



Nationales Referenzlaboratorium zur Früherkennung
neuer Antibiotikaresistenzen und Resistenzmechanismen

Centre National de Référence des Résistances Emergentes aux Antibiotiques

Suisse

01/09/2022 - 01/09/2023

Prof. Patrice Nordmann (Directeur), MD, PhD, Spec. Microbiologie

Professeur Ordinaire de Microbiologie Médicale et Moléculaire, Université de Fribourg,

Université de Fribourg,

Directeur de l'Unité « Résistances Emergentes aux antibiotiques », de l'Unité de Recherche à titre étranger de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM, France), Université de Fribourg et de l'Institut Européen des Résistances Emergentes aux Antibiotiques

Médecin Agrégé, Institut de Microbiologie, CHUV, Lausanne.

P.D. Dr. Dominique Blanc (Directeur adjoint), PhD

Chef de laboratoire, Unité Hygiène Prévention et Contrôle de l'Infection. Service des Maladies Infectieuses, CHUV, Lausanne,

Privat Docent Maître d'Enseignement et de Recherche, Faculté de Biologie et de Médecine, Université de Lausanne.

Julie Kessler (Cheffe de laboratoire) FAMH Pluridisciplinaire.

Fribourg le 6/11/2023

Pr. P. Nordmann

1. OBJECTIFS ET ORGANISATION	4
1.1. Objectifs	4
1.2. Autorisation d'exploitation	4
2. ACTIVITES D'EXPERTISE ET DE CONSEIL	4
2.1. Evolution du nombre de souches analysées	6
2.2. Répartition de souches analysées du 1er septembre 2022 au 31 août 2023	7
2.2.1. Origine géographique des souches	7
2.2.2. Répartition des souches par espèces bactériennes	7
2.2.3. Expertises de souches	8
2.2.3.1. Laboratoire d'Epidémiologie, CHUV Lausanne	8
2.2.3.2. Microbiologie Médicale et Moléculaire - Université de Fribourg	9
3. NOUVEAUX TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE ET MILIEUX DE SCREENING DES RESISTANCES	15
3.1. Diagnostic rapide de la résistance à l'imipénème/relebactam chez les Entérobactéries	15
3.2. Diagnostic rapide de la résistance au méropème/vaborbactam chez les Entérobactéries	16
3.3. Diagnostic rapide de la résistance à la témocilline chez les entérobactéries	16
3.4. Diagnostic rapide de la résistance au céfiderocol chez les Entérobactéries	17
3.5. Diagnostic rapide de la résistance à l'aztreonam/avibactam chez les Entérobactéries	18
3.6. Milieu de culture sélectif pour la détection des souches d'entérobactéries résistantes au ceftiderocol	18
3.7. Multiplex PCR pour la détection des gènes de résistance plasmidique de résistance à la fosfomycine chez <i>E. coli</i>	19
4. EVALUATION DE NOUVEAUX TESTS DIAGNOSTICS	21
4.1. Evaluation de tests phénotypiques pour détecter les BLSE chez <i>Klebsiella oxytoca</i>	21
4.2. Le Resist Acineto test pour la détection des carbapénemases acquises chez <i>Acinetobacter</i> sp.	22
5. EVALUATION DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES	22
5.1. Activité in vitro des associations cefepime/zidebactam et cefepime/taniborbactam vis- à-vis de souches de <i>E. coli</i> NDM résistantes à l'association aztréonam/avibactam	22
5.2. Impact des β -lactamases à large spectre acquises sur la sensibilité aux pénèmes oraux/ carbapénèmes (tébipénème, sulopénème et faropénème) seuls ou en association avec les inhibiteurs de β -lactamase avibactam et taniborbactam chez <i>Escherichia coli</i>	23
5.3. Impact des β -lactamases à large spectre acquises sur la sensibilité aux nouvelles combinaisons de β -lactamines (aztréonam, céfépime, méropénème et imipénème) et de nouveaux inhibiteurs de β -lactamase chez <i>Escherichia coli</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	23

6.	Site Internet, Newsletter et Symposium	23
7.	ENSEIGNEMENTS ET FORMATION	25
8.	RECHERCHE, PUBLICATIONS et COMMUNICATIONS	26
8.1.	Activités de recherche	26
8.2.	Publications	27
8.3.	Conférences invitées	29
8.4.	Public outreach activities	30
8.5.	Présentations aux congrès	30
8.5.1.	Nationaux.....	30
8.5.2.	Internationaux.....	31
9.	RELATIONS NATIONALES ET INTERNATIONALES	32
10.	GESTION	33
11.	CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS	33

1. OBJECTIFS ET ORGANISATION

1.1. Objectifs

L'objectif principal du NARA est d'identifier rapidement les résistances aux antibiotiques émergentes sur le territoire helvétique et de contribuer à en limiter la diffusion. Le NARA contribue à l'analyse moléculaire et biochimique de ces nouvelles résistances et leur diffusion épidémique sur le territoire et émet des recommandations concernant leur diagnostic et leur identification auprès du BAG et des laboratoires helvétiques concernés. Il développe également de nouveaux tests de diagnostic rapide, des milieux de screening de bactéries multirésistantes et participe à l'évaluation des nouvelles molécules. Il participe à une recherche appliquée dans le domaine des résistances émergentes aux antibiotiques. Ces actions s'intègrent dans un cadre de collaborations multiples nationales et internationales, tout particulièrement en Europe avec les Etats voisins compte-tenu de la diffusion régionale des souches résistantes.

1.2. Autorisation d'exploitation

L'autorisation Swissmedic pour le site de Fribourg a été obtenue en août 2018. Le laboratoire de Lausanne (CHUV) possède de longue date l'autorisation d'exploitation pour ses activités analytiques.

2. ACTIVITES D'EXPERTISE ET DE CONSEIL

L'un des objectifs principaux du NARA est de constituer une alerte afin de détecter et de prévenir la diffusion de toute nouvelle résistance qui pourrait avoir un impact sur la Santé publique en Suisse. Depuis sa création, le NARA ne cesse de se perfectionner dans le développement de méthodes permettant l'analyse des CMI (concentration minimale inhibitrice) des nouveaux antibiotiques ainsi que la mise en évidence de mécanismes de résistance. La collaboration avec les laboratoires est très bénéfique à la mission du NARA et inversement. La centralisation des souches multirésistantes et la circulation de l'information permettent un suivi épidémiologique de haute qualité. L'augmentation du nombre de souches reçues au NARA souligne la justesse de cette nécessité de surveillance et de prévention.

Expertise des mécanismes de résistance émergents aux antibiotiques

La liste des espèces bactériennes et de leurs résistances émergentes dont l'expertise est réalisée plus spécifiquement par le NARA est indiquée ci-dessous (Tableau 1). C'est l'envoi de toute souche exprimant une nouvelle résistance phénotypique (qu'elle soit avérée ou supposée) qui constitue la base des souches étudiées par le NARA.

Espèce ou famille bactérienne	Résistance
Bactéries à Gram positif	
<i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>S. equisimilis</i> , <i>S. agalactiae</i> , <i>S. dysgalactiae</i>	-Résistance à la pénicilline G
<i>Streptococcus sp</i>	-Résistance à la vancomycine
<i>Staphylococcus aureus</i> et staphylocoques à coagulase-négative	-Résistance à la vancomycine (haut niveau ; CMI >8 mg/L) -Résistance à la ceftaroline, au ceftobiprole -Résistance au linézolide -Résistance à la daptomycine -Résistance à la tigécycline

<i>Enterococcus sp</i>	-Résistance au linézolide -Résistance à la daptomycine -Résistance à la tigécycline
Bactéries à Gram négatif	
Entérobactéries	-Résistance aux carbapénèmes (carbapénémases) -Résistance aux polymyxines (colistine) à l'exception des résistances naturelles de <i>Hafnia</i> , <i>Serratia</i> , <i>Proteus</i> , <i>Providencia</i> et <i>Morganella</i> -Résistance à tous les aminosides (16 S rRNA méthylases) -Résistance à la fosfomycine -Résistant aux nouvelles associations β -lactamines/inhibiteurs de β -lactamases (ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, meropenem/vaborbactam) -Résistance au cefiderocol -Toto-résistance et Virulence*
<i>Pseudomonas sp</i> , <i>Acinetobacter sp</i>	-Résistance aux carbapénèmes (carbapénémases) -Résistance aux polymyxines (colistine) -Résistance à tous les aminosides (méthylases) et au cefiderocol -Toto-résistance*
<i>Burkholderia sp</i> <i>Neisseria gonorrhoeae</i>	-Toto-résistance* Résistance aux β -lactamines, à l'azythromcyine et aux tétracyclines
<i>Stenotrophomonas sp</i> et bacilles à Gram négatif apparentés	-Résistance aux polymyxines (colistine) -Toto-résistance*

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

* Résistance à tous les antibiotiques usuels +/- aux polymyxines +/- associée à des traits dits d'hypervirulence.

Le NARA fait également partie des huit laboratoires experts du Swiss Antibigram Committee (actuellement en veille, semble-t-il). A ce titre, il participe à l'identification de mécanismes de résistances connus et relativement prévalents comme :

- L'étude d'entérobactéries produisant une BLSE, une β -lactamase de type AmpC ou étant résistante aux carbapénèmes par un mécanisme associant imperméabilité et surexpression d'une céphalosporinase naturelle ou acquise.
- L'étude des staphylocoques résistants à la méthicilline ou résistants de bas niveau aux glycopeptides (VISA, GISA)
- L'étude des entérocoques résistants aux glycopeptides (VRE : VanA, VanB...).

Cette activité est volontairement restreinte au NARA parce qu'il ne s'agit pas de résistances émergentes mais de résistances connues depuis 25 ans et parce que les ressources financières du NARA sont limitées. Mais, lorsque les laboratoires en font la demande, le NARA est à leur disposition pour résoudre ces problèmes diagnostiques ou épidémiologiques (++) VRE).

2.1. Evolution du nombre de souches analysées

Entre le 1^{er} septembre 2022 et le 31 août 2023, le NARA a reçu un total de 1234 souches bactériennes, marquant ainsi une augmentation substantielle (+ 25%) par rapport à l'année précédente avec une prédominance de souches d'entérobactéries (Figure 1). Cette hausse souligne la dissémination accrue de souches multirésistantes dans notre pays. Les facteurs contributifs à cette augmentation comprennent la mobilité accrue des populations (transferts de patients par avion notamment) et les défis posés par l'évolution naturelle des bactéries face à la pression antibiotique en général qui a lieu essentiellement à l'Etranger.

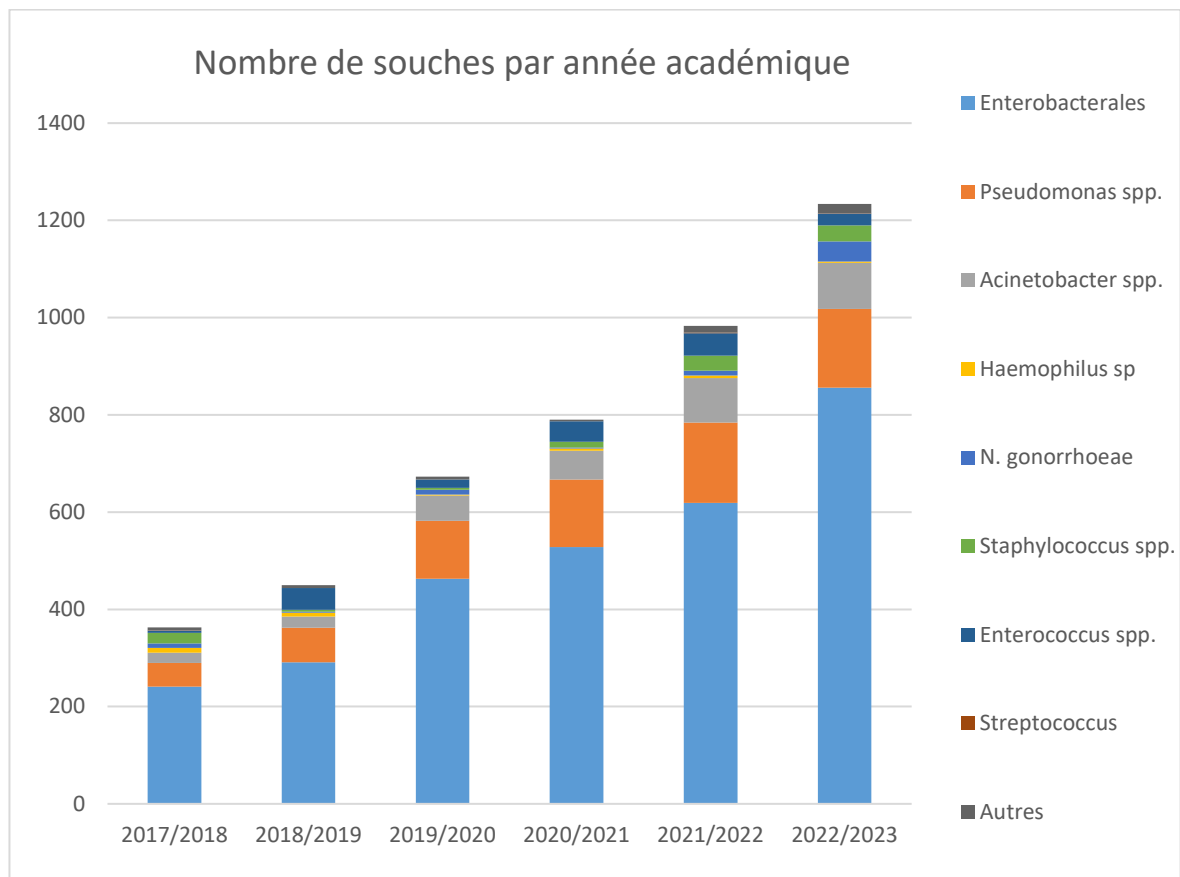


Figure 1. Nombre de souches analysées au NARA depuis sa création

2.2. Répartition de souches analysées du 1er septembre 2022 au 31 août 2023

2.2.1. Origine géographique des souches

La majorité des souches proviennent des grands centres hospitaliers suisses. Ces institutions dotées d'équipement pour la détection des souches multirésistantes jouent un rôle essentiel dans notre réseau de surveillance d'identification et de prévention. Elles sont caractérisées par leur capacité à accueillir un grand nombre de patients venant de l'Etranger. Tous les cantons envoient désormais des souches multirésistantes pour contrôle ou identification de résistance.

2.2.2. Répartition des souches par espèces bactériennes

Les 1234 souches bactériennes analysées au NARA, incluaient 58 souches de cocci à Gram positif et 901 souches de bacilles à Gram négatif (tableau 2). La contribution des laboratoires de toute la Suisse renforce la mission du NARA dans la surveillance de la dissémination des souches multirésistantes. Une détection accrue des bactéries multirésistantes et des mécanismes de résistance associés demeure cruciale pour prévenir les phénomènes épidémiques et préserver l'efficacité des traitements antibiotiques.

Les espèces bactériennes les plus fréquemment analysées sont les souches de *Klebsiella* spp. (n=389) et de *E. coli* (n=265). Le nombre de souches multirésistantes de *Pseudomonas* spp. et de *Acinetobacter* spp. envoyées au NARA a également augmenté de manière significative. Ceci témoigne de la capacité importante qu'ont ces espèces à accumuler les mécanismes de résistance, dont la résultante est l'émergence de souches multi- voire-même pan-résistantes. A noter que 30% des souches analysées au NARA provenaient de colonisation (écouvillonnages rectaux). La gestion de ce portage bactérien est essentielle pour prévenir les épidémies dans les établissements de santé.

Espèce	2021/2022	2022/2023	Total 2018-2023
<i>Enterobacterales</i>	619	856	3053
<i>Pseudomonas sp</i>	165	162	716
<i>Acinetobacter sp</i>	92	95	352
<i>Haemophilus sp</i>	5	2	32
<i>N. gonorrhoeae</i>	10	42	76
<i>Staphylococcus</i>	31	33	111
<i>Enterococcus</i>	46	24	185
<i>Streptococcus</i>	1	1	4
<i>Autres</i>	14	19	55
<i>Total</i>	983	1234	4584

Tableau 2. Répartition des souches étudiées au NARA par espèce bactérienne

2.2.3. Expertises de souches

2.2.3.1. Laboratoire d'Epidémiologie, CHUV Lausanne

Entre le 1^{er} septembre 2022 et le 31 août 2023, 114 souches Gram positif ont été analysées. Le détail est indiqué ci-dessous :

Espèce	Motifs de la demande	n
<i>Enterococcus faecalis</i>	Résistance à la vancomycine, suspicion résistance au linezolid	6
<i>Enterococcus faecium</i>	Résistance à la vancomycine, suspicion résistance au linezolid ; confirmation résistance à la vancomycine, génotypage	46
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Résistance à l'azitromycine	36
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistances à la daptomycine, à la méthicilline, suspicion résistance à la teicoplanin	22
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Résistances aux glycopeptides, suspicion résistance à la teicoplanine, à la daptomycine	3
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Suspicion résistance à la pénicilline	1

Tableau 3. Souches analysées dans la section de Lausanne du NARA

Résistance chez les entérocoques

Le contrôle de la résistance à la vancomycine était la demande principale concernant les souches d'entérocoques. Les sensibilités au linézolide et à la teicoplanine ont également été contrôlées. Ces demandes montrent que le besoin de confirmer la sensibilité des entérocoques à ces antibiotiques est toujours présent pour certains laboratoires.

Résistance chez *Staphylococcus spp.*

La majorité des souches de *Staphylococcus aureus* ont été transmises pour suspicion de résistances aux antibiotiques de nouvelle génération, daptomycine notamment. Cette résistance a été confirmée pour 9 souches de *S. aureus* résistantes à la daptomycine.

Des mutations dans le gène *mprF* sont rapportés dans la littérature comme conférant cette résistance. Deux études ont été entreprises dans notre laboratoire pour déterminer quels mécanismes génétiques sont responsables de cette résistance. La première a consisté à faire une correspondance entre les mutations observées et les CMI des souches reçues ces dernières années au NARA. Une analyse de régression linéaire ou binomial n'ont pas montré de corrélation. Cependant, un test de Wilcoxon entre la CMI entre les isolats et la présence ou absence de mutation a mis une corrélation avec les mutations n'a I660V et I696T.

Le but de la deuxième étude était de démontrer que certaines mutations dans le gène *mprF* sont uniques responsables de la résistance à la daptomycine, le tout via clonage de ces gènes mutants dans une souche délétée de *mprF*. Ce travail a été effectué par un étudiant en Master de l'université de Besançon lors de son stage de 7 mois dans notre laboratoire. Après de nombreux échecs, il a réussi à obtenir une souche portant une mutation dans le gène *mprF*, mais celle-ci n'a pas conféré seule la résistance à la daptomycine.

Résistance chez les gonocoques

Les infections bactériennes sexuellement transmissibles (IST) posent un problème majeur de santé publique. L'émergence de souches résistantes aux antibiotiques de *Neisseria gonorrhoeae* représente une menace sérieuse pour le succès du traitement et le contrôle de la propagation de l'infection. Les premières souches largement résistantes aux antibiotiques (XDR) (résistantes à la céftriaxone et à l'azithromycine à haut niveau [HLR AZY]) ont été signalées. Alors que certains mécanismes de résistance à l'azithromycine sont bien compris, d'autres restent spéculatifs.

Plusieurs mécanismes de résistances ont été confirmés par la présence de gènes spécifiques ou de mutations spécifiques dans des gènes présent naturellement dans cette espèce (β -lactamines, quinolones, macrolides, tétracyclines). Une analyse rétrospective sur des souches isolées du CHUV a été entreprise. De janvier 2021 à décembre 2022, 34 isolats (un par patient) ont été récupérés à partir d'échantillons analysés au CHUV à Lausanne. Huit gènes impliqués dans la résistance à l'azithromycine ont été séquencés : le répresseur *mtrR* (répresseur de l'opéron *mtrCDE*) et son promoteur *mtrR-pr*, le gène *rplD* (protéine ribosomique L4), le gène *rplV* (protéine ribosomique L22) et les quatre allèles du gène *rrl* (ARNr 23S). Avec une valeur de seuil de 1 mg/L, 15 isolats ont été considérés comme résistants, tandis que les 19 autres étaient sensibles à l'azithromycine. La mutation C2599T dans 3 ou 4 des allèles *rrl* confère une HLR à l'azithromycine (CMI = 16 mg/L, N = 2). Les mutations suivantes étaient significativement associées à des valeurs de CMI > 1 mg/L : les trois mutations V125A, A147G, R157Q dans le gène *rplD* (N = 10) et une substitution A->C dans le promoteur de *mtrR* (N = 9). Des mutations spécifiques dans le répresseur *mtrR* et son promoteur ont été observées à la fois dans les isolats sensibles et résistants. En conclusion, la résistance à l'azithromycine de nos isolats s'expliquait par la présence de mutations dans de nombreuses copies différentes des gènes de l'ARN ribosomique 23S, dans le gène *rplD*, dans le répresseur *mtrR* et par une substitution dans le promoteur du répresseur *mtrR*. D'autres mutations, précédemment signalées comme étant associées à la résistance à l'azithromycine, ont été documentées à la fois dans les isolats sensibles et résistants, suggérant qu'elles jouent peu, voire aucun rôle dans la résistance à l'azithromycine.

Typage moléculaire et génomique (WGS)

Vingt-six souches de *E. faecium* résistant à la vancomycine (VRE) ont été adressées pour un typage génomique (WGS) dans le cadre d'une investigation d'épidémie dans le canton de Neuchâtel. Les résultats ont permis de confirmer la chaîne de transmission et de faire des liens avec des patients hospitalisé antérieurement ou dans ces autres cantons.

2.2.3.2. Microbiologie Médicale et Moléculaire - Université de Fribourg

Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif

La majorité des souches bactériennes analysées étaient des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes, au sein desquelles nous pouvons différencier les souches produisant une carbapénémase d'un côté, et celles résistantes aux carbapénèmes mais sans production de carbapénémase. Ces dernières constituent une proportion significative des souches résistantes correspondant à des souches ayant accumulé différents mécanismes comprenant une diminution de perméabilité membranaire parfois associées à une surexpression de pompes à efflux.

La répartition des différents carbapénémases identifiées est présentée dans le tableau (Figure 2). La prédominance des souches produisant une carbapénémase de type OXA-48 notamment de type *E. coli* suggère en une dissémination communautaire probable. La majorité des souches productrices de carbapénémases appartenaient aux espèces *Klebsiella* sp. et *E. coli*, cependant un nombre significatif de souches appartenant aux espèces *Citrobacter freundii* et *Enterobacter cloacae* ont également été identifiées.

Les gènes codant pour les carbapénémases de type KPC sont majoritairement identifiés au sein des souches de *Klebsiella*. Des souches avec des résistances très atypiques ont été analysées.

Ainsi deux souches de *Proteus mirabilis* produisant la carbapénémase OXA-23 ont été identifiées, très difficile à détecter car conférant une résistance de faible niveau à l'ertapénème dans une espèce qui présente une sensibilité diminuée à l'imipénème. Ainsi, une attention particulière doit être portée à ces souches de *P. mirabilis* présentant de manière additionnelle une résistance au mérépénème, résultant potentiellement de l'acquisition d'une carbapénémase de type OXA-23. Deux souches de *Enterobacter cloacae* produisant une carbapénémase de classe A de type IMI conférant un profil de résistance atypique (résistance isolée aux carbapénèmes avec sensibilité paradoxale aux céphalosporines à large spectre) ont été identifiées, témoignant de l'émergence d'un phénotype de résistance difficile à appréhender.

Les gènes codant les carbapénémases de type VIM ont été identifiés au sein d'une grande variété de souches d'Entérobactéries telle que *Enterobacter cloacae*, *Providencia stuartii*, *Klebsiella* et *Citrobacter*. Cette augmentation témoignerait d'une évolution de l'épidémiologie dont la source n'est pas identifiée.

De manière également notable, la co-production de carbapénémases au sein de certaines souches est également un phénomène émergent. C'est un total de 60 souches de ce type qui ont pu être identifiées au NARA, correspondant pour la majorité d'entre elles à des associations de carbapénémase de type NDM et OXA-48.

Une souche de *Citrobacter amalonaticus* produisant trois types de carbapénémases a également été identifiée, NDM-5, OXA-48 et VIM-1. De très nombreuses souches de *E. coli* et *K. pneumoniae* exprimant NDM-5 ont été caractérisées suggérant un transfert de gène de NDM-5. Il s'agit d'un phénomène émergent depuis quelques années. Plusieurs souches de *E. coli* possédant un gène de NDM-5 et deux gènes codants pour des méthylases de l'ARN 16S et résistante à l'association aztréonam/avibactam ont été identifiés.

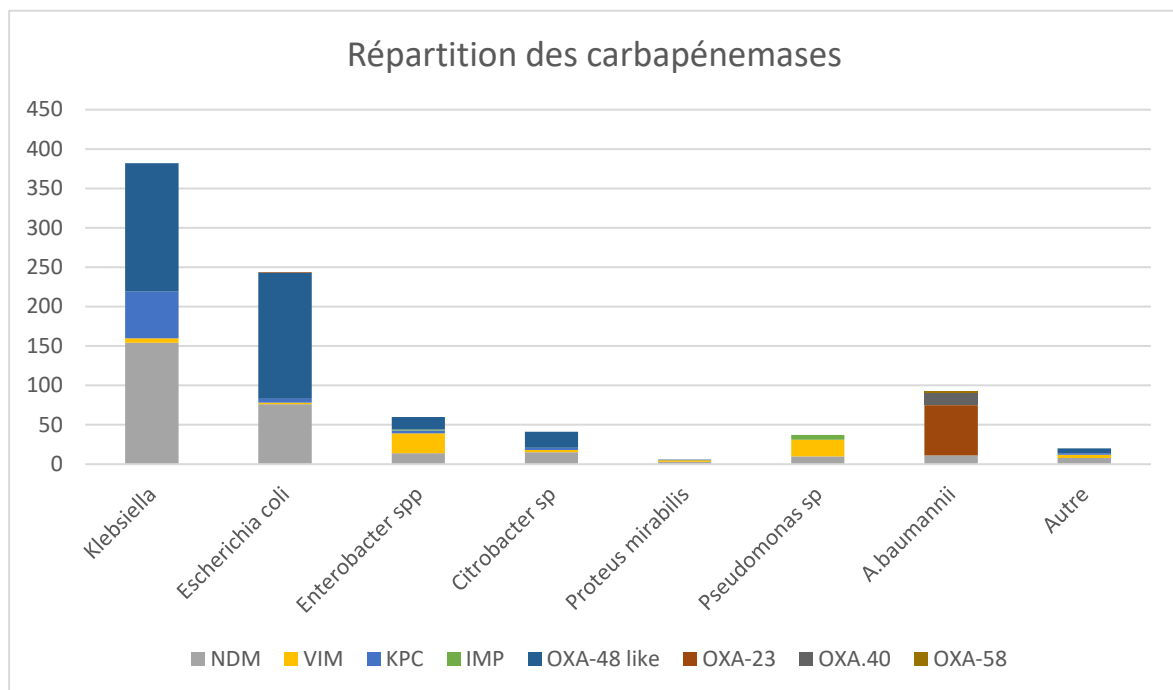


Figure 2. Répartition des carbapénémases selon l'espèce bactérienne

Ceci témoigne de la circulation actuelle en Suisse de souches de *E. coli* résistantes aux associations β -lactamines/ inhibiteurs de β -lactamases. Chez *Pseudomonas* spp., les carbapénèmases de type VIM et NDM et sont les plus fréquentes. Nous avons cependant identifié une souche produisant la carbapénémase GES-5, qui contribue qui a une activité hydrolytique plus faible de carbapénèmes que les enzymes de type VIM ou NDM. Cependant, il est important de noter que les résistances aux carbapénèmes observées dans la plupart des souches de *Pseudomonas* spp. sont majoritairement liées à l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle AmpC associée à une diminution de perméabilité membranaire ainsi qu'à la surproduction de systèmes d'efflux. Cependant, ces mécanismes correspondent à des mutations au sein de gènes chromosomiques, ils ne sont pas transférables, et ne constituent donc pas le même potentiel de menace épidémiologique que celui de gènes codant pour des carbapénèmases localisés au sein de plasmides le plus souvent transférables (conjugatifs ou mobilisables).

Parmi les souches de *A. baumannii* résistantes aux carbapénèmes, on observe une forte prédominance de la carbapénémase OXA-23 (Figure 3), comme ceci est connu sur le plan international. Ces souches produisent, de plus, très fréquemment une méthylase de l'ARN 16S, ArmA, conférant une résistance à tous les aminosides. Ces souches présentaient donc des phénotypes de résistance très étendus, offrant peu de possibilités thérapeutiques.

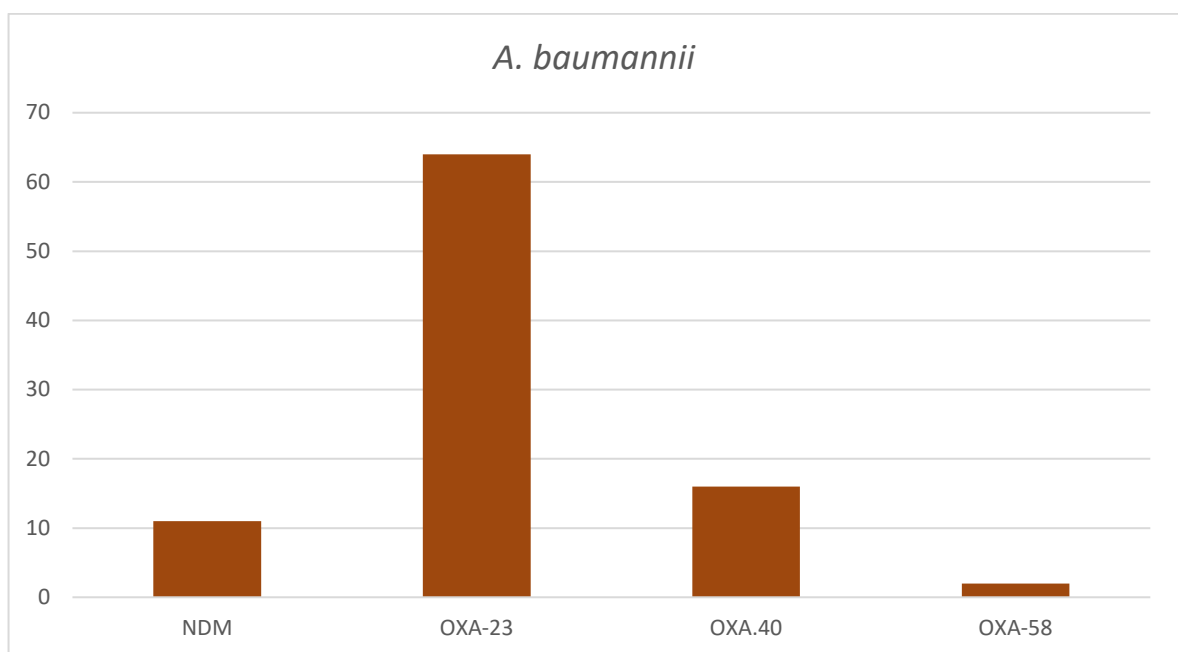


Figure 3. Répartition des carbapénèmases chez *A. baumannii*

Pan-résistance aux aminosides chez les bacilles Gram négatif

La production de méthylases de l'ARN 16S conférant une résistance à tous les aminosides a été détectée dans 205 souches, toutes espèces confondues (avec par conséquent une résistance à l'amikacine, gentamicine, tobramycine et kanamycine) (Tableau 4). On note un doublement du nombre de ces souches productrices par rapport à l'année précédente. Il s'agit donc d'un phénomène émergent réel ayant pour conséquence une réduction des alternatives thérapeutiques disponibles. Nous avons également observé une augmentation très significative de présence de méthylases de l'ARN 16S au sein de l'espèce *K. pneumoniae*. Tout comme pour *Acinetobacter baumannii*, l'identification de méthylases était la plupart du temps associée à celle des carbapénèmases, expliquant ainsi le caractère multirésistant extrêmement préoccupant (les deux familles d'antibiotiques aminosides et β -lactamines dans leur intégralité étant impliquées).

Espèce	Méthylases	ArmA	RmtB	RmtC	RmtD	RmtF
Total	213	138	31	35	1	8
<i>Klebsiella</i>	95	57	13	17	0	8
<i>Escherichia coli</i>	19	5	7	7	0	0
Enterobacter spp	3	1	0	2	0	0
<i>Citrobacter sp</i>	4	2	0	2	0	0
<i>Proteus mirabilis</i>	3	2	1	0	0	0
<i>Pseudomonas sp</i>	9	0	7	1	1	0
<i>A.baumannii</i>	67	67	0	0	0	0
Autres	13	4	3	6	0	0

Tableau 4. Répartition des méthylases de l'ARN16S selon l'espèce bactérienne

Diffusion nationale de clones multirésistants

En 2022-2023, nous avons fait un point sur la dissémination nationale des souches multirésistantes exprimant une carbapénémase chez *P. aeruginosa* et *A. baumannii* (en cours d'analyse).

La résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* peut être attribuée à la production de carbapénémases, mais d'autres mécanismes tels que les défauts de perméabilité (OprD) et la surexpression des pompes d'efflux y contribuent fortement. De nombreuses études épidémiologiques ont montré que les infections à *P. aeruginosa* multirésistants sont principalement dues à la dissémination de clones à haut risque capables d'héberger de nombreuses carbapénémases, d'autres gènes de bêta-lactamases, en plus de posséder d'autres mécanismes de résistance. ST235 est le clone à haut risque le plus répandu au monde et a été associé notamment la production de divers types de carbapénémases, mais surtout de métallo-bêta-lactamases (MBL). Les infections à MBL de type VIM, NDM et IMP sont les types de carbapénémases sont particulièrement difficiles à traiter car ces enzymes de classe B de Ambler confèrent une résistance à toutes les bêta-lactamines, à l'exception de la monobactame aztréonam. Nous avons caractérisé, à la fois phénotypiquement et génotypiquement, tous les isolats de *P. aeruginosa* producteurs de MBL soumis au laboratoire de référence NARA sur une période de 12 mois, de juillet 2022 à juillet 2023. Parmi les 39 isolats, les enzymes de type VIM ont été le plus souvent identifiées (n=21), suivies par les enzymes de type NDM (n=11), les enzymes de type IMP (n=6) et un seul isolat qui codait à la fois pour des enzymes de type VIM et de type NDM. Tous les isolats présentaient une résistance à la ceftazidime, à l'imipénème, au méropénème, ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam, imipénème-relebactam et méropénème-vaborbactam.

Le WGS de ces 34 isolats a identifié les gènes suivants : blaNDM-1 (n=11), blaVIM-2 (n=8), blaIMP-1 (n=4), blaVIM-4 (n=4), blaVIM-5 (n=2), blaVIM-36 (n=2), et certains isolats étaient porteurs de blaIMP-7, blaIMP-13 et blaNDM-1 + blaVIM-2. Treize ST différents ont été trouvés, le ST773 étant le plus répandu avec les huit isolats produisant le blaNDM-1, et provenant de cinq cantons. Sept isolats ST111 ont été identifiés, hébergeant soit blaVIM-2 (n=4) soit blaVIM-4 (n=3) respectivement, et quatre isolats ST1047 hébergeaient blaIMP-1. Tous les autres ST étaient représentés par ≤ 2 isolats. Parmi les 13 ST identifiés, seize isolats représentés par six ST (ST 111, 235, 298, 308, 357 et 654) font partie des dix clones à haut risque les plus importants au monde.3 Parmi les huit isolats qui ont conféré une résistance au céfiderocol, six produisaient NDM-1 (dont cinq étaient des ST773) et un isolat produisait IMP-1 ou IMP-7. La production d'enzymes NDM a déjà été associée à des CMI élevées pour le céfiderocol chez *P. aeruginosa*.

Un alignement du génome des 34 isolats séquencés (figure) a montré le regroupement d'isolats partageant les mêmes ST et MBL mais provenant de différents cantons. Cependant, les analyses des distances SNP entre les groupes d'isolats partageant les mêmes ST et MBL n'ont identifié aucune preuve que les isolats étaient épidémiologiquement liés, avec des différences allant de 196 à 1 343 snps. Cela montre que malgré les points communs (ST et MBL) entre ces groupes d'isolats, aucun n'est le résultat d'une épidémie clonale, et que cela met plutôt en évidence la dominance de certains ST particuliers chez les *P. aeruginosa* produisant des MBL. Cette analyse souligne également que ces souches sont fréquemment co-résistantes au céfidérocol.

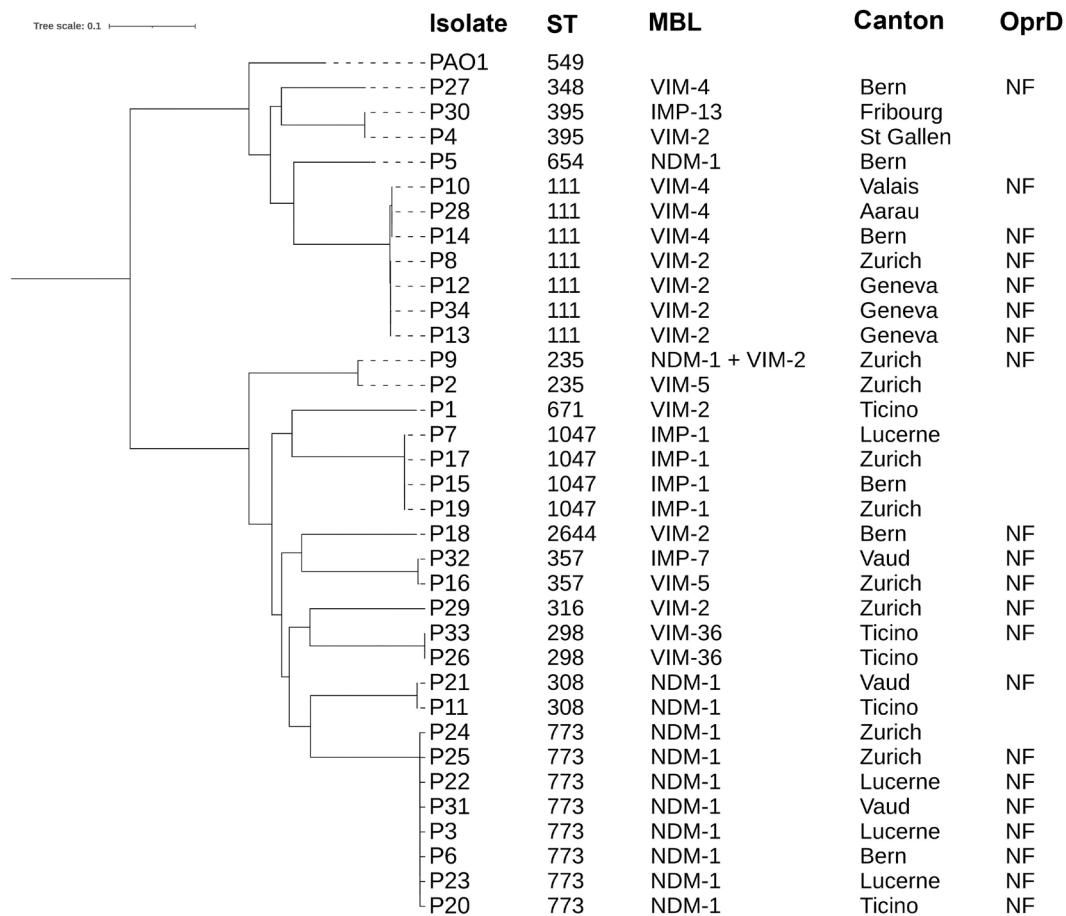
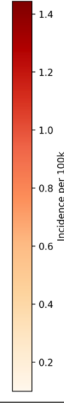
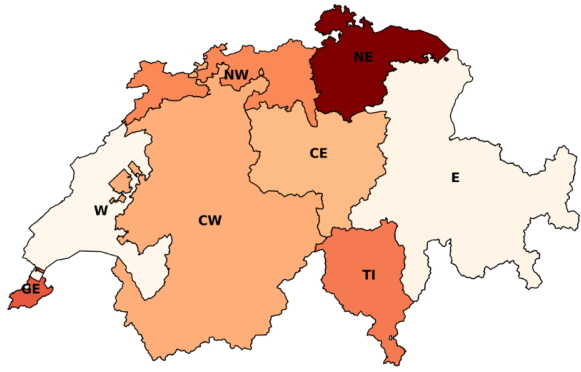


Figure 4. Alignement du génome central de 34 souches de *P. aeruginosa* productrices de MBL avec les ST, les variantes de MBL, le canton d'origine et le statut OprD (protéine de perméation de l'imipénème). NF ; non fonctionnel, blanc ; fonctionnel

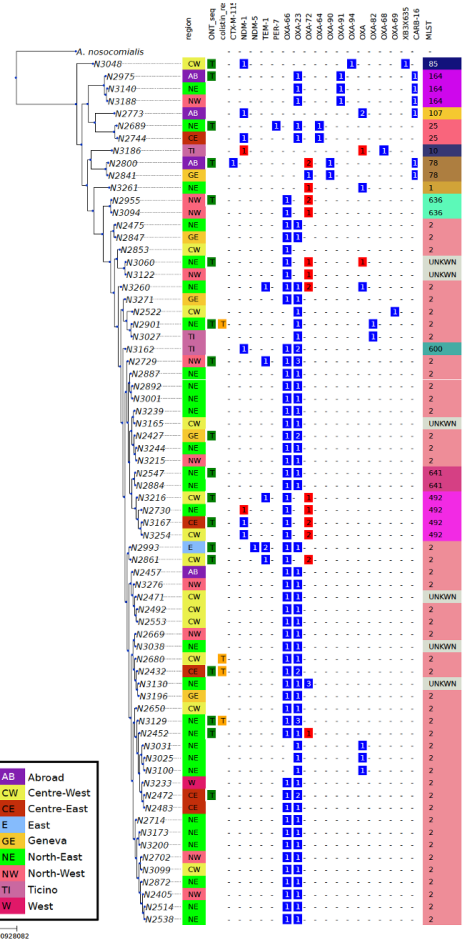
Très dernièrement, nous finalisons l'analyse de souches multirésistantes de *A. baumannii* recues au NARA. Il semble qu'il y ait (i) une plus forte prévalence de ces souches multirésistantes dans le nord-est de la Suisse, (ii) diffusion clonale de mêmes souches de *A. baumannii* soit identifiée dans des cantons différentes. Cette diffusion peut résulter d'une diffusion intercantonale ou de l'introduction de mêmes souches à partir de réservoirs étrangers.

CRAB 2022-23

CRAB incidence per 100 000 in Switzerland



- AB** Abroad
- CW** Centre-West
- CE** Centre-East
- E** East
- GE** Geneva
- NE** North-East
- NW** North-West
- TI** Ticino
- W** West



3. NOUVEAUX TESTS DE DIAGNOSTIC RAPIDE ET MILIEUX DE SCREENING DES RESISTANCES

3.1. Diagnostic rapide de la résistance à l'imipénème/relebactam chez les Entérobactéries

Les options thérapeutiques pour les infections causées par les entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE) sont rares et le développement de nouveaux antibiotiques est une nécessité urgente pour parvenir à une thérapie optimale pour le patient et lutter contre la propagation mondiale des gènes de résistance aux carbapénèmes. L'imipénème/relebactam (IPR) a récemment été approuvé par la Food and Drug Administration (FDA) et l'Agence Européenne du Médicament (EMA) pour le traitement des infections urinaires sévères, de la pyélonéphrite et des infections intra-abdominales compliquées chez l'adulte. Malgré sa rareté, la résistance à l'IPR a déjà été signalée chez les entérobactéries, et sa détection rapide pourrait constituer une aide importante pour une prise de décision clinique plus rapide.

Objectifs : Développer un test rapide, le Rapid IPR NP, pour l'identification de la résistance à l'IPR chez les Enterobacterales.

Méthodes : Le test Rapid IPR NP est basé sur la détection de la métabolisation du glucose due à la croissance bactérienne en présence d'imipénème 12 mg/L et de relebactam 4 mg/L. La croissance bactérienne est visuellement détectable par un changement de couleur du phénol rouge, un indicateur de pH, qui passe du rouge au jaune suite à l'acidification du milieu lors de la croissance bactérienne. Au total, 76 isolats d'entérobactéries ont été sélectionnés pour évaluer les performances du Rapid IPR NP.

Résultats : La sensibilité et la spécificité du test par rapport à la méthode de référence se sont révélées être respectivement de 95 % (IC 95 % 83,5 %-98,6 %) et de 97,2 % (IC 97,2 % 85,8 %-99,5 %). Tous les résultats ont été obtenus en 3 heures d'incubation à 35°C ± 2°C, ce qui représente un gain de temps d'au moins 15 heures (un jour en pratique) par rapport aux tests de sensibilité aux antimicrobiens actuellement utilisés, y compris le BMD.

Conclusions : Le test IPR NP rapide est simple à réaliser et à interpréter et a montré des performances notables. Il peut donc être mis en œuvre dans les laboratoires de microbiologie clinique de routine.

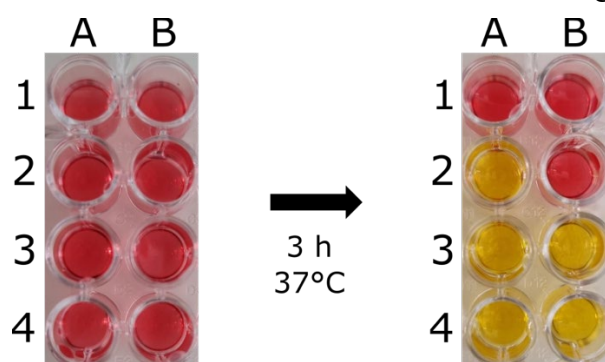


Figure 5. Le test Rapid IPR. Les puits de la ligne 1 (A1 et B1) ont été inoculés avec du NaCl 0,85% pour contrôler la contamination et un éventuel changement de couleur spontané. La colonne A présente la solution IPR NP sans IPR ; la colonne B présente la solution IPR NP avec IPR (12/4 mg/L). La croissance bactérienne est mise en évidence par un changement de couleur du milieu qui passe du rouge au jaune. Le test Rapid IPR NP a été réalisé avec la souche de référence E. coli ATCC 25922 sensible à l'IPR dans les puits A2 - B2, une souche résistante à l'IPR comme contrôle positif dans les puits A3 - B3, et l'isolat testé (résistant à l'IPR) qui a poussé à la fois en absence et en présence d'IPR a été inoculé dans les puits A4 et B4.

3.2. Diagnostic rapide de la résistance au méropénème/vaborbactam chez les Entérobactéries

Contexte : L'utilisation clinique du méropénème/vaborbactam (MEV) a récemment été approuvée pour le traitement des entérobactéries résistantes aux carbapèmes. Bien que relativement rare, la résistance au MEV a déjà été signalée chez les entérobactéries et sa détection précoce pourrait constituer un outil précieux pour une prise de décision clinique plus rapide.

Objectifs : Développer un test rapide, le Rapid MEV NP test, pour l'identification de la sensibilité/résistance au MEV chez les Enterobacterales.

Méthodes : Le test Rapid MEV NP est basé sur la détection de la métabolisation du glucose survenant lors de la croissance bactérienne en présence de MEV à une concentration de 16/8 mg/L. La croissance bactérienne est détectée par un changement de couleur du phénol rouge utilisé comme indicateur de pH (du rouge au jaune) suite à l'acidification du milieu lors de la croissance bactérienne. Au total, 75 isolats d'entérobactéries ont été sélectionnés au hasard pour évaluer la performance du test Rapid MEV NP.

Résultats : Le test a montré une sensibilité de 97,2 % et une spécificité de 93,8 % par rapport à la méthode de référence. Les résultats ont été obtenus après 3 h d'incubation à $35^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, ce qui représente un gain de temps d'au moins 15 h (un jour en pratique) par rapport aux méthodes actuelles d'antibiogramme.

Conclusion : Le Rapid MEV NP test constitue un excellent test de diagnostic rapide.

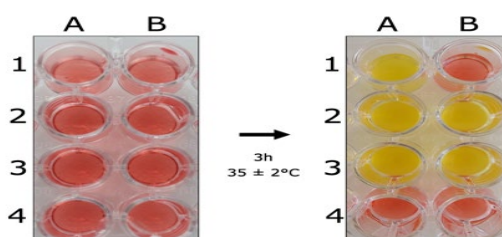


Figure 6. Le test Rapid MEV NP. La colonne A présente la solution Rapid MEV NP sans MEV ; la colonne B présente la solution MEV NP avec MEV (16/8 mg/L). La souche de référence *E. coli* ATCC 25922 a été inoculée en A1 et B1 ; l'isolat résistant au MEV (contrôle positif) a été inoculé en A2 et B2 ; l'isolat testé (résistant au MEV) qui a poussé à la fois en absence et en présence de MEV a été inoculé en A3 et B3 ; et NaCl 0,85% a été inoculé en A4 et B4 comme contrôle de la contamination et d'un éventuel changement de couleur spontané. La croissance bactérienne est mise en évidence par un changement de couleur du milieu qui passe du rouge au jaune.

3.3. Diagnostic rapide de la résistance à la témocilline chez les entérobactéries

La témocilline est un dérivé de la ticarcilline. Cette molécule offre des possibilités thérapeutiques dans le cadre notamment du traitement des infections à entérobactéries exprimant une BLSE ou une céphalosporinase plasmidique. Dans la mesure où la témocilline est une ancienne molécule ancienne, son utilisation notamment dans le traitement des infections urinaires contribue à une désescalade thérapeutique. Sur le même principe que le test Rapid IMP/REL, nous avons mis au point un test de diagnostic rapide à la témocilline qui est déjà implémenté à l'Étranger. Ce test offre une sensibilité de 98.4% et une spécificité de 100% avec une lecture de résultats de 3 à 4 h.

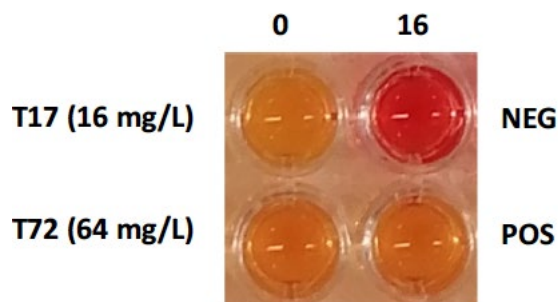


Figure 7. Rapid Temocillin NP test :

0 = solution de test ne contenant pas de témocilline ; 16 = solution de test contenant de la témocilline à une concentration finale de 16 mg/L. T17, isolat d'E. coli avec une CMI de 16 mg/L, T72, isolat de K. pneumoniae avec une CMI de 64 mg/L.

3.4. Diagnostic rapide de la résistance au céfiderocol chez les Entérobactéries

La détection de la résistance au céfiderocol est lente (18H) et complexe (détermination de MICs). C'est la raison pour laquelle le Rapid Cefiderocol NP test, a été développé pour l'identification rapide de la sensibilité/résistance au cefiderocol (FDC) parmi les Enterobacterales multirésistantes. Il repose sur la métabolisation du glucose en cas de croissance bactérienne et sur la détection de la croissance bactérienne en présence de FDC à 64 µg/ml dans un bouillon de Mueller-Hinton ajusté aux cations et appauvri en fer. La croissance bactérienne est détectée visuellement par un changement de couleur du rouge au jaune du phénol rouge, un indicateur de pH. Un total de 74 isolats cliniques d'entérobactéries provenant de diverses sources cliniques et d'origine mondiale, parmi lesquels 42 isolats étaient résistants aux FDC, ont été utilisés pour évaluer la performance du test. La sensibilité et la spécificité du test se sont révélées être respectivement de 98 % et de 91 %, par comparaison avec la méthode de référence de microdilution en milieu liquide. Tous les résultats positifs ont été obtenus en moins de 3 h. Ce nouveau test est rapide, sensible et spécifique, facile à interpréter et à mettre en œuvre dans les laboratoires de microbiologie de routine. L'utilisation de ce test peut fournir rapidement et avec précision les informations nécessaires à la mise en œuvre d'un traitement à base de cefiderocol.

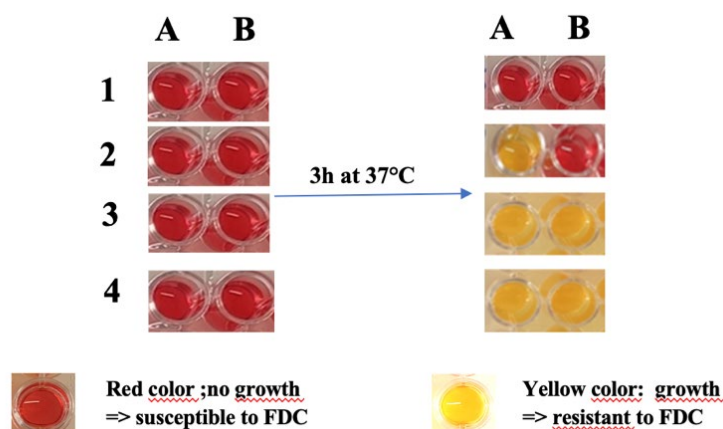


Figure 8. Test Rapid Cefiderocol NP. Les puits non inoculés servent de contrôle pour les changements de couleur possibles et spontanés (A1 et B1). La croissance bactérienne est mise en évidence par le changement de couleur du milieu, qui passe du rouge au jaune. Le test rapide Cefiderocol NP a été réalisé avec un isolat sensible aux FDC (A2 et B2) et avec un isolat résistant aux FDC (A3 et B3) dans une réaction sans (première colonne, A) et avec (deuxième colonne, B) FDC à la concentration définie. Les isolats testés (A4 et B4) qui ont poussé aussi bien en absence qu'en présence de FDC étaient résistants au FDC.

3.5. Diagnostic rapide de la résistance à l'aztreonam/avibactam chez les Entérobactéries

L'aztréonam-avibactam (AZA), une combinaison de β -lactamines et d'inhibiteurs de la β -lactamase récemment mise au point, est une option thérapeutique pour les infections dues à des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (CRE), y compris les producteurs de métallobactamases, indépendamment de la production supplémentaire de sérine- β -lactamases à large spectre. Cependant, la résistance à l'AZA a déjà été signalée chez les entérobactéries et sa détection précoce pourrait constituer un outil précieux pour une prise de décision clinique plus rapide et plus précise. Notre objectif était de développer un test rapide basé sur la culture pour l'identification de la résistance à l'AZA parmi les entérobactéries multirésistantes. Le test Rapid Aztreonam-Avibactam NP est basé sur la réduction de la résazurine lorsque la croissance bactérienne se produit en présence d'AZA à 8/4 $\mu\text{g/ml}$ (protocole 1) ou 12/4 $\mu\text{g/ml}$ (protocole 2). En l'absence de lignes directrices sur l'antibiogramme à l'AZA, deux seuils provisoires ont été utilisés pour classer les isolats sensibles à l'AZA : $\leq 4 \mu\text{g/ml}$ dans le protocole 1, $\leq 8 \mu\text{g/ml}$ dans le protocole 2. La croissance bactérienne a été détectée visuellement par un changement de couleur du milieu, du bleu au violet ou du bleu au rose. Au total, 78 (dont 35 résistants à l'AZA) et 51 (dont 14 résistants à l'AZA) isolats entérobactériens ont été utilisés pour évaluer la performance du test en utilisant le protocole 1 ou le protocole 2, respectivement. La sensibilité et la spécificité du test se sont avérées être respectivement de 100 % et 97,7 % avec le protocole 1, et respectivement de 92,9 % et 100 % avec le protocole 2, par rapport à la microdilution en bouillon. Tous les résultats ont été obtenus en 4.5 h, ce qui représente un gain de temps d'environ 14 heures par rapport aux méthodes actuellement disponibles pour l'antibiogramme à l'AZA. En conclusion, le test rapide Aztreonam-Avibactam NP est rapide, très sensible, spécifique, facilement interprétable.

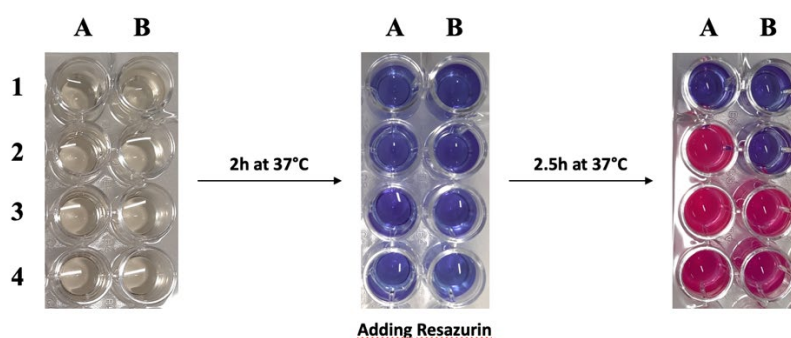


Figure 9. Le test Rapid AZA NP. La colonne A contient du bouillon de Muller Hinton sans AZA ; la colonne B contient du bouillon de Muller Hinton contenant de l'AZA (8/4 $\mu\text{g/ml}$ pour le test rapide AZA NP version 1, 12/4 $\mu\text{g/ml}$ pour le test rapide AZA NP version 2). Les puits non inoculés servent de témoins pour la contamination et le changement spontané de couleur (A1 et B1). Un isolat sensible à l'AZA (*E. coli* ATCC 25922) a été inoculé dans les puits A2 et B2 (contrôle négatif) ; un isolat résistant à l'AZA a été inoculé dans les puits A3 et B3 (contrôle positif) ; l'isolat testé a été inoculé dans les puits A4 et B4. Après 2h d'incubation à $35 \pm 2^\circ\text{C}$, 20 μl de résazurine ont été ajoutés dans chaque puits et le plateau a été incubé pendant 2,5h à $35 \pm 2^\circ\text{C}$. La croissance bactérienne est mise en évidence par un changement de couleur du milieu qui passe du bleu au violet ou au rose.

3.6. Milieu de culture sélectif pour la détection des souches d'entérobactéries résistantes au céfiderocol

Le céfidérocol (FDC) est une céphalosporine sidérophore qui possède un large spectre d'activité contre de nombreuses bactéries Gram-négatives multirésistantes. Une résistance acquise au FDC a déjà été signalée parmi les isolats à Gram-négatif, ce qui souligne la nécessité d'une identification rapide et précise de ces pathogènes résistants, afin de contrôler efficacement leur propagation.

C'est pourquoi le milieu SuperFDC a été développé pour cribler les Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* résistants aux FDC. Après avoir testé plusieurs conditions de culture, ce milieu sélectif a été mis au point en ajoutant 8 µg/ml de FDC à une gélose MH appauvrie en fer, et évalué à l'aide d'une collection de 68 isolats Gram-négatifs sensibles aux FDC d'une part, et de 33 isolats Gram-négatifs résistants aux FDC présentant une variété de mécanismes de résistance d'autre part. La spécificité et la sensibilité de ce milieu sélectif se sont révélées être respectivement de 100 % et 97 % par rapport à la méthode de microdilution à bouillon de référence, avec 3 % d'erreurs majeures et 0 % d'erreurs très majeures. En outre, d'excellentes performances ont également été obtenues en testant des selles dopées avec une limite inférieure de détection comprise entre 100 et 103 UFC/ml. Le milieu SuperFDC permet donc de détecter les isolats à Gram-négatif résistant au FDC, quels que soient leurs mécanismes de résistance.

3.7. Multiplex PCR pour la détection des gènes de résistance plasmidique de résistance à la fosfomycine chez *E. coli*

Une PCR multiplex rapide (<3 h) et fiable a été mise au point pour détecter simultanément les gènes fos connus à médiation plasmidique conférant une résistance acquise à la fosfomycine. Notre technique a été testée sur une collection d'isolats de *Escherichia coli* précédemment identifiés comme porteurs des gènes *fosA*-, *fosC*- et *fosL*-like, montrant une sensibilité et une spécificité de 100 %. Cette étude peut être intéressante dans le cadre d'études épidémiologiques.

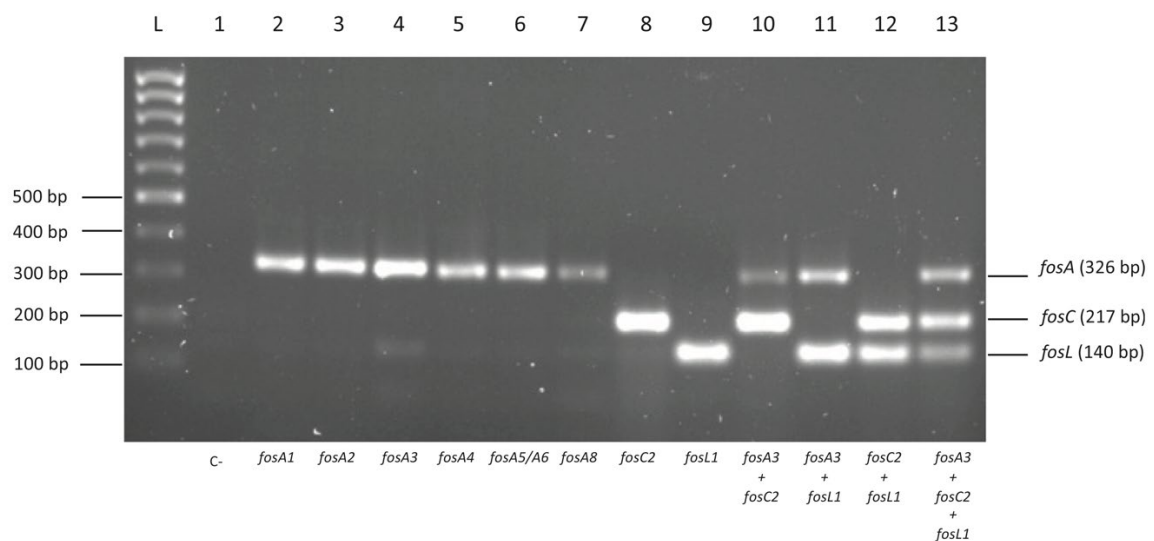


Figure 10. Électrophorèse sur gel d'agarose (1,5 %) utilisée pour la séparation des produits PCR multiplex Fos. Couloirs : 1, contrôle négatif ; 2, isolat positif fosA1 (N853) ; 3, isolat positif fosA2 (N2663) ; 4, isolat positif fosA3 (N3021) ; 5, isolat positif fosA4 (R4848) ; 6, isolat positif fosA5/A6 (R2292) ; 7, isolat positif fosA8 (R3764) ; 8, isolat positif fosC2 (R5943) ; 9, isolat positif fosL1 (R4750) ; 10, mélange d'ADN des isolats positifs fosA3 et fosC2 ; 11, mélange d'ADN des isolats positifs fosA3 et fosL1 ; 12, mélange d'ADN des isolats positifs fosC2 et fosL1 ; 13, mélange d'ADN fosA3, fosC2 et fosL1 ; L, échelle d'ADN de 100 pb (VWR, Radnor).

Liste mise à jour des tests de tests de diagnostic rapide et milieux de screening mis au point

Nom de produit	Fonction
Rapid ESBL NP test (LiofilChem SA, Italy) Carba NP test (bioMerieux, France)	Détection rapide (biochimie) des souches exprimant une BLSE chez les entérobactéries Détection rapide (biochimie) des souches exprimant une carbapénémase chez les entérobactéries et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
NitroCarba NP test	Détection ultrasensible (biochimie) de l'activité carbapénémase chez les entérobactéries et chez <i>P. aeruginosa</i>
Rapid Resa Polymyxin NP test (LiofilChem) Rapid Polymyxin NP test (Elitech SA)	Détection rapide (par culture) de la résistance aux polymyxines chez <i>A. baumannii</i> Détection rapide (par culture) de la résistance aux polymyxines chez les entérobactéries
Rapid Polymyxin/Pseudomonas NP test Rapid Resa Imipenem Acinebacter NP test Rapid Imipenem/ Relebactam NP test Rapid Meropenem/Varborbactam NP test Rapid Temocillin NP test Rapid Cefiderocol NP test Rapid Ceftazidime/Avibactam NP test Rapid Aztreonam/avibactam NP test	Détection rapide (par culture) de la résistance aux polymyxines chez <i>P. aeruginosa</i> Détection rapide (par culture) de la résistance à l'imipénème chez <i>A. baumannii</i> (en cours de développement LiofilChem) Détection rapide (par culture) de la résistance à l'imipénème/relebactam chez les entérobactéries Détection rapide (par culture) de la résistance à l'association méropénème/vaborbactam chez les entérobactéries Détection rapide (par culture) de la résistance à la témocilline chez les entérobactéries Détection rapide (par culture) de la résistance au céfiderocol chez les entérobactéries Détection rapide (par culture) de la résistance à l'association Ceftazidime.avibactam chez les entérobactéries Détection rapide (par culture) de la résistance à l'association aztreonam/avibactam
XX (Opt Dect MDR)	Détection optimale de la culture sélective de bactéries multirésistantes (VRE, BLSE, carbapénémases, résistances aux polymyxines) à partir de flores contaminées (flore digestive...)
Rapid Fosfo/ <i>E. coli</i> NP Rapid Gold Fosfomycin NP Rapid Aminoglycosides NP Multiplex PCR <ul style="list-style-type: none"> - Methylases - Fosfomycin resistance 	Détection rapide (par culture) de <i>E. coli</i> résistants à la fosfomycine Détection rapide (biochimie) de la résistance à la fosfomycine transférable chez <i>E. coli</i> Détection rapide (par culture) de la panrésistance aux aminoglycosides chez les entérobactéries Détection des 16sRNA méthylases de résistance aux aminosides Détection des gènes de résistance à la fosfomycine chez les enterobactéries

Milieu de screening	
Super Polymyxin (ELITEch SA, USA)	Milieu de screening spécifique pour la détection de souches résistantes aux polymyxines
SuperCAZ AVI (LiofilChem)	Milieu de culture spécifique pour la détection de souches de Gram négatif résistantes à l'association ceftazidime/avibactam
SuperFosfo Chromagar Linezolid (CHROMagar, France)	Milieu de screening spécifique des souches de Gram négatif résistante à la fosfomycine Milieu de screening spécifique des bactéries à Gram positif résistantes au linézolide
Super CP medium Super Cefiderocol medium	Milieu de screening spécifique de <i>P. aeruginosa</i> résistantes aux carbapénèmes (en cours de développement par LiofilChem SA) Milieu de screening spécifique des souches résistantes au céfiderocol (à développer avec Chromagar Ltd)

4. EVALUATION DE NOUVEAUX TESTS DIAGNOSTICS

4.1. Evaluation de tests phénotypiques pour détecter les BLSE chez *Klebsiella oxytoca*

Les espèces du complexe *Klebsiella oxytoca* (KoC) peuvent surproduire leurs β -lactamases chromosomiques de classe A OXY, ce qui leur confère une sensibilité réduite à la pipéracilline-tazobactam, aux céphalosporines à spectre élargi et à l'aztréonam. En outre, comme le clavulanate conserve sa capacité à inhiber ces enzymes, le phénotype de résistance qui en résulte peut faussement ressembler à la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) acquises.

Dans ce travail, une collection de 44 souches de KoC d'origine humaine et animale a été caractérisée par le séquençage du génome entier (WGS) et l'antibiogramme par microdilution en bouillon (BMD). La comparaison des producteurs de BLSE (n = 11 ; dont CTX-M-15 [n = 6] et CTX-M-1 [n = 5]) et des hyperproducteurs d'OXYs (n = 21) a montré certaines différences phénotypiques : pipéracilline-tazobactam (MIC₉₀s : 16 contre >64 μ g/mL), céfotaxime (CMI₉₀ : 64 contre 4 μ g/mL), ceftazidime (CMI₉₀ : 32 contre 4 μ g/mL), céfépime (CMI₉₀ : 8 contre 4 μ g/mL) et résistance associée aux non- β -lactamines (par ex. g., triméthoprime-sulfaméthoxazole : 90,9 % contre 14,3 %, respectivement).

Cependant, il était difficile d'établir une distinction claire entre les deux groupes en fonction du phénotype. C'est pourquoi nous avons évalué dix tests de confirmation différents basés sur des inhibiteurs afin de permettre une telle catégorisation. Tous les tests ont montré une sensibilité de 100 %. Toutefois, seuls les tests de combinaison de disques avec céfépime/céfépime-clavulanate et ceftazidime/ceftazidime-clavulanate ou le test de synergie à double disque ont montré une spécificité élevée (100 %, 95,5 % et 100 %, respectivement). Tous les tests de confirmation en BMD ou utilisant la bande de gradient de CMI n'ont pas donné de bons résultats (spécificité, \leq 87,5 %). Il convient de noter que les tests à la ceftazidime/ceftazidime-avibactam ont également présenté une faible spécificité (CDT, 87,5 % ; bande à gradient de CMI, 77,8 %). Nos résultats indiquent que les profils standard de sensibilité aux antimicrobiens peuvent susciter une certaine suspicion, mais que seule l'utilisation de l'association céfépime/céfépime-clavulanate peut garantir la distinction entre les souches KoC productrices de BLSE et celles hyperproductrices d'enzymes OXY.

4.2. Le Resist Acineto test pour la détection des carbapénèmases acquises chez *Acinetobacter* sp.

Le Resist Acineto de Coris Bioconcept est un nouveau test immunochromatographique pour la détection des principales carbapénèmases acquises (OXA-23, OXA-40, OXA-58 et NDM) identifiées chez *Acinetobacter* spp. Ce test rapide et facile à réaliser a montré une excellente spécificité et sensibilité, avec des valeurs prédictives positives et négatives de 100% dans les deux cas.

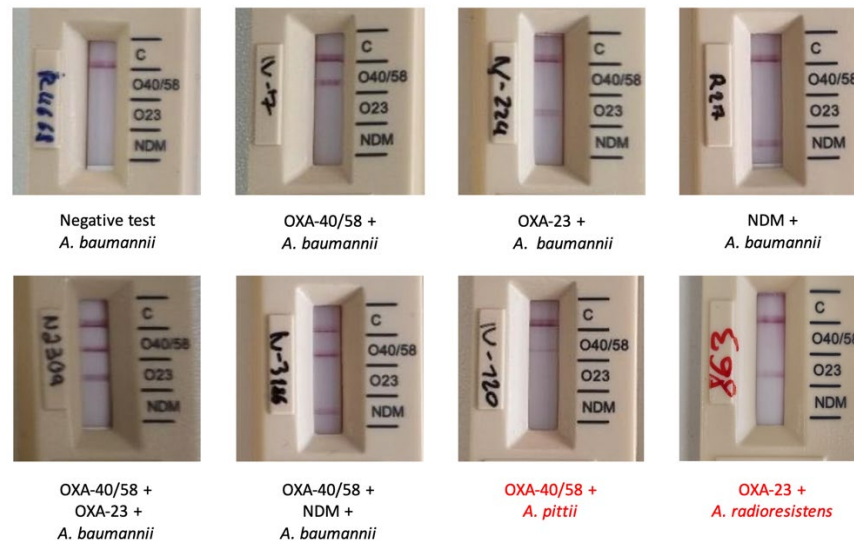


Figure 11. Exemples de détection de carbapénèmases par le test Resist Acineto

5. EVALUATION DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES

5.1. Activité in vitro des associations cefépime/zidebactam et cefépime/taniborbactam vis-à-vis de souches de *E. coli* NDM résistantes à l'association aztréonam/avibactam

L'association aztréonam/avibactam est l'une des dernières options thérapeutiques pour traiter les infections causées par des entérobactéries productrices de NDM. Cependant, les souches de *E. coli* modifiées dans leur PBP3 et productrices de NDM et qui coproduisent le CMY-42 sont résistantes à cette association. Le but de notre étude était d'évaluer l'activité in vitro du cefépime/taniborbactam et du cefépime/zidebactam contre ces souches de *E. coli* résistantes à l'aztréonam/avibactam.

Méthodes : Les CMI de l'aztréonam, de l'aztréonam/avibactam, du cefépime, du cefépime/taniborbactam, du cefépime/zidebactam et du zidebactam seul ont été déterminées pour 28 isolats cliniques d'*E. coli* résistants à l'aztréonam/avibactam. Ces isolats produisaient soit des NDM-5 (n = 24), soit des NDM-4 (n = 2), soit des NDM-1 (n = 2), et ils coproduisaient tous des CMY-42 (n = 28). Ils présentaient tous une insertion de quatre acides aminés dans la PBP-3 (Tyr-Arg-Ile-Asn ou Tyr-Arg-Ile-Lys).

Résultats : Toutes les souches étaient résistantes à l'aztréonam/avibactam et au cefépime, comme prévu. Le taux de résistance au cefépime/taniborbactam était de 100 %, avec des CMI50 et CMI90 de 16 mg/L et 64 mg/L, respectivement. Inversement, toutes les souches étaient sensibles au cefépime/zidebactam, avec des CMI50 et CMI90 de 0,25 mg/L. Notamment, toutes les souches ont montré des CMI faibles pour le zidebactam seul, avec des CMI50 et CMI90 à 0,5 mg/L et 1 mg/L.

Nos données ont mis en évidence l'excellente efficacité de la nouvelle combinaison β -lactamines/inhibiteur de β -lactamases, cefépime/zidebactam vis-à-vis de souches de *E. coli*

résistantes à l'aztréonam/avibactam. Notre étude met également en évidence la résistance croisée entre la résistance acquise à l'aztréonam/avibactam et l'association céfépime/taniborbactam.

5.2. Impact des β -lactamases à large spectre acquises sur la sensibilité aux pénèmes oraux/carbapénèmes (tébipénème, sulopénème et faropénème) seuls ou en association avec les inhibiteurs de β -lactamase avibactam et taniborbactam chez *Escherichia coli*

L'impact des β -lactamases sur la sensibilité aux pénèmes/carbapénèmes oraux (tébipénème, sulopénème et faropénème) et à d'autres carbapénèmes a été évalué chez *Escherichia coli*, seuls et en combinaison avec des inhibiteurs de β -lactamase de type avibactam ou taniborbactam. Le tébipénème et le sulopénème ont présenté un spectre d'activité similaire à celui des carbapénèmes administrés par voie intraveineuse et ont affiché des valeurs de CMI inférieures à celles du ceftibuten-avibactam contre *E. coli* produisant des β -lactamases à spectre étendu ou des enzymes AmpC. Associés au taniborbactam, le tébipénème et le sulopénème ont des valeurs de CMI faibles vis-à-vis de presque tous les *E. coli* recombinants testés, y compris les producteurs de métallob-lactamases.

5.3. Impact des β -lactamases à large spectre acquises sur la sensibilité aux nouvelles combinaisons de β -lactamines (aztréonam, céfépime, mérépénème et imipénème) et de nouveaux inhibiteurs de β -lactamase chez *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*

L'impact des β -lactamases à large spectre sur la sensibilité aux nouvelles combinaisons d'inhibiteurs de β -lactamase/ β -lactamines a été évalué à la fois chez *P. aeruginosa* et *E. coli* en utilisant des fonds isogéniques. La combinaison céfépime-zidébactam a présenté des CMI faibles, principalement en raison de l'importante activité antibactérienne intrinsèque du zidébactam. Le céfépime-taniborbactam a montré une excellente activité contre les souches recombinantes de *E. coli*, y compris les producteurs de métallob-lactamases, tandis que l'aztréonam-avibactam est resté la meilleure option thérapeutique contre *P. aeruginosa* producteurs de metallo-carbapénémases de classe B.

6. Site Internet, Newsletter et Symposium

Le site internet avait été mis à jour en 2022. Il comprend notamment les procédures les plus actuelles pour le diagnostic et l'identification de colonisation par les souches multirésistantes suivantes :

- Entérocoques résistants aux glycopeptides
- Entérobactéries productrices de carbapénémases
- Bactéries à Gram négatif résistants aux polymyxines
- Bactéries à Gram négatif exprimant une BLSE

Il inclut notamment des alertes concernant l'émergence de résistance aux antibiotiques identifiées sur le territoire helvétique, hypervirulentes et hyper-résistantes. Il s'y associe une Newsletter annuelle désormais, (1^{er} numéro, printemps 2022). Cette Newsletter adressée à notre centaine de partenaires contient les informations les plus actuelles concernant (i) les mécanismes moléculaires des résistances émergentes, (ii) les nouveaux tests de diagnostic rapide, (iii) les nouvelles molécules antibiotiques et leur indication thérapeutique, (iv) le contexte « One Health Antibiotic Resistance », (v) la diffusion nationale et internationale des nouvelles résistances aux antibiotiques, (vi) des exemples d'antibiogrammes de résistances émergentes et importantes en clinique (à titre de formation continue). Une deuxième lettre est prévue à l'automne 2023.

Nous avons organisé le 21/09/2023 sous l'auspice du NARA, le symposium sur la multirésistance bactérienne dont le programme est indiqué ci-dessous. 80 participants notamment issus de tous nos principaux correspondants en Suisse étaient présents.

Symposium

Emerging Antibiotic Resistance 2023

Thursday, September 21,
2023

University of Fribourg

Restaurant Le Voisin, rte des Daillettes 1, CH-1700 Fribourg

9:15 – 10:15

Emerging Resistance to antibiotics in human
medicine
Prof. P. Nordmann (University of Fribourg)

10:15 – 11:15

Rapid diagnostic testing for antibiotic resistance:
updates on molecular, immunochromatographic,
and biochemical techniques
Dr. L. Poirel (University of Fribourg)

11:15 – 11:30

Coffee Break

11:30 – 12:30

Gram positives; from traditional antibiotic
susceptibility testing to entire genome
sequencing
Dr. D. Blanc (University of Lausanne)

12:30 – 13:45

Lunch Break

13:45 – 14:30

Interpretation of peculiar antibiograms
Dr. J. Lambiel-Kessler and Prof. P. Nordmann (University
of Fribourg)

14:30 – 15:30

Novel antibiotics
Prof. B. Guery (University of Lausanne)

15:30 – 16:30

Antibiotic resistance in a One-Health concept
Prof. A. Endimiani (University of Bern)

7. ENSEIGNEMENTS ET FORMATION

La liste des étudiants, doctorants, stagiaires, post-doctorants accueillis en Microbiologie moléculaire et médicale à Fribourg s'établit ainsi :

Doctorants

Alaael Din Mohamed Saad Meslhi, Université d'Hirochima, du 01.11.2021 au 31.10.2022

Christophe Le Terrier, Université de Fribourg, depuis le 01.11.2021

Post-Doctorants

Jacqueline Findlay, depuis le 31.10.2020

Master 2

Clément Viguié, CHU de Toulouse, du 05.01.2023 au 05.07.2023

FAMH

Virginia Grünig, University of Zürich (UZH), du 16.08.2022 au 15.06.2023

Thomas Simonet, EPFL, Lausanne, depuis le 10.07.2023

Autres stagiaires

Samanta Freire, Portugal, du 10.10.2022 au 31.07.2023

Chloé Dell'Acqua, Université de Fribourg, du 27.02.2023 au 12.05.2023

Patrik Mlynářčik, Univerzity Palackého v Olomouci, du 20.03.2023 au 27.05.2023

Chloé Buchs, Université de la Rochelle, du 27.03.2023 au 26.05.2023

Lyna Sechet, Université de la Rochelle, du 27.05.2023 au 19.05.2023

La liste des étudiants, doctorants, stagiaires, post-doctorants accueillis au laboratoire d'Epidémiologie du CHUV s'établit ainsi :

Master 2

Lucas Duponchelle, Université de Besançon, du 01.01.2023 au 31.08.2023

Chargés de recherche

Florian Mauffrey, Université de Lausanne, du 01.11.2022 au 31.10.2024

Sara Romano, Université de Montpellier, 01.03.2023 au 31.08.2023

Certains membres du NARA (Pr P. Nordmann, Dr L. Poirel, Dr D. Blanc) contribuent régulièrement à des enseignants de tous types (nationaux et internationaux) centrés sur les résistances aux antibiotiques. Ils remplissent ainsi des missions de formation continue.

8. RECHERCHE, PUBLICATIONS et COMMUNICATIONS

8.1. Activités de recherche

Les résultats scientifiques issus de la Microbiologie Médicale et Moléculaire de l'UniFr, de son Unité associée INSERM (France) de l'UniFr et du laboratoire d'Epidémiologie du CHUV, de l'Institut Européen des Résistances émergentes aux antibiotiques ont fait l'objet de publications dans des journaux scientifiques, de présentations à des congrès nationaux et internationaux (congrès de microbiologie et maladies infectieuses suisse, ECCMID, RICAI). **Ces activités de recherche ne sont que ponctuellement financées par le NARA** dont le financement est consacré quasi exclusivement à une activité de routine. Il participe à la mise au point de tests de diagnostic rapide et de gélose de screening (voir plus haut).

Cependant, NARA est indiqué dans les co-authorships des publications notamment pour assurer sa visibilité internationale.

Les membres des laboratoires ou cliniciens suisses qui ont adressé leurs souches au NARA pour expertise, souches qui ont parfois fait l'objet d'études particulières ont été systématiquement associés, comme co-auteurs des publications ou présentations.

Parmi les activités de recherche récentes on relève les sujets suivants (en dehors des éléments mentionnées aux chapitres nouveaux tests diagnostiques, nouveaux milieux sélectifs, évaluation de nouveaux tests diagnostiques ou de nouveaux antibiotiques) :

- Analyse moléculaire de la distribution internationale des résistances plasmidiques à la fosfomycine chez *E. coli*.
- Caractérisation moléculaire des souches de *K. pneumoniae* hypervirulentes de Suisse.
- Identification moléculaire et biochimiques des premières souches de Gram négatif résistantes au nouvel inhibiteur taniborbactam par production de NDM-9
- Caractérisation de l'émergence d'un nouveau variant de OXA-48, OXA-484, en Suisse de détection phénotypique très difficile.
- Identification de la dissémination clonale internationale de souche de *A. baumannii* exprimant la carbapénémase OXA-23 et la méthylase ArmA conférant un pan résistance aux aminosides.
- Caractérisation biochimique d'un nouveau mécanisme de résistance à l'association ceftazidime/avibactam lié à l'expression de la BLSE VEB-25
- Identification de mécanismes sous-jacent à l'acquisition séquentielle de la résistance au céfiderocol chez *P. aeruginosa*.
- Rôle de certains antibiotiques à usage vétérinaire dans le transfert plasmidique de résistance aux antibiotiques.
- Evaluation de l'activité des associations ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam et imipenem-relebctam vis-à-vis des souches productrices de carbapénémases isolées en Suisse.
- Caractérisation moléculaire de mécanismes moléculaires et biochimiques de résistance au mérépénème-vaborbactam parmi les souches de *K. pneumoniae* exprimant KPC.
- Mécanisme de résistance à l'azithromycine chez *Neisseria gonorrhoeae*
- Mécanisme de résistance à la daptomycine chez *Staphylococcus aureus*
- Investigation épidémiologique et génomique de *Staphylococcus aureus* en néonatalogie : mise en évidence d'un taux élevé de portage.
- Evolution génomique d'un clone MRSA (ST228) 10 ans après une épidémie majeur.
- Epidémie de *Klebsiella pneumoniae* NDM dans une unité de neurochirurgie : rôle des siphons comme réservoir.

8.2. Publications

1. Bouvier M., Raro O.H.F, Kerbol A., Poirel L., Nordmann P. (2023) Rapid identification of susceptibility/resistance to imipenem/relebactam in Enterobacterales. Clin Microbiol Infect. doi: 10.1016/j.cmi.2023.07.017.
2. Campos-Madueno E.I., Moser A.I, Keller P.M., Perreten V., Poirel L., Nordmann P., Endimiani E. (2023). Evaluation of phenotypic tests to detect extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing *Klebsiella oxytoca* complex strains. J Clin Microbiol 10.1128/jcm.01706-22.
3. Viguier C., Bouvier M., Sadek M., Kerbol A., Poirel L., Nordmann P. (2023) Rapid aztreonam-avibactam NP test for detection of aztreonam/avibactam susceptibility/resistance in Enterobacterales . J Clin Microbiol. doi: 10.1128/jcm.00588-23.
4. Bouvier M., Kerbol A., Findlay J., Freire S., Poirel L., Nordmann P. (2023). Resist Acineto rapid immunological test for detection of acquired carbapenemase producers among Acinetobacter spp. Diagn Microbiol Infect Dis. doi: 10.1016/j.diagmicrobio.
5. Findlay J., Sierra F., Raro O.H.F., Aires-de-Sousa M., Andrey D.O., Nordmann P. (2023). Plasmid-mediated fosfomicin resistance in *Escherichia coli* isolates of worldwide origin. (2023). J Glob Antimicrob Resist. doi: 10.1016/j.jgar.2023.09.003.
6. Hallal Ferreira Raro O., Nordmann P., Dominguez Pino M., Findlay J., Poirel L. (2023). Antimicrob Agents Chemother. doi: 10.1016/j.cmi.2023.07.017.
7. Karah N, Mateo-Estrada V, Castillo-Ramírez S, Higgins PG, Havenga B, Khan W, Domingues S, Da Silva GJ, Poirel L, Nordmann P, Ambrosi C, Ma C, McClean S, Quiroga MP, Alvarez VE, Centron D, Zarrilli R, Kenyon JJ, Russo TA, Evans BA, Opazo-Capurro A, Rafei R, Hamze M, Daoud Z, Ahmad I, Rather PN, Hall RM, Wilharm G, Uhlin BE (2023). The *Acinetobacter baumannii* website (Ab-web) a multidisciplinary knowledge hub, communication platform, and workspace. FEMS Microbes. doi: 10.1093/femsmc/xtad009
8. Ibrahim A., Bouvier M., Sadek M., Decousser J.W., Poirel L., Nordmann P. (2023). A selective culture medium for screening cefiderocol resistance in Enterobacterales, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. J Clin Microbiol. doi: 10.1128/jcm.01883-22.
9. Le Terrier C., Nordmann P., Buchs C., Di D.Y.W., Rossolini G., Stephan R., Castanheira M., Poirel L. (2023) Wide dissemination of Gram-negative bacteria producing the taniborbactam-resistant NDM-9 variant: a One Health Concern. J Antimicrob Chemother 78: 2382-2384.
10. Sadek M., Bosch Duran J.B., Poirel L., Nordmann P. (2023). Impact of minor carbapenemases on susceptibility to novel β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations and cefiderocol in Enterobacterales. Antimicrob Agents Chemother, doi: 10.1128/aac.00078-23
11. Findlay J., Duran J.B., Poirel L., Nordmann P. (2023). Emergence of OXA-484, an OXA-48-type β -lactamase in Switzerland. J Glob Antimicrob Res. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.01.010>.
12. Le Terrier C., Nordmann P., Freret C., Seigneur M., Poirel L. (2023) Impact of acquired broad spectrum β -lactamases on susceptibility to novel combinations made of β -lactams (aztreonam, cefepime, meropenem, and imipenem) and novel β -lactamase inhibitors in *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob Agents Chemother. doi: 10.1128/aac.00339-23
13. Le Terrier C., Nordmann P., Sadek M., Poirel L. (2023). In-vitro activity of cefepime/zidebactam and cefepime/taniborbactam against aztreonam/avibactam resistant NDM-like producing *Escherichia coli* clinical isolates. Antimicrob Agents Chemother 78 :1191-1194.
14. Findlay J., Nordmann P., Bouvier M., Kerbol A., Poirel L. (2023).Dissemination of ArmA- and OXA-23-co-producing *Acinetobacter baumannii* Global Clone 2 in Switzerland, 2020-2021.Eur J Clin Microbiol Infect Disdoi: 10.1007/s10096-023-04643-4.

15. Aubry R., Buyck J., Prouvensier L., Decousser J.W., Nordmann P., Wicha S.G., Marchand S., Grégoire N. (2023). An improved PKPD modeling approach to characterize the pharmacodynamic interaction over time between ceftazidime-avibactam and colistin form in-vitro time-kill experimentes against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* doi: 10.1128/aac.00301-23
16. Findlay J., Poirel L., Nordmann P. (2023). Rapid detection of temocillin resistance in Enterobacterales. *J Antimicrob Chemother.* doi: 10.1093/jac/dkad243
17. Le Terrier C., Gruening V., Fournier C., Nordmann P., Poirel L. (2023). NDM-9 resistance to taniborbactam. *Lancet Infect Dis* [https://doi.org/10.1016/S1473-30999\(23\)00069-5](https://doi.org/10.1016/S1473-30999(23)00069-5)
18. Le Terrier C, Nordmann P., Bouvier M., Poirel L. (2023). Impact of acquired broad-spectrum β -lactamases on susceptibility to oral penems.carbapenems (tebipenem, sulopenem, and faropenem) alone or in combination with avibactam and taniborbacam β -lactamse inhibitors in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* doi: 10.1128/aac.00547-2
19. Findlay J., Poirel L., Bouvier M., Gaia V., Nordmann P. (2023). Resistance to ceftazidime-avibactam in a KPC-2- producing *Klebsiella pneumoniae* caused by the extended-spectrum β -lactamase VEB-25. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* doi 10.1007/s10096-023-04582.
20. Kroemer N., Martens M., Decousser J.W., Grégoire N., Nordmann P., Wicha S.G. (2023). Evaluation of in vitro pharmacodynamic drug interactions of ceftazidime/avibactam and fosfomycin in *Escherichia coli* . *J Antimicrob Chemother.* 78:2524-2534.
21. Hallal Ferreira Raro O., Poirel L, Tocco M., Nordmann P. (2023) Impact of veterinary antibiotics on plasmid-encoded antibiotic resistance transfer. *J Antimicrob Chemother* 78:2209-2216.
22. Sadek M., Le Guern R., Kipnis E., Gosset P., Poirel L., Nordmann P. (2023). Progressive in vivo development of resistance to cefiderocol in *Pseudomonas aeruginosa*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 42:61-66.
23. Nordmann P., Bouvier M., Poirel L. (2023). Efficacy of ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam, imipenem-relebactam combinations against carbapenem-producing Enterobacterales in Switzerland. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 42:1149-1152
24. Nordmann P., Kerbol A., Bouvier M., Sakek M., Raro O.H.F, Poirel L. (2023). Rapid meropenem/vaborbactam NP test for susceptibility/resistance in Enterobacterales. *J. Antimicrob Chemother.* doi: 10.1093/jac/dkad224.
25. Freire S., Grilo T., Nordmann P., Poirel L., Aires-de-Sousa M. (2023). Multiplex PCR for detection of acquired plasmid-borne fosfomycin resistance *fos* genes in *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* doi:10.1016/j.diagmicrobio.2022.115864.
26. Grilo T., Freire S., Miguel B., Martins L.N., Menezes M.F., Nordmann P., Poirel L., Sousa M.J.R., Aires-de-Sousa M. (2023). Occurrence of plasmid-mediated fosfomycin resistance (*fos* genes) among *Escherichia coli* in Portugal. *J Glob Antimicrob Resist.* doi: 10.1016/j.jgar.2023.08.001.
27. Findlay J., Poirel L., Nordmann P. (2023). *In-vitro* obtained meropenem-varborbactam resistance mechanisms among clinical KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates. *J Glob Antimicrob Resist.* doi:10.1016/j.jgar.2022.12.009
28. Neves A., Walther D., Martin-Campos T., Barbil V., Bertelli C., Blanc D.S., Bouchet G., Erard F., Greub G., Hirsch H.H., Huber M., Kaiser L., Leib S.L., Leuzinger K., Lazarevic V., Mäusezahl M., Molina J., Neher R.A., Perreten V., Ramette A., Roloff T., Schrenzel J., Seth-Smith H.M.B., Stephan R., Terumalai D., Wegner F., Egli A. (2023). The Swiss Pathogen Surveillance Platform – towards a nation-wide One Health data exchange platform for bacterial, viral and fungal genomics and associated metadata. *Microbial Genomics* DOI 10.1099/mgen.0.001001.
29. Nordmann P., Bouvier M., Poirel L., Sadek M. (2022). Rapid Cefiderocol NP test for detection of cefiderocol susceptibility/resistance in Enterobacterales. *J Antimicrob Chemother* 77:3456-3461.

30. Le Terrier C., Nordmann P., Poirel L. (2022). In vitro activity of aztreonam in combination with newly developed β -lactamase inhibitors against MDR Enterobacterales and *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo- β -lactamases. *J Antimicrob Chemother* 78:101-107.
31. Royer G., Ortiz de la Rosa J.M., Vuillemin X., Lacombe B., Chau F., Clermont O., Mercier-Darty M., Decousser J.W., Ricard J.D., Nordmann P., Denamur E., Poirel L. (2022) Reduced chlorhexidine susceptibility is associated with tetracycline resistance tet genes in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. doi:10.1128/AAC.01972-21.
32. Sadek M., Saad A.M., Nordmann P., Poirel L. (2022). Genomic characterization of an extensively drug-resistant extra-intestinal pathogenic (ExPEC) *Escherichia coli* clinical isolate co-producing two carbapenemases and a 16S rRNA methylase. *Antibiotics (Basel)* doi:10/3390/antibiotics11111479.
33. Blanc D.S., Poncet F., Grandbastien B., Prod'hom G., Greub G., Senn L (2022). Molecular typing of *Clostridioides difficile* from frozen stool samples to investigate cross-transmissions: A proof of concept. *Indian J Med Microbiol*. doi:10.1016/j.ijmmb.2022.07.018.
34. Cameron D.R., Pitton M., Oberhaensli S., Schlegel K., Prod'hom G., Blanc D.S., Jakob S.M., Que Y.A. (2022). Parallel Evolution of *Pseudomonas aeruginosa* during a Prolonged ICU-Infection Outbreak. *Microbiol spectr*. doi:10.1128/spectrum.02743-22.
35. M. Van Singera, L. Senn, D.S. Blanc, I. Koenig, C. Simon, B. Grandbastien (2023). COVID-19 isolation measures did not prevent vancomycin-resistant enterococci transmissions. *Journal of Hospital Infection* 141. 129e131. Pubmed: 37774928

8.3. Conférences invitées

P. Nordmann

1. Asturias International Meeting on Clinical Microbiology and Infectious Diseases [AIMID 2022]. Emerging Antibiotic Resistance in Gram negatives in 2022. Oviedo, Spain, 22-23 September 2022.
2. Symposium d'infectiologie des DIM1HEALTH (Région île-de-France) : L'infectiologie dans un monde changeant, Emerging Antibiotic Resistances in Gram negatives in an One-Health context Maisons-Alfort, France, 13-14.October.2022.
3. 42e RICAI 2022, Palais des Congrès. Mécanismes de multirésistances et leur épidémiologie internationale. Paris, France, 12-13 December 2022.
4. Symposium Emerging Antibiotic Resistance. Fribourg, Switzerland. "Emerging Antibiotic resistance 2023" Sept 21th, 2023.

L. Poirel

1. 5th International Caparica Conference in Antibiotic Resistance (IC2AR), Lisbon, Portugal "Recent developments on β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations; mode of action and mechanisms of resistance". September 2022.
2. 6th Annual Texas Medical Center Antimicrobial Resistance and Stewardship Conference. Houston, TX, USA. "Mechanisms of resistance to novel β -lactam/ β -lactamase inhibitors." January 18-20, 2023.
3. Congresso Saude Publica 2023, Lisbon, Portugal. "Bacterial resistance to antibiotics: a state of emergency ?". June 2023.
4. 13th Symposium on the Biology of Acinetobacter, Coimbra, Portugal. "Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: main resistance mechanisms and novel therapeutic alternatives". June 2023.
5. Annual Meeting of the Spanish Society of Infectious Diseases and Clinical Microbiology (SEIMC). Santiago de Compostela, Spain. " β -Lactamases: the perpetual evolution". June, 2023.

6. 1st Schülke Infection Prevention Symposium. Hamburg, Germany. “Bacterial cross-resistance to antimicrobial agents in Gram-negative bacteria”. June 30th, 2023.
7. International Conference on Prevention & Infection Control (ICPIC). Geneva, Switzerland. “Advances in diagnostic methods to improve MDRO screening for infection control purposes”. Sept 12th-15th, 2023.
8. Post-Graduate Education Course on “Hand on workshop on Pseudomonas aeruginosa resistance phenotypes and whole genome sequence resistome analysis.” Palma de Mallorca, Spain. “Diversity and prevalence of acquired carbapenemases in Gram-negative pathogens.” September 2023.
9. Symposium Emerging Antibiotic Resistance. Fribourg, Switzerland. “Rapid diagnostic testing for antibiotic resistance: updates on molecular, immunochromatographic, and biochemical techniques.” Sept 21th, 2023.
10. 9th Symposium on Antimicrobial Resistance in Animals and the Environment (ARAE). Tours, France. “Determining the impact of veterinary antibiotics sub-dosage on resistance transfer in animal gut microbiota – a One-Health approach”. July 2023.

8.4. Public outreach activities

P. Nordmann

1. Freiburger Nachrichten « Mikrobiologen im Kampf gegen die Killer der Zukunft » <https://www.freiburger-nachrichten.ch/>. 17.11.2022
SRF Schweizer Radio und Fernsehen – Bactéries résistantes « Quand l’antibiotique ne fonctionne plus » - Connaissances. 12.12.2022 (Article)
2. SRF Schweizer Radio und Fernsehen – « Quand les antibiotiques ne fonctionnent plus » - Treffpunkt. 12.12.2022 (Emission de radio)
3. SRF Schweizer Radio und Fernsehen – « Une survie de plus en plus difficile » - Science magazine. 12.12.2022 (Emission de radio)

8.5. Présentations aux congrès

8.5.1. Nationaux

1. Bouvier M, Hallal F, Raro O, Kerbol A, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of imipenem/relebactam susceptibility/resistance in *Enterobacterales*. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
2. Nordmann P, Kerbol A, Bouvier M, Sadek M, Poirel L, Hallal F, Raro O. Rapid Meropenem/Vaborbactam NP test for detecting susceptibility/resistance in *Enterobacterales*. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
3. Hallal F, Raro O, Poirel L, Tocco M, Nordmann P. Determining the impact of veterinary antibiotics sub-dosage on resistance transfer in animal gut microbiota - a One-Health approach. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
4. Hallal F, Raro O, Poirel L, Nordmann P. Effect of zinc oxide and copper on antibiotic resistance plasmid transfer in *Escherichia coli*. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
5. Findlay J, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of temocillin resistance in *Enterobacterales*. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
6. Findlay J, Poirel L, Nordmann P. Rapid detection of temocillin susceptibility/resistance in *Enterobacterales*. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.

7. Le Terrier C, Nordmann P, Freire S, Poirel L. In vitro activity of newly developed β -lactam/ β -lactamase inhibitors against multidrug-resistant Gram-negative clinical isolates showing reduced susceptibility to cefiderocol. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023.
8. Le Terrier C, Nordmann P, Viguier C, Buchs C, Poirel L. Relative inhibitory activities of taniborbactam, a novel class B β -lactamase inhibitor, against metallo- β -lactamases. Swiss Society for Microbiology (SSM) Annual Congress 2023, Lausanne, 30-31.08.2023
9. Blanc D.S., Fillistorf L., Jacot D., Adam F., Senn L., Grandbastien B., Giannoni E. Epidemiological investigation of Staphylococcus aureus in neonates. International Congress on Prevention of Infection and Control 2023 Genève, 12-15.09.2023.
10. Koenig I., Jeffries A., Granja Dubost C., Blanc D.S., Senn L. Vancomycin-resistant Enterococci surveillance in a surgical department: role of the infection prevention and control nurse. Congrès de la Société Suisse d'Hygiène Hospitalière 2023 Zürich, 13-15.09.2023.
11. Poncet F., Mauffrey F., Greub G., Prod'hom G., Nordmann P., Blanc D.S. Mechanisms of resistance to azithromycin in Neisseria gonorrhoeae. Congrès de la Société Suisse de Microbiologie (SSHH) 2023 Lausanne, 30-31.08.2023.
12. Blanc D.S., Poncet F., Grandbastien G., Senn S. Genomic typing of Clostridioides difficile from frozen stool samples to investigate cross-transmissions: a proof of concept.
13. Blanc D.S., Federli I., Senn L., Grandbastien B. The drawback of false positive MRSA results with rapid PCR screening during an outbreak. Congrès de la Société Suisse d'Hygiène Hospitalière (SSHH) 2022 Interlaken, 21-23.09.2022.
14. Moulin E., Filippidis P., Aymon Paire-Ficout C., Blanc D.S., Grandbastien B., Senn L. Outbreak of Klebsiella pneumoniae producing NDM carbapenemase in a 10-bed neurosurgical intermediate care unit: potential role of sink traps. Congrès de la Société Suisse d'Hygiène Hospitalière (SSHH) 2022 Interlaken, 21-23.09.2022.

8.5.2. Internationaux

1. Sadek M et al. Novel immunological rapid test (K.N.I.V.O. Detection K-Set) for Rapid Detection of Carbapenemase Producers in Multidrug-Resistant Gram Negatives. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
2. Sadek M. Rapid CAZ-AVI NP Test for Detection of Ceftazidime-Avibactam Susceptibility/Resistance in Enterobacterales. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
3. Sadek M. Rapid culture-based Detection of Cefiderocol Susceptibility/Resistance in Enterobacterales; Rapid Cefiderocol NP Test. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
4. Hallal Ferreira Raro O et al. Dissemination of multidrug-resistant and hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* strains in Switzerland. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
5. Findlay J et al. In-vitro mechanisms of resistance development to meropenem-vaborbactam in KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
6. Potron A, Poirel L. Mécanismes moléculaires de l'antibio-résistance. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
7. Findlay J. Characterisation of OXA-48-producing *Escherichia coli* in Switzerland from 2019-2020. 42e RICAI, Palais des Congrès, Paris, France, 12-13 décembre 2022
8. Sadek M., Bosch Duran J, Poirel L, Nordmann P. Impact of minor carbapenemases on susceptibility to newly developed β -lactam/ β -lactamase inhibitor combinations in Enterobacterales. 33rd ECCMID, Copenhagen, Denmark, 15-18 April 2023

9. Sadek M, Mohamed Saad A, Fournier C, Nordmann P, Poirel L. blaGES-52, a novel GES-type β -lactamase conferring resistance to ceftazidime/avibactam and ceftolozane/tazobactam combinations in *Pseudomonas aeruginosa*. 33rd ECCMID, Copenhagen, Denmark, 15-18 April 2023
10. Poirel L. Changing epidemiology of *Acinetobacter spp.* and *Pseudomonas spp.* 33rd ECCMID, Copenhagen, Denmark, 15-18 April 2023
11. Poirel L, Mohamed Saad A, Sadek M, Nordmann P. The emergence of blaGES-type extended-spectrum β -lactamases among *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates in Switzerland and characterisation of the novel variant GES-57. 33rd ECCMID, Copenhagen, Denmark, 15-18 April 2023
12. Le Terrier C, Nordmann P, Viguier C, Sadek M, Poirel L. Activité in vitro du céfépime-zidébactam et du céfépimetaniborbactam vis-à-vis de souches cliniques de *Escherichia coli* productrices de NDM-like résistantes à l'aztréonamavibactam. 24es Journées Nationales d'Infectiologie JNI, Grenoble, France, 7-9 juin 2023
13. Poirel L, Karah N. Antibiotic Resistance Mechanisms (AMR). 13th Symposium on the Biology of Acinetobacter, Coimbra, Portugal, 21-23 June 2023
14. Poirel L, Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: main resistance mechanisms and novel therapeutic alternatives. 13th Symposium on the Biology of Acinetobacter, Coimbra, Portugal, 21-23 June 2023
15. Kroemer N, Decousser JW, Buyck J, Nordmann P, Wicha SG, Systematic in vitro interaction study on ceftazidime/avibactam and Fosfomycin. 32nd International Congress of Antimicrobial Chemotherapy (ICC). Perth, Australia, 26-30.11.2022.

9. RELATIONS NATIONALES ET INTERNATIONALES

De nombreuses collaborations sont poursuivies en Suisse avec notamment les collègues des universités et hôpitaux de Berne, Basel, Genève, Lausanne, Lugano, Sion et Zürich. Nous poursuivons également le développement de projets avec différentes institutions helvétiques (OFSP /Star, Agroscope, ANRESIS, SNF).

Nos relations internationales ont été associées au développement de l'Institut Européen des Résistances Emergentes aux Antibiotiques (France, Suisse, Italie, Allemagne). Cet Institut groupe plusieurs équipes de Microbiologie médicale, fondamentale et Maladies Infectieuses qui collaborent déjà entre elles. Il s'agit essentiellement de l'Université de Giessen, German Center for Infection Research (Allemagne), de l'hôpital universitaire Sacco de Milan (Italie), du Centre National des Résistances aux Antibiotiques de Besançon (France), de l'Institut Pasteur de Lille (France). A ce noyau, sont associées l'Université Paris XIII/ hôpital Henri Mondor à Paris (France), à l'Ecole Nationale Supérieure Portugaise de la Croix-Rouge (ESSCVP) ainsi qu'avec l'Instituto de Tecnologia Quimica e Biologica Antonio Xavier (ITQB) de l'Universidade Nova de Lisboa (Portugal). Cet Institut potentialise les relations que nous avons établies avec des équipes parisiennes au sein du Laboratoire Etranger Associé de l'INSERM (France) que nous avons créé à Fribourg en 2017 ainsi que d'autres partenariats internationaux déjà en cours (Allemagne, USA, Egypt, Autriche).

Le Pr. Nordmann fait partie du comité d'organisation du principal congrès sur les résistances aux antibiotiques et nouveaux antibiotiques (RICAI) Paris et il est membre du comité éditorial de plusieurs journaux scientifiques dont Emerging Infectious Diseases et Future Microbiology et Multidrug Resistance. Le Dr L. Poirel est membre du comité éditorial de plusieurs journaux scientifiques internationaux importants ; il est Editeur-en-Chef de la revue European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Springer Nature), et Editeur associé des journaux Antimicrobial Agents and Chemotherapy (American Society of Microbiology) et Journal of Antimicrobial Chemotherapy (British Society of Microbiology).

10. GESTION

Chaque demande d'expertise fait l'objet d'une notification au laboratoire demandeur, d'une notification de résultats dits « intermédiaires » et d'une notification de rapport final. Le résultat de toute analyse est effectué habituellement en 48-72 h. Une communication permanente a lieu avec les laboratoires demandeurs et souvent avec les cliniciens en charge des patients. Comme précédemment l'ensemble des souches reçues pour expertise a été conservé à -80°C. Compte-tenu de la variabilité des résultats fournis par certains laboratoires, réidentification et analyse d'antibiogramme de base est indispensable avant toute analyse moléculaire des résistances aux antibiotiques. L'ensemble des données fournies sont envoyées systématiquement à ANRESIS et à l'OFSP. Comme souhaité, souches exprimant des carbapénèmases et épidémies de bactéries multirésistantes dont le NARA a connaissance font l'objet notifications auprès de l'OFSP.

11. CONCLUSION ET RECOMMANDATIONS

L'activité du NARA est en pleine croissance avec une augmentation du nombre de demandes d'expertise provenant de toute la Suisse. Ainsi 25% de plus de souches a été reçu au NARA de 2022 à 2023. Cette tendance très nette est également soutenue par la complexité croissante des mécanismes de résistance aux anciennes et nouvelles molécules antibiotiques et l'extension de la nature des requêtes. Comme par le passé, dans la très grande majorité des cas, il s'agit de bacilles à Gram négatif, les Gram positif multirésistants ne représentent plus de menaces en Suisse.

Parmi ces bacilles à Gram négatif, on observe l'émergence de souche de *E. coli* exprimant la carbapénémase NDM-5 qui a une activité hydrolytique plus marquée que NDM-1 dont elle dérive. Le gène de NDM-5 est identifié de plus en plus chez *K. pneumoniae*, faisant évoquer le franchissement d'espèces de ce gène et sa « fixation » dans le monde nosocomial. On note également l'isolement croissant de souches de *K. pneumoniae* qui ont des traits d'hypervirulence. La réalité de leur hypervirulence clinique reste à déterminer. Leur étude bénéficie de l'attribution exclusive du laboratoire de haute sécurité P3 à la Microbiologie moléculaire et médicale de l'Université de Fribourg.

Les souches de bacilles à Gram négatif exprimant une carbapénémase sont désormais souvent pan-résistante aux aminoglycosides lié à l'expression d'une méthylase qui méthyle la cible chromosomiques de tous aminosides. Un certain nombre de souches sont résistantes au céfiderocol, la céphalosporine au plus large spectre.

Nous poursuivrons également nos travaux concernant la résistance croisée entre certains antibiotiques et certains antiseptiques et la résistance dans un contexte One Health. En effet, nous avons montré l'existence de résistance croisée entre chlorhexidine et tétracycline chez *E. coli* et l'étude du rôle du zinc comme promoteur de transfert de gènes plasmidiques de résistance est en cours.

Nous avons identifié en Suisse et au niveau mondial la présence de souches de Gram négatif exprimant une carbapénémase particulière NDM-9 qui confère la résistance au taniborbactam qui est le seul inhibiteur de métallo carbapénèmases en phase ultime de développement. Son identification en Suisse chez *A. baumannii* et *K. pneumoniae* dans des souches cliniques et dans l'environnement soulève déjà la crainte de la diffusion de ce marqueur de résistance dans un contexte « One Health ». Il indique d'autre part la difficulté très probable à l'avenir du traitement des infections liées à ces souches multirésistantes. Le développement de collaborations multiples du NARA à l'international, à l'instar de ce que nous venons de montrer concernant les souches NDM-9 souligne tout son intérêt dans un monde dont les échanges de souches multirésistantes est désormais globalisé. Adosser le NARA à un fort réseau de réels partenaires étrangers avec lesquels la collaboration est patente est un garant de son succès à venir.

Recommandations

- 1) Implémentations des milieux de screening notamment dans le cadre de la gestion d'épidémies
 - a. Screening des souches de *P. aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes
 - b. Screening des souches d'entérobactéries résistantes à l'association ceftazidime/avibactam
 - c. Screening des souches de Gram positifs résistantes au linézolide
 - d. Souches de *A. baumannii* multirésistantes aux antibiotiques
 - 2) Optimisation par enrichissement de la détection de BMR dans le cadre d'épidémies (Opt Detect MDR)
 - 3) Tests de diagnostic rapide
 - a. Rapid ESBL NP et Carba NP test
 - b. Rapid Polymyxin NP et Rapid ResaPolymyxin NP
 - c. Rapid Cefiderocol NP
 - d. Rapid Aminoglycoside NP
 - e. Rapid Acinetobacter Resa Polymyxin NP et CarbaAcineto NP
 - 4) Surveillances particulières
 - a. *E. coli* exprimant NDM et résistant à l'association aztreonam/avibactam
 - b. *Staphylococci* résistants à la teicoplanine ou au linezolid
 - c. *Enterococci* résistants à la daptomycine ou au linezolid
 - d. *P. aeruginosa* résistants au cefiderocol
 - e. Pandrug resistance aux aminosides chez les Gram négatif
 - f. *K. pneumoniae* résistantes et hypervirulentes
 - g. *A. baumannii* multirésistants aux antibiotiques
 - h. *N. gonorrhoeae* et résistances aux antibiotiques (azithromycine)
 - 5) Mise en commun des données de WGS sur plateformes informatiques communes avec renforcement des interactions des différents acteurs en Microbiologie (« One Health »)
-