



Nationales Referenzlaboratorium zur Früherkennung  
neuer Antibiotikaresistenzen und Resistenzmechanismen

## Centre National de Référence des Résistances Emergentes aux Antibiotiques

### Rapport d'activité 2018 (15/09/2017-15/09/2018)

**Prof. Patrice Nordmann (Directeur), MD, PhD, Spec. Microbiologie**  
Professeur Ordinaire de Microbiologie Médicale et Moléculaire, Université de  
Fribourg  
Directeur de l'Unité « Résistances Emergentes aux antibiotiques »,  
Université de Fribourg,  
Directeur de l'Unité « Résistances Emergentes aux antibiotiques », Unité de Recherche  
à titre étranger de l'Institut National de la Santé et de la Recherche Médicale (INSERM,  
France), Université de Fribourg,  
Médecin Agréé, Institut de Microbiologie, CHUV, Lausanne,

**P.D. Dr. Dominique Blanc (Directeur adjoint), PhD**  
Chef de laboratoire, Service de Médecine préventive hospitalière et Institut de  
Microbiologie, CHUV, Lausanne  
Maître d'Enseignement et de Recherche, Faculté de Biologie et de Médecine,  
Université de Lausanne

**Dre. Aurélie Jayol (Cheffe de laboratoire du site de Fribourg), PharmD, FAMH  
Spec. Microbiologie**  
Directrice des laboratoires des Etablissements Hospitaliers du Nord Vaudois (eHnv),  
Hôpital d'Yverdon, Yverdon

Fribourg le 24/9/2018. Pr. P. Nordmann

## **Table des matières**

<b>1. OBJECTIFS ET ORGANISATION DU NARA</b> .....	3
1.1. Objectifs.....	3
1.2. Personnel du NARA .....	3
1.3. Locaux du NARA .....	4
1.4. Autorisation d'exploitation du laboratoire de Fribourg.....	5
<b>2. DEVELOPPEMENT ET ACCREDITATION DES METHODES GENETIQUES POUR LA DETECTION DE RESISTANCES RARES OU EMERGENTES CHEZ LES BACTERIES A GRAM POSITIF</b> .....	5
<b>3. ACTIVITES D'EXPERTISE ET DE CONSEIL</b> .....	7
3.1. Expertise des mécanismes de résistance émergents aux antibiotiques ....	7
3.1.1. Evolution du nombre de souches analysées au NARA .....	9
3.1.2. Souches analysées au NARA du 1 <sup>er</sup> septembre 2017 au 31 août 2018	10
3.2. Comparaison de souches et épidémies.....	16
<b>4. DEVELOPEMENT DE NOUVEAUX TESTS DIAGNOSTICS</b> .....	16
4.1. Rapid ResaPoly <i>Acinetobacter baumannii</i> / <i>Pseudomonas aeruginosa</i> NP test.....	16
4.2. Multiplex PCR de détection des gènes de MCR-1 à MCR-5 .....	18
<b>5. EVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTIC DES RESISTANCES EMERGENTES, IDENTIFICATION DE NOUVEAUX MECANISMES DE RESISTANCE ET EVALUATION DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES</b> .....	18
5.1. Evaluation des tests de diagnostic des résistances émergentes.....	18
5.1.1. Test Rapid Polymyxin NP industriel (ELITech) par rapport au « home-made » Rapid Polymyxin NP test pour la détection de la résistance à la colistine chez les Entérobactéries.....	18
5.1.2. Gélose CHROMagar mSuperCARBA et Rapidec Carba NP.....	19
5.1.3. Test immunologique de détection des carbapénèmases de type KPC, NDM, OXA-48, VIM et IMP .....	19
5.1.4. Evaluation de nouvelles génération du test rapide commercial Xpert MRSA pour le dépistage.....	20
5.1.5. Evaluation du whole genome Muli locus sequence typing (wgMLST) pour l'investigation d'épidémies à <i>E. faecium</i> vancomycine-résistant.....	20
5.2. Identification de nouveaux mécanismes de résistances.....	21
5.3. Test de nouvelles molécules et/ou de nouvelles associations d'antibiotiques .....	21
<b>6. DEVELOPPEMENT DU SITE INTERNET</b> .....	22
<b>7. ENSEIGNEMENTS ET FORMATION</b> .....	22
<b>8. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS</b> .....	23
8.1. Activités de recherche .....	23

<b>8.2.</b>	<b>Publications du 1<sup>er</sup> septembre 2017 au 1<sup>er</sup> septembre 2018</b> .....	24
<b>8.3.</b>	<b>Conférences invitées</b> .....	27
<b>8.3.1.</b>	<b>Pr P. Nordmann</b> .....	27
<b>8.3.2.</b>	<b>Dr L. Poirel</b> .....	28
<b>8.4.</b>	<b>Présentations aux congrès</b> .....	28
<b>8.4.1.</b>	<b>Nationaux</b> .....	28
<b>8.4.2.</b>	<b>Internationaux</b> .....	30
<b>9.</b>	<b>RELATIONS INTERNATIONALES</b> .....	32
<b>10.</b>	<b>ACTIVITES DE COMMUNICATION</b> .....	33
<b>11.</b>	<b>GESTION DU NARA</b> .....	34
<b>12.</b>	<b>CONCLUSION ET PERSPECTIVES</b> .....	34

## **1. OBJECTIFS ET ORGANISATION DU NARA**

### **1.1. Objectifs**

L'objectif général du NARA est d'identifier rapidement des résistances dans la mesure du possible le développement de nouvelles résistances et contribue à la connaissance épidémiologique de leur diffusion. Le NARA développe également de nouveaux tests de diagnostic rapide des résistances aux antibiotiques et participe à l'évaluation de nouveaux antibiotiques.

### **1.2. Personnel du NARA**

Le NARA groupe des compétences complémentaires sur les résistances chez les bactéries à Gram négatif et sur celles des bactéries à Gram positif et sur les résistances aux antibiotiques d'interface Homme/Animal. L'activité du NARA est adossée à celles d'équipes de recherche plus fondamentales concernant les résistances émergentes (Unités de recherche UniFr et Unité INSERM à titre étranger, aux antibiotiques localisée également à l'Université de Fribourg, Unité de recherche, Institut de Microbiologie, Lausanne), en association avec des projets de recherche nationaux (FNS ; Carbapénemases in Gram Negatives ; FNS/NRP 72-Rapid diagnostic tests for detection of antibiotic resistance in clinically-significant Gram negative bacteria ; FNS/NRP 72 Dynamic of transmission of polymyxin resistance genes in Enterobacteriaceae from the environmental source to the patient) et internationaux (JPI-AMR, *Escherichia coli* ST131, a model for high-risks transmission of antibiotic resistance) ; ERA-Net (ANIHWA [Animal Health and Welfare FP7/H2020 EU].

Le personnel du NARA regroupe microbiologistes médecins, pharmaciens, scientifiques et personnel technique. Il comprend notamment le Professeur P. Nordmann ayant des compétences plus particulières en Maladies Infectieuses et Microbiologie médicale dans le domaine des résistances des bacilles à Gram négatif en médecine humaine, le Dr. D. Blanc plus particulièrement spécialisé dans les résistances des ces cocci à Gram positif en médecine humaine et le Dr L. Poirel dont les compétences se situent à l'interface entre les résistances émergentes observées chez l'Homme et celles observées chez l'Animal. La Dre A. Jayol, Pharmacienne, FAMH, spécialité Microbiologie médicale, possédant des compétences dans le domaine des résistances émergentes aux antibiotiques, travaille au NARA comme microbiologiste à temps partiel (40%). Le personnel technique du NARA comprend un technicien à 90%, Anthony Demord, localisé sur le site Fribourg et un technicien à 50%, Fabrice Poncet, localisé sur le site de Lausanne. Le personnel administratif du NARA comprend deux secrétaires (30% au total), Isabelle Macheret Papaux et Claudia Andrey, localisées à Fribourg. Le personnel du NARA est ainsi limité à 1,7 équivalent temps plein à Fribourg, et 0.5 équivalent temps plein temps à Lausanne. Autour de ce personnel propre au NARA, trois équivalents temps plein à Fribourg (Pr. P. Nordmann, Dr L. Poirel, N. Kieffer) et un équivalent temps plein (Dr D. Blanc) participent effectivement, parmi leurs nombreuses activités, au fonctionnement du NARA.

Le comité du NARA comprend le Pr P. Nordmann, le Dr D. Blanc, le directeur de l'OFSP ou son représentant, le Dr L. Poirel, le Pr V. Perreten, le Pr R. Stephan, le Dr R. Zbinden (directeur du SAC) et le Dr A. Kronenberg (directeur d'ANRESIS). Les données obtenues par le NARA sont systématiquement transmises tous les mois à ANRESIS.

### **1.3. Locaux du NARA**

L'Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire « Résistances Emergentes aux Antibiotiques » a été fondée en juillet 2013 et est localisée au sein de la Faculté des Science et de Médecine de l'UniFr. Cette unité a été transférée début septembre 2017 dans un bâtiment totalement neuf (Chemin du Musée 18, 1700 Fribourg) comprenant notamment 380 m<sup>2</sup> de surface dédiée à la Microbiologie (laboratoires BLS2, laboratoire BSL3 en voie de finalisation, bureaux, locaux communs...). Ce nouveau laboratoire dispose de tous les éléments de fonctionnement les plus modernes pour effectuer le travail d'analyse et de recherche sur tous types de pathogènes bactériens émergents. Il s'agit de l'unique laboratoire classé L3 du canton de Fribourg.

Le laboratoire d'épidémiologie du CHUV est rattaché au service de médecine préventive hospitalière (P.D. Dr Laurence Senn) du CHUV et à l'Université de Lausanne. Le Dr Blanc est chef de ce laboratoire depuis 1991. Les missions du laboratoire sont notamment d'assumer le dépistage des bactéries multi-résistantes et de conduire une recherche fondamentale dans ce domaine. Ce laboratoire est situé dans le bâtiment principal du CHUV et partage des locaux avec l'Institut de Microbiologie (Prof. G. Greub). Le laboratoire est accrédité ISO 17025 depuis 2005 avec les laboratoires de diagnostics de l'Institut de Microbiologie. Le total des surfaces dédiées est de l'ordre de 100 m<sup>2</sup>.

Les deux laboratoires disposent du matériel adapté à la réalisation des analyses microbiologiques et génétiques nécessaires à une activité de recherche et de surveillance épidémiologique dans le domaine de la résistance aux antibiotiques (cultures bactériennes, sensibilité aux antibiotiques, biochimie, biologie moléculaire, techniques de séquençage de génomes complets (Illumina MiSeq).

#### **1.4. Autorisation d'exploitation du laboratoire de Fribourg**

Une demande d'autorisation d'exploitation pour l'activité du laboratoire de Fribourg a été soumise à Swissmedic en décembre 2017. Le laboratoire de Fribourg a été audité le 18 avril 2018. Le rapport d'inspection du 8 mai 2018 indiquait quelques éléments à modifier. 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. DEVELOPPEMENT ET ACCREDITATION DES METHODES GENETIQUES POUR LA DETECTION DE RESISTANCES RARES OU EMERGENTES CHEZ LES BACTERIES A GRAM POSITIF**

Les analyses suivantes ont été développées au laboratoire de Lausanne et sont accréditées, certaines l'ont été en 2018:

Résistance à la vancomycine chez les entérocoques

- Détection des gènes *van A, B, C1, C2, C3, D, E, G, L, M* et N

Résistance plasmidique au linézolide chez les staphylocoques et entérocoques:

- Détection et séquençage des gènes *optrA* et *cfr*

Résistance chromosomique au linézolide chez les staphylocoques et entérocoques:

- Séquençage des gènes *rrn*
- Séquençage des gènes *rpl*

Résistance à la ceftaroline et au ceftobiprole chez les staphylocoques

- Séquençage du gène *plp2A*
- Séquençage des gènes *plp1*, *plp2*, *plp3* et *plp4*
- Séquençage des gènes *gdpP* et *arcB*
- Séquençage du gène *lytB*

Comparaison de souches pour l'investigation d'épidémie

- Séquençage complet de génome et analyse par wgMLST de *Staphylococcus aureus*
- Séquençage complet de génome et analyse par wgMLST de *Enterococcus faecium*

Les analyses suivantes ont été développées et sont en court d'accréditation:

Résistance à la daptomycine chez les entérocoques et staphylocoques

- Séquençage du gène *mprF*

Résistance à l'azithromycine (*Neisseria gonorrhoeae*)

- Séquençage du promoteur du represser *mtrR*
- Séquençage du represser *mtrR*
- Séquençage du domaine V du gène *rrl* ARNr23S
- Séquençage du gène *rplD* (protéine L4)
- Séquençage du gène *rplV* (protéine L22)

Résistance aux cyclines et aux fluoroquinolones (*Neisseria gonorrhoeae*)

- Séquençage du represser *mtrR*
- Séquençage du gène *rpsJ* (protéine S10)
- Séquençage du gène *tetM*
- Séquençage du gène *gyrA*
- Séquençage du gène *parC*

Résistance au  $\beta$ -lactamines (*Neisseria gonorrhoeae*)

- Séquençage du gène *blaTEM*

Le développement de l'étude moléculaires des résistances aux antibiotiques chez *N. gonorrhoeae* correspond à une demande liée à l'augmentation de la prévalence de ces résistances d'un point de vue national et international.

*La mise au point de nouvelles techniques importantes de diagnostic moléculaire pour la mise en évidence des résistances émergentes chez les bacilles à Gram négatif n'a pas été réalisé durant la période écoulée. En effet ces techniques avaient déjà été mise au point dans l'exercice précédent.*

*Seuls des variantes des techniques déjà mise au point ont été réalisées comme par exemple l'extension du diagnostic moléculaire pour la mise en évidence non seulement du gène plasmidique de résistance aux polymyxines *mcr-1* des entérobactéries mais également tous les gènes connus de résistance plasmidique aux polymyxines, *mcr-1* à *mcr-9*.*

### **3. 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 réel sur la Santé publique en Suisse.

#### **3.1. 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 indiqué ci -dessous (Tableau 1). C'est l'envoie toute souche exprimant une nouvelle résistance phénotypique (qu'elle soit avérée ou supposée) qui constitue la base des souches étudiées par le NARA.

<b>Espèce ou famille bactérienne</b>	<b>Résistance</b>
<b>Bactéries à Gram positif</b>	
<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 (SCN)	-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
<b>Bactéries à Gram négatif</b>	
Entérobactéries	-Résistance aux carbapénèmes (carbapénèmases)** -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 -Résistance à la fosfomycine -Résistant aux nouvelles associations $\beta$ -lactamines/inhibiteurs de $\beta$ -lactamases (ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam) -Toto-résistance***
<i>Pseudomonas sp</i> , <i>Acinetobacter sp</i>	-Résistance aux carbapénèmes (carbapénèmases) -Résistance aux polymyxines (colistine) -Résistance à tous les aminosides -Toto-résistance***
<i>Burkholderia sp</i>	-Toto-résistance***
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Résistance aux $\beta$ -lactamines, à l'azythromcyine et tétracyclines
<i>Stenotrophomonas sp</i> et bacilles à Gram négatif apparentés	-Résistance aux polymyxines (colistine) -Toto-résistance***

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

\* Le NARA fait partie du réseau des laboratoires experts du Swiss Antibigram Comittee (SAC) qui peut participer à la confirmation de souches d'entérocoques résistantes aux glycopeptides mais il ne s'agit pas de l'une de ses missions spécifiques

\*\* Le NARA fait partie du réseau des laboratoires experts du Swiss Antibigram Committee qui contribue à l'identification des souches productrices de carbapénèmases

\*\*\* Résistance à tous les antibiotiques usuels +/- aux polymyxines

Le NARA fait également partie des huit laboratoires experts du Swiss Antibiogram Committee ». A ce titre il peut participer à l'étude de mécanismes de résistances déjà identifiés et relativement prévalent comme :

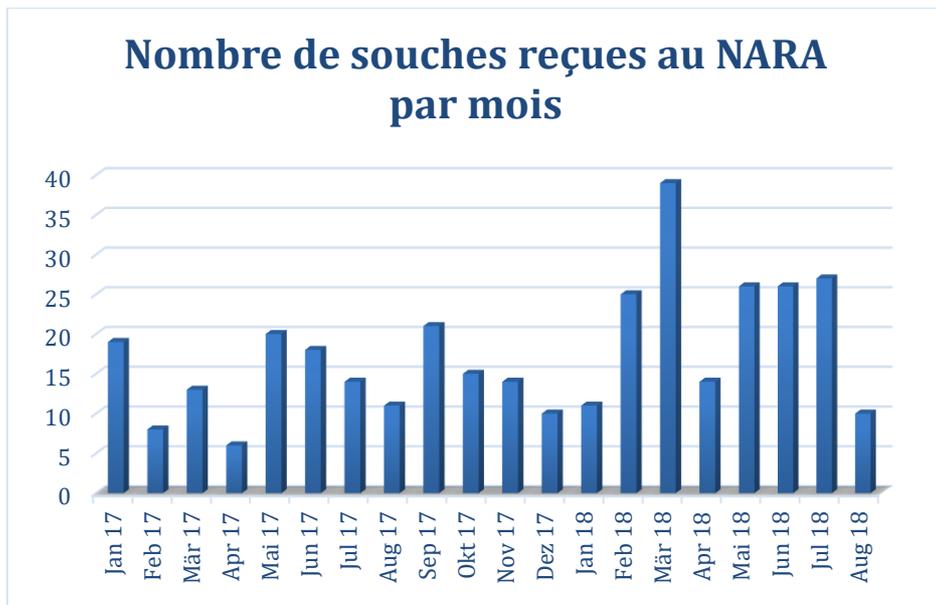
- L'étude d'entérobactéries produisant une BLSE, une  $\beta$ -lactamase de type AmpC
- L'étude des staphylocoques résistants à la méthicilline ou résistants de bas niveau aux glycopeptides (VISA, GISA)
- L'étude des entérocoques résistants aux glycopeptides.

Cependant, le NARA ne répond que ponctuellement à ces demandes compte-tenu du très grand nombre de souches potentiellement concernées en Suisse.

Le NARA est en contact étroit avec les structures de soins helvétiques (publics et privés) pour identifier tout phénomène émergent. Cette mission de Service Public repose sur une réactivité maximale, c'est-à-dire, dans la mesure du possible, les résultats sont fournis dans les 48-72 heures. Ce délai peu compressible de 48-72 h est en partie dû à la nécessité de réisoler (de cultiver à nouveau au NARA) et de réidentifier toutes les souches envoyées ainsi que de vérifier la réalité du phénotype de résistance attendu et de réaliser les techniques moléculaires. L'expérience acquise dans les activités du NARA nous a montré l'absolue nécessité de cette étape.

### **3.1.1. Evolution du nombre de souches analysées au NARA**

Entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 31 août 2018, 243 souches bactériennes ont été analysées dans les laboratoires du NARA (environ 20 souches par mois). Une augmentation importante du nombre mensuel de souches analysées comparée à la période du 1<sup>er</sup> janvier 2017 au 31 août 2017 (111 souches, soit environ 14 souches par mois) est patente (Figure 1).



**Figure 1.** Nombre de souches analysées au NARA pour chaque mois depuis la création du NARA

### 3.1.2. Souches analysées au NARA du 1<sup>er</sup> septembre 2017 au 31 août 2018

#### 3.1.2.1 Origine géographique des souches

L'origine géographique cantonale des souches expertisées au NARA est présentée dans la figure 2. Comparé à la période du 1<sup>er</sup> janvier 2017 au 1<sup>er</sup> septembre 2017 (cantons en vert), on constate une expansion des laboratoires expéditeurs aux cantons du Jura, de Zürich, de Turgovie et du Tessin (cantons en orange).



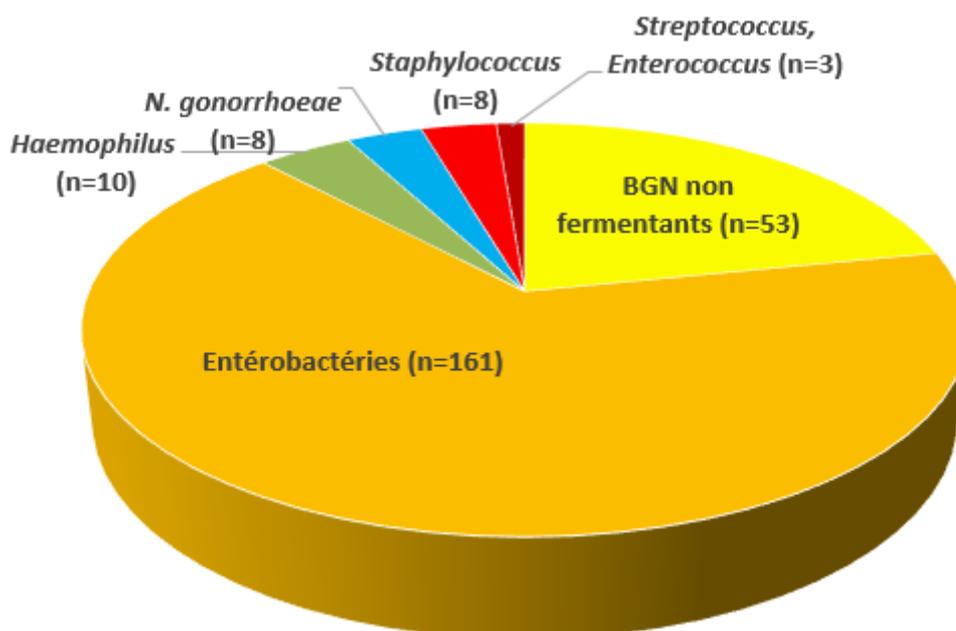
**Figure 2.** Origine cantonale des souches expertisées au NARA

- Cantons ayant envoyé des souches entre le 1<sup>er</sup> janvier 2017 et le 1<sup>er</sup> septembre 2017
- Cantons supplémentaires ayant envoyé des souches entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 1<sup>er</sup> septembre 2018

**3.1.2.2 Répartition des souches par groupes et espèces**

Entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 31 août 2018, 243 souches bactériennes ont été analysées dans les laboratoires du NARA, incluant 11 souches de cocci à Gram positif et 232 souches de bacilles à Gram négatif.

Les demandes ont concerné les espèces du genre *Klebsiella* (n=65, 26,7%), *Escherichia* (n=55, 22,6%), *Enterobacter* (n=32, 13,2%), *Citrobacter* (n=4, 1,6%), *Proteus/Providencia/Morganella* (n=5, 2,1%), *Haemophilus sp* (n=10, 4,1%), *N. gonorrhoeae* (n=8, 3,3%), *Pseudomonas sp* (n=38, 15,6%), *Acinetobacter sp*(n=12, 4,9%), *S. maltophilia* (n=3, 1,2%), *Staphylococcus* (n=8, 3,3%), *Enterococcus* (n=2, 0,8%), et *Streptococcus* (n=1, 0,4%) (Figure 3).



**Figure 3.** Répartition des souches par groupes et espèces

**3.1.2.3 Expertises de souches**

## Laboratoire d'Epidémiologie, CHUV Lausanne

Entre le 1er septembre 2017 et le 31 août 2018, 11 souches de cocci à Gram positif et 11 souches de *Neisseria gonorrhoeae* ont été analysées dont le détail est indiqué ci-dessous:

<b>Espèce</b>	<b>Motif de la demande</b>	<b>Résultats</b>
<i>Enterococcus faecium</i>	Résistance à la vancomycine	Sensible à la vancomycine, absence de gène <i>van</i>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistance à la méticilline	Souche sensible à la méticilline malgré une croissance sur milieu chromogène spécifique
<i>Staphylococcus capitis</i>	Résistance à la daptomycine	Souche sensible à la daptomycine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Souche MRSA négative par le test rapide PCR Cepheid Xpert MRSA/SA BS	Souche résistante à la méticilline avec présence du gène <i>mecA</i> et la cassette SCCmec IV
<i>Staphylococcus pettenkoferi</i>	Résistance à la daptomycine	Souche sensible à la daptomycine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistance à la daptomycine	Souche résistante à la daptomycine
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistance à la daptomycine	Souche résistante à la daptomycine
<i>Streptococcus oralis</i>	Résistance à la ceftriaxone	Souche résistante à la ceftriaxone
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Résistance aux fluoroquinolones	Résistance aux fluoroquinolones

**Tableau 2.** Souches de cocci à Gram positif analysées au laboratoire de Lausanne

## Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire de l'Université de Fribourg

Entre le 1<sup>er</sup> septembre 2017 et le 31 août 2018, 221 souches de bacilles Gram négatif ont été expertisées.

### Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles Gram négatif

Une grande partie des souches a été envoyée pour l'expertise de la résistance aux  $\beta$ -lactamines, en particulier aux carbapénèmes et plus d'un tiers des souches (78/232) produisaient une carbapénémase. La plupart de ces souches possédaient une résistance multiple aux antibiotiques. Les trois types principaux de carbapénémases des entérobactéries ont été identifiées (Tableau 3), à savoir les enzymes de type KPC, NDM, OXA-48 et dérivés (OXA-181, OXA-244). Deux souches de *Enterobacter* spp.

productrices de VIM ont également été identifiées. Pour la première fois en Suisse, une souche de *Enterobacter* spp. productrice de la carbapénèmase IMI a été identifiée.

Cette  $\beta$ -lactamase présente un intérêt particulier car elle ne peut pas être détectés par les laboratoires suisses puisqu'ils ne possèdent pas les primers pour la détection de ce gène et qu'il ne fait pas partie de la panoplie des gènes de carbapénèmases telle que proposée par les industriels du diagnostic. Chez *Pseudomonas* spp., seule la carbapénèmase VIM a été identifiée, carbapénèmase la plus fréquente en Europe dans cette espèce bactérienne (Tableau 3). Chez *A. baumannii*, la carbapénèmase OXA-23 prédominait (comme dans le reste du Monde) et une souche productrice de la carbapénèmase IMP a été identifiée. Dans la plupart des cas, d'autres mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines ont été associés dans ces souches comme par exemple des BLSE (CTX-M, SHV, TEM) et des céphalosporinases plasmidiques (DHA, CMY...). Ces études de mécanismes associés complexifient fortement l'analyse de ces souches adressées le plus souvent pour une présomption de résistance aux carbapénèmes.

Espèces	N	% (n/N)	Carbapénèmase						
			KPC	NDM	VIM	IMI	OXA-48	OXA-181	OXA-244
<i>Klebsiella</i> spp.	65	49 % (32/65)	13	2	-	-	16	1	-
<i>E. coli</i>	55	42 % (23/55)	-	5	-	-	12	5	1
<i>Enterobacter</i> spp.	32	25 % (8/32)	-	1	2	1	4	-	-
<i>P. mirabilis</i>	3	33 % (1/3)	-	-	1	-	-	-	-
<i>P. rettgeri</i>	1	100 % (1/1)	-	1	-	-	-	-	-

#### Répartition des carbapénèmases selon l'espèce d'Entérobactéries

n : nombre de souches produisant une carbapénèmase

N : nombre de souches total

	N	% (n/N)	Carbapénèmase		
			OXA-23	IMP	VIM
<i>A. baumannii</i>	11	82 % (9/11)	8	1	-
<i>P. aeruginosa</i>	38	10,5 % (4/38)	-	-	4

#### **Tableau 3.** Répartition des carbapénèmases selon l'espèce bactérienne chez les bacilles à Gram négatif non fermentants

n : nombre de souches produisant une carbapénèmase

N : nombre de souches total

#### Pan-résistance aux aminosides chez les bacilles Gram négatif

La présence de 16S rRNA méthyltransférases a été détectée dans neuf souches bactériennes qui avaient un phénotype de pan-résistance aux aminosides (résistance à l'amikacine, la gentamicine, la tobramycine et la kanamycine) (Tableau 5).

A l'exception de 3 souches de *K. pneumoniae* (2 RmtF+ et 1 ArmA+), ces souches produisaient également une carbapénèmase (2 *bla*<sub>OXA23</sub>, 1 *bla*<sub>OXA-48</sub>, 1 *bla*<sub>KPC</sub>, et 2 *bla*<sub>NDM</sub>) comme relevé dans de nombreuses études internationales.

	Méthylase de l'ARN16S ribosomal		
	ArmA	RmtB	RmtF
<i>K. pneumoniae</i>	2	1	2
<i>E. coli</i>	-	1	-
<i>P. rettgeri</i>	1	-	-
<i>A. baumannii</i>	2	-	-

**Tableau 5.** Répartition des méthylases de l'ARN16S selon l'espèce bactérienne

#### Résistance aux polymyxines chez les bacilles Gram négatif

Pour toutes les souches de bacilles à Gram négatif productrices de carbapénèmase, la recherche de résistance à la colistine est désormais systématiquement réalisée afin d'identifier le plus vite possible la circulation de souches évoluant vers la panrésistance. La détection de souches d'entérobactéries résistantes à la colistine chez les entérobactéries a été réalisé grâce au Rapid Polymyxin NP test (résultats en 1 à 2 h) que nous avons développé dans l'Unité. Lorsque le Rapid Polymyxin NP test était positif, les CMI à la colistine ont été déterminées par dilutions en milieu liquide. Pour les souches de bacilles à Gram négatif non fermentants productrices de carbapénèmases, les CMI de la colistine ont été également déterminées sans utilisation d'un test rapide de résistance aux polymyxines pour *A. baumannii* et *P. aeruginosa* qui n'avait pas été encore développé.

Vingt-sept souches bactériennes résistantes à la colistine ont été identifiées qui incluait *P. aeruginosa*, (n=1) *E. coli* (n=9) *K. pneumoniae* (n=13) et *E. cloacae* (n=4) dont certaines exprimaient une carbapénèmase et/ ou une 16S rRNA méthylase.

Des mutations dans les gènes modifiant le lipopolysaccharide responsable de l'acquisition de résistance à la colistine ont été identifiés dans dix souches de *K. pneumoniae* résistantes à la colistine (inactivation de la protéine MgrB ou substitution Thr157Pro dans la protéine PmrB). Ce résultat correspond aux différentes études que nous avons réalisées notamment chez *K. pneumoniae* dont les déterminants de résistance aux polymyxines sont très majoritairement chromosomiques donc non transférables. De telles souches ont largement été décrites en Italie d'où proviennent la grande majorité de ces souches identifiées sur le territoire helvétique.

Le gène de résistance plasmidique *mcr-1* a été identifié dans une seule souche parmi les neuf souches de *E. coli* résistante à la colistine que nous avons identifié. Aucune résistance plasmidique de type *mcr-2* à *mcr-5* n'a été identifié. Ce résultat

souligne la rareté de diffusion des souches exprimant un gène plasmidique (transférable) de résistance aux polymyxines mais il indique également la présence de souches résistantes aux polymyxines par des mécanismes d'origine chromosomique.

#### Autres mécanismes de résistance identifiés

Un grand nombre de souches adressées au NARA le sont sur la base d'un phénotype de résistance présumée (exemple résistance aux carbapénèmes et non pas confirmation ou identification d'une carbapénémase). Ainsi, l'analyse de chaque souche relève d'une analyse microbiologique et moléculaire détaillée dont les résultats ne correspondent pas forcément aux objectifs propres du NARA dont l'activité relève des résistances émergentes et non pas des résistances connues parfois depuis des dizaines d'années. Ainsi, à titre d'exemple, parmi les souches de *Enterobacter* sp résistantes aux carbapénèmes, la plupart ne produisent pas de carbapénémase mais résultent d'un double mécanisme d'imperméabilité et de surexpression de céphalosporinase chromosomique. Ce mécanisme est connu depuis plus de 35 ans. Ainsi il a été identifié des souches surexprimant une céphalosporinase chromosomique de *Acinetobacter* sp (n=2), de *Enterobacter* sp (n=16) de *C. freundii* (n=2) et de *P. aeruginosa* (n=4). Vingt souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes aux carbapénèmes résultant au moins d'une modification de porines, six souches de *K. pneumoniae* exprimaient une céphalosporinase plasmidique alors que quatre souches de *E. coli* et une souche de *P. mirabilis* avaient ce même génotype. Onze souches de *E. coli*, treize souches de *K. pneumoniae*, deux souches de *E. cloacae*, une souche de *M. morgannii*, une souche de *C. freundii* et une souche de *P. aeruginosa* avaient une diminution de sensibilité à au moins à une carbapénème liée à l'expression d'une BLSE associée à une modification de porines. D'autres espèces bactériennes ou mécanismes de résistance ont été identifiés comme trois souches de *S. maltophilia* naturellement résistantes aux carbapénèmes, une souche de *K. oxytoca* et de *C. amaniiontacus* surexprimant leur pénicillinase chromosomique, cinq souches de *E. coli* exprimant une oxacillinase OXA-1 (résistance au céfépime), des souches de *K. pneumoniae* et *E. coli* résistantes à la fosfomycine, une souche de *E. coli* exprimant une pénicillinase.

Le mécanisme de résistance aux fluoroquinolones a été identifié dans cinq souches de *H. influenzae* à la demande des laboratoires. Ces souches présentaient des mutations dans la protéine GyrA (Ser84Leu, Asp88Gly, Asp88His, Asp88Asn), dans la protéine ParC (Ser84Ile, Asn138Ser) et dans la protéine Asp420Asn. Ce mécanisme

est connu depuis trente ans. Il en est de même des quelques souches de *H. influenzae* de diminution de sensibilité aux carbapénèmes connues depuis plus de vingt ans.

Plusieurs souches d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* se sont révélées être totalement sensibles aux antibiotiques alors qu'elles nous avaient été envoyées pour une résistance supposée et plusieurs souches ont bénéficié d'une réidentification désormais nécessaire et systématique de toute souche adressée au NARA.

### **3.2. Comparaison de souches et épidémies**

Un début d'épidémie de trois souches de *K. pneumoniae* multirésistantes et exprimant une même carbapénémase KPC-3 a été identifié par une technique de comparaison génomique dite « en champ pulsé » avec réalisation en parallèle par séquençage de leur génome total. Le délai de rendu des résultats pour le champ pulsé (72 h) et pour le séquençage total (96 h) ont correspondu aux impératifs cliniques de gestion de l'épidémie débutante (CHUV) en limitant leur dissémination. D'un point de vue génétique, des gènes de résistance aux  $\beta$ -lactamines, aminosides, fluoroquinolones, macrolides et trimetoprime ont été identifiés dans ces souches.

Le laboratoire de Lausanne a d'autre part investigué par génome complet plusieurs épidémies à entérocoques vancomycin-résistant (49 souches) et staphylocoques résistants à la méthicilline (19 patients) survenues dans les cantons de Genève et Vaud (4 patients).

Il coordonne le réseau romand de surveillance des MRSA et ce titre a analysé 693 souches et identifié deux souches de MRSA exprimant le gène *mec C*.

Dominique Blanc fait partie de la Task force nationale concernant la gestion de l'épidémie de VRE dont l'épicentre est localisé à Berne. Il a rédigé et diffusé les recommandations de la détection des patients infectés ou porteurs de VRE en soulignant les techniques pour identifier des souches de VRE exprimant leur résistance VanB à bas niveau. Bien que l'analyse des souches VRE ne fasse pas partie des missions du NARA à proprement parler, il nous est apparu important de répondre à la demande d'expertise sur ce sujet là

## **4. DEVELOPEMENT DE NOUVEAUX TESTS DIAGNOSTICS**

### **4.1. Rapid ResaPoly *Acinetobacter baumannii* /*Pseudomonas aeruginosa* NP test.**

Nous avons développé le Rapid Polymyxin NP test qui permet l'identification rapide de la résistance aux polymyxines chez les entérobactéries en 2016 et

commercialisé en 2017. Ce test basé sur l'identification de la métabolisation du glucose ne peut pas s'appliquer à *A. baumannii* et *P. aeruginosa* qui sont des espèces ne fermentant pas le glucose. C'est pourquoi, nous avons développé un nouveau test de détection rapide de la résistance aux polymyxines chez *A. baumannii* et *P. aeruginosa* basé sur la détection de bactéries viables après culture en présence d'une concentration définie de colistine choisie à la limite supérieure de la sensibilité aux polymyxines pour ces espèces bactériennes. Le principe de ce test est basé sur la détection visuelle de la réduction d'un colorant de viabilité, la resazurine dont la couleur passe du bleu au violet/rose (voir figure 1, ci-dessous). Ce test a été évalué avec 77 souches sensibles et résistantes à la colistine de *A. baumannii* et *P. aeruginosa*. La sensibilité et spécificité de ce test sont de 95 and 100%, respectivement, par comparaison avec la technique de référence de détermination de sensibilité aux polymyxines par dilutions en milieu liquide (18 h). Ce nouveau test est sensible, spécifique, bon marché et rapide et ses résultats sont obtenus en 4 heures. Il trouvera son application notamment pour le choix des thérapeutiques antibiotiques qui incluraient une polymyxine dans le traitement des infections à bactéries multirésistantes mais aussi pour identifier rapidement des souches de *A. baumannii* et de *P. aeruginosa* résistantes aux polymyxines pour en limiter la diffusion épidémique hospitalière. L'identification du portage de ces souches résistantes aux polymyxines bénéficiera du couplage de ce test avec l'utilisation du milieu de screening en milieu gélosé SuperPolymyxin que nous avons mis au point en 2016 et désormais commercialisé (ELITEch Microbiologie).

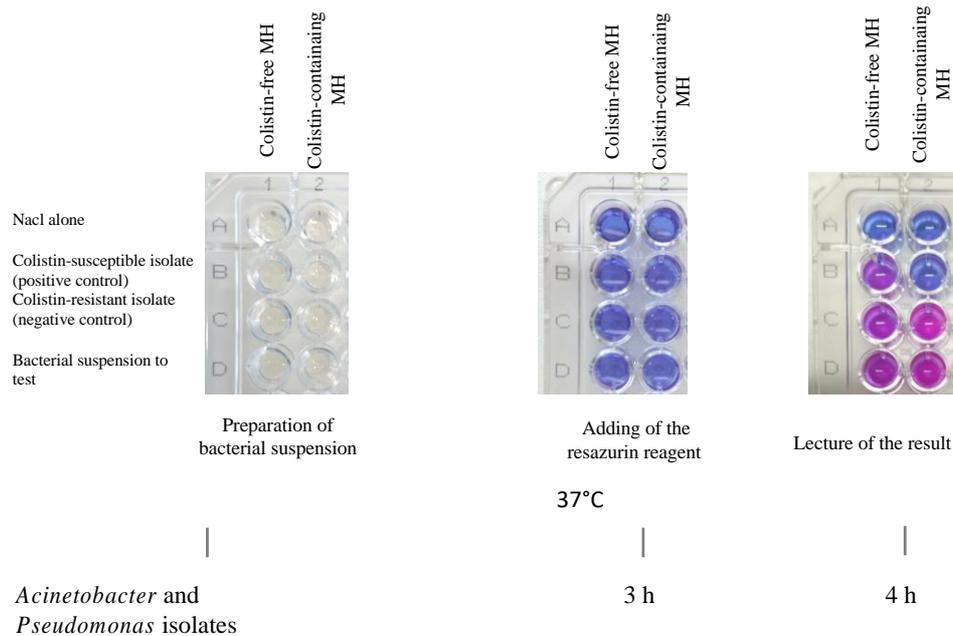


Figure 1; Rapid ResaPoly *A. baumannii*/*P. aeruginosa* NP test

#### 4.2. Multiplex PCR de détection des gènes de MCR-1 à MCR-5

Une technique rapide (< 2h) de détection par PCR des gènes plasmidiques de résistance aux polymyxines (*mcr-1* à *mcr-5*) a été mise au point. Cette technique testée sur 40 souches d'entérobactéries exprimant un gène de type *mcr* s'est révélée être très spécifique (100%). Elle pourrait être utilisée notamment dans le screening de souches possiblement résistantes aux polymyxines en médecine humaine et en médecine vétérinaire car le réservoir manifeste des souches *mcr* + est principalement le monde animal (*E. coli*).

### 5. EVALUATION DE TESTS DE DIAGNOSTIC DES RESISTANCES EMERGENTES, IDENTIFICATION DE NOUVEAUX MECANISMES DE RESISTANCE ET EVALUATION DE NOUVEAUX ANTIBIOTIQUES

#### 5.1. Evaluation des tests de diagnostic des résistances émergentes

##### 5.1.1. Test Rapid Polymyxin NP industriel (ELITech) par rapport au « home-made » Rapid Polymyxin NP test pour la détection de la résistance à la colistine chez les Entérobactéries

Nous avons développé un test rapide, le Rapid Polymyxin NP test, pour détecter la résistance à la colistine chez les Entérobactéries en moins de 2h. Ce test a

été commercialisé par la société ELITech et nous avons évalué cette version commerciale. Un total de 233 souches d'entérobactéries a été testé incluant 136 souches résistantes (dont 38 producteurs de MCR), 19 souches hétérorésistantes et 78 souches sensibles à la colistine. Les résultats du test commercial ont été comparés à ceux du test "*home-made*" et à ceux obtenus avec la méthode de référence de dilutions en milieu liquide. Les performances du Rapid Polymyxin NP industriel étaient excellentes avec une sensibilité de 98,1 % et une spécificité de 94,9 %. Ces performances étaient similaires à celles du test « *home-made* », à l'exception d'une sensibilité un peu meilleure pour ce dernier test (98,8 %).

### **5.1.2. Gélose CHROMagar mSuperCARBA et Rapidec Carba NP**

Nous avons évalué la nouvelle gélose CHROMagar mSuperCARBA pour la détection des bacilles Gram négatif résistants aux carbapénèmes et avons montré que ce milieu est aussi sensible et spécifique (100%) que le milieu SUPERCARBA (« *home made* ») pour détecter les souches productrices des carbapénèmases KPC, VIM, IMP, NDM et OXA-48. Nous avons d'autre part montré l'intérêt d'un screening en utilisant la gélose CHROMagar mSuperCARBA suivi de l'utilisation du Rapidec Carba NP (détection d'une activité carbapénèmase) étant une association optimale pour détecter le portage d'entérobactéries productrices de carbapénèmases.

### **5.1.3. Test immunologique de détection des carbapénèmases de type KPC, NDM, OXA-48, VIM et IMP**

Un nouveau test immunologique multiplex permet la détection rapide des principales carbapénèmases KPC, NDM, OXA-48, IMP (NG Carba-5) (voir figure 2 ci-dessous). Nous l'avons évalué avec 15 souches résistantes aux carbapénèmes ne produisant pas de carbapénèmases et 60 souches exprimant les principales carbapénèmases d'intérêt clinique parmi les entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Les résultats ont été obtenus en 45 min à partir de cultures bactériennes. La sensibilité et spécificité de ce test étaient de 100%. Il apparaît donc tout à fait adapté pour réaliser un screening des carbapénèmases après avoir répondu à la question présence ou non de carbapénèmase en utilisant le Rapid Carba NP test. Cette association de tests est désormais utilisée en routine au NARA.



Figure ; Exemple de test NG Carba-5, test de deux souches exprimant une carbapénèmase KPC- 2 et KPC-3

#### **5.1.4. Evaluation de nouvelles génération du test rapide commercial Xpert MRSA pour le dépistage**

Nous avons évalué deux nouvelles versions du test PCR Xpert MRSA (Cepheid, USA), largement utilisé dans le dépistage des porteurs de MRSA. Notre étude a montré que la spécificité et la valeur prédictive positive étaient significativement plus basse dans la version Gen3 qui a été commercialisée entre 2014 et 2015 que la version précédente (G3) et la dernière version (NxG). Ces résultats nous montrent l'importance d'évaluer systématiquement les changements de version des tests de diagnostics commerciaux.

#### **5.1.5. Evaluation du whole genome Multi locus sequence typing (wgMLST) pour l'investigation d'épidémies à *E. faecium* vancomycine-résistant.**

Le séquençage complet de génome devient l'une des méthodes de référence pour le type de souches bactériennes dans les investigation d'épidémies. La méthodologie utilisée principalement est le mapping par comparaison à un génome de référence de l'espèce bactérienne considérée, suivi de la détection des sites variant (SNPs). Cette méthode a le défaut de ne pas être standardisée avec des résultats qui peuvent varier en fonction de la référence choisie et de la collection de souches analysées, ce qui est particulièrement le cas avec les espèces comme *Enterococcus faecium*. Le wgMLST permet de palier en grande mesure à ces défauts. Nous avons évalué le schéma wgMLST élaboré par Applied-Maths dans Bionumerics avec les souches des différentes épidémies qui ont eu lieu au CHUV. Les résultats montrent une très bonne concordance entre cette méthode et la méthode standard (SNPs). Le wgMLST est donc une bonne alternative à l'investigation d'épidémie. De plus, par l'intégration de

métadatas, Bionumerics est un outil très bien adapté à la surveillance de bactéries multirésistantes.

## **5.2. Identification de nouveaux mécanismes de résistances**

Un nouveau variant MCR-3 (MCR-3.12) conférant une résistance plasmidique aux polymyxines a été identifié à partir d'isolats porcins. L'analyse biochimique du LPS modifié sous l'effet de MCR-3.12 montrait qu'il avait une fonction de phosphoethanol amine transférase similaire à celle de MCR-1 en ajoutant un groupement phosphoethanolamine au lipide A. Ainsi, l'interaction entre colistine et lipide A devient impossible et la bactérie devient résistante à la colistine. L'analyse génétique a montré que le gène *mcr-3.12* est porté par un plasmide transférable de type IncA/C<sub>2</sub>.

En 2014, deux études avaient révélé que des mutations dans la protéine CrrB, un régulateur positif du système à deux composants PmrAB, étaient responsables de l'acquisition de résistance à la colistine chez *K. pneumoniae*. Nous avons recherché des altérations au sein du gène *crrB* responsables de l'acquisition de résistance à la colistine dans une collection de souches de *K. pneumoniae* résistantes à la colistine. Nous avons étudié 33 souches ne présentant pas d'altérations au sein des gènes *pmrAB*, *phoPQ* et *mgrB*, ni de gènes plasmidiques. Nous avons ainsi identifié quatre nouvelles mutations (F84S, N141Y, P151L, G183V) au sein du gène *crrB* responsables de l'acquisition d'un haut niveau de résistance à la colistine chez *K. pneumoniae* (CMIs de la colistine > 128 mg/L).

## **5.3. Test de nouvelles molécules et/ou de nouvelles associations d'antibiotiques**

L'émergence et la diffusion des souches productrices de carbapénèmases conduit à des difficultés de choix thérapeutique et l'émergence additionnelle de résistance à la colistine aggrave encore la situation. L'évaluation de nouvelles molécules et/ou de nouvelles associations d'antibiotiques sur ces souches multirésistantes est donc d'un intérêt majeur afin d'identifier de nouvelles options thérapeutiques.

5.3.1- L'association ceftazidime-avibactam, seule ou avec de l'aztréonam, s'est révélée être une option thérapeutique possible, en tous cas *in vitro* ; pour le traitement des infections à *K. pneumoniae* productrices de carbapénèmases et résistantes à la colistine.

5.3.2- La plazomicine, un aminoglycoside de dernière génération, s'est révélée être active vis-à-vis de souches d'entérobactéries résistantes à la colistine, y compris celles produisant le gène de résistance plasmidique *mcr-1*.

5.3.3- Le mécanisme d'action et l'efficacité d'un nouvel inhibiteur protéique de la traduction protéique, NOSO-502, ont été identifiés ainsi que l'efficacité d'un oligomère peptidique (phosphorodiamidate morpholino oligomère) inhibant la transcription du gène de la carbapénèmase NDM-1. Il s'agit de deux alternatives nouvelles d'antibiotiques.

## **6. DEVELOPPEMENT DU SITE INTERNET**

Un site internet a été mis en ligne en avril 2018 pour mettre à disposition les informations suivantes :

- Les activités et expertises du NARA
- Les contacts, la localisation, et les heures d'ouverture du NARA
- La procédure d'envoi des souches : formulaires et modalités d'envoi
- La procédure pour le rendu des résultats
- Les publications scientifiques du NARA.
- Des liens internet utiles : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), Société Suisse de Microbiologie (SSM), Centre suisse pour le contrôle de l'Antibiorésistance (ANRESIS), European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC).

Ce site internet permet une meilleure visibilité du NARA et sera un support utile de communication (fiches techniques, news sur les nouveaux mécanismes de résistance...). Ce site est disponible en langues française et allemande.

## **7. ENSEIGNEMENTS ET FORMATION**

Les laboratoires du NARA sont un centre d'accueil pour toute personnes intéressés par la détection des résistances émergentes aux antibiotiques. Ils accueillent tous types de stagiaires suisses et étrangers, et participent de ce fait au rayonnement de la Médecine et de la Microbiologie suisse.

## **8. TRAVAUX DE RECHERCHE ET PUBLICATIONS**

### **8.1. Activités de recherche**

Les résultats scientifiques issus de l'Unité de Microbiologie Médicale et Moléculaire et de l'Unité associée INSERM de l'UniFR et du laboratoire d'Epidémiologie du CHUV 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, ASM...). **Ces activités de recherche ne sont que partiellement liées à l'activité de NARA.** Cependant, dans la mesure où le NARA est cité dans les co-authorships, ces activités contribuent au rayonnement national et international du NARA qui, dans le domaine des résistances émergentes aux antibiotiques, est un acteur totalement nouveau.

A noter que les membres des laboratoires ou cliniciens suisses qui ont adressé leurs souches avec des mécanismes de résistance qui ont fait l'objet d'études particulières ont été toujours associés comme co-auteurs des publications ou présentations. Nous avons noué des liens particuliers de recherche notamment avec les laboratoires hospitaliers de Neuchâtel, de Fribourg, de Lausanne, le laboratoire de référence vétérinaire de Zürich (Institute for Food Safety and Hygiene) et certaines structures privées. Certaines de ces activités sont également associées à celle d'ANRESIS.

Parmi les activités de recherche récentes on relève les travaux suivants:

- Identification de nouveaux déterminants MCR conférant une résistance transférable aux polymyxines.
- Identification du réservoir naturel du gène de MCR-2 chez *Moraxella pluranimalium*.
- Etude de la mobilisation liée à un intégron du gène de la BLSE BEL-1. Cette BLSE est présente chez *Pseudomonas aeruginosa*.
- Identification des facteurs favorisant la mobilisation de la BLSE PER-1 de gène transpositionnel chez *P. aeruginosa*.
- Analyses du résistosome d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* exprimant la carbapénémase OXA-48 et d'une souche de *Acinetobacter baumannii* exprimant la carbapénémase acquise OXA-23 et la BLSE GES-11.
- Identification des bacilles à Gram négatif multirésistants (résistance aux carbapénèmes, aux aminosides et aux polymyxines de l'île africaine de

SaoTome et Principe. Identification notamment de la diffusion de souches exprimant une carbapénèmase OXA-181.

- Caractérisation de souche de *E. coli* exprimant une BLSE et MCR-1 de Suisse en médecine humaine.
- Identification de l'important réservoir de bacilles à Gram négatif exprimant des carbapénèmases en Lybie.
- Identification de l'importance du réservoir de *E. coli* exprimant des déterminants MCR en milieu animal au Portugal.
- Participation à l'étude des hôpitaux de Paris (21 000 lits, 6 ans) permettant d'identifier les facteurs contribuant à la diffusion et au contrôle des bactéries multirésistantes en milieu hospitalier.
- Identification de la diffusion épidémique de souches exprimant des associations de carbapénèmases et de 16S rRNA méthylases conférant la multirésistance à tous les aminosides en Suisse (KPC/RmtG et OXA-232/RmtF) soulignant la réalité de cette diffusion de souches qui progressent vers la panrésistance.
- Epidémiologie moléculaire des épidémies à *S. aureus* résistant à la méthicilline, à *E faecium* résistant aux glycopeptides et *P. aeruginosa* multirésistants.
- Etude de l'épidémiologie de *Pseudomonas aeruginosa* multirésistants par séquençage complet de génomes.
- Etude phylogéographique de la dispersion du clone de *Staphylococcus aureus* MRSA ST228 en Europe.
- Evaluation du *Whole genome Muli locus sequence typing* (wgMLST) pour l'investigation d'épidémies à *E. faecium* résistantes à la vancomycine.

## **8.2. Publications du 1<sup>er</sup> septembre 2017 au 1<sup>er</sup> septembre 2018**

1. **Nordmann P, Mazé A, Culebras E, Dobias J, Jayol A, Poirel L.** 2018. A culture medium for screening 16S rRNA methylase-producing pan-aminoglycoside resistant Gram-negative bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis* 91:118–122.
2. Potron A, Bernabeu S, Cuzon G, Pontès V, Blanchard H, Seringe E, Naas T, **Nordmann P, Dortet L.** 2017. Analysis of OXA-204 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae reveals possible endoscopy-associated transmission, France, 2012 to 2014. *Euro Surveill* 22.
3. **Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, Schink A-K, Kieffer N, Nordmann P, Schwarz S.** 2018. Antimicrobial resistance in *Escherichia coli*. *Microbiol Spectr* 6. doi: 10.1128/microbiolspec.

4. **Jayol A, Nordmann P, Poirel L**, Dubois V. 2018. Ceftazidime/avibactam alone or in combination with aztreonam against colistin-resistant and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother* 73:542–544.
5. **Garcia-Quintanilla M, Poirel L, Nordmann P**. 2018. CHROMagar mSuperCARBA and RAPIDEC® Carba NP test for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis* 90:77–80.
6. **Kieffer N, Poirel L**, Clerc O, Lienhard R, **Nordmann P**. 2018. Co-production of MCR-1 and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase in *Escherichia coli* recovered from urinary tract infections in Switzerland. *Infection* 46:143–144.
7. **Kieffer N**, Ahmed MO, Elramalli AK, Daw MA, **Poirel L**, Álvarez R, **Nordmann P**. 2018. Colistin-resistant carbapenemase-producing isolates among *Klebsiella* spp. and *Acinetobacter baumannii* in Tripoli, Libya. *J Glob Antimicrob Resist* 13:37–39.
8. Wibberg D, Salto IP, Eikmeyer FG, Maus I, Winkler A, **Nordmann P**, Pühler A, **Poirel L**, Schlüter A. 2018. Complete genome sequencing of *Acinetobacter baumannii* strain K50 discloses the large conjugative plasmid pK50a encoding carbapenemase OXA-23 and extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase GES-11. *Antimicrob Agents Chemother*,62;pii00212-18. Doi 10.1128/AAC.00212-18.
9. **Jayol A, Poirel L**, André C, Dubois V, **Nordmann P**. 2018. Detection of colistin-resistant Gram-negative rods by using the SuperPolymyxin medium. *Diagn Microbiol Infect Dis* 92:95-101.
10. Burnham C-AD, Leeds J, **Nordmann P**, O’Grady J, Patel J. 2017. Diagnosing antimicrobial resistance. *Nat Rev Microbiol* 15:697–703.
11. **Mancini S., Poirel L.**, Tritten M.L., Lienhard R., Bassi C., **Nordmann P**. (2017)\*. Emergence of an MDR *Klebsiella pneumoniae* ST231 producing OXA-232 and RmtF in Switzerland. *J Antimicrob Chemother*. in press. doi: 10.1093/jac/dkx428.
12. **Jayol A, Kieffer N, Poirel L**, Guérin F, Güneser D, Cattoir V, **Nordmann P**. 2018. Evaluation of the Rapid Polymyxin NP test and its industrial version for the detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 92 :90-94.
13. **Jayol A, Nordmann P**, André C, **Poirel L**, Dubois V. 2018. Evaluation of three broth microdilution systems to determine colistin susceptibility of Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother* 73:1272–1278.
14. Carroll LM, Zurfluh K, Jang H, Gopinath G, Nüesch-Inderbinnen M, **Poirel L**, **Nordmann P**, Stephan R, Guldemann C. 2018. First report of an *mcr-1* harbouring *Salmonella enterica* subsp. *enterica* serovar 4,5,12:i:- strain isolated from blood of a patient in Switzerland. *Int J Antimicrob Agents*, pii S0924-8579.
15. **Kieffer N, Nordmann P**, Moreno AM, Zanolli Moreno L, Chaby R, Breton A, Tissières P, **Poirel L**. 2018. Genetic and functional characterization of an MCR-3-like enzyme-producing *Escherichia coli* isolate recovered from Swine in Brazil. *Antimicrob Agents Chemother* doi: 10.1128/AAC.00278-18.
16. **Jayol A**, Saly M, **Nordmann P**, Ménard A, **Poirel L**, Dubois V. 2017. *Hafnia*, an enterobacterial genus naturally resistant to colistin revealed by three susceptibility testing methods. *J Antimicrob Chemother* 72:2507–2511.
17. **Poirel L, Goutines J**, Aires-de-Sousa M, **Nordmann P**. 2018. High rate of association of 16S rRNA methylases and carbapenemases in Enterobacteriaceae recovered from hospitalized children in Angola. *Antimicrob Agents Chemother*, 62 pii00021-18.

18. **Kieffer N**, Aires-de-Sousa M, **Nordmann P**, **Poirel L**. 2017. High rate of MCR-1-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* among pigs, Portugal. *Emerging Infect Dis* 23:2023–2029.
19. **Jayol A**, **Nordmann P**, Brink A, Villegas M-V, Dubois V, **Poirel L**. 2017. High-level resistance to colistin mediated by various mutations in the *crrB* gene among carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*, 61 pii 01423-17.
20. Racine E, **Nordmann P**, Pantel L, Sarciaux M, Serri M, Houard J, Villain-Guillot P, Demords A, Vingsbo Lundberg C, Gualtieri M. 2018. *In vitro* and *in vivo* characterization of NOSO-502, a novel inhibitor of bacterial translation. *Antimicrob Agents Chemother*, 62 pii 01016-18.
21. **Jayol A**, **Nordmann P**, André C, Dubois V, **Poirel L**. 2017. Increased colistin resistance upon acquisition of the plasmid-mediated *mcr-1* gene in *Escherichia coli* isolates with chromosomally encoded reduced susceptibility to polymyxins. *Int J Antimicrob Agents* 50:503–504.
22. Bouheraoua N, **Poirel L**, Bourreau B, Bonnin R, Laroche L, Naas T, **Nordmann P**. 2018. Integrase-mediated recombination of the *bel-1* gene cassette encoding the extended-spectrum  $\beta$ -Lactamase BEL-1. *Antimicrob Agents Chemother*, 62 pii00030-18.
23. Sully E.K., Geller B.L., Moody C.M., Bailey S.M., Moore A.L., Wong M., **Nordmann P.**, Daly S.M., Sturge C.R., Greenberg D.E. 2017. Peptide-conjugated phosphorodiamidate morpholino oligomer (PPMO) restores carbapenem susceptibility to NDM-1 positive pathogens in vitro and vivo. *J. Antimicrob. Chemother*, 72:782-790.
24. Zurfluh K, Nüesch-Inderbinen M, Klumpp J, **Poirel L**, **Nordmann P**, Stephan R. 2017. Key features of *mcr-1*-bearing plasmids from *Escherichia coli* isolated from humans and food. *Antimicrob Resist Infect Control* 6:91.
25. **Mancini S**, **Poirel L**, Corthesy M, Greub G, **Nordmann P**. 2018. *Klebsiella pneumoniae* co-producing KPC and RmtG, finally targeting Switzerland. *Diagn Microbiol Infect Dis* 90:151–152.
26. **Mancini S.**, **Poirel L.**, Tritten M.L., Lienhard R., Bassi C., **Nordmann P**. (2018). Emergence of an MDR *Klebsiella pneumoniae* ST231 producing OXA-232 and RmtF in Switzerland. *J Antimicrob Chemother*. in press.
27. **Poirel L**, **Kieffer N**, Fernandez-Garayzabal JF, Vela AI, **Larpin Y**, **Nordmann P**. 2017. MCR-2-mediated plasmid-borne polymyxin resistance most likely originates from *Moraxella pluranimalium*. *J Antimicrob Chemother* 72:2947–2949.
28. **Dénervaud-Tendon V**, **Poirel L**, Connolly LE, Krause KM, **Nordmann P**. 2017. Plazomicin activity against polymyxin-resistant Enterobacteriaceae, including MCR-1-producing isolates. *J Antimicrob Chemother* 72:2787–2791.
29. Pillonel T, **Nordmann P**, Bertelli C, Prod' Hom G, **Poirel L**, Greub G. 2018. Resistome analysis of a carbapenemase (OXA-48)-producing and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* strain. *Antimicrob Agents Chemother* 62 pii : e00076-18.
30. **Poirel L**, Aires-de-Sousa M, Kubyda P, **Kieffer N**, **Nordmann P**. 2018. Screening and characterization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria from a remote African area, São Tomé and Príncipe. *Antimicrob Agents Chemother* 62; pii:01021-18.
31. **Dénervaud Tendon V**, **Poirel L**, **Nordmann P**. 2017. Transferability of the *mcr-1* colistin resistance gene. *Microb Drug Resist* 23:813–814.

32. **Mancini S, Poirel L, Kieffer N, Nordmann P.** 2018. Transposition of Tn1213 encoding the PER-1 extended-Spectrum  $\beta$ -lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*, pii: 02452-17.
33. **Lescat M, Poirel L, Nordmann P.** (2018). Rapid multiplex PCR for detection of MCR-1 to MCR-5 genes. *Diagn Microbiol Infect Dis*. pii: S0732-8893(18)30123-8. doi: 10.1016.
34. Abdelbary MMH, Senn L, Moulin E, Prod'hom G, Croxatto A, Greub G, **Blanc DS.** 2018. Evaluating the use of whole-genome sequencing for outbreak investigations in the lack of closely related reference genome. *Infection, Genetics and Evolution* 59:1–6.
35. Treepong P, Kos VN, Guyeux C, **Blanc DS,** Bertrand X, Valot B, Hocquet D. 2018. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *Clin Microbiol Infect* 24:258–266.
36. Carlos Augusto de Oliveira Jr., Michelle de Paula Gabardo, Roberto Maurício Carvalho Guedes, Fabrice Poncet, **Blanc DS,** Francisco Carlos Faria Lobato, Rodrigo Otávio Silveira Silva. 2018. Rodents are carriers of *Clostridioides difficile* strains similar to those isolated from piglets. *Anaerobe* 51:61-63.
37. Rodrigo Otávio Silveira Silva, Carlos Augusto de Oliveira Júnior, **Blanc DS,** DS Silvia Trindade Pereira, Mário Cesar Rennó de Araujo, Artur Vasconcelos, Francisco Carlos Faria Lobato. 2018. *Clostridioides difficile* infection in dogs with chronic-recurring diarrhea responsive to dietary changes. *Anaerobe* 51:50-53

### 8.3. Conférences invitées

#### 8.3.1. Pr P. Nordmann

1. **ESCMID Postgraduate technical workshop**, 14-15 septembre 2017, Fribourg/Suisse. Pan-aminoglycoside resistance.
2. **ESCMID Postgraduate technical workshop**, 14-15 septembre 2017, Fribourg/Suisse. Rapid diagnostics of emerging antibiotic resistances.
3. **ESCMID Postgraduate technical workshop**, 14-15 septembre 2017, Fribourg/Suisse. Emerging antibiotic resistance, problems and solution.
4. **11<sup>th</sup> International symposium on the biology of *Acinetobacter***, 20-22 septembre 2017, Seville/Espagne. Multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*.
5. **Drug Resistance in Infectious Diseases**, 28-30 septembre 2017, Hambourg/Allemagne. Spread and evolution of broad spectrum  $\beta$ -lactamases.
6. **Colloque experts praticiens infectiologie**, 9-10 novembre 2017, Paris/France. Les  $\beta$ -lactamases et les inhibiteurs.
7. **60<sup>ème</sup> Journée de l'hôpital Claude Bernard**, 16 novembre 2017, Paris/France. EPC: optimisme ou réalisme?
8. **11<sup>th</sup> International congress of clinical microbiology**, 21-23 novembre 2017, Shiraz/Iran. New diagnostic methods in Microbiology Antibiotic stewardship and Antimicrobial Resistance.
9. **Les avancées en pneumologie 2017 Aztra Zeneca**, 1-2 décembre 2017, Paris/France. Antibiorésistance: la peste du XXI<sup>ème</sup> siècle?
10. **37<sup>ème</sup> Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse : (RICAI)** 18-19 décembre 2017, Paris/France. Résistances aux antibiotiques : émergences et impact clinique, bactéries à Gram négatif.

11. **Département des laboratoires formation continue**, 23 Janvier 2018, CHUV, Suisse. Résistance émergente aux antibiotiques, peste du XXI siècle?
12. **DZIF-/GRID-Seminar Series**, 25 Janvier 2018, Universität Giessen. Emerging antibiotic Resistance in 2018.
13. **NRP Antimicrobial Resistance**, 18-19 avril 2018, Nottwil, Suisse. Rapid diagnostic tests for detection of antibiotic resistance in clinically-significant Gram-negative bacteria.
14. **28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases**, 21-21 avril 2018, Madrid, Espagne. Stability of cefiderocol against clinically-significant broad-spectrum oxacillinases.
15. **Ateliers pluridisciplinaires de MSD en Infectiologie**, Résistances émergentes aux antibiotiques 15 mai 2018, Lyon, France.
16. **19ème journées Nationales d'infectiologie**, 13-15 juin 2018, Nantes, France. Gestion de l'antibiorésistance: Bilan de la résistance à la colistine en France.
17. **17th ESCMID Summer School**, 1-7 juillet 2018, Paris, France. Rapid diagnostic tests as useful tools for combating superbugs - recent developments.
18. **Annual Meeting Société Suisse de Microbiologie**, 28-30 aout 2018. Lausanne. Multidrug resistance et carbapenemase producers.
19. **Symposium Stockholm Dept Microbiology**, 26 aout 2018. Stockholm . Emerging Antibiotic Resistance

### 8.3.2. Dr L. Poirel

- 1- **ESCMID Postgraduate technical workshop, Emerging antibiotic resistance, problems and solutions**. 14-15 septembre 2017, Fribourg. Polymyxin resistance.
- 2- **17th European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) Summer School**, 1-7 juillet 2018, Paris, France. How to publish in a good journal.
- 3- **ASM Microbe 2018**, 7-11 juin 2018, Atlanta, USA. Migration des bactéries : Quels enjeux dans nos institutions de soins ?
- 4- **BEFRI Genomics Day**, 22 juin 2018, Fribourg. Prospective screening of acquired resistance to polymyxin antibiotics in *Escherichia coli* in the human population; identification of resistance mechanisms by use of next-generation sequencing.
- 5- **NRP Antimicrobial Resistance**, 18-19 avril 2018, Nottwil, Suisse. Resistance to polymyxins.

## 8.4. Présentations aux congrès

### 8.4.1. Nationaux

1. Alvarez Marin R, Aires de Sousa M, **Kieffer N, Nordmann P, Poirel L**. Evaluation of antimicrobial activity of octenidine against multidrug-resistant Gram-negative pathogens. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.
2. **Kieffer N, Nordmann P, Poirel L**. *In-vitro* study of IS*AplI*-mediated mobilization of the colistin resistance gene *mcr-1*. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.

3. **Kieffer N**, Dobias J, **Poirel L**, Stephan R, Decousser JW, Madec JY, **Nordmann P**. Rapid Polymyxin NP test for the detection of *mcr-1/mcr-2* mediated polymyxin resistance. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.
4. Mancini S, **Kieffer N**, **Poirel L**, **Nordmann P**. Transposition of Tn1213 encoding the PER-1 extended spectrum  $\beta$ -lactamase. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.
5. **Kieffer N**, **Nordmann P**, **Poirel L**. *Moraxella* as sources of MCR-like polymyxin resistance determinants. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017
6. Mancini S, Tritten ML, Lienhard R, Bassi C, **Poirel L**, **Nordmann P**. OXA-232- and RmtF-producing *Klebsiella pneumoniae* ST231 outbreak in Switzerland. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.
7. **Jayol A**, **Poirel L**, Dubois V, **Nordmann P**. Evaluation of three commercialized broth microdilution systems to determine colistin susceptibility in Gram negative rods. Annual meeting 2017 of the Swiss Societies for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017
8. **Jayol A**, **Poirel L**, Dubois V, **Nordmann P**. Evaluation of the Phoenix automated microbiology system to detect plasmid-mediated and chromosomally-encoded colistin resistance in *Enterobacteriaceae*. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017.
9. **Nordmann P**, Mazé A, Dobias J, **Jayol A**, **Poirel L**. Screening culture medium for multiple aminoglycoside-resistant Gram negatives. Annual meeting 2017 of the Swiss Society for Microbiology (SSM) Basel Aug 30<sup>th</sup>-Sept 1<sup>st</sup>, 2017
10. **Nordmann P**. Multidrug resistance and carbapenemase producers in Gram negative bacteria, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
11. **Mueller L**. Identification and characterization of the LysR-type transcription regulator FosR and its role in fosfomycin resistance in *Klebsiella pneumoniae*, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
12. **Kieffer N**, **Poirel L**, Moreno AM, Chaby R, Breton A, Tissieres P, **Nordmann P**. Genetic characterization of an MCR-3-like producing *Escherichia coli* recovered from swine, Brazil, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
13. **Kieffer N**, **Poirel L**, Fournier C, Haltli B, Kerr R.G, **Nordmann P**. The *Pseudobacteriovax antillogorgiicola* environmental bacterium as a source of the metallo-beta-lactamase PAN-1, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
14. **Kieffer N**, Guzmán Puche J, Jung Kang H, Ok Jeon C, **Poirel L**, **Nordmann P**. The *Zhongshania aliphaticivorans* marine bacterium as a source of the metallo-beta-lactamase ZHO-1, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
15. Ortiz J.M, **Nordmann P**, **Poirel L**. ISEcp1-mediated *in-vitro* transposition of CTX-M-14, CTX-M-15, and CTX-M-19 encoding genes, Annual congress 2018 of the Swiss society for Microbiology (SSM), CHUV Lausanne, August 28-30, 2018
16. Katleen Vranckx, Mohamed M. H. Abdelbary, Laurence Senn, **DS Blanc**. Comparison of wgMLST (BioNumerics) vs mapping and core-genome SNPs approach for the epidemiological investigations of vancomycin-resistant

- Enterococcus faecium*. Société Suisse de Microbiologie, 28-30 août 2018, Lausanne.
17. Eléonore Bulliard, Bruno Grandbastien, Laurence Senn, Gilbert Greub, **DS.Blanc**. Significant variation in the performances of three successive generations of a rapid test for MRSA screening. Société Suisse de Microbiologie, 28-30 août 2018, Lausanne.
  18. Bárbara Magalhães, Mohamed M. H. Abdelbary, Guy Prod'hom, Gilbert Greub, Laurence Senn, **DS. Blanc**. Investigation of an increase in *Pseudomonas aeruginosa* incidence in ICUs using whole genome sequencing. Société Suisse de Microbiologie, 28-30 août 2018, Lausanne.
  19. Mohamed M. H. Abdelbary, Edward J. Feil, Laurence Senn, Christiane Petignat, Guy Prod'hom, Jacques Schrenzel, Patrice François, Gesuele Renzi, Guido Werner, Franziska Layer, Birgit Strommenger, Annalisa Pantosti, Monica Monaco, Olivier Denis, Ariane Deplano, Ana Budimir, Smilja Kalenic, Nicola C. Gordon, Anna E. Sheppard, Derrick W. Crook, Hajo Grundmann, **DS Blanc**. Phylogeographical analysis reveals the historic origin, emergence and evolutionary dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST228 in Switzerland. Société Suisse de Microbiologie, 28-30 août 2018, Lausanne.

#### 8.4.2. Internationaux

- 1- **Jayol A, Nordmann P, Poirel L**, Dubois V. Tests diagnostiques et résistance, Evaluation of commercialized broth microdilution systems to determine colistin susceptibility, Réunion Interdisciplinaire de Chimiothérapie Anti-Infectieuse (RICAI), Paris, Dec 18-19, 2017.
- 2- **Poirel L**, Bourrel A, Royer G, Darty M, Denamur E, **Nordmann P**. Prevalence and genetic features of *mcr* genes among colistin-resistant *Escherichia coli* strains recovered from intestinal carriage: results from a French prospective multicentric study, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 3- **Jayol A, Poirel L, Nordmann P**. Detection of colistine-resistance in Gram-negative rods with the SuperPolymyxin medium, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 4- **Poirel L**, Aires de Sousa M, Kudyba P, **Nordmann P**. Carbapenem-and pan-aminoglycoside resistant Enterobacteriaceae from hospitalized patients, Sao Tome and Principe, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 5- **Kieffer N, Nordmann P**, Fournier C, Haltli B, Kerr R, Poirel L. PAN-1, a metallo-beta-lactamase identified from the environmental bacterium *Pseudobacteriovax antillogorgiicola*, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 6- **Mueller L**, Mancini S, **Poirel L, Nordmann P**. Identification and characterization of the LysR-type transcription regulator FosR and its role in fosfomycin resistance in *Klebsiella pneumoniae*, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 7- **Nordmann P, Vazquez-Rojo L, Poirel L**. Stability of cefiderocol against clinically-significant broad-spectrum oxacillinases, European Congress of

- Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
- 8- **Jayol A, Poirel L, Nordmann P.** Detection of fecal carriage of colistin-resistant Gram-negative rods using the SuperPolymyxin medium, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 9- **Poirel L, Mancini S, Kieffer N, Nordmann P.** Transposition of Tn1213 encoding the PER-1 extended-spectrum beta-lactamase, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 10- Ramette A, Zbinden R, Schrenzel J, **Nordmann P**, Perisa D, Kronenberg A. Prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Switzerland from 2013 to 2017, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 11- Fyfe C, Barry R, Close B, Kerstein K, **Nordmann P**, Newman J. Eravacycline is active against bacterial isolates carrying emergent resistance types, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 12- **Poirel L**, Aires De Sousa M, Goutines J, **Nordmann P.** High rate of carbapenemase and 16S rRNA methylase producers among enterobacterial isolates recovered from hospitalized children, Angola, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 13- **Poirel L, Kieffer N**, Moreno A, Chaby R, Breton A, Tissieres P, **Nordmann P.** Genetic characterization of an MCR-3-like producing *Escherichia coli* recovered from swine, Brazil, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 14- **Poirel L.** The transposon perspective during the outbreak in Colombia, European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, (ECCMID), Madrid, Spain, April 21-24, 2018.
  - 15- **Poirel L**, Aires-de-Sousa M, Kudyba P, **Nordmann P.** Occurrence of Enterobacteriaceae exhibiting both carbapenem- and pan-aminoglycoside resistance in Sao Tome and prncipe, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 16- **Kieffer N, Poirel L**, Fournier C, Haltli B, Kerr R.G, **Nordmann P.** The *Pseudobacteriovax antillogorgiicola* environmental bacterium as a source of the metallo-Beta-lactamase Pan-1, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 17- Grossmann T, Leggio M, Remy J, Bhattacharjee A, Ippolito J, Kanyo Z, **Nordmann P**, Duffy E. Advanced pyrrolocytosine leads are potent *in vitro* against Enterobacteriaceae expressing the plasmid-mediated colistin-resistance gene, *mcr-1*, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 18- **Poirel L**, Aires-de-Sousa M, Goutines J, **Nordmann P.** High-level resistance to aminoglycosides and carbapenems among enterobacterial isolates, Angola; Co-Occurrence of 16s rRNA methylases and carbapenemases, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 19- Fyfe C, Barry R, Close B, Kerstein K, **Nordmann P**, Newman J. Tp-6076 is active against bacterial isolates carrying emergent resistance types, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 20- **Poirel L, Kieffer N**, Micke Moreno A, Chabit R, Breton A, Tissières P, **Nordmann P.** Genetic and biochemical characterization of MCR-3.11

- conferring resistance to colistin in *Escherichia coli*, Brazil, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
- 21- **Poirel L**, Bourrel A, Royer G, Darty M, Denamur E, Decousser J-W. Colistin resistant *Escherichia coli* intestinal carriage: Prevalence and genetic characteristics from a French prospective multicentric study, ASM Microbe 2018, Atlanta, USA, June 7-11, 2018.
  - 22- Katleen Vranckx, Mohamed M. H. Abdelbary, Laurence Senn, **Dominique S. Blanc**. Comparison of wgMLST (BioNumerics) vs mapping and core-genome SNPs approach for the epidemiological investigations of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium*. ECCMID 21-24 April 2018, Madrid
  - 23- Eléonore Bulliard, Bruno Grandbastien, Laurence Senn, Gilbert Greub, **Dominique S. Blanc**. Significant variation in the performances of three successive generations of a rapid test for MRSA screening. ECCMID 21-24 April 2018, Madrid
  - 24- Bárbara Magalhães, Mohamed M. H. Abdelbary, Guy Prod'hom, Gilbert Greub, Laurence Senn, **Dominique S. Blanc**. Investigation of an increase in *Pseudomonas aeruginosa* incidence in ICUs using whole genome sequencing. ECCMID 21-24 April 2018, Madrid.
  - 25- Mohamed M. H. Abdelbary, Edward J. Feil, Laurence Senn, Christiane Petignat, Guy Prod'hom, Jacques Schrenzel, Patrice François, Gesuele Renzi, Guido Werner, Franziska Layer, Birgit Strommenger, Annalisa Pantosti, Monica Monaco, Olivier Denis, Ariane Deplano, Ana Budimir, Smilja Kalenic, Nicola C. Gordon, Anna E. Sheppard, Derrick W. Crook, Hajo Grundmann, **Dominique S. Blanc**. Phylogeographical analysis reveals the historic origin, emergence and evolutionary dynamics of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST228 in Switzerland. ECCMID 21-24 April 2018, MadridG.
  - 26- Chaillou, P. Bressin, L. Senn, G. Prod'Hom, **DS. Blanc**, B. Grandbastien. Portage de BMR chez les patients hospitalisés à l'étranger : expérience d'un dépistage systématique dans un centre hospitalier universitaire entre 2014 et 2017. Société Française d'Hygiène Hospitalière, 6-6 juin 2018, Montpellier

## **9. RELATIONS INTERNATIONALES**

Nous avons poursuivi le développement de nos relations internationales notamment grâce à notre Laboratoire Européen Associé au sein de l'Unité INSERM UMR1137 (France). Nous sommes en particulier en cours de réalisation d'une vaste étude ayant pour objet d'analyser la diffusion de la résistance aux polymyxines dans cinq hôpitaux parisiens, ce qui va permettre de connaître l'étendue réelle de cette résistance en médecine humaine. Nous poursuivons également nos collaborations avec le Centre National Français des Résistances Emergentes aux Antibiotiques (que nous avons contribué à créer en 2012) sur la caractérisation et l'épidémiologie des souches productrices de carbapénèmases (*Dortet L, Cuzon G, Ponties V, Nordmann P. Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. Euro Surveill 2017;22. doi:10.2807/1560-7917.ES.2017.22.6.30461.*) Au Portugal, nous avons mené des travaux sur l'épidémiologie de la résistance aux polymyxines dans le monde animal. Sur le plan

européen nous participons à un réseau de surveillance de la diffusion des souches productrices de carbapénèmases sous le patronage du ECDC de Stockholm. (Grundmann H, Glasner C, Albiger B, Aanensen DM, Tomlinson CT, Andrasević AT, Cantón R, Carmeli Y, Friedrich AW, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Nordmann P, Poirel L, Rossolini GM, Seifert H, Vatopoulos A, Walsh T, Woodford N, Monnet DL; European Survey of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE) Working Group. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect Dis* 2017;17:153–63. doi:10.1016/S1473-3099(16)30257).

En dehors du continent européen, au-delà des partenariats universitaires et industriels déjà développés sur les cinq continents (incluant la participation aux comités d'organisation de plusieurs congrès internationaux et aux comités éditoriaux de plusieurs journaux scientifiques), nous avons développé en 2017 de nouvelles relations scientifiques avec des collègues de Singapour, de Birmanie, du Brésil, d'Angola, de Sao Tomé et Príncipe, de Thaïlande, d'Indonésie et dernièrement d'Iran.

Enfin nous débutons un projet intitulé « *Escherichia coli* ST131: a model for high-risk transmission dynamics of antimicrobial resistance » en tant que partenaire au sein du projet international JPI-AMR (dirigé par le Pr J. Pitout, Calgary, Canada), en partenariat avec des équipes de France, d'Espagne, et du Royaume-Uni. Notre rôle est de mieux comprendre quels sont les facteurs qui peuvent influencer les événements génétiques à l'origine de l'acquisition des gènes codant pour les  $\beta$ -lactamases à spectre étendu de type CTX-M dans le clone pandémique mondial de *E. coli* ST131.

## **10. ACTIVITES DE COMMUNICATION**

Un symposium international sur les résistances émergentes aux antibiotiques a été organisé les 24 et 25 septembre 2017 à l'Université Fribourg. Il s'agissait du premier symposium sur ce sujet organisé en Suisse. Il était sous le patronage de la Société Européenne de Microbiologie et Maladies Infectieuses (ECCMID) qui émet notamment les recommandations européennes de l'étude des sensibilités aux antibiotiques (EUCAST) et qui sont ensuite appliquées par le SAC en Suisse. Ce symposium s'adressait à tous personnels intéressés (infectiologues, microbiologistes, OFSP, VetSuisse, SAC, ANRESIS...) (85 personnes), de favoriser les transferts de compétence théoriques et technologiques et de contribuer ainsi à l'une des missions du NARA, celle de la formation continue et de la sensibilisation aux résistances émergentes aux antibiotiques. Ce symposium incluait une après-midi de démonstration en pratique des tests de diagnostic rapide des résistances émergentes aux antibiotiques.

85 personnes ont participé à ce symposium dont la moitié provenaient de Suisse (hôpitaux et structures privés de soin).

Une journée Workshop Franche Comté/Vaud a été également organisée sur la thématique *Pseudomonas aeruginosa* le 21 janvier 2018 à Lausanne auquel le Prof P. Nordmann a participé. Il collabore activement avec ANRESIS et le programme STAR du BAG à Berne. Au niveau européen, P. Nordmann prend part au groupe d'experts de l'European Antibiogram Committee et au comité d'organisation de la « RICAI » Réunion de Chimiothérapie Anti-Infectieuse, le 1er congrès français de Microbiologie Médicale et Infectiologie.

## **11. GESTION DU NARA**

L'ensemble des souches reçues pour expertise a été conservé à -80°C dans les congélateurs prévus à cet effet. L'ensemble des données obtenues est disponibles sous forme Word/Excel pour l'OFSP qui en ferait la demande.

A la demande du SAC, le NARA se tient prêt à envoyer toute souche résistante aux antibiotiques qu'il posséderait pour un contrôle de qualité.

## **12. CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

Le NARA est en pleine expansion depuis sa création début 2107 avec des activités multiples et très diverses notamment de mises au point et de validation des techniques d'étude rapides des résistances émergentes aux antibiotiques. Il développe constamment les nouveaux outils et tests de diagnostic des résistances émergentes et évalue de nouveaux antibiotiques et antiseptiques. Le nombre des demandes ainsi que la variété de ces demandes sont en forte progression et témoignent de l'importance stratégique de ce centre de référence dans le système de santé de Suisse. Les objectifs nationaux d'expansion d'activité vers la Suisse alémanique et la Suisse italophone sont en voie d'être atteints. L'autorisation d'exploitation par SwissMedic a été obtenu en aout 2018. Le NARA a acquis désormais une réputation internationale de centre d'excellence dans ce domaine.

La mise en place en 2018 d'un site internet NARA va permettre d'y joindre non seulement les résultats du NARA mais également les techniques d'étude des résistances émergentes aux antibiotiques qui seront désormais aisément accessibles. Ces techniques sont d'ores et déjà disponibles pour tous les laboratoires qui en feraient

la demande. Si les relations avec ANRESIS sont fréquentes, le NARA espère que le SAC reprendra ses activités dès 2019 car le SAC constitue un relai pour la diffusion des techniques d'études et des tests rapides que le NARA a mis au point. Le NARA continuera bien sûr à se déployer au sein des activités du programme StaR du BAG.

L'analyse des souches productrices de carbapénèmases et reçues au NARA indique un nombre élevé de souches de *K. pneumoniae* exprimant une carbapénémase de type KPC. Il s'agit de souches hospitalières le plus souvent qui, si elles sont screenés tôt, devraient être controllables. Par contre, une tendance à la diffusion de souches de *E. coli* OXA-48 ou de *E. coli* NDM est notable. La localisation de ces carbapénèmes dans l'espèce *E. coli* fait craindre une diffusion communautaire, c'est-à-dire une diffusion très difficilement contrôlable sur le long terme.

A partir du 1<sup>er</sup> janvier 2019, toute souche de bacilles à Gram négatif exprimant une carbapénémase sera envoyée au laboratoire du NARA pour une identification/confirmation. Ceci permettra d'identifier rapidement et avec certitude les souches productrices de carbapénèmases et de repérer tout phénomène épidémique débutant dans des villes ou cantons parfois éloignés les uns des autres. Ces souches bénéficieront d'un screening additionnel de la résistance aux polymyxines et de la panrésistance à tous les aminosides. Cette identification complémentaire permettra d'identifier le plus rapidement possibles des souches dont l'évolution et la diffusion vers la toto-résistance deviennent désormais possible sur le territoire helvétique. Le NARA recommande de tester systématiquement ces deux traits de résistance qui peuvent être associées aux carbapénèmases.

Sur le plan général, on assiste actuellement en Suisse à une diffusion des souches de bacilles à Gram négatif multirésistantes. Ces souches sont très rarement autochtones. Elles proviennent essentiellement de transferts interhospitaliers de pays lointains mais parfois très proches de la Suisse comme l'Italie ou la Grèce. Le NARA recommande très fortement que le screening de ces bactéries multirésistantes soit fait systématiquement chez tous patients à risque (éanimations...).

Dans les deux dernières années, la crainte d'une diffusion plasmidique de la résistance aux polymyxines a fait surface. Les résultats du NARA comme ceux d'autres équipent montrent désormais que cette résistance plasmidique (de type MCR) est très rare dans les souches humaines d'entérobactéries. Ces déterminants de type MCR sont présents essentiellement dans les souches animales résultant d'une sélection par utilisation importante de la colistine dans le monde animal. Par contre, la résistance chromosomique chez *K. pneumoniae* est observée en Suisse dans de multiples souches

qui produisent également une carbapénèmase et dont l'origine est souvent italienne. Une propre étude du NARA qui vient d'être finalisée montre que dans un collectif de souches de *K. pneumoniae* du Tessin productrices de carbapénèmases (2010-2018, n=92), 18% des souches étaient également résistantes aux polymyxines. La prévention de la diffusion hospitalière de ce type de souches devient un impératif actuel pour la Suisse.

Enfin, la mise au point puis l'utilisation de tests de diagnostic rapide des résistances émergentes associées aux mesures traditionnelles d'hygiène (isolement, lavage des mains) seront les pivots de la stratégie de contrôle des résistances aux antibiotiques pour la Suisse, en évitant une large diffusion des souches multi résistantes, au moins dans le système hospitalier. Cette stratégie est à appliquer en médecine humaine. Le réservoir animal ne joue qu'un rôle très mineur dans la création des résistances émergentes que l'on observe en médecine humaine. Cette stratégie devrait peut-être permettre de gagner du temps en limitant autant que possible la diffusion de ces résistances ce qui permettrait d'attendre le développement de nouveaux antibiotiques qui seraient efficaces sur ces bactéries à Gram négatif multirésistantes. La Suisse doit donc absolument garder son « retard » en termes de taux de résistances par rapport à ceux déjà observés chez ses principaux partenaires européens !