

## AVIS

### relatif au diagnostic microbiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases ou résistantes à la colistine renfermant le gène *mcr-1*

6 décembre 2016

Le Haut Conseil de la santé publique (HCSP) a reçu le 4 août 2016 une saisine de la Direction générale de la santé (DGS) concernant des mesures à prendre en lien avec l'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*) chez les entérobactéries.

Cette saisine du HCSP de la DGS intervient en raison de la notification récente aux États-Unis de deux cas de patients porteurs de souches de *Escherichia coli* avec le gène *mcr-1*, susceptible d'entraîner une résistance à la colistine, et du signalement le 25 juillet 2016 par le laboratoire de l'Institut Pasteur de Nouméa (Nouvelle-Calédonie) de la première détection en France d'une souche d'entérobactérie porteuse du gène *mcr-1*, également productrice d'une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). La résistance plasmidique à la colistine a également été identifiée depuis dans des collections de souches d'entérobactéries en Espagne et en France.

Cette saisine du HCSP par la DGS a été suivie de la diffusion d'un Message d'Alerte Rapide Sanitaire (MARS) aux établissements de santé, daté du 2 septembre 2016 [1].

Pour répondre à la première question soulevée par la saisine de la DGS (actualiser la définition des BHRé), le HCSP a diffusé un premier avis le 27 septembre 2016 relatif aux mesures à prendre par les établissements de santé, en lien avec l'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*) chez les entérobactéries [2].

Le présent avis a pour objectif de répondre à la seconde question de la saisine relative aux modalités d'identification des souches d'entérobactéries résistantes à la colistine par présence du gène *mcr-1*. A l'occasion de la diffusion de cet avis, le HCSP actualise le chapitre « Dépistage et diagnostic microbiologique des BHRé » des recommandations pour la prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRé) » publié en 2013 [3].

#### Le HCSP rappelle les éléments suivants :

- La résistance acquise à la colistine chez les entérobactéries est principalement due à une modification enzymatique du lipopolysaccharide (LPS), laquelle tend à réduire la pénétration intracellulaire de l'antibiotique [4]. Les groupements phosphates du lipide A peuvent être substitués par des molécules de 4-amino-4-désoxy-L-arabinose ou de phospho-éthanolamine [5-7]. Ces modifications sont catalysées par des enzymes conservées au sein des espèces bactériennes, dont l'expression est augmentée suite à l'altération de gènes régulateurs. La diminution de la charge nette du LPS qui en résulte réduit l'affinité de la colistine pour le LPS et conduit à la résistance. La surexpression de systèmes d'efflux et un piégeage capsulaire de la colistine peuvent également conférer une résistance [8,9].

- Jusqu'à encore très récemment, la résistance acquise à la colistine n'était uniquement attribuée qu'à la présence de mutations chromosomiques chez les isolats cliniques humains. Cependant, le 18 novembre 2015, le premier mécanisme plasmidique de résistance à la colistine a été décrit en Chine chez des entérobactéries provenant d'animaux, de l'Homme ou d'aliments [10]. Le gène correspondant, *mcr-1*, code une phosphoéthanolamine transférase plasmidique, qui confère un bas niveau de résistance à la colistine (concentration minimale inhibitrice [CMI] modale : 4 mg/L). Sa prévalence en Chine a été estimée à environ 20 % chez l'animal et autour de 1 % chez l'Homme.
- Un variant proche, *mcr-1.2*, présentant 99 % d'identité avec *mcr-1* a été décrit, ainsi qu'un variant plus distant, *mcr-2* (76,7 % d'identité avec *mcr-1*), uniquement rapporté chez l'animal à ce jour (Belgique). L'espèce *E. coli* représente plus de 80 % des isolats *mcr-1* positifs, mais les genres *Klebsiella*, *Salmonella*, et plus rarement *Shigella* et *Enterobacter* peuvent également propager le gène. Les différents échantillonnages des collections bactériennes étudiées à ce jour permettent de conclure à la détection de ce gène, mais non encore à des niveaux de prévalence validés sur un plan épidémiologique.
- Le premier gène *mcr-1* détecté en Chine était porté par un plasmide du groupe d'incompatibilité IncI2 présentant ce seul gène de résistance. Depuis, le gène a été détecté sur des plasmides appartenant aux groupes d'incompatibilité IncHI2, IncHI2A, IncX4 et IncP [11-14]. Le gène *mcr-1* a été fréquemment observé dans des bactéries produisant une BLSE de type céfotaximase-Munich (BLSE CTX-M), plus rarement dans des isolats producteurs de carbapénémases NDM (pour New Delhi metallo-bêta-lactamase), OXA-48 et KPC (pour *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase) [15-18]. La co-localisation de *mcr-1* et de gènes codant une BLSE de type CTX-M sur un même plasmide a été rapportée dans différentes aires géographiques dont l'Europe. Une co-localisation plasmidique de *mcr-1* avec le gène codant la carbapénémase NDM-5 a été observée en Chine [19]. Dans le contexte français, seules quelques souches de *E. coli mcr-1* ont été caractérisées à ce jour en médecine humaine. Cinq ont été isolées en 2016 en métropole dont deux produisaient des carbapénémases ; NDM d'une part, OXA-48 plus KPC d'autre part (données du Centre national de référence - CNR).
- Il n'existe pas à ce jour de milieu de culture sélectif commercialisé pour le dépistage des entérobactéries résistantes à la colistine à partir de prélèvements cliniques. La composition d'un milieu sélectif gélosé a toutefois été publiée [20]. Il n'a pas encore fait l'objet d'une évaluation indépendante. Il permet le dépistage de toutes les entérobactéries résistantes à la colistine y compris des isolats dépourvus de BLSE ou de carbapénémase.
- La caractérisation des souches suspectes inclut la détermination de la CMI de la colistine par micro-dilution en milieu liquide. La résistance s'exprime le plus souvent à bas niveau avec des valeurs de CMI rapportées comprises entre 2 et 16 mg/L et une CMI médiane à 4 mg/L, qui correspond à la valeur limite définissant la résistance d'après les concentrations critiques du CA-SFM/EUCAST [21].
- À ce jour, nous disposons d'un recul limité sur les performances du dépistage de ces entérobactéries à l'aide des méthodes automatisées d'antibiogramme en milieu liquide.

**Dans l'état actuel des connaissances épidémiologiques, le HCSP recommande les mesures suivantes pour la détection de la résistance à la colistine associée au gène *mcr-1* :**

- De déterminer la CMI de la colistine par la méthode de référence de microdilution en milieu liquide, selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST [21].
- D'utiliser :
  - Un milieu liquide Mueller-Hinton avec un ajustement de la concentration en cations (MH2),

- Des sels de sulfate de colistine (le méthanesulfonate utilisé en thérapeutique est une prodrogue de la colistine, inactive *in vitro*),
- Des microplaques ou barrettes en polystyrène dépourvues de prétraitement.
- De ne pas utiliser d'additifs comme les polysorbates.
- Pour attribuer une résistance détectée par la mesure des CMI à l'expression d'un gène *mcr*, détecter la présence de ce gène à l'aide de techniques moléculaires, qui sont les seules permettant un diagnostic spécifique de certitude.
  - Le CNR peut mettre à disposition des souches caractérisées pour servir de souche témoin dans le cas où les laboratoires appliquent en leur sein les techniques de biologie moléculaire.
  - Dans tous les cas, les souches suspectes doivent être envoyées au CNR de la résistance aux antibiotiques (site de Clermont-Ferrand) pour confirmation et surveillance de la situation épidémiologique à l'échelon national. À noter que les souches productrices de BLSE ou de carbapénémase adressées au CNR sont systématiquement criblées pour la résistance à la colistine et la présence des gènes *mcr-1/2*.

**En révision des recommandations 2013 pour le dépistage et la détection microbiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC), le HCSP propose la formulation suivante pour le chapitre « 2-7-1 : Principes pour la recherche du portage digestif des BHR », alinéa « Recherche d'EPC » (pages 32 et 33 du rapport de 2013) [3] :**

- Des systèmes recherchant spécifiquement les EPC dans les selles par biologie moléculaire sont désormais commercialisés.
- À défaut de ces systèmes, il est recommandé que tout laboratoire de biologie médicale en charge d'établissements de santé dispose en permanence de deux types de gélose sur lesquelles ensemercer un aliquote de selles ou de la suspension de l'écouvillon rectal :
  - une gélose permettant la croissance des souches résistantes aux céphalosporines de 3<sup>e</sup> génération (C3G), dont celles productrices de carbapénémase des classes A ou B de Ambler,
  - et une gélose favorisant plus spécifiquement la croissance des souches productrices de carbapénémase de la classe D de Ambler.
- Une identification des colonies poussant sur ces milieux et un antibiogramme standard (méthode de diffusion en gélose) selon le CA-SFM/EUCAST sont réalisés [21].
- Si l'antibiogramme montre une non-sensibilité à un ou plus des carbapénèmes testés autres que l'ertapénème (ERT), la souche peut être déclarée non sensible aux carbapénèmes. En revanche, si la non-sensibilité ne concerne que l'ERT (diamètre d'inhibition à ERT < 25 mm ou selon les automates : CMI « estimée » ≥ 0,5 mg/L), la souche ne pourra être déclarée non sensible à l'ERT qu'après confirmation que la CMI de l'ERT est > 0,5 mg/L.
- Les antibiotiques suivants doivent être testés dans l'antibiogramme standard (ticarcilline + acide clavulanique, témocilline, imipénème ou méropénème et céfépime) car utilisés dans l'algorithme pour cribler les EPC au sein des entérobactéries non sensibles aux carbapénèmes [21].
- Le laboratoire qui a détecté une souche suspecte selon le résultat de l'algorithme de criblage des carbapénémases et qui n'a pas les outils pour le prouver, se met en contact avec le laboratoire compétent avec lequel il a établi des liens fonctionnels ou avec le CNR de la résistance aux antibiotiques pour déterminer dans un délai court (4 jours maximum, délais d'envoi inclus) si cette souche produit ou non une carbapénémase.

- Il existe des tests commercialisés pour détecter la production de carbapénémase par méthodes enzymologiques et immunochromatographiques.

**Ces préconisations élaborées sur la base des connaissances disponibles à la date de publication de cet avis, sont susceptibles d'évoluer en fonction des nouvelles données.**

*Avis rédigé par un groupe d'experts, membres ou non du HCSP, autour des Commissions spécialisées « Sécurité des patients : infections nosocomiales et autres événements indésirables liés aux soins et aux pratiques » et « Maladies transmissibles ». Aucun conflit d'intérêt identifié.*

*La commission spécialisée « Sécurité des patients : infections nosocomiales et autres événements indésirables liés aux soins et aux pratiques » a tenu séance le 6 décembre 2016 ; 10 membres qualifiés sur 15 membres qualifiés votant étaient présents, 1 conflit d'intérêt identifié : le texte a été approuvé par 9 voix pour, 0 voix contre, 0 abstention.*

## Références

1. Ministère des Affaires sociales et de la santé. Message d'alerte rapide sanitaire. « Entérobactéries porteuses du gène MCR-1 de résistance plasmidique à la colistine ». 2 septembre 2016.
2. Haut Conseil de la santé publique. Avis le 27 septembre 2016 relatif aux mesures à prendre par les établissements de santé en lien avec l'émergence d'une résistance plasmidique à la colistine (*mcr-1*) chez les entérobactéries. <http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=576> (consulté le 31/10/2016).
3. Haut Conseil de la santé publique. Prévention de la transmission croisée des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRé). 10 juillet 2013. Disponible sur <http://www.hcsp.fr/Explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372> (consulté le 31/10/2016).
4. Moffatt JH, Harper M, Harrison P, Hale JD, Vinogradov E, Seemann T, Henry R, Crane B, St Michael F, Cox AD, Adler B, Nation RL, Li J, Boyce JD. Colistin resistance in *Acinetobacter baumannii* is mediated by complete loss of lipopolysaccharide production. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Dec;54(12):4971-7.
5. Ernst RK, Guina T, Miller SI. *Salmonella typhimurium* outer membrane remodeling: role in resistance to host innate immunity. *Microbes Infect*. 2001 Nov-Dec;3(14-15):1327-34.
6. Raetz CR, Reynolds CM, Trent MS, Bishop RE. Lipid A modification systems in gram-negative bacteria. *Annu Rev Biochem*. 2007;76:295-329.
7. Nikaido H. Molecular basis of bacterial outer membrane permeability revisited. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2003 Dec;67(4):593-656.
8. Campos MA, Vargas MA, Regueiro V, Llompant CM, Albertí S, Bengoechea JA. Capsule polysaccharide mediates bacterial resistance to antimicrobial peptides. *Infect Immun*. 2004 Dec;72(12):7107-14.
9. Padilla E, Llobet E, Doménech-Sánchez A, Martínez-Martínez L, Bengoechea JA, Albertí S. *Klebsiella pneumoniae* AcrAB efflux pump contributes to antimicrobial resistance and virulence. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jan;54(1):177-83.
10. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis* 2016;16:161-168.
11. Hasman H, Hammerum AM, Hansen F, Hendriksen RS, Olesen B, Agersø Y, Zankari E, Leekitcharoenphon P, Stegger M, Kaas RS, Cavaco LM, Hansen DS, Aarestrup FM, Skov RL. Detection of *mcr-1* encoding plasmid-mediated colistin-resistant *Escherichia coli* isolates from human bloodstream infection and imported chicken meat, Denmark 2015. *Euro Surveill*. 2015;20(49). doi: 10.2807/1560-7917.ES.2015.
12. Malhotra-Kumar S, Xavier BB, Das AJ, Lammens C, Butaye P, Goossens H. Colistin resistance gene *mcr-1* harboured on a multidrug resistant plasmid. *Lancet Infect Dis*. 2016 Mar;16(3):283-4.
13. Mulvey MR, Mataseje LF, Robertson J, Nash JH, Boerlin P, Toye B, Irwin R, Melano RG. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis*. 2016 Mar;16(3):289-90.
14. Ye H, Li Y, Li Z, Gao R, Zhang H, Wen R, Gao GF, Hu Q, Feng Y. Diversified *mcr-1*-harbouring plasmid reservoirs confer resistance to colistin in human gut microbiota. *MBio*. 2016 Apr 5;7(2):e00177.
15. Falgenhauer L, Waezsada SE, Gwozdziński K, Ghosh H, Doijad S, Bunk B, Spröer C, Imirzalioglu C, Seifert H, Irrgang A, Fischer J, Guerra B, Käsbohrer A, Overmann J, Goesmann A, Chakraborty T. Chromosomal locations of *mcr-1* and *bla* CTX-M-15 in fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* ST410. *Emerg Infect Dis*. 2016 Sep;22(9):1689-91.
16. Haenni M, Métayer V, Gay E, Madec JY. Increasing trends in *mcr-1* prevalence among extended-spectrum-β-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from French calves despite decreasing exposure to colistin. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016 Sep 23;60(10):6433-4.
17. Du H, Chen L, Tang YW, Kreiswirth BN. Emergence of the *mcr-1* colistin resistance gene in carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Lancet Infect Dis*. 2016 Mar;16(3):287-8.
18. Mulvey MR, Mataseje LF, Robertson J, Nash JH, Boerlin P, Toye B, Irwin R, Melano RG. Dissemination of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Lancet Infect Dis* 2016;16:289-90.
19. Sun J, Yang RS, Zhang Q, Feng Y, Fang LX, Xia J, Li L, Lv XY, Duan JH, Liao XP, Liu YH. Co-transfer of *bla*<sub>NDM-5</sub> and *mcr-1* by an IncX3-X4 hybrid plasmid in *Escherichia coli*. *Nature Microbiology* 2016 Sep;1:16176.

20. Nordmann P, Jayol A, Poirel L. A universal culture medium for screening polymyxin-resistant Gram-negative isolates. J Clin Microbiol. 2016 May;54(5):1395-9.
21. Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie/European Committee of antimicrobial susceptibility testing CA-SFM/Eucast. Recommandations 2016, V.1.0 février. Disponible sur [http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM2016\\_V1\\_0\\_FEVRIER.pdf](http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM2016_V1_0_FEVRIER.pdf) (consulté le 15/11/2016).

Avis produit par la Commission spécialisée Sécurité des patients : infections nosocomiales et autres événements indésirables liés aux soins et aux pratiques

Le 6 décembre 2016

**Haut Conseil de la santé publique**

14 avenue Duquesne

75350 Paris 07 SP

[www.hcsp.fr](http://www.hcsp.fr)