



## Commentaire concernant l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2019-1

**Échantillon A : urine de mi-jet/infection urinaire**

**Problème : bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce) + antibiogramme**

*Escherichia coli* contenu dans cet échantillon a pu être identifié sans problème par tous les participants. *E. Coli* est l'agent pathogène le plus fréquent dans les infections urinaires non compliquées.

Notre souche était un *E. coli* avec BLSE (bêta-lactamase à spectre élargi). Des zones inhibitrices exceptionnellement larges étaient visibles, ce qui rendait le diagnostic compliqué. Néanmoins, une légère synergie entre augmentine/céfépime, augmentine/cefepodoxime et augmentine/ceftriaxone était visible. L'examen de la BLSE montrait une différence de >5 mm pour les zones inhibitrices de la ceftazidime avec/sans acide clavulanique, ce que la BLSE confirmait. Une analyse de biologie moléculaire a permis de démontrer que notre souche d'*E. coli* était productrice de bêta-lactamases à spectre élargi de type SHV.

Pour l'amoxicilline/acide clavulanique et la céphalosporine de 2<sup>e</sup> et 3<sup>e</sup> générations, nous avons accepté tous les résultats. Il convient de noter que selon EUCAST, il n'y a lieu de procéder à aucune adaptation de la résistance, autrement dit, il est fait état des valeurs telles qu'elles sont observées. Toutefois, certains infectiologues préfèrent que les laboratoires microbiologiques déclarent la BLSE comme résistante aux antibiotiques, car en cas d'infections critiques, un échec du traitement est à craindre. Pour les céphalosporines de 4<sup>e</sup> génération, nous avons accepté les résultats « sensibles », car ici, l'adaptation au niveau résistant n'est pas correcte.

Pour atteindre le nombre total de points lors de l'évaluation de la résistance, au moins une céphalosporine de 3<sup>e</sup> génération ou la remarque BLSE devait être indiquée. Dans le cas contraire, nous devons retirer des points, car pour les *entérobactéries*, il faut toujours rechercher la présence de BLSE.

Identification	Nombre
<i>Escherichia coli</i>	61

**Échantillon B : frottis d'une plaie superficielle/infection du doigt**

**Problème : bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce) + antibiogramme**

Dans cette blessure superficielle, *Staphylococcus lugdunensis* a pu être isolé en cas d'infection du doigt. Le diagnostic a été posé sans problème par tous les participants.

*S. lugdunensis* appartient au genre *Staphylococcus* coagulase négative qui ne possède pas de coagulase libre, c.-à-d. que le « plasma sanguin de l'éprouvette » est négatif. Comme pour *Staphylococcus aureus*, le fibrinogène est en revanche présent. Les méthodes d'identification commercialisées ainsi que Maldi-TOF peuvent très bien identifier *S. lugdunensis*. Une réaction positive à l'omithine-décarboxylase et au PYR est cruciale.

*S. lugdunensis* tire son nom de la ville de Lyon (en latin, Lugdunum), où il a été décrit pour la toute première fois. Il s'agit d'un germe cutané normal qui apparaît souvent dans l'aine ; suite à une chirurgie cardiaque, *S. lugdunensis* peut migrer dans la circulation sanguine. En cas de bactériémie à *S. lugdunensis*, une endocardite doit être exclue (infection, 2008 ; 36:314-21).

Notre souche a montré une résistance à la méticilline, détectée clairement par le disque de céfoxitine. Le test de résistance à la méticilline avec l'oxacilline peut générer de faux résultats car *S. lugdunensis* sensible à la méticilline peut indiquer une résistance à l'oxacilline (similaire à *Staphylococcus saprophyticus mecA* négatif). Nous avons déjà

mentionné ce fait dans la réunion le rapport ?? de février 2017. Certains participants n'avaient testé ni la céfoxitine, ni l'oxacilline. À l'heure actuelle, ceci n'est plus approprié, car entretemps, nous avons vu des souches individuelles de *S. lugdunensis* portant le gène *mecA*. Si ni la céfoxitine, ni l'oxacilline ni l'augmentine n'étaient indiqués, cela entraînait une déduction.

Attention : pour la ciprofloxacine, d'autres diamètres de zones inhibitrices sont valables pour *S. aureus* ( $\geq 21$  mm pour « sensible ») et les staphylocoques à coagulase négative ( $\geq 24$  mm pour « sensible »). Pour la ciprofloxacine et la lévofloxacine, nous avons accepté toutes les valeurs car les zones inhibitrices étaient proches de la valeur seuil. De plus, EUCAST mentionne « HE » High exposure for agent pour la ciprofloxacine, car les valeurs seuils cliniques indiquées ne sont valables que pour des doses élevées.

Notre souche a montré une résistance au macrolide-lincosamide-streptogramine (MLS) inductible. Cela signifie que les macrolides sont inefficaces. Selon EUCAST, la clindamycine doit dans ce cas être rapportée comme « résistante ». Éventuellement, il est possible de l'utiliser pendant une thérapie de courte durée pour traiter des infections légères de la peau et des muqueuses.

Identification	Nombre
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	61

**Échantillon C : sécrétions trachéales/mucoviscidose**  
**Problème : bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)**

Il s'agissait d'une souche appartenant au complexe *Burkholderia cepacia*. Le séquençage du 16S-ARN révélait *Burkholderia stabilis*. Toutes les indications de l'espèce *Burkholderia* recevaient le nombre total de points.

Les *Burkholderia* spp. apparaissent avant tout en cas d'infections pulmonaires de patients souffrant de mucoviscidose (Clin Infect Dis 2003 ; 37:780-5) et de granulomatose chronique (J Clin Microbiol 1975 ; 1: 425-8) ; il s'agit de germes présents dans notre environnement qui se développent dans les milieux humides (Emerg Infect Dis 2007 ; 13:458-61) et qui peuvent être transmis entre patients (Lancet 1990 ; 336:1094-6) ainsi qu'au contact d'objets contaminés (J Clin Microbiol 1996 ; 34:584-7). Ils augmentent la morbidité et la mortalité pour les groupes de patients mentionnés. Ils sont multirésistants et sont *in vitro* les plus sensibles aux fluoroquinolones, au co-trimoxazole, à la ceftazidime, à l'imipénem et au méropénem, ainsi qu'à la minocycline (Chest 2005 ; 128:2336-46, Antimicrob Ag Chemother 2007 ; 51:1085-8). Veuillez observer dans le cas d'EUCAST les remarques concernant l'antibiogramme du complexe *B. cepacia*. Pour le moment, il n'y a aucune recommandation pour le test. Dans notre centre, nous testons différents antibiotiques et nous discutons des résultats avec les cliniciens.

L'utilisation de milieux sélectifs (gélose PC, gélose OFBPL, gélose BCSA) entraîne des taux d'isolement considérablement plus importants (J Clin Microbiol 1997 ; 35:614-9 ; et 1999 ; 37 :1004-7). L'identification de l'espèce avec des systèmes commercialisés est souvent impossible (J Clin Microbiol 2002 ; 40:1743-8), de sorte que le séquençage doit être exclu.

Notre souche se basait sur des colonies SBA grises. Après 3 jours, on pouvait voir des colonies rouge foncé (oxydation du lactose) sur gélose MacConkey et roses sur gélose CEPA (base de gélose *Burkholderia cepacia*, Oxoid). API 20NE (0057577) révélait « *B. cepacia* » (= complexe *B. cepacia*) avec 95,1% de probabilité et valeur T de 0,85 ; Vitek 2 diagnostiquait « groupe *B. cepacia* ».

Identification	Nombre
<i>Burkholderia cepacia</i>	12
Groupe <i>Burkholderia cepacia</i>	11
Complexe <i>Burkholderia cepacia</i>	22
<i>Burkholderia stabilis</i>	13
<i>Burkholderia stabilis</i> Genomovar IV	1
<i>Burkholderia species</i>	1
<i>Ralstonia pickettii</i>	1

**Échantillon D : hémoculture/rupture d'anévrisme de l'aorte**  
**Problème : bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)**

Malgré son nom, *Clostridium tertium* se multiplie aussi par voie aérobie et arrive généralement dans le sang des patients souffrant de maladies hématologiques et oncologiques. *Lactobacillus* est une erreur de diagnostic classique ; la forte formation de gaz de *C. tertium* ainsi que la bonne mobilité permettent de faire la différenciation. Le diagnostic, tel qu'AML, devrait y faire penser les microbiologistes.

*C. tertium* montrait une acidification de toute l'éprouvette TSI (groupe 1) ; les sucres suivants ont été fermentés : glucose, saccharose, maltose, xylose, mannose, fructose. L'esculine et le nitrate étaient positifs ; la catalase, l'uréase et le test CAMP étaient négatifs. Une formation de gaz était présente et la mobilité était positive (trouble dans l'éprouvette MIO). Maldi-TOF a permis de bien identifier *C. tertium*.

Identification	Nombre
<i>Clostridium tertium</i>	55
<i>Lactobacillus species</i>	1
<i>Microbacterium species</i>	1
Bâtonnets à Gram labile	1
Bâtonnets à Gram négatif	1
Bâtonnets à Gram positif	2

**Échantillon E : tissu/polytraumatisme et brûlures**  
**Problème : bactéries potentiellement pathogènes (genre et espèce)**

À partir de cet échantillon de tissu, il a été possible d'isoler *Ochrobactrum intermedium*. Le gène possède pour le moment 13 espèces, dont 2 (*O. anthropi* et *O. intermedium*) peuvent être importantes au plan clinique (Manual of Clinical Microbiology, 11th Edition, S. 823-724). Il s'agit de bâtonnets à Gram négatif ne fermentant pas dont l'oxydase est positive et l'indole négatif.

Les espèces d'*Ochrobactrum* sont étroitement apparentées et difficiles à identifier avec Maldi-TOF et le séquençage 16S. *O. anthropi* contrairement à *O. intermedium*, est résistant à la colistine. Ceci était aussi le cas pour notre souche. Les deux espèces appartiennent à la famille des *brucellacées* et sont étroitement liées aux *Brucella* spp. et peuvent provoquer des symptômes similaires. (Frontiers in Medicine/www.frontiersin.org ; Juillet 2018/Volume 5/Article 205)

Il convient de prendre en compte qu'avec des méthodes d'identification rapides, *Brucella melitensis* peut être identifié à tort comme *O. anthropi* (IDCases 11 (2018) 74-76).

Identification	Nombre
<i>Ochrobactrum intermedium</i>	44
<i>Ochrobactrum anthropi</i>	8
Espèce <i>Ochrobactrum</i>	2
<i>Achromobacter species</i>	1
<i>Bacillus cereus</i>	1
<i>Kerstersia gyiorum</i>	1
<i>Pseudomonas oryzihabitans</i>	1
Bâtonnets à Gram négatif	1
Bâtonnets à Gram positif	1
<i>Coccobacillus Gram positif</i>	1

**Innovation de l'EUCAST : ATU (Area of Technical Uncertainty) Il n'y a plus de zone intermédiaire.**

Comme ceci était mentionné dans le dernier commentaire, EUCAST a introduit **I** pour sensible en cas de forte exposition/dose de l'antibiotique. La zone tampon de la mesure inexacte n'est plus prise en considération. Néanmoins, EUCAST a défini une zone d'incertitude technique (Area of Technical Uncertainty, **ATU**) pour certains antibiotiques. Nous renvoyons à l'avis du Comité de l'Antibiogramme Suisse (Swiss Antibiogram Committee) qui a été fourni lors du dernier commentaire. Le CAS a décidé de ne pas informer les cliniciens de l'ATU en tant que telle, mais plutôt d'appliquer une autre méthode en cas de mesures incertaines dans le domaine de l'ATU. EUCAST (version 9.0 du 01/01/2019, page 4) offre aussi la possibilité de durcir l'évaluation, c.-à-d. qu'un résultat sensible **S** en soi soit présenté comme un résultat **I**, et qu'il sera dénommé « sensible » en cas de dosage élevé.

Dans le cas des entérobactéries pour l'amoxicilline/acide clavulanique, le CAS recommande de fixer la limite pour « sensible » à 19 mm pour l'urine et les échantillons systémiques ; en cas de mesures incertaines (**ATU**) de 19 et 20 mm, il est possible de déterminer une CMI ou de présenter le résultat en soi sensible dans la catégorie **I** (sensible en cas de dose/exposition élevée). Veuillez observer que dans le cas d'un résultat ajusté de la sorte pour l'augmentine, l'ampicilline aussi doit éventuellement être adaptée. Il est impossible que l'augmentine soit présentée dans la catégorie **I** et l'ampicilline dans la catégorie **S**. Pour la pipéracilline/tazobactam et la ciprofloxacine, des ATU sont également définies pour les entérobactéries, mais celles-ci se trouvent dans la zone qui est de toute façon présentée comme **I**, de sorte que nous considérons qu'un durcissement de **I** à **R** ne devrait pas être nécessaire. Toutefois, ce sujet sera abordé par le CAS le mois prochain.

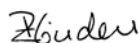
En revanche, dans le cas de la pipéracilline/tazobactam, les valeurs mesurées sont de 18 et 19 mm dans l'**ATU** pour *Pseudomonas aeruginosa*, ce qui rend nécessaire une méthode supplémentaire ou une adaptation du résultat.

Dans le cas de *Staphylococcus epidermidis*, une ATU a été définie pour la céfoxitine, à savoir 25-27 mm. Ceci était absolument nécessaire car la valeur seuil de 25 mm a généré un grand nombre de faux résultats sensibles. Depuis déjà bien des années, nous appliquons une autre méthode pour ces valeurs où nous prenons en compte les valeurs du latamoxef, lequel n'est cependant pas prévu par EUCAST.

Dans le cas des staphylocoques, les zones inhibitrices de 15-19 mm de la zone sensible à résistante suffisent pour l'amikacine. Dans notre laboratoire, nous mesurons la kanamycine et nous transposons l'interprétation des résultats de la kanamycine à l'amikacine. Nous informerons également le CAS et les laboratoires suisses à ce sujet.

Lors de la prochaine réunion du CAS, il sera également question de savoir si notre ancienne recommandation CAS est toujours valable : tester la sensibilité aux glycopeptides des staphylocoques au moyen de la teicoplanine, et considérer une limite de 16 mm pour *S. aureus* et *S. lugdunensis* (tout comme pour les entérocoques) et de 14 mm pour les staphylocoques à coagulase négative, dans le but de ne pas devoir procéder à une CMI à chaque fois.

Sincères salutations,



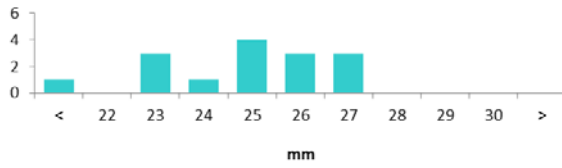
Prof. Dr. R. Zbinden



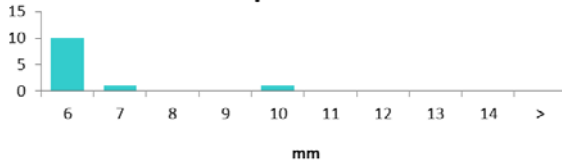
F.S. Hufschmid-Lim

**Antibiogramme de l'échantillon A**

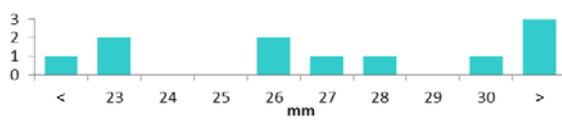
**Amoxicilin + Clavulansäure**



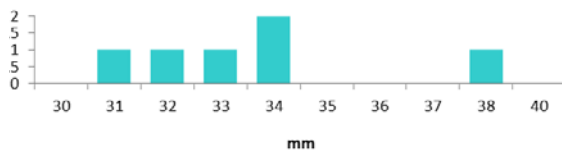
**Ampicillin**



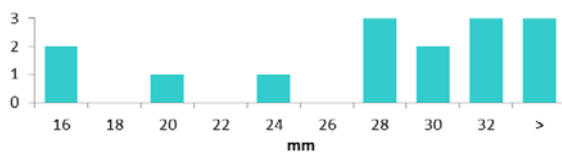
**Ceftriaxon**



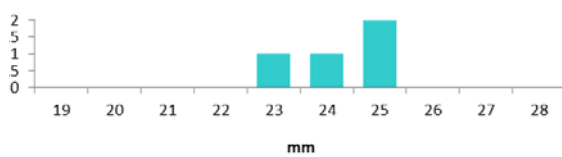
**Ertapenem**



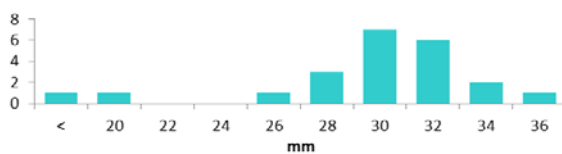
**Fosfomycin**



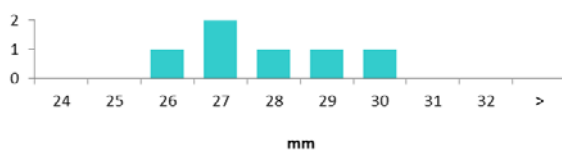
**Gentamicin**



**Sulfamethoxazol + Trimethoprim**

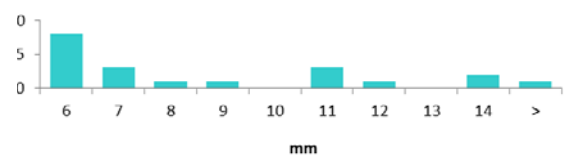


**Piperacillin + Tazobactam**

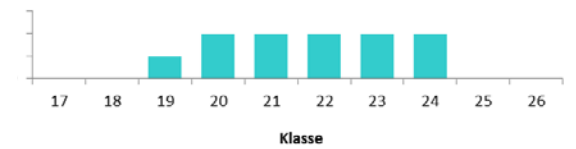


**Antibiogramme de l'échantillon B**

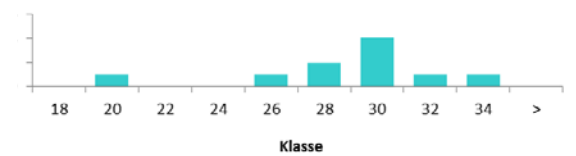
**Cefoxitin**



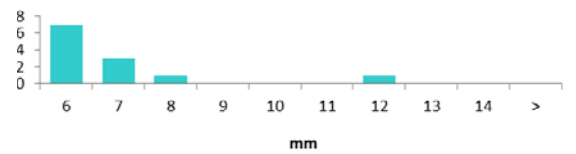
**Ciprofloxacin**



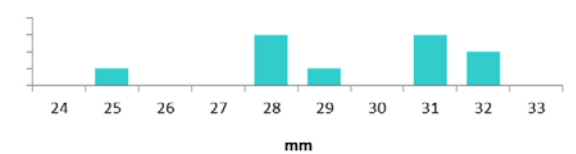
**Clindamycin**



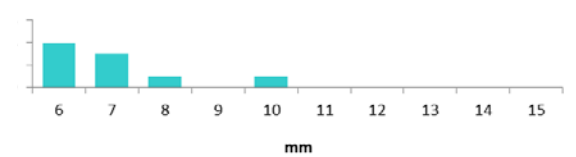
**Erythromycin**



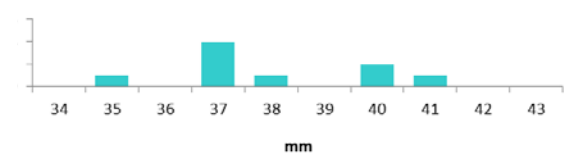
**Gentamicin**



**Penicillin**



**Rifampicin**



**Sulfamethoxazol/Trimethoprim**

