



## Commentaire relatif à l'essai interlaboratoire B9 microbiologie 2012-1

**Echantillon A:** Infection postopératoire d'une plaie

**Problème:** Bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)

**Antibiogramme avec 6 antibiotiques importants en cas  
d'infection**

Il s'agissait d'une souche de *Staphylococcus aureus* sensible à la méticilline (oxacilline) (SASM). Le diagnostic de l'espèce n'a certainement pas posé de problème (pigmentation jaune, réaction de coagulase positive). À noter que les rares espèces coagulase positive autres que *S. aureus* ne produisent pas de pigmentation (Man Clin Microbiol (MCM) 10th ed, p. 310-11).

La CMI contre l'oxacilline était de 1.0 mg/L sur gélose MH, sur gélose MH avec 2 % de NaCl de 0.75 mg/L (aucune différence!); la zone inhibitrice autour du disque de 1 µg d'oxacilline avait un diamètre de 15 mm (CLSI), autour du disque de 30 µg de céfoxitine (caractéristique pour l'oxacilline) de 29 mm, c'est-à-dire le germe était sensible à l'oxacilline/méticilline, à la fois selon les critères EUCAST et selon les critères CLSI. Du point de vue de la biologie moléculaire, les recherches de *mecA* et de la pantone-valentine-leucocidine (PVL) étaient négatives. L'agglutination au latex avec des anticorps monoclonaux anti-PBP2a (Denka Seiken), qui focalisent le produit génétique de *mecA*, s'est avérée négative comme on pouvait s'y attendre. La souche a produit une bêta-lactamase (*blaZ*), qui s'est traduite, dans des zones inhibitrices résistantes à bords bien définis (!) pour la pénicilline et l'ampicilline et pouvait être visualisée dans le test de nitrocéfine; après induction, le test de nitrocéfine liquide était fortement positif en l'espace de 5 minutes, ce qui explique du moins aussi la CMI pas vraiment basse de l'oxacilline. Il faut noter que les directives – EUCAST 2012 et CLSI 2012 – ne recommandent plus la recherche de la bêta-lactamase pour les staphylocoques; si le bord de la zone inhibitrice est bien défini pour l'ampicilline ou la pénicilline (mentionné maintenant aussi dans CLSI 2012), mais les diamètres correspondants des zones inhibitrices sont supérieurs aux seuils limites, on doit indiquer résistant pour la pénicilline et l'ampicilline. La raison est la sensibilité insuffisante des tests de nitrocéfine-bêta-lactamase (en particulier des tests de disques).

En outre, la souche était résistante à la tétracycline, mais sensible à l'amoxicilline/acide clavulanique (CMI 15 mg/l), à l'érythromycine, la clindamycine, aux aminoglycosides, fluoroquinolones et à la rifampicine.

*Staphylococcus aureus*

Nombre  
68

**Echantillon B:    Frottis de conjonctive en cas de conjonctivite**  
**Problème:            Bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)**  
**Antibiogramme avec 4 antibiotiques importants en cas**  
**d'infection**

Il s'agissait d'une souche de *Haemophilus influenzae*, le pathogène le plus fréquent dans la conjonctivite d'origine bactérienne chez les enfants (Ped Infect Dis J 2005; 24:823-8). Ces souches ne conviennent généralement pas au typage sérologique. Une infection des voies respiratoires supérieures est souvent associée.

L'examen direct de la préparation de Gram a révélé des coccobacilles à Gram négatif entre lesquels se trouvaient des bâtonnets filiformes (Image voir Manual of Clinical Microbiology 10th ed, p. 592). L'inoculation de tous les échantillons conjonctivaux sur gélose avec 5% de sang de cheval + 20 mg/l de bêta-NAD (v. méthodologie EUCAST) ou sur gélose au chocolat traditionnelle avec de l'hémine est nécessaire, car les *Haemophilus* ne se développent pas sur gélose au sang de mouton. Le diagnostic de l'espèce peut se faire à l'aide du test de satellitisme, qui doit cependant être préparé à base de BHIA ou de TSA et utiliser des entérocoques comme souche nourricière, car d'autres milieux de base contiennent parfois des traces d'hémine (J Clin Microbiol 1984; 20:599-601) et les staphylocoques utilisés comme souche nourricière peuvent produire assez de catalase pour substituer l'hémine (J Med Microbiol 1972; 5:509-14). Le test à la prophyrine, qui reflète la synthèse d'hémine est plus fiable (*H. influenzae* est négatif, technique v. MCM p. 596). Le typage biologique est réalisé avec des tests d'indole, d'ornithinedécarboxylase et d'urée, p.ex. dans le système API NH. Notre souche appartenait au biotype 1 (tous les 3 tests positifs), qui est cependant rarement associé à une conjonctivite (J Infect Dis 1983; 147:800-6).

Le critère essentiel, car relativement fréquent, est la résistance à l'ampicilline de *H. influenzae*, qui peut être due soit à la bêta-lactamase soit à la modification des PBPs (dites BLNAR). Le premier mécanisme est plus fréquent, ne concerne pas – contrairement au second – les céphalosporines et peut être détecté par un test de nitrocéfine ou un disque de phénoxyéthyl-pénicilline (Pen V!) (v. EUCAST tableaux Break-point). Les nouvelles directives EUCAST proposent désormais l'utilisation du disque de pénicilline avec 1 unité, mais la pénicilline ne doit pas être rapportée. Les valeurs seuils pour l'ampicilline ne sont valables qu'en cas de bêta-lactamase négative; notre souche était bêta-lactamase positive, l'ampicilline doit donc être indiquée comme étant résistante. Les autres tests d'antibiogramme se font sur la gélose au sang de cheval mentionnée ci-dessus. La souche résistante à la pénicilline, l'ampicilline et l'amoxicilline, était sensible à l'amoxicilline/acide clavulanique, aux céphalosporines, à la rifampicine, aux fluoroquinolones (goutte de moxifloxacine!), au cotrimoxazole, et résistante à la tétracycline. En cas de conjonctivite, un traitement local (pommade ou gouttes) est généralement appliqué.

	Nombre
<i>Haemophilus influenzae</i>	65
<i>Haemophilus species</i>	1

## Echantillon C:    Expectoration en cas de pneumonie (patient CGD)

### Problème:            Bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)

Il s'agissait d'une souche du complexe *Burkholderia cepacia*, qui inclut actuellement un total de 17 espèces non fermentant à Gram négatif (MCM 10, p. 699). Ces germes sont isolés surtout dans des infections pulmonaires chez les patients atteints de mucoviscidose (Clin Infect Dis 2003; 37:780-5) et de granulomatose chronique (CGD) (J Clin Microbiol 1975; 1: 425-8), se développent en milieu humide (Emerg Infect Dis 2007; 13:458-61) et peuvent être transmis d'un patient à un autre (Lancet 1990; 336:1094-6) ainsi que par des objets ou des perfusions contaminés (J Clin Microbiol 1996; 34:584-7). Ces agents augmentent le risque de morbidité et de mortalité dans les groupes de patients mentionnés et font partie des espèces multirésistantes. Les antibiotiques les plus efficaces *in vitro* sont: fluoroquinolones, cotrimoxazole, ceftazidime, imipénem et méropénem, ainsi que minocycline et chloramphénicol (!) ( Chest 2005; 128:2336-46, Antimicrob Ag Chemother 2007; 51:1085-8).

L'utilisation de milieux sélectifs (gélose PC, gélose OFBPL, gélose BCSA) conduit à des taux d'isolement significativement plus élevés (J Clin Microbiol 1997; 35:614-9; et 1999; 37:1004-7). L'identification de l'espèce (MCM 10th ed, p. 699) à l'aide de systèmes commercialisés s'avère souvent impossible (J Clin Microbiol 2002; 40:1743-8), et il faut donc effectuer un séquençage. Sur gélose au sang de mouton, notre souche a formé des colonies grises et une pigmentation légèrement jaunâtre au bout de 2 jours sur gélose TSI. Sur gélose MacConkey, des colonies rouges foncées se sont développées en 3 jours (oxydation de lactose) et sur gélose CEPA (*Burkholderia cepacia* Agar Base, Oxoid) des colonies roses. L'API 20NE (0067577) a identifié «*B. cepacia*» (= complexe *B. cepacia*) avec une probabilité de 99.9% et une valeur T de 0.94; Vitek 2 (0663651413540310) a diagnostiqué «Groupe *B. cepacia*». Les réactions biochimiques des espèces les plus fréquentes, *B. cenocepacia* (autrefois Genomovar III) et *B. multivorans*, ne concordaient pas avec ces codes et la production de pigmentation. Nous avons donc accepté le diagnostic «Complexe *B. cepacia*» ainsi que toutes les espèces y incluses.

*Burkholderia cepacia*

Nombre  
68

**Echantillon D:    Ponction pleurale en cas d'empyème**

**Problème:            Bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)**

Il s'agissait d'une souche d'*Actinomyces odontolyticus*. Ce germe est identifié dans la salive humaine et surtout dans des échantillons pathologiques prélevés dans les voies respiratoires (Emerg Infect Dis 2003; 9:1629-32). L'opinion parfois exprimée selon laquelle toutes les espèces à Gram positif appartenant au genre *Actinomyces* soient obligatoirement anaérobies, montrent des ramifications à la préparation de Gram et forment des druses dans le tissu (sulfur granules), ne concerne en réalité que quelques espèces. La majorité de plus de 20 espèces connues actuellement est aérotolérante et présente souvent une morphologie purement corynéforme (diphthéroïde) avec ou sans ramifications. Des druses sont observées presque exclusivement dans les infections à *A. israelii* et *A. meyer* principalement anaérobies (J Clin Microbiol 2002; 40:3442-8). Des critères communs à tous les *Actinomyces* spp. sont certaines caractéristiques chimiotaxonomiques, dont la recherche des produits finaux de la dégradation du glucose peut être réalisée par quelques laboratoires: les *Actinomyces* spp. produisent surtout de l'acide succinique (succinic acid), de l'acide acétique (acetic acid) et de l'acide lactique (lactic acid); et ceci contrairement aux lactobacilles et aux bifidobactéries. Les caractéristiques biochimiques (MCM 10, p. 824) peuvent être identifiées au moyen de systèmes commercialisés (API Coryne, API 20A, Rapid ANA II, Vitek 2 ANC card); toutefois, l'ensemble des bases de données ne contient pas toutes les espèces, une identification fiable n'est donc pas toujours possible (J Clin Microbiol 2004; 42:418-20 et 2011; 49:1745-9).

*A. odontolyticus* est aérotolérant, développe, au bout de > 2 jours, des colonies lisses non adhérentes, avec une pigmentation brunâtre à pourpre et montre des bâtonnets diphthéroïdes parfois ramifiés. Les essais d'indentification de notre souche au moyen de galeries API et Vitek 2 n'ont pas abouti à des diagnostics clairs de l'espèce; il en était de même pour le séquençage et le MaldiTOF(!). Le succinate a été le principal produit final de la dégradation du glucose. En revanche, certaines caractéristiques morphologiques (**pigmentation**, colonies lisses, présence seulement occasionnelle de ramifications) ont indiqué la présence d'*A. odontolyticus*. Au sein des rares *Actinomyces* spp. pigmentés (*A. radidentis*, *A. urogenitalis*, *A. graevenitzi*), *A. odontolyticus* peut être différencié par des tests de réduction de nitrate, de N-acétylglucosaminidase et l'hydrolyse de l'esculine. La différenciation par rapport à d'autres genres (lactobacillus, bifidobactéries) est basée sur la morphologie des colonies et de l'examen microscopique, des caractéristiques biochimiques (surtout la réduction de nitrate) et la recherche d'acides gras métaboliques (v. MCM 10 p. 818 ff).

Veillez consulter le site [www.swissmicrobiology.ch](http://www.swissmicrobiology.ch) → Medical Microbiology ou accéder directement du bas de la première page sur « Swiss Antibiogram Committee → access to documentation », vous y trouverez des documents concernant les directives relatives aux antibiotiques selon EUCAST du Comité suisse des antibiogrammes. La version 2012 sera disponible mi-avril, elle comparera EUCAST 2012 à CLSI 2012.

	Nombre
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	40
<i>Actinomyces meyeri</i>	8
<i>Actinomyces pyogenes</i>	1
<i>Actinomyces israelii</i>	2
<i>Actinomyces</i> Species	11
<i>Actinomyces viscus</i>	1
<i>Corynebacterium</i> species	1
Bâtonnets à Gram positif	2
<i>Streptococcus mitis / oralis</i>	1
<i>Arcanobacterium haemolyticum</i>	1
Aucune indication	1

Avec nos salutations distinguées.



Prof. A.v. Graevenitz



Prof. Dr. R. Zbinden

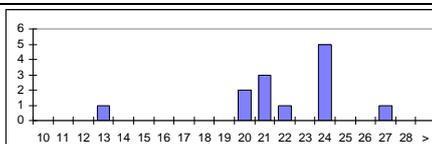


F.S. Hufschmid-Lim

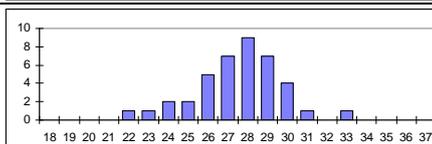
Institut für Medizinische Mikrobiologie der Universität Zürich, Gloriastrasse 32, 8028 Zürich

## Antibiogramme de l'échantillon A

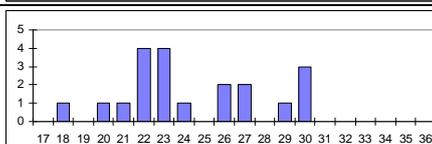
**Amoxicilline+acide  
clavulanique**



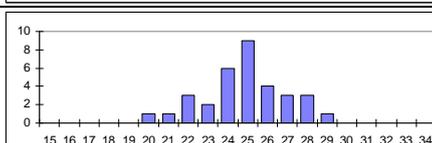
**Céfoxitine**



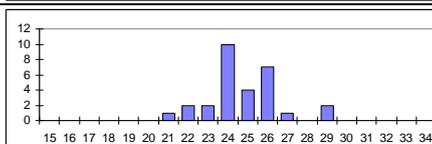
**Ciprofloxacine**



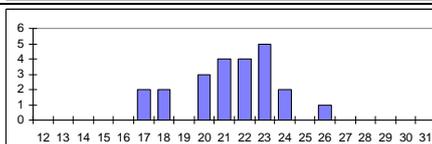
**Clindamycine**



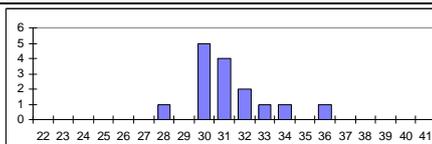
**Erythromycine**



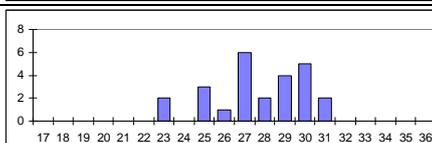
**Gentamicine**



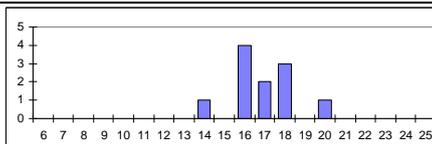
**Rifampicine**



**Sulfaméthoxazole/  
triméthoprim**

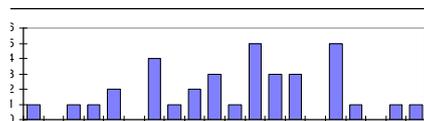


**Vancomycine**

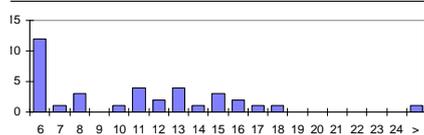


## Antibiogramme de l'échantillon B

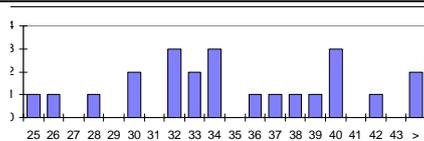
**Amoxicilline+acide  
 clavulanique**



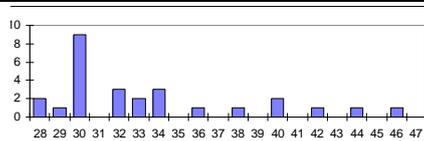
**Ampicilline**



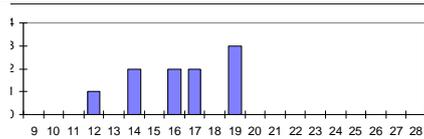
**Ceftriaxone**



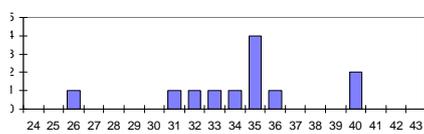
**Ciprofloxacin**



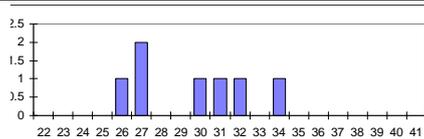
**Erythromycine**



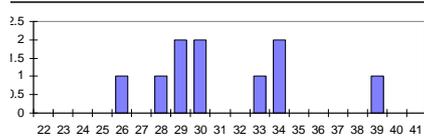
**Lévofoxacin**



**Moxifloxacin**



**Ofloxacin**



**Sulfaméthoxazole/  
 triméthoprime**

