

---

**les moyens de détection  
de la résistance à la colistine .**

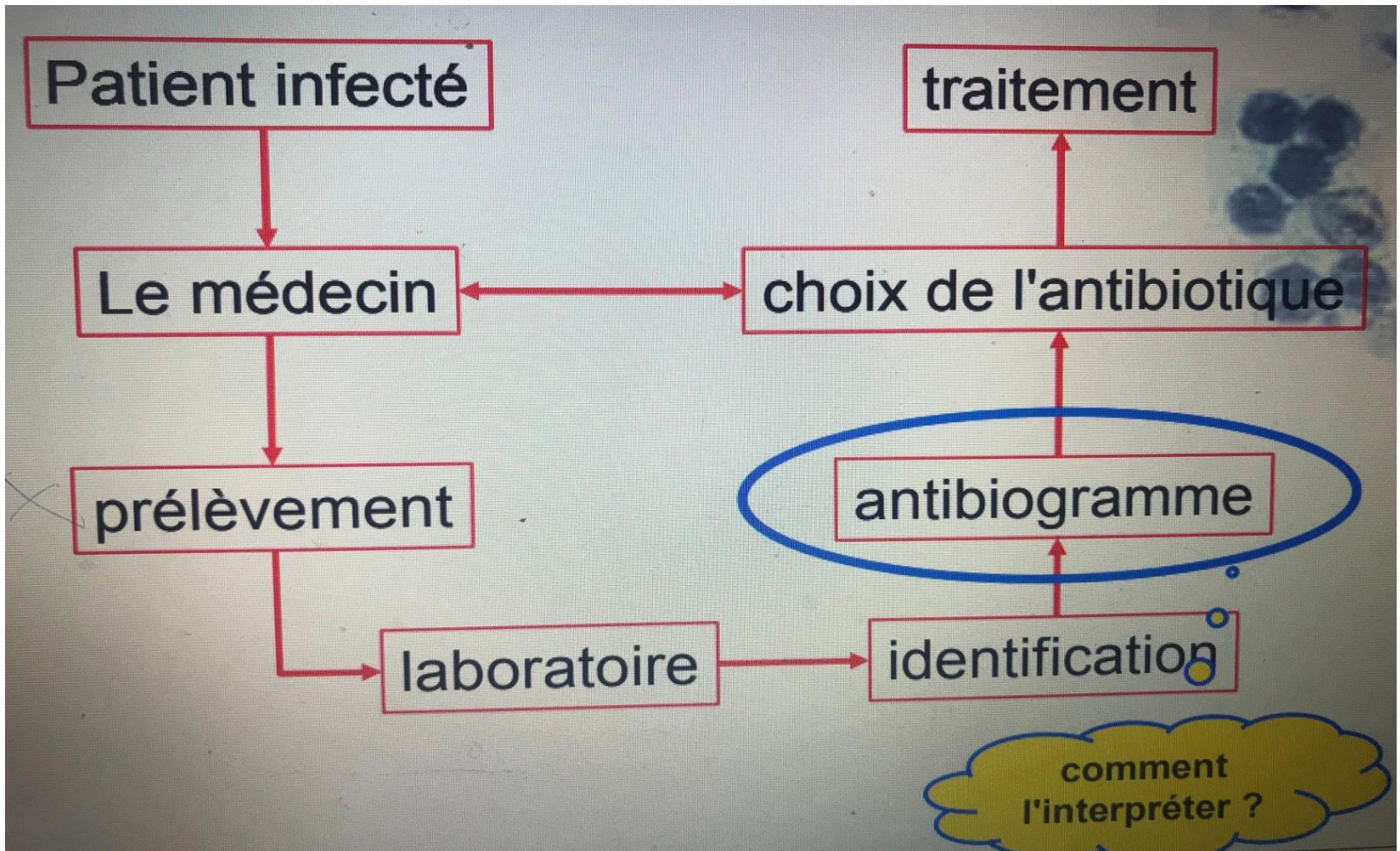
# plan

- INTRODUCTION .
- CLASSIFICATION ET MODE D'ACTION .
- MECANISME DE RESISTANCE .
- LES MOYENS DE DETECTION DE LA RESISTANCE A LA COLISTINE .
- METHODES EN MACRO ET MICRO DILUTION .
- METHODE PHENOTYPIQUE QUALITATIVE .
- LES METHODES AUTOMATISEES .
- LES METHODES MOLECULAIRES .
- CONCLUSION .

# Longues bagarres entre les microorganisme et les êtres humains



# Si la bactérie est multi résistante quoi faire ?



# introduction

- La lutte contre les (BMR) à Gram négatif représente un enjeu majeur de santé publique.
- Particulièrement illustrée par la dissémination des (EPC). ne restant sensibles le plus souvent qu'à la colistine.
- Propagation des germes résistants à la colistine.
- Résistance plus fréquente chez les non fermentaires .



# **Antibio- résistance**

**Un enjeu majeur pour la santé**

# La colistine

- Aujourd'hui prescrite à nouveau en médecine humaine souvent comme traitement de dernier recours.
- utilisée dans le contexte d'infections sévères occasionnées par des BMR.
- Utilisation limitée à cause de sa toxicité .
- Nécessite une surveillance lors du traitement.

# LA COLISTINE EN BREF

Polypeptidic antibiotic  
Family :Polymyxines

Polymyxine E (=colistine)  
Natural substance  
From *Bacillus polymyxa* var. *colistinus* in 1950

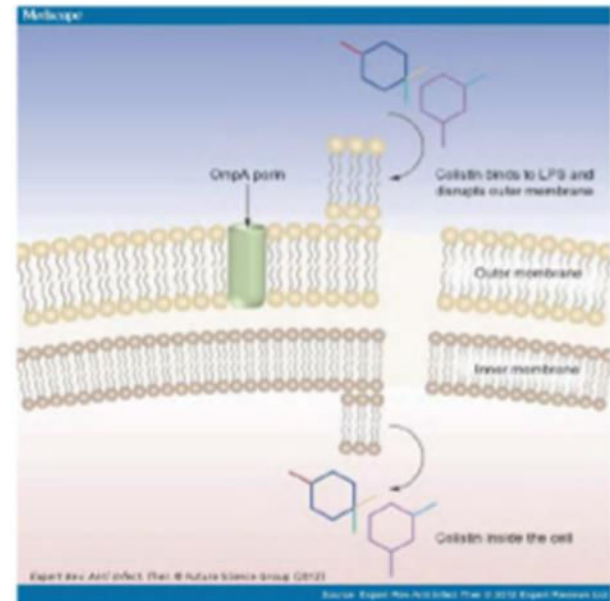
Therapeutic use starts in 1960's

## Natural resistance

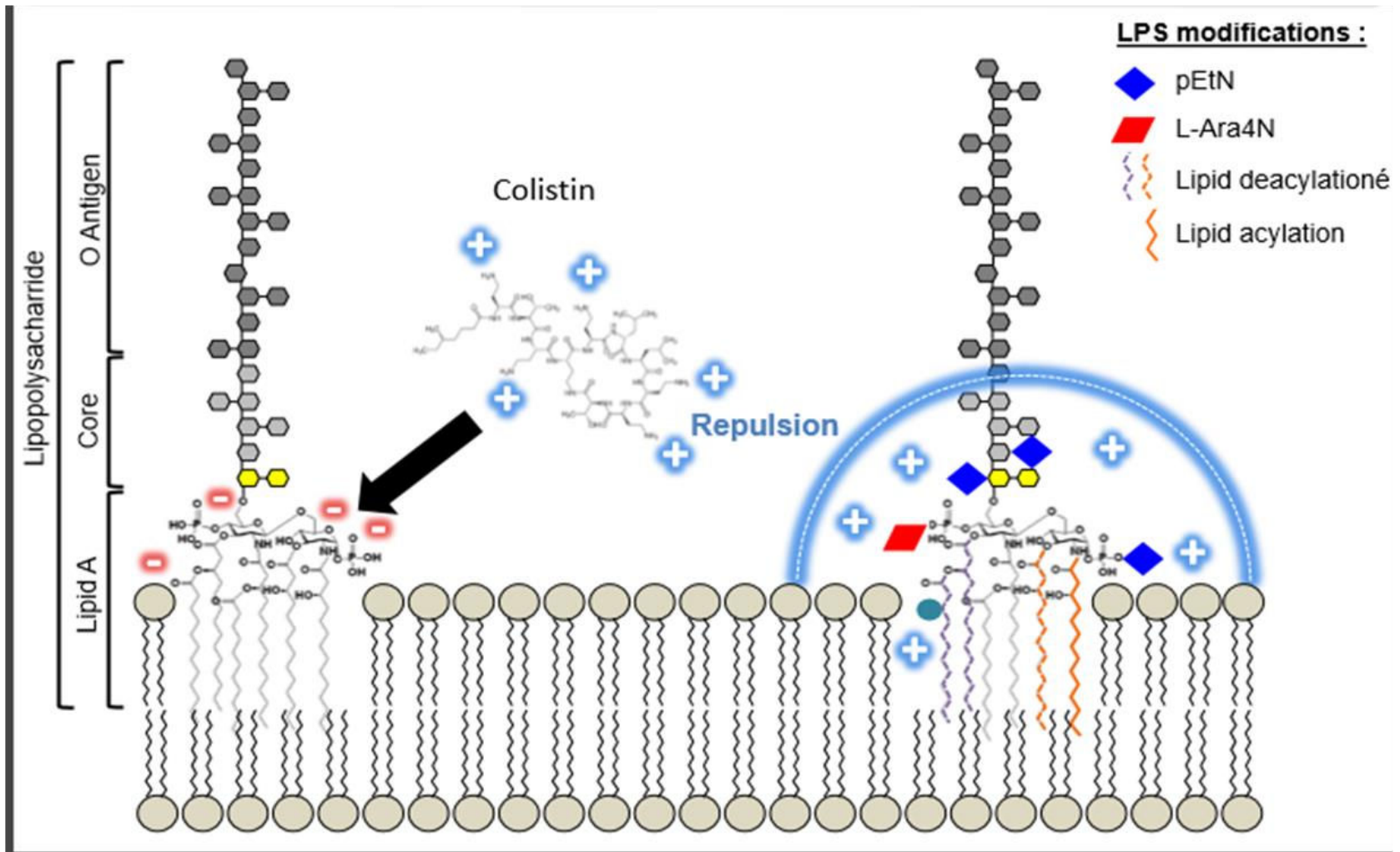
- All gram positive
- *Proteus*
- *Morganella morganii*
- *Serratia marcescens*
- *Yersinia pseudotuberculosis*
- ...

## Active against

- *E. coli*
- *Salmonella* spp.
- *Shigella* spp.
- *Klebsiella pneumoniae*,  
*K. oxytoca*
- *Enterobacter cloacae*,  
*E. aerogenes*
- *Citrobacter*



# Mécanisme de résistance à la colistine



# Mécanisme de résistance à la colistine

Since november 2015, acquired resistance to colistin involved **ALSO plasmid** mediated resistance

Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study



Yi-Yun Liu\*, Yang Wang\*, Timothy R Walsh, Ling-Xian Yi, Rong Zhang, James Spencer, Yohei Doi, Guobao Tian, Baolei Dong, Xianhui Huang, Lin-Feng Yu, Danxia Gu, Hongwei Ren, Xiaojie Chen, Luchao Lv, Dandan He, Hongwei Zhou, Zisen Liang, Jian-Hua Liu, Jianzhong Shen

*Lancet Infect Dis*

## MCR-1

Plasmid encoded  
phosphoethanolamine  
transferase

Mcr-1 plasmid transferable  
between several species (high-frequency)

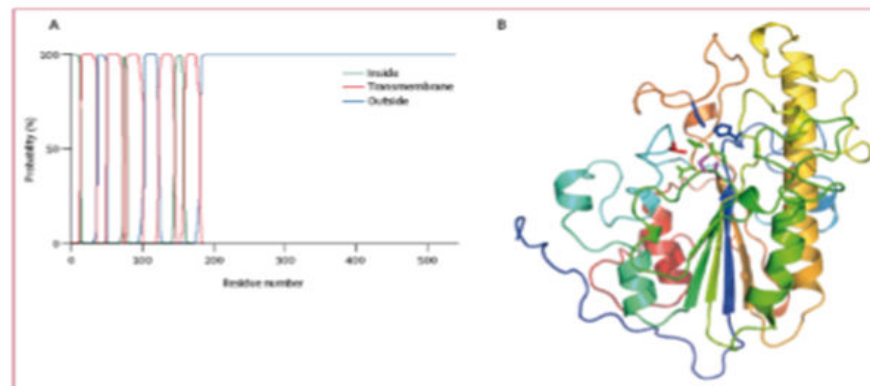
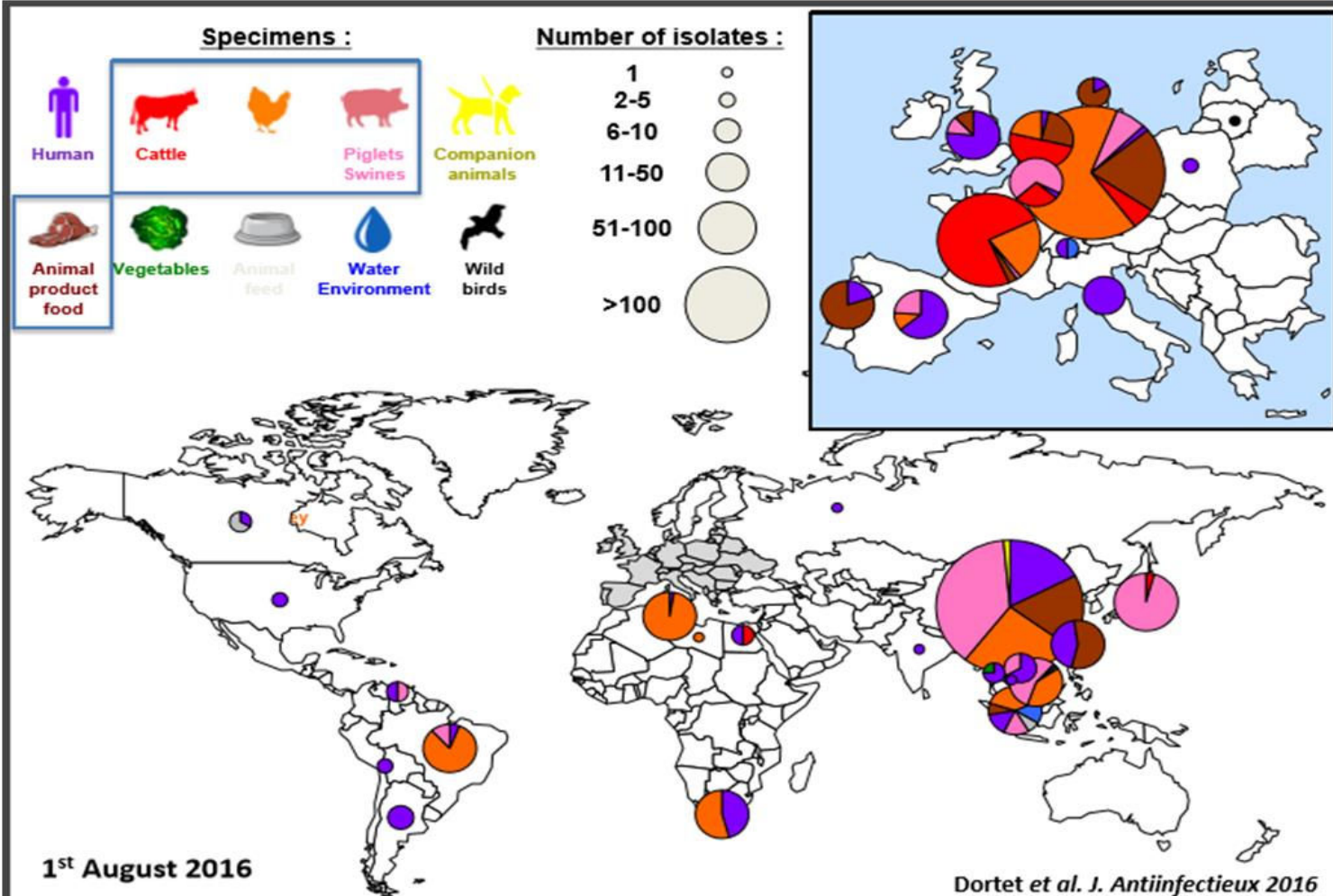


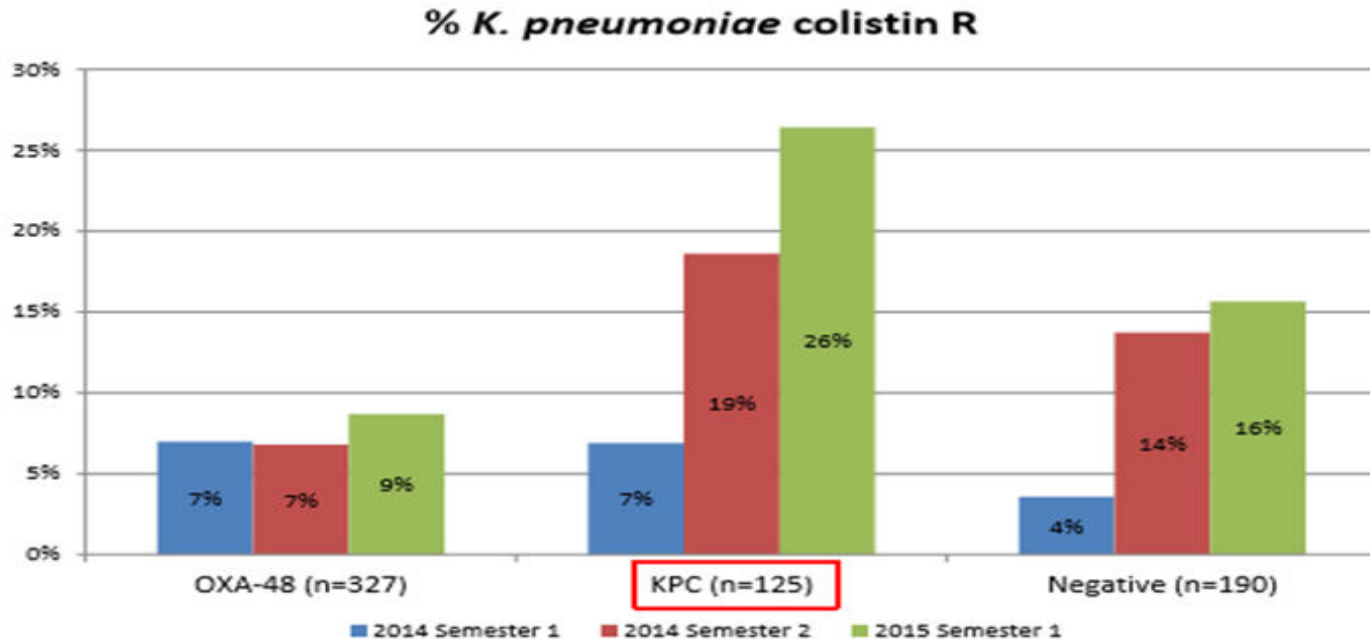
Figure 3. Hydrophathy plot predicting five transmembrane  $\alpha$ -helices in the N-terminal 200 amino acids of MCR-1 (A) and I-Tasser homology modeling analysis of MCR-1 based on models from LptA (*Neisseria meningitidis*; Protein Data Bank ID 4KAT) and EptC (*Corynebacterium jeikeium*; Protein Data Bank ID 4TNO). (B)

# REPARTITION GEOGRAPHIQUE DE LA RESISTANCE A LA COLISTINE



# Association entre Carbapénèmase et la résistance à la colistine

## Colistin resistance in putative CP-*K. pneumoniae* isolates (2014-2015)

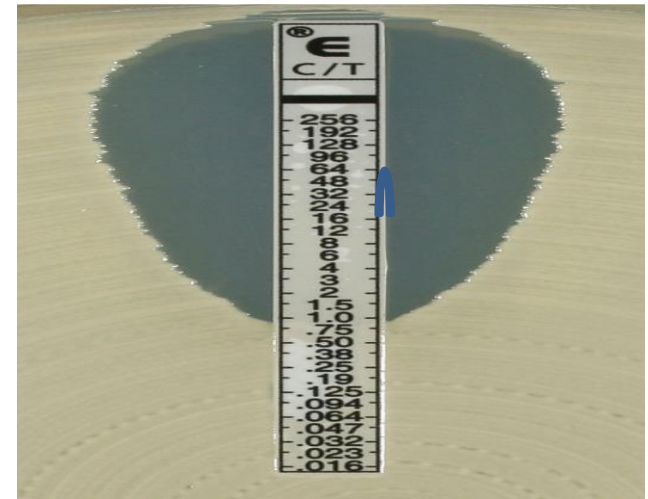
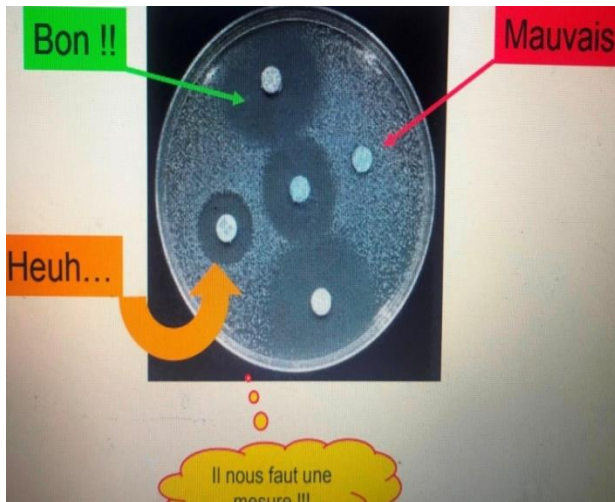


- **COL-R rate higher in KPC KP (19%)** than in OXA-48 KP (8%);  $p < 0.001$
- **Global increase of I/R rates in KP** from 2014 to 2015 for:
  - **COL-R (6% to 14%;  $p = 0.007$ )** especially in **KPC KP ( $p < 0.001$ )**

Coli R > 2 µg/ml

## les moyens de détection de la résistance à la colistine

- Il est important de souligner l'importance du choix de la méthodologie utilisée au laboratoire pour tester la sensibilité *in vitro* de la colistine.
- Il est actuellement recommandé de ne plus évaluer la sensibilité à la colistine par des méthodes de diffusion en milieu solide (disques ou bandelettes par gradient de diffusion de type E-test ou analogues).



✓ ne tester pas la colistine avec la méthode en diffusion sur milieu gélosé . SELON LES RECOMMANDATIONS DE EUCAST ET CLSI.

## Les méthodes en micro- et macro dilution

- La méthode de référence préconisée par les sociétés savantes (tant EUCAST que CLSI) pour évaluer la sensibilité des bactéries à la colistine est la méthode de dilution en milieu liquide (macro- ou micro dilution).
- les valeurs de break points cliniques ont été harmonisées pour les différents groupes de bactéries (Entérobactéries, *Pseudomonasaeruginosa*, *Acinetobacter* spp. ) et sont maintenant identiques pour les deux principaux référentiels (EUCAST et CLSI) .

## Colistin breakpoints according to CLSI and EUCAST

	EUCAST (2017)				CLSI (2017)				CLSI/EUCAST Joint group (dec. 2016)			
	MIC		Diameter		MIC		Diameter		MIC		Diameter	
	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R
<i>Enterobacteriaceae</i>	≤ 2	>2	—	—	≤ 2 <sup>†</sup>	≥ 4 <sup>†</sup>	—	—	≤ 2	>2	—	—
<i>P. aeruginosa</i>	≤ 2	>2	—	—	≤ 2	≥ 4	—	—	≤ 2	>2	—	—
<i>Acinetobacter</i> spp*	≤ 2	>2	—	—	≤ 2	≥ 4	—	—	≤ 2	>2	—	—

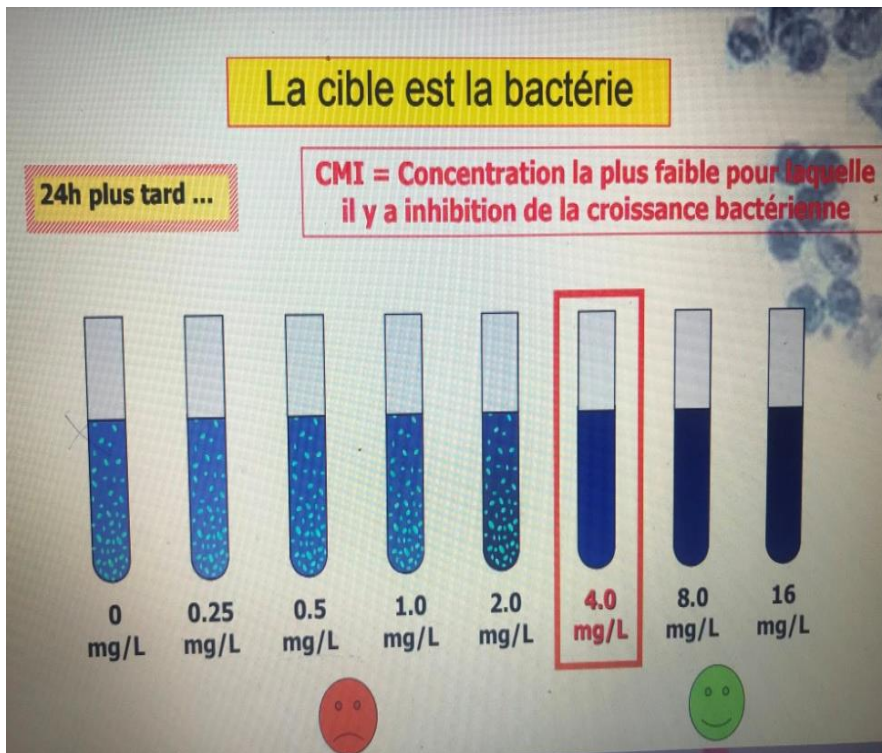
<sup>†</sup>No clinical breakpoints but epidemiological cut-off values (ECV): applies only to specific species (*E. aerogenes*, *E. cloacae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*)

No zone diameter breakpoints anymore in 2017 (Use a MIC method)

**EUCAST recommend a susceptible QC strain (*E. coli* ATCC 25922 or *P. aeruginosa* ATCC 27853) and one resistant QC strain (NCTC13846; *mcr-1* positive) for colistin testing**

# La méthode en macro - dilution

## ➤ Procédures de la macro dilution



# Les méthodes en micro - dilution

## ❖ MERLIN MICRONAUT.



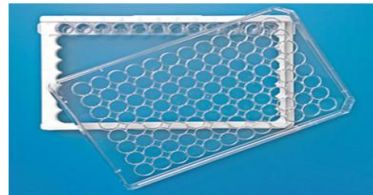
## ❖ LIOFILCHEN SENSI TEST



## ❖ SENSITITRE.



## ❖ BIOCENTRIC UMIC.



# CHROMID TEST

## Dépistage

Les laboratoires vétérinaires ont besoin de solutions de qualité pour effectuer le dépistage, la détection et le dénombrement des micro-organismes.



La **gamme CHROMID™** de milieux de culture chromogènes donne des résultats en l'espace de 18 à 24 heures pour les principaux micro-organismes retrouvés en diagnostic vétérinaire. Les milieux chromogènes permettent d'identifier les différents pathogènes de façon plus fiable et de lire les résultats plus rapidement et plus facilement. En outre, ils présentent une sensibilité et une spécificité très élevées.

[NOUVEAUX TESTS CHROMID® COLISTIN >](#)



## Nouveaux tests CHROMID® Colistin pour le dépistage des bactéries résistantes à la colistine chez les animaux et les humains. ×

CHROMID® Colistin R est le premier milieu chromogène validé pour permettre l'isolement et le dépistage des entérobactéries résistantes à la colistine : *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella spp.* dans des échantillons cliniques et vétérinaires. Il facilite le suivi de la résistance à la colistine tant chez les patients porteurs asymptomatiques que chez les patients et les animaux infectés, afin d'assurer un traitement antimicrobien approprié le plus tôt possible.

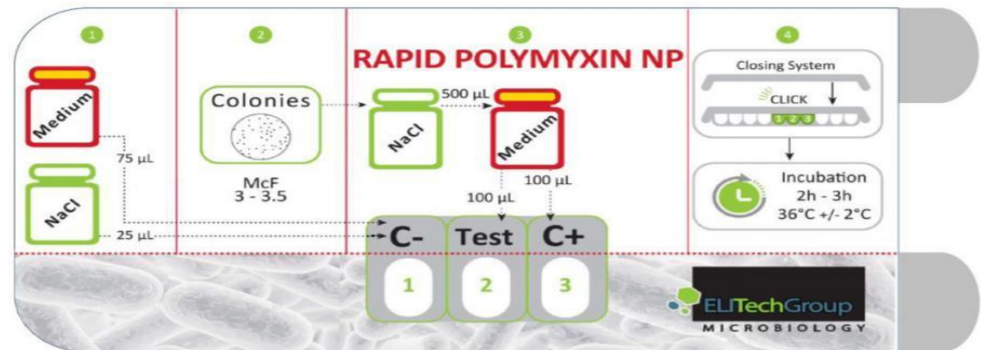
# La Méthode de Phénotypage Qualitative

- rapide Polymyxin NP test (2 à 4 heures) .
- Sensibilité à 99% pour les entérobactéries.
- Spécificité à 95% pour les entérobactéries .
- Détection direct de la résistance à la colistine à partir des hémocultures .

1) LE KIT DE Rapide Polymyxin NP .



1) MODE OPERATOIRE DU TEST Rapide Polymyxin NP .



3) INTERPRETATION DES RESULTATS .



## Les méthodes automatisées

- Les systèmes automatisés (VITEK2, Phoenix) n'ont pas fait l'objet d'une validation FDA pour tester la colistine.
- Une étude déjà ancienne rapporte une faible sensibilité pour la détection de résistance à la colistine .



BD PHEONEX



VITEK

## La méthode moléculaire

- C est la méthode de référence appropriée pour la détection de la résistance à la colistine et pour l'isolation des gènes responsables de la résistance à la colistine notamment les Mcr.

# conclusion

- Augmentation de plus en plus de la résistance à la colistine. bien aussi importante chez les non fermentaires
- nécessité de les mettre en évidence pour empêcher la désamination de ses souches aussi bien dans le domaine vétérinaire que clinique .
- Les méthodes classique ne sont pas valables aussi que pour les méthodes automatisées .
- Les méthodes manuelles en micro et macro dilution et les tests phénotypiques et moléculaires sont les plus fiables et les plus recommandés .
- L'Utilisation des milieux chromogènes est indiqué essentiellement dans les prélèvements de portages.