

RAPID POLYMYXIN NP

Détection de la sensibilité et de la résistance
des entérobactéries aux polymyxines (colonie et hémoculture)

10 tests (REF 23000)

Pour diagnostic *in vitro* uniquement, pour usage professionnel seulement

CPB 0405_FR-2018-02



1 - BUT

Le test Rapid Polymyxin NP permet de détecter la sensibilité et la résistance des entérobactéries vis-à-vis des polymyxines (polymyxine E ou colistine, et polymyxine B) à partir d'une culture bactérienne sur milieu gélosé ou d'une hémoculture positive.

2 - INTERET

Le développement des bactéries multi-résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques (dites bactéries multi-résistantes ou BMR) représente un enjeu de santé publique en réduisant dramatiquement les options thérapeutiques de traitement et en augmentant le taux de mortalité dans les unités de soins intensifs. Parmi les BMR, les Entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* ou autres espèces) représentent la source principale d'infections à BMR à bacilles à gram négatif. Elles sont responsables de la plupart des infections communautaires (urinaires, pulmonaires, intra-abdominales, sanguines) et nosocomiales. De plus, leur résistance acquise aux β -lactamines (pénicillines, céphalosporines, monobactam) et au spectre étendu des aminoglycosides et quinolones est de plus en plus rapportée dans le monde.

Ce développement des bactéries BMR a ravivé l'intérêt porté à une ancienne classe d'antibiotiques, les polymyxines (polymyxine E ou colistine, et polymyxine B), qui sont généralement considérées comme molécules de dernier recours.

Cependant, l'utilisation croissante de la colistine conduit aujourd'hui à l'émergence et à la multiplication de nouvelles souches d'Entérobactéries multi-résistantes à la colistine et aux carbapénèmes, et constitue une nouvelle menace pour la pérennité d'un arsenal thérapeutique efficace. Le contrôle des impasses thérapeutiques et la maîtrise des risques infectieux dans des contextes cliniques nécessitent donc une évaluation rapide des profils de sensibilité et de résistance des souches bactériennes à la colistine.

Les méthodes actuellement disponibles pour cette détermination de sensibilité ou de résistance à la colistine ne sont pas adaptées aux besoins cliniques et hospitaliers. Elles sont jugées fastidieuses, longues (24h, CMI en milieu liquide) ou manquant de fiabilité comme le cas des méthodes de diffusion sur gélose.

Le test Rapid Polymyxin NP permet de définir la résistance des entérobactéries à la colistine en moins de 3 h et ce de façon sensible et spécifique. Ce test est rapide, simple à utiliser, facile à lire et adapté à tous les laboratoires d'analyses. Il utilise une méthode liquide de détection de l'ensemble des résistances phénotypiques, qui permet la mise en place immédiate d'une antibiothérapie appropriée ou l'identification de sujets porteurs de souches résistantes à la colistine afin de limiter les risques de diffusion épidémique.

3 - PRINCIPE

Le test Rapid Polymyxin NP est basé sur le principe décrit par Nordmann, Jayol et Poirel (1-2-3). Cette méthode en milieu liquide s'appuie sur la détection colorimétrique de la métabolisation rapide du glucose, liée à la croissance bactérienne, en présence d'une concentration définie de colistine.

L'acidification du milieu de culture due à cette croissance est visualisée par le virage de couleur de l'orange vers le jaune de l'indicateur de pH (rouge de phénol).

4 - REACTIFS

| Description | Quantité |
|--|----------|
| RP NaCl : Flacon de 3 mL de milieu liquide contenant 0.85 g/L de NaCl pour la préparation de l'inoculum | 12 |
| RP Medium : Flacon de 1.5mL de milieu de culture pour entérobactéries, à base de bouillon Mueller-Hinton (25 g/L) ajusté en cations, de glucose à 10 g/L, et de rouge de phénol (50 mg/L) comme indicateur de pH | 10 |
| RP galeries colistine : Galerie contenant un puits de contrôle négatif C-, un puits Test contenant de la colistine à la concentration de 2 μ g/mL et un puits Contrôle de croissance bactérienne C+. Galerie conditionnée en sachet aluminium avec un dessiccant intégré. | 10 |
| RP TC (Turbidity Control) : Flacon de 3 mL de solution de sulfate de baryum servant de témoin de turbidité | 1 |
| Closing System : Couvercle protecteur de la galerie ensemencée en plastique translucide | 10 |

5 - PRECAUTIONS D'EMPLOI

Les réactifs de ce coffret sont destinés au diagnostic *in vitro* uniquement et doivent être manipulés par des personnes habilitées.

Les prélèvements, cultures bactériennes et les réactifs ensemencés sont potentiellement infectieux, ils doivent être manipulés avec les précautions d'usage en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur dans le pays d'utilisation pour ce type de produit.

L'utilisation d'un poste de sécurité microbiologique (PSM) est recommandée.

Ne pas utiliser les réactifs au-delà de la date de péremption.

Les réactifs doivent être stockés à des températures comprises entre +2 et +8°C.

Ne pas utiliser les réactifs endommagés ou mal conservés avant utilisation.

Ne pas utiliser de flacons RP Medium montrant des signes de fuites.

Les résultats obtenus avec le test Rapid Polymyxin NP traduisent la sensibilité ou la résistance à la colistine des souches d'entérobactéries présentes dans le prélèvement, mais ne peuvent servir seuls à effectuer un diagnostic clinique. Celui-ci doit être réalisé par le médecin en fonction des résultats biologiques et des signes cliniques.

6 - RECUEIL DES ECHANTILLONS

Les microorganismes à tester doivent avoir été isolés préférentiellement sur des milieux de culture non-acide type Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia agar 5% sang de mouton, Chocolate agar-PolyVitek, Eosin Methylene Blue agar ou géloses chromogéniques. Sont exclus de la liste de ces milieux par exemple les géloses de type Drigalski. La réalisation du test doit être effectuée à partir de colonies obtenues récemment (15 h à 24 h d'incubation). Les entérobactéries provenant de prélèvements sanguins peuvent être testées directement à partir d'hémocultures monomicrobiennes incubées en condition aérobie ou anaérobie.

7 - PREPARATION ET CONSERVATION DES REACTIFS

Tous les réactifs fournis sont prêts à l'emploi. Le kit et les réactifs conservés à +2/+8°C dans leur conditionnement d'origine sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret.

Les réactifs RP Medium et RP NaCl sont à usage unique. Si le réactif RP TC est utilisé pour la calibration des inocula à partir des colonies isolées, il doit être conservé jusqu'à l'utilisation du dernier réactif RP Medium du kit.

Le réactif RP TC doit être stocké à +2/+8°C et à l'abri de la lumière.

8 - REACTIF ET MATERIEL REQUIS MAIS NON FOURNIS

Récipients pour déchets contaminés

Densitomètre

Pipette et cônes

Etuve qualifiée à +36°C/+2°C

9 - MODE OPERATOIRE

9.1 TEST A PARTIR DE COLONIES ISOLEES SUR MILIEU GELOSE

Le phénotype de bactérie GRAM négatif doit être vérifié par la réalisation d'une coloration de GRAM.

Le test doit être réalisé uniquement à partir des colonies identifiées comme étant des Entérobactéries et excluant notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Amener les réactifs à température ambiante pendant 10 min. Pré-incuber pendant 10 min à 37°C le RP Medium.

Retirer l'adhésif recouvrant la partie basse de la galerie (puits 1, 2 et 3).

• **Préparation du contrôle négatif :**

Distribuer dans le puits C- n° 1:

-75 μ L RP Medium non ensemencé

-25 μ L de RP NaCl non ensemencé

• **Préparation de la suspension bactérienne dans le flacon RP NaCl :**
Piquer trois à quatre colonies isolées identiques à l'aide d'une oese à 10 μ l ou d'une pipette Pasteur bouchée.

Les décharger dans un flacon de RP NaCl et bien homogénéiser.

• **Standardisation de l'inoculum:**

Il est recommandé de réaliser la standardisation de l'inoculum à l'aide d'un densitomètre. Cependant, un flacon RP TC est mis à disposition sous conditions de bonnes pratiques d'utilisation (voir paragraphe *flacon RP TC*).

- **A l'aide d'un densitomètre**

Vérifier à l'aide d'un densitomètre que la turbidité du milieu ensemencé est comprise entre 3 et 3,5 Mac Farland (Mc F). Il convient de prendre en compte la valeur la plus basse obtenue en tournant le flacon dans l'appareil.

Si le Mc F est inférieur à 3 (inoculum insuffisant), réensemencer le flacon jusqu'à l'obtention d'un McF compris entre 3 et 3,5. Si le Mc F est supérieur à 3,5 (inoculum trop riche), diluer à l'aide d'un nouveau flacon RP NaCl jusqu'à obtention d'une opacité correcte. 2 flacons RP NaCl supplémentaires sont inclus à cet effet dans le coffret et doivent être jetés après utilisation.

En cas d'incompatibilité entre le flacon RP NaCl fourni et le densitomètre, il est recommandé de :

- transvaser le contenu dans un tube compatible avec l'appareil,

- obtenir une valeur à 0 Mc F,

- puis ajouter les colonies jusqu'à obtention d'un Mc F à 3-3,5.

- **Par rapport au flacon RP TC**

Cette méthode de lecture visuelle peut être subjective et demande une bonne pratique de laboratoire pour s'assurer de la fiabilité de l'obtention d'un Mc F à 3-3,5 dans le flacon RP NaCl inoculé.

Afin de garantir l'obtention de la densité optique attendue du flacon RP NaCl inoculé par comparaison au trouble du RP TC fourni, il est nécessaire de valider le procédé de réalisation du trouble de l'inoculum.

Méthodologie:

Ajuster l'opacité du milieu ensemencé à celle du contrôle de turbidité RP TC en s'aidant des traits noirs de l'étiquette du flacon. Si nécessaire d'ajuster le trouble, opérer comme indiqué précédemment.

• Préparation de l'inoculum dans le RP Medium et distribution dans la galerie :

-Transférer 500 µL de RP NaCl ensemencé dans le flacon RP Medium.
-Bien homogénéiser et distribuer le RP Medium ensemencé :
-100 µL dans les puits Test n°2 (contenant la colistine)
-100 µL dans les puits n°3 de contrôle de croissance bactérienne C+ (sans colistine)
Recouvrir la galerie en enclenchant le couvercle "closing system".
Identifier la galerie avec les références de l'échantillon testé.
Incuber la galerie à +36 +/- 2 °C pendant 2 à 3 h.
Une première observation peut être effectuée au bout de 2h d'incubation (voir condition de lecture et d'interprétation du résultat final paragraphe 10 – Lecture et interprétation).

9.2 TEST A PARTIR DE BOUILLON D'HEMOCULTURE POSITIVE

Le test doit être réalisé uniquement à partir d'une hémoculture monomicrobienne positive contenant une Entérobactérie (et excluant notamment *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*) identifiée par MALDI TOF.

Amener les réactifs à température ambiante (+18 +25 °C) pendant 10 min. Pré-incuber pendant 10 min à 37°C le RP Medium.

Retirer l'adhésif recouvrant la partie basse de la galerie (puits 1,2 et 3).

Préparation du contrôle négatif :

Distribuer dans les puits C- n° 1:

- 75 µL de RP Medium non ensemencé

- 25 µL de RP NaCl non ensemencé

Préparation de la suspension bactérienne dans le flacon RP NaCl :
Transférer 300 µL d'hémoculture positive monomicrobienne dans le flacon RP NaCl
Bien mélanger

Préparation de l'inoculum dans le RP Medium et distribution dans la galerie :

Transférer 500 µL de RP NaCl ensemencé dans le flacon RP Medium

Bien homogénéiser et distribuer le RP Medium ensemencé :

- 100 µL dans les puits Test n°2 (incluant la colistine)

- 100 µL dans les puits n° 3 de contrôle de croissance bactérienne C+ (sans colistine)

Recouvrir la galerie en enclenchant le couvercle "closing system". Identifier la galerie avec l'échantillon testé.

Incuber la galerie à +36 +/- 2 °C **pendant 2 à 4 heures**. Une première observation peut être effectuée au bout de 2h d'incubation (voir condition d'interprétation du résultat final paragraphe 10 – Lecture et interprétation).

10 - LECTURE ET INTERPRETATION

La lecture des résultats repose sur l'identification et la comparaison de la couleur du puits Test avec celles des puits C + et C-.

Contrôle négatif de lecture (puits contrôle négatif C- n°1) :

Le puits de contrôle négatif n°1 (C-) présente la couleur initiale (orange) du milieu. L'appréciation d'un changement de couleur du puits Test est réalisée par rapport à ce contrôle.

Si le puits C- présente une coloration jaune, il est invalide. Dans ce cas ne pas interpréter le résultat et répéter le test.

Validation (puits contrôle positif C+ n°3) :

Vérifier que le milieu correspondant au contrôle de croissance bactérienne (C+) a viré au jaune.

Lecture et interprétation du puits Test n°2 :

Un changement de couleur du milieu, initialement orange, au jaune/orange ou jaune traduit la capacité de la souche à se développer à la concentration de 2 µg/mL de colistine.

Par contre, l'absence de changement de couleur du milieu indique que le développement de la souche a été inhibé à la concentration de 2 µg/mL de colistine.

• Inoculum issu de colonies isolées

Effectuer une première observation après 2h d'incubation.

Si le puits contrôle positif C+ (puits n°3, contrôle de croissance bactérienne) présente un virage au jaune, alors réaliser une lecture du puits tests (puits n°2) :

1/ si le puits TEST est jaune (ou jaune/orange) et de coloration plus claire que le puits contrôle négatif C- (puits n°1) alors la souche est résistante à la colistine

2/ si le puits TEST est orange (de coloration orange d'intensité égale au puits C- n°1) alors ré-incuber la galerie pendant 1 heure afin de réaliser une nouvelle lecture. Le résultat définitif est rendu à 3h d'incubation.

• Inoculum issu d'hémocultures positives

Effectuer une première observation après 2h d'incubation.

Si le puits contrôle positif C+ (puits n°3, contrôle de croissance bactérienne) présente un virage au jaune, alors réaliser une lecture du puits Test (puits n°2) :

1/ Si le puits TEST est jaune (ou jaune/orange) et de coloration plus claire que le puits contrôle négatif C- (puits n°1) alors la souche est résistante à la colistine

2/ si le puits TEST est orange (de coloration orange d'intensité égale au puits C- n°1) alors ré-incuber la galerie pendant 2 heures afin de réaliser une nouvelle lecture. Le résultat définitif est rendu à 4h d'incubation.

Aucune concentration critique n'est actuellement disponible selon le référentiel CLSI (4-5) pour les Entérobactéries. Les souches sont donc qualifiées de sensibles ou résistantes vis-à-vis de la colistine selon les critères d'interprétations préconisées par le référentiel EUCAST (6):

-une souche d'Entérobactérie de CMI à la colistine ≤ 2 µg/mL est définie comme sensible (croissance bactérienne inhibée; coloration orange du milieu).

-une souche d'Entérobactérie de CMI à la colistine CMI >2 µg/mL est catégorisée comme résistante (croissance bactérienne non inhibée; coloration jaune/orange ou jaune du milieu).

11 - CONTROLE DE QUALITE

Un contrôle du test peut être réalisé avec des souches de collection:

- *Escherichia coli* ATCC 25922, souche **sensible** à la colistine après 2h d'incubation (puits C- orange, **puits TEST orange**, puits C+ jaune)

- *Proteus mirabilis* ATCC 25933, souche **résistante** à la colistine après 2h d'incubation (puits C- orange, **puits TEST jaune**, puits C+ jaune)

- *Escherichia coli* NCTC 13846 (mcr1 positive), souche **résistante** à la colistine après 2h d'incubation (puits C- orange, **puits TEST jaune**, puits C+ jaune).

12 - CAUSES D'ERREURS - CAS PARTICULIERS

L'ensemencement des puits doit se faire dans les 60 min après la réalisation de la suspension bactérienne à la turbidité de Mc F 3-3,5 dans le réactif RP NaCl.

Le virage de couleur du contrôle positif (puits n°3) de la galerie avant les 2 heures d'incubation ne signifie pas que les résultats des puits tests sont interprétables.

Une lecture prématurée, avant les 2h d'incubation préconisées, peut entraîner un résultat erroné : une fausse sensibilité à la colistine pour une souche résistante.

Si le contrôle positif de la galerie (puits n°3) ne présente pas le virage coloré attendu (jaune), alors aucun puits ne peut être interprété. Un nouveau test doit être réalisé.

Il est impératif de ne pas dépasser des temps d'incubation pour la lecture des résultats définitifs: respectivement de **3 h pour les tests réalisés à partir d'inoculum issus de colonies isolées et de 4h pour ceux réalisés à partir d'hémocultures positives**.
Pour les hémocultures, il est impératif de respecter le temps d'incubation recommandé de 2h à 4h.

La présence simultanée d'une souche sensible et d'une souche résistante d'une même espèce d'entérobactérie dans le bouillon d'hémoculture ne masque pas la détection de la souche résistante.

La présence d'une souche d'entérobactérie sensible à la colistine peut masquer la détection de la résistance d'une autre espèce d'entérobactérie naturellement résistante et présente simultanément dans le bouillon d'hémoculture.

Les prélèvements sanguins doivent être testés à partir d'hémocultures monomicrobiennes.

13 - LIMITES DE LA METHODE

Les colonies bactériennes à tester ne doivent pas avoir été isolées sur des géloses dont le principe est la révélation de l'acidification du milieu (ex : Drigalski, bromocresol purple (BCP) et MacConkey,) qui n'est pas adaptée à la réalisation du test Rapid Polymyxin NP. Il est indispensable de réaliser au préalable un repiquage sur milieu adéquat (voir paragraphe 6 – Recueil des échantillons).

Dans le cas d'inoculation à partir d'hémocultures positives, la sédimentation d'hématies au fond des puits ne gêne pas la lecture et l'interprétation du virage de couleur.

Pour le test à partir de colonies isolées, le respect d'un ensemencement du test à partir d'un inoculum standardisé entre 3 et 3,5 McF garantit les performances du test.

La limite de détection (ou sensibilité analytique) est de 10^7 UFC/mL; celle-ci correspond à la charge bactérienne minimale nécessaire à la détection de souches résistantes à la colistine dans un prélèvement sanguin. Une densité bactérienne inférieure à 10^7 UFC/mL dans le bouillon d'hémoculture peut présenter des résultats faussement négatifs.

14 - PERFORMANCES

14.1 PERFORMANCES DU TEST A PARTIR DE COLONIES ISOLEES

L'évaluation des performances du test Rapid Polymyxin NP a été réalisée au sein de l'Unité Résistances Emergentes aux Antibiotiques (INSERM, Faculté de Science de l'Université de Fribourg, Suisse), par rapport à la méthode de détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide (microdilution en bouillon Mueller-Hinton cation ajusté utilisée comme décrite dans le guideline Clinical Laboratory Standard Institute (4-5) dite méthode de référence.

Les bactéries de l'étude proviennent de différents prélèvements cliniques d'origine internationale et sont réparties selon les espèces suivantes :

| Espèce | Nombre testé | Espèce | Nombre testé | Espèce | Nombre testé |
|-------------------------------|--------------|------------------------------|--------------|---------------------------|--------------|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 113 | <i>Enterobacter absuriae</i> | 2 | <i>Proteus stuartii</i> | 1 |
| <i>Escherichia coli</i> | 40 | <i>Morganella morganii</i> | 2 | <i>Proteus vulgaris</i> | 1 |
| <i>Enterobacter cloacae</i> | 16 | <i>Proteus mirabilis</i> | 2 | <i>Salmonella concord</i> | 1 |
| <i>Citrobacter freundii</i> | 8 | <i>Proteus rettgeri</i> | 2 | <i>Salmonella isangi</i> | 1 |
| <i>Citrobacter koseri</i> | 8 | <i>Salmonella enterica</i> | 2 | | |
| <i>Enterobacter aerogenes</i> | 8 | <i>Serratia marcescens</i> | 2 | | |
| <i>Klebsiella oxytoca</i> | 8 | <i>Salmonella sp.</i> | 2 | | |

219 souches d'Entérobactéries ont été sélectionnées parmi les espèces les plus représentatives d'entérobactéries comprenant 78 souches sensibles et 141 souches résistantes à la colistine.

Parmi les souches résistantes divers mécanismes moléculaires de résistance aux polymyxines sont observés (chromosomique, plasmidique, intrinsèque ou non déterminé).

Les CMI des souches à la colistine et leur mécanisme de résistance se répartissent comme suit :

| CMI (µg/mL) | 0,125 | 0,25 | 0,5 | <1 | 1 | 2 | 4 | 8 | 16 | >16 | 32 | 64 | 128 | >128 |
|------------------|-------|------|-----|----|---|---|---|----|----|-----|----|----|-----|------|
| Nombre de souche | 9 | 1 | 1 | 60 | 3 | 4 | 8 | 18 | 19 | 10 | 21 | 33 | 20 | 12 |

| Mécanismes de résistance | | Nombre de souche | |
|------------------------------------|---------------|-------------------------|----|
| Résistance intrinsèque (naturelle) | | 10 | |
| Résistance acquise | chromosomique | hétérorésistance | 2 |
| | | mutation gène MgrB | 70 |
| | | mutation gène PhoP ou Q | 2 |
| | | mutation gène PmrA ou B | 10 |
| | plasmidique | mutation gène mcr -1 | 30 |
| Mécanisme inconnu | | 17 | |

Les souches bactériennes ont été ré-isolées sur gélose (Luria Bertani, Mueller Hinton, Columbia 5% sang) pendant 18-24h pour tester le Rapid Polymyxin NP en parallèle de la détermination des CMI par la technique en micro-dilution liquide du CLSI.

Le test Rapid Polymyxin NP a été interprété après 2h et 3h d'incubation. Le pourcentage de concordance clinique du test Rapid Polymyxin NP est de 97,7% par rapport à la méthode de CMI en milieu liquide. La sensibilité du test est de 99,3% et la spécificité est de 94,9%.

On note 4 Discordances Majeures (DM) (CMI comprises entre 1 et 2 mg/L) et une Discordance Très Majeure (DTM) (souche *Klebsiella pneumoniae* de CMI 8 mg/L dont le mécanisme de résistance n'est pas connu).

Le pourcentage de concordance clinique, à 1 dilution près, est de 99,1%. Il persiste 1 DM et 1 DTM.

En ce qui concerne le temps d'incubation, toutes les souches ont donné un résultat interprétable en 2h. De plus, le profil des souches sensibles est stable même après 3 h d'incubation.

14.2 PERFORMANCES DU TEST A PARTIR D'HEMOCULTURES POSITIVES

Performances globales obtenues en combinant les deux types de protocoles d'hémoculture:

| Performances | Hémoculture cliniques | Hémocultures enrichies* | Global |
|--------------|-----------------------|-------------------------|--------------|
| Sensibilité | 66,7% | 98% | 96,3% |
| Spécificité | 100% | 100% | 100% |

*enrichies: hémocultures additionnées de souches d'entérobactéries sensibles ou résistantes à la colistine

• Performances des tests réalisés à partir des hémocultures cliniques positives

27 hémocultures cliniques positives contenues dans des flacons de cultures aérobies et anaérobies (BD BACTEC™ Plus Aerobic/F et Plus Anaérobic/F) à partir d'échantillon patient non dupliqué, ont été détectées par automate Becton Dickinson FX et analysées par le CHUV de Lausanne, Suisse, Pr. G. Greub.

La répartition des espèces testées est de 19 *Escherichia coli*, 2 *Klebsiella pneumoniae*, 2 *Klebsiella oxytoca*, 2 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Proteus mirabilis* et 1 *Serratia marcescens*.

Deux souches de résistance naturelle à la colistine (*Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*) ont donné des résultats positifs concordants dans les 4 heures d'incubation pour chaque condition de culture aérobie et anaérobie.

Une souche de *Klebsiella pneumoniae* résistante à la colistine (CMI = 8 mg/L) n'a pas été détectée (résultat faux négatif) dans les 4 heures d'incubation du test.

Pour les hémocultures cliniques, la sensibilité du test est de 66,7% et la spécificité de 100%.

La densité bactérienne de l'ensemble des bouillons d'hémocultures testés dans cette étude était $\geq 10^7$ UFC/mL à l'exception de 2 flacons anaérobie à 10^6 UFC/mL.

• Performances des tests réalisés à partir des hémocultures enrichies:

Afin de tester plus de souches résistantes, un protocole d'hémoculture enrichie a été réalisé par le CHUV.

Sur les 72 souches testées, 51 souches résistantes contenaient différents génotypes de résistance à la colistine et 21 souches étaient sensibles. Pour chaque souche, des flacons aérobies et anaérobies ont été testés.

Parmi les 51 souches résistantes, une seule discordance a été observée avec une souche *E. coli* MCR-1 (résultat faux négatif).

Pour les hémocultures enrichies, la sensibilité du test est de 98% et la spécificité de 100%.

15 - ELIMINATION DES DECHETS

Les déchets doivent être éliminés en respectant les règles d'hygiène et la réglementation en vigueur pour ce type de réactifs dans le pays d'utilisation.

16 - BIBLIOGRAPHIE

1 - Nordmann P, Jayol A, Poirel L. 2016. Rapid detection of polymyxin resistance in Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 22:1038-1043

2 - Nordmann P, Jayol A, Poirel LI, EP15305409.3: «Test for determining susceptibility to resistance to polymyxins in Enterobacteriaceae», 20th March 2015

3 - Jayol A, Dubois V, Poirel L, Nordmann P. 2016. Rapid detection of polymyxin-resistant Enterobacteriaceae from blood cultures. *J Clin Microbiol* 54:2273-2277.

4 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Methods for dilution of antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically: approved standard. 10th ed. Document M07-A10. Wayne (PA): The Institute; January 2015.

5 - Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th edition. Document M100-28. Wayne (PA): The Institute; 2018.

6 - Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2017. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, V1.0 mars 2017.

