sensibilité *in vitro* aux céphalosporines (céfotaxime et ceftazidime) ainsi qu'à la céfépime. D'un point de vue phénotypique, ces souches sont difficiles à identifier. Les outils moléculaires sont donc nécessaires à leur identification non équivoque.

Tableau 10 Résumé des résultats phénotypiques obtenus selon les mécanismes de résistance identifiés chez les ERC

Mécanismes	Nb souches	Test de Hodge modifié		PIP	P/T	FOX	CTX	CAZ	CPM	ETP	IMI	MEM	AZT	TGC	CL	CIP	GEN	TOB	AMI
		ETP	MEM																
KPC	47	+	+	R	R	V	R	R	V	R	R	R	R	S	V	V	V	V	S
NDM	8	V	V	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	V	V	V
OXA-48	3	V	V	R	R	V	V	V	V	R	V	V	V	S	S	R	R	R	S
SME	3	+ faible	V	S	S	R	S	S	S	R	R	R	V	S	R	I	S	S	S
Autres mécanismes de résistance	96	V	-	R	V	R	R	R	V	R	V	V	V	V	V	V	S	V	S

Légende : S : sensible; I : intermédiaire; R : résistant.

Un résultat est indiqué lorsque ≥ 80 % des souches testées possèdent ce profil, sinon le symbole V (variable) est indiqué dans la case.

PIP : pipéracilline; P/T : pipéracilline/tazobactam; FOX : céfoxitine; CTX : céfotaxime; CAZ : ceftazidime; CPM : céfépime; ETP : ertapénème; IMI : imipénème; MEM : méropénème; AZT : aztréoname; TGC : tigécycline; CL : colistine; CIP : ciprofloxacine; GEN : gentamicine; TOB : tobramycine; AMI : amikacine.

6 Impact de la modification des critères d'inclusion des souches

Le tableau 11 fait état de l'évolution des souches reçues dans le cadre du programme de surveillance ainsi que de divers mécanismes de résistance aux carbapénèmes. Les données indiquent que la modification des critères d'inclusion des souches (juillet 2012) a permis de mieux cibler les souches pertinentes puisque le nombre de souches analysées en 2012 fut moindre comparativement à 2011. L'impact de l'implantation de ce nouvel algorithme est plus facilement appréciable en 2013.

Les données recueillies dans ce programme de surveillance ont permis de mettre en évidence la présence des enzymes NDM, OXA-48 et SME au Québec. Quant aux souches KPC, elles se sont implantées au Québec. Leur proportion tend à diminuer entre 2010 et 2012, ce qui peut être expliqué par le fait qu'une éclosion majeure en 2010-2011 dans un centre hospitalier semble avoir été contrôlée en 2012. En 2013, leur proportion a augmenté possiblement dû au fait que les critères appliqués en juillet 2012 ont permis de mieux cibler les souches productrices de carbapénémases.

Tableau 11 Évolution des mécanismes de résistance chez les souches du programme de surveillance

	2010*	2011	2012**	2013	TOTAL
Nb souches testées	127	392	225	157	901
KPC	36	76	41	47 ^{††}	200
NDM	1	0	2	8	11
OXA-48	1	1	3	3	8
NMC	0	1	0	0	1
SME	1	2	6	3	12
% KPC	28,3	19,4	18,2	29,9	22,2
% carbapénémase autre que KPC	2,4	1,0	4,9	8,9	3,6
% AmpC surexprimé[†]	48,8	58,9	54,7	31,8	51,7
% autres mécanismes	20,5	20,7	22,2	29,4	22,5

* Début du programme le 10 août 2010.

** Modification des critères d'inclusion des souches le 11 juillet 2012.

† Mécanisme possiblement combiné à la mutation au niveau des porines.

†† Une souche KPC et VIM.

7 Perspectives

Bien que les critères d'inclusion aient été modifiés afin de rendre le programme de surveillance en laboratoire mieux ciblé, la structure du programme a certaines limites. En avril 2014, le Comité sur les infections nosocomiales du Québec (CINQ) a mis sur pied un programme de surveillance des bâtonnets à Gram négatifs producteurs de carbapénèmases (SPIN-BGNPC) qui a pour objectifs de mieux caractériser l'épidémiologie des souches, comprendre les mécanismes d'acquisition des souches ainsi que les facteurs de risques d'infection (<http://www.inspq.qc.ca/infectionsnosocomiales/spin-bgnpc>). La mise en place du programme SPIN-BGNPC permettra, entre autres, de compléter le programme de surveillance en laboratoire ce qui favorisera une approche de surveillance intégrée.

Il est important de suivre l'évolution de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries responsables de plusieurs infections communautaires et nosocomiales fréquentes, sévères, morbides et parfois mortelles. Compte tenu de l'émergence de souches productrices de carbapénèmases au Québec, le LSPQ offre depuis février 2014, la détection en temps réel des gènes de résistance aux carbapénèmes afin de soutenir adéquatement le réseau de la santé et les équipes de PCI.

Conclusion

Les souches productrices de carbapénémases via la présence du gène *bla*_{KPC} sont considérées endémiques dans certains pays tels les États-Unis, Israël, la Chine (province de Zhejiang), la Grèce, la Colombie et Puerto Rico⁽¹⁴⁾. Ces souches sont présentes au Québec, mais pour l'instant, sont limitées à des cas sporadiques et à quelques éclosions. Toutefois, il est possible que le phénomène se répande malgré les bonnes pratiques de prévention et de contrôle des infections si l'on en croit ce qui est décrit dans plusieurs autres pays^(1,3,29). L'introduction de ces souches KPC au Québec est probablement due à une acquisition à l'étranger. Au Québec, peu de souches productrices de carbapénémases autres que KPC ont été identifiées. Afin d'empêcher leur dissémination, les mesures de prévention des infections doivent être rigoureusement appliquées tel que recommandé par le CINQ⁽⁶⁾. De plus, des éclosions nosocomiales et communautaires causées par des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases de type NDM-1 ont été rapportées⁽¹⁵⁾. Une étude a également démontré la présence de bactéries porteuses du gène *bla*_{NDM-1} dans des échantillons environnementaux prélevés à New Delhi en Inde⁽²⁶⁾.

La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est une préoccupation importante en santé publique. La surveillance des ERC est donc primordiale afin de suivre l'émergence de nouvelles résistances au Québec d'autant plus que les options thérapeutiques sont très limitées, voire même inexistantes. De plus, il y a peu d'antibiotique en voie de développement pour traiter les infections causées par ces souches⁽²⁵⁾. Bien que la détection des mécanismes de résistance aux β -lactamines soit complexe et ardue chez les entérobactéries et qu'elle nécessite un investissement considérable, elle est nécessaire pour assurer une vigie pertinente qui a un impact sur le diagnostic, le traitement, le pronostic et la prévention des infections.

Des modifications ont été apportées au programme de surveillance en laboratoire des ERC. En effet, suite à l'analyse des données recueillies en 2010 et 2011, les critères de sélection des souches ont été révisés et un nouvel algorithme de laboratoire a été proposé. Les nouveaux critères d'inclusion des souches ont permis de transformer le programme afin de le rendre plus efficient et mieux ciblé.

Le programme de surveillance des ERC a engendré des retombées concrètes dans le réseau de la santé au Québec. Ainsi, en novembre 2012, le LSPQ a été sollicité par la direction de la santé publique (DSP) de Montréal afin que les résultats de laboratoire des EPC pour les hôpitaux de cette région leur soient acheminés. Cette collaboration a permis à la DSP de mettre sur pied un projet pilote qui a conduit à la publication d'un avis mensuel sur les cas d'EPC pour les hôpitaux de son territoire. Au cours de l'année 2014, le projet s'est étendu à l'ensemble de la province de Québec. L'avis mensuel maintenant produit par le MSSS inclut les EPC et les *A. baumannii* multi-résistants.

La surveillance des ERC comporte certaines limites qui doivent être prises en considération lors de l'analyse telles que l'absence de dénominateur. Le programme SPIN-BGNPC mis en place en avril 2014 permettra d'obtenir les dénominateurs ce qui entraînera une analyse plus précise des données de surveillance.

Le programme de surveillance en laboratoire permet de fournir une information pertinente pour les laboratoires, les équipes de prévention des infections, les directions de santé publique régionales et le MSSS. De plus, ils contribuent à orienter les discussions du Comité d'expert sur la résistance aux antibiotiques (CERA) et du Comité sur les infections nosocomiales du Québec (CINQ) afin qu'ils recommandent des mesures visant à améliorer la surveillance et la prévention de ce problème émergent.

Références

1. Bratu, S., D. Landman, R. Haag, R. Recco, A. Eramo, M. Alam, and J. Quale. 2005. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch.Intern.Med.* 165:1430-1435.
2. Bush, K., M. Pannell, J. L. Lock, A. M. Queenan, J. H. Jorgensen, R. M. Lee, J. S. Lewis, and D. Jarrett. 2013. Detection systems for carbapenemase gene identification should include the SME serine carbapenemase. *Int.J.Antimicrob.Agents* 41:1-4.
3. Carbonne, A., J. M. Thiolet, S. Fournier, N. Fortineau, N. Kassis-Chikhani, I. Boytchev, M. Aggoune, J. C. Seguier, H. Senechal, M. P. Tivolacci, B. Coignard, P. Astagneau, and V. Jarlier. 2010. Control of a multi-hospital outbreak of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* type 2 in France, September to October 2009. *Eurosurveillance* 15:pil: 19734.
4. CDC. 2010. Detection of Enterobacteriaceae isolates carrying metallo-beta-lactamase - United States, 2010. *MMWR* 59(24), 750. Centers for Disease Control and Prevention.
5. CLSI. 2012. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania. M07-A9.
6. CLSI. 2013. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-third Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania. M100-S23.
7. Haraoui, L-P., S. Lévesque, B. Lefebvre, R. Blanchette, M. Tomkinson, L. F. Mataseje, M. Mulvey, and M. Miller. 2013. Polyclonal outbreak of KPC-3-producing *Enterobacter cloacae* at a single hospital in Montréal, Canada. *J. Clin. Microbiology.* 51:2406-2408.
8. Institut national de santé publique. Prévention et contrôle de la transmission des entérobactéries productrices de carbapénémases dans les milieux de soins aigus du Québec. 2010. ISBN : 51:2406-2408.
9. Kumarasamy, K. K., M. A. Toleman, T. R. Walsh, J. Bagaria, F. Butt, R. Balakrishnan, U. Chaudhary, M. Doumith, C. G. Giske, S. Irfan, P. Krishnan, A. V. Kumar, S. Maharjan, S. Mushtaq, T. Noorie, D. L. Paterson, A. Pearson, C. Perry, R. Pike, B. Rao, U. Ray, J. B. Sarma, M. Sharma, E. Sheridan, M. A. Thirunarayan, J. Turton, S. Upadhyay, M. Warner, W. Welfare, D. M. Livermore, and N. Woodford. 2010. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect.Dis.* 10:597-602.
10. Mataseje, L. F., D. A. Boyd, L. Hoang, M. Imperial, B. Lefebvre, M. Miller, S. M. Poutanen, D. Roscoe, B. M. Willey, and M. R. Mulvey. 2013. Carbapenem-hydrolyzing oxacillinase-48 and oxacillinase-181 in Canada, 2011. *Emerg.Infect.Dis.* 19:157-160.
11. Mataseje, L. F., D. A. Boyd, M. Imperial, B. Lefebvre, P. Van Caesele, M. Willey, and R. Mulvey. 2013. *Serratia marcescens* beta-lactamase (SME): The new carbapenemase on the block in Canada. Abrégé présenté au CACMID (Canadian Association for Clinical Microbiology and Infectious Diseases).
12. Mulvey, M. R., J. M. Grant, K. Plewes, D. Roscoe, and D. A. Boyd. 2011. New Delhi metallo-beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*, Canada. *Emerg.Infect.Dis.* 17:103-106.

13. Mushtaq, S., S. Irfan, J. B. Sarma, M. Doumith, R. Pike, J. Pitout, D. M. Livermore, and N. Woodford. 2011. Phylogenetic diversity of *Escherichia coli* strains producing NDM-type carbapenemases. *J.Antimicrob.Chemother.* 66:2002-2005.
14. Nordmann, P., T. Naas, and L. Poirel. 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg.Infect.Dis.* 17:1791-1798.
15. Nordmann, P., L. Poirel, T. R. Walsh, and D. M. Livermore. 2011. The emerging NDM carbapenemases. *Trends Microbiol.* 19:588-595.
16. Peirano, G., D. R. Pillai, A. Pitondo-Silva, D. Richardson, and J. D. Pitout. 2011. The characteristics of NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* from Canada. *Diagn.Microbiol.Infect.Dis.* 71:106-109.
17. Perez-Perez, F. J. and N. D. Hanson. 2002. Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase genes in clinical isolates by using multiplex PCR. *J.Clin.Microbiol.* 40:2153-2162.
18. Philippon, A. and G. Arlet. 2006. Beta-lactamases of Gram negative bacteria: never-ending clockwork! *Ann.Biol.Clin.(Paris)* 64:37-51.
19. Poirel, L., C. Heritier, V. Tolun, and P. Nordmann. 2004. Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 48:15-22.
20. Potron, A., J. Kalpoe, L. Poirel, and P. Nordmann. 2011. European dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone. *Clin.Microbiol.Infect.* 17:E24-E26.
21. Queenan, A. M. and K. Bush. 2007. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin.Microbiol.Rev.* 20:440-458.
22. Rai, S., V. Manchanda, N. P. Singh, and I. R. Kaur. 2011. Zinc-dependent carbapenemases in clinical isolates of family Enterobacteriaceae. *Indian J.Med.Microbiol.* 29:275-279.
23. Tenover, F. C., R. D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, and B. Swaminathan. 1995. Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing. *J.Clin.Microbiol.* 33:2233-2239.
24. Tijet, N., D. C. Alexander, D. Richardson, O. Lastovetska, D. E. Low, S. N. Patel, and R. G. Melano. 2011. New Delhi metallo-beta-lactamase, Ontario, Canada. *Emerg.Infect.Dis.* 17:306-307.
25. Tzouveleakis, L. S., A. Markogiannakis, M. Psychogiou, P. T. Tassios, and G. L. Daikos. 2012. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and other Enterobacteriaceae: an evolving crisis of global dimensions. *Clin.Microbiol.Rev* 25:682-707.
26. Walsh, T. R., J. Weeks, D. M. Livermore, and M. A. Toleman. 2011. Dissemination of NDM-1 positive bacteria in the New Delhi environment and its implications for human health: an environmental point prevalence study. *Lancet Infect.Dis.* 11:355-362.
27. Yigit, H., A. M. Queenan, G. J. Anderson, A. Domenech-Sanchez, J. W. Biddle, C. D. Steward, S. Alberti, K. Bush, and F. C. Tenover. 2001. Novel carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase, KPC-1, from a carbapenem-resistant strain of *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 45:1151-1161.

28. Yong, D., M. A. Toleman, C. G. Giske, H. S. Cho, K. Sundman, K. Lee, and T. R. Walsh. 2009. Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, *bla*(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrob. Agents Chemother.* 53:5046-5054.
29. Zhang, R., X. D. Wang, J. C. Cai, H. W. Zhou, H. X. Lv, Q. F. Hu, and G. X. Chen. 2011. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* with high qnr prevalence in a Chinese hospital. *J. Med. Microbiol.* 60:977-982.

Annexe 1

Algorithme du programme de surveillance des ERC



PAR COURRIER ÉLECTRONIQUE

Le 11 juillet 2012

Responsables des laboratoires de microbiologie
Médecins microbiologistes infectiologues

Objet : Mise à jour de la surveillance des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (ERC)

Chers collègues,

Vous trouverez, ci-joint, le rapport de la surveillance de laboratoire des souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes isolées au Québec entre août 2010 et octobre 2011.

Suite à l'analyse des données obtenues lors de cette surveillance, nous désirons apporter des modifications relatives à ce programme qui a été annoncé à l'été 2010. Afin de cibler plus spécifiquement les entérobactéries productrices de carbapénémases, nous avons revu l'algorithme des souches qui doivent être envoyées au LSPQ pour caractérisation. Ce nouvel algorithme est également basé sur les critères d'interprétation du CLSI publiés en janvier 2012.

Toutes les souches d'entérobactéries (une souche par patient) répondant à l'algorithme en annexe doivent être acheminées au LSPQ. La surveillance porte sur toutes les souches cliniques (patients hospitalisés, inscrits et externes).

Pour la sélection des souches à envoyer au LSPQ, il est important que les laboratoires qui utilisent un système automatisé pour les antibiogrammes se fient aux critères de CMI mentionnés dans l'algorithme et non à l'interprétation donnée par les automates étant donné que les logiciels d'interprétation des automates ne sont pas nécessairement à jour avec les critères du CLSI 2012.

...2

Lors de l'envoi des souches, veuillez indiquer, sur la requête du LSPQ, l'historique de voyage et/ou d'hospitalisation à l'étranger, s'il y a lieu, ainsi que les résultats de sensibilité (mg/L ou mm), si disponible, pour :

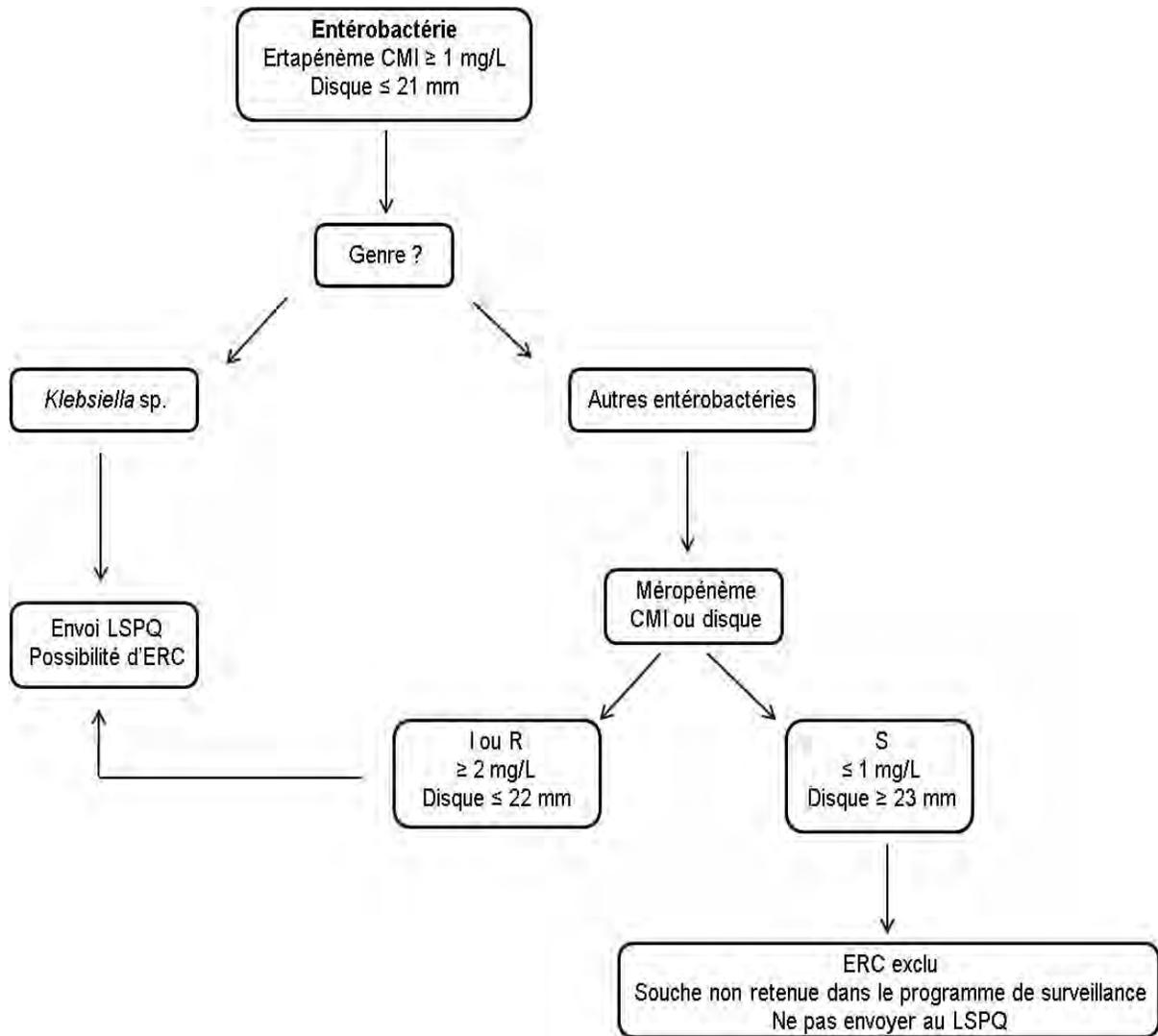
- ertapénème;
- imipénème;
- méropénème;
- doripénème;
- céphalosporines de 3^e génération.

Nous comptons sur vous pour en informer vos collègues et votre personnel et nous vous remercions pour votre collaboration.

(Original signé)
Cécile Tremblay, M.D., FRCPC
Directrice scientifique

(Original signé)
Brigitte Lefebvre, Ph. D.
Microbiologiste

p.j.



* Cet algorithme se base sur les seuils de résistance aux antibiotiques exposés dans le document suivant : CLSI. 2012. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing: Twenty-second Informational Supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, Pennsylvania. M100-S22.

LSPQ-INSPQ
2012-07-11

services malades infectieuses santé services
et innovation microbiologie toxicologie prévention des maladies chroniques
santé au travail innovation santé au travail impact des politiques publiques
impact des politiques publiques développement des personnes et des communautés
promotion de saines habitudes de vie recherche services
santé au travail promotion, prévention et protection de la santé impact des politiques
sur les déterminants de la santé recherche et innovation services de laboratoire et diagnostic
recherche surveillance de l'état de santé de la population

www.inspq.qc.ca