



Commentaire sur l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2021-1

Échantillon A : Urines de milieu de jet / infection urinaire

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce) + test de résistance

Concernant cette infection urinaire, un bâtonnet à Gram négatif du complexe *Citrobacter freundii* a été isolé. Il est difficile de faire la différence entre *C. freundii* et *Citrobacter braakii*. Cependant, les deux espèces appartiennent au complexe *C. freundii*. Tous les participants ont pu attribuer la souche au complexe *C. freundii*, ce que nous avons accepté comme identification.

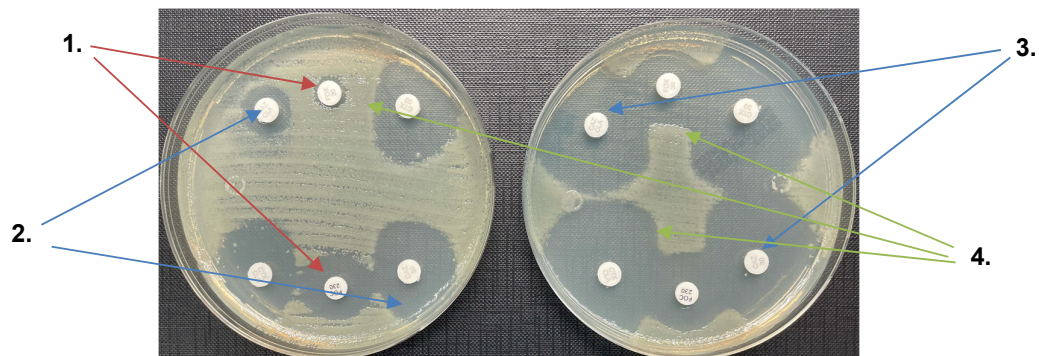
En raison de l'*AmpC* chromosomique naturelle présente chez *C. freundii*, le traitement par des céphalosporines de 3^e génération peut entraîner un échec thérapeutique malgré une sensibilité *in vitro*. Cela est également possible avec un traitement à long terme par pipéracilline/tazobactam ou céfépime (céphalosporine de 4^e génération). C'est pourquoi il est très important que le mécanisme de résistance à l'*AmpC* soit indiqué sur le rapport microbiologique et que l'expéditeur soit informé de ce problème. Le mécanisme de résistance à l'*AmpC* devait être coché OUI afin d'être évalué correctement.

Notre souche a déjà montré une résistance à certaines céphalosporines de 3^e génération, ce qui indique une *AmpC* surexprimée (plus précisément, dérégulée). Nous avons accepté toutes les valeurs pour le céfotaxime, la ceftazidime, la ceftriaxone ainsi que pour la combinaison pipéracilline / tazobactam. Un traitement à long terme par des carbapénèmes (en particulier en cas de traitement par ertapénème) peut très rapidement engendrer une résistance pour le complexe *C. freundii* ainsi que pour le complexe *Enterobacter cloacae*, car des mutations de porine surviennent également, lesquelles ne permettent plus aux carbapénèmes de traverser la membrane cellulaire externe.

La fosfomycine est acceptée si la CMI est indiquée, sinon il y a une déduction de points.

La nitrofurantoïne est autorisée pour *Escherichia coli* lors d'infections urinaires non compliquées. La nitrofurantoïne est inadéquate pour *C. freundii* et a été évaluée avec une déduction.

Notre souche ne présente pas de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). L'illustration ci-dessous montre la clarification des BLSE ou de l'*AmpC* sur la gélose de Müller-Hinton avec / sans cloxacilline dans la gélose :



Gélose de Müller-Hinton sans cloxacilline

Gélose de MH **avec** cloxacilline

1. Lamelles de céfoxitine (en haut au centre) et de céfoxitine avec cloxacilline (en bas au centre) sur la gélose de Müller-Hinton sans cloxacilline. Une différence de diamètre de la zone d'inhibition de ≥ 4 mm est visible, ce qui confirme le mécanisme de résistance à l'*AmpC*.

2. Ceftazidime avec acide clavulanique (en haut à gauche, CAZ/CLA) et ceftazidime sans acide clavulanique (en bas à droite, CAZ) sur la gélose de Müller-Hinton. Une différence de diamètre de la zone d'inhibition ≥ 5 mm est visible, mais **ATTENTION** le diamètre de la CAZ est supérieur à celui de la combinaison CAZ/CLA. S'il s'agissait d'une BLSE, ce serait l'inverse, c'est-à-dire que le diamètre de la CAZ serait inférieur d'au moins 5 mm à celui de la CAZ/CLA.
3. Zones d'inhibition de la CAZ/CLA (ci-dessus) et de la CAZ (ci-dessous) sur la gélose de Müller-Hinton **avec** cloxacilline. Les diamètres de la zone d'inhibition ne diffèrent pas ou bien seulement peu (< 5 mm). L'AmpC est inhibée par la cloxacilline dans la gélose. Ce n'est qu'ainsi que l'on peut correctement voir sur cette gélose avec cloxacilline si notre souche présente une bêta-lactamase à spectre étendu ; cela n'est pas le cas en ce concerne notre souche.
4. Aplatissement des zones d'inhibition, souvent perceptible pour les germes d'AmpC. Pour ces germes, il convient d'effectuer une clarification BLSE avec les lamelles de céfépime et de céfépime/acide clavulanique si aucune gélose Müller-Hinton avec cloxacilline n'est disponible.

Identification	Nombre
<i>Citrobacter freundii</i>	9
Groupe <i>Citrobacter freundii</i>	1
<i>Citrobacter braakii</i>	39
Complexe <i>Citrobacter freundii</i>	7
<i>Citrobacter freundii/braakii</i>	2

Échantillon B : Hémoculture / endocardite

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce) + test de résistance

Streptococcus mitis/oralis a posé quelques difficultés d'identification en tant qu'agent pathogène d'une endocardite. *S. mitis*, le groupe *S. mitis*, *S. oralis* et le groupe *S. mitis/oralis* ont été évalué avec le nombre total de points. *Streptococcus infantis* (meilleure désignation dans le séquençage du gène recA selon Zbinden A, Köhler N, Bloemberg GV. recA-based PCR assay for accurate differentiation of *Streptococcus pneumoniae* from other viridans streptococci. J. Clin. Microbiol. 2011. 49:523-7) fait également partie du groupe *S. mitis*. Toutes les autres désignations de *Streptococcus* spp. ont reçu un point.

Les streptocoques viridans ont une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides ; la monothérapie avec des aminosides est par conséquent insuffisante. Il existe cependant une synergie entre les aminosides et les pénicillines si la souche ne présente pas de résistance de haut niveau aux aminosides. La gentamicine peut être testée pour le dépistage d'une résistance de haut niveau. Une CMI ≤ 128 mg/l indique une résistance de bas niveau. Si la CMI est > 128 mg/l, il y a une résistance de haut niveau et il n'y a pas de synergie avec les pénicillines et/ou les glycopeptides. Pour la gentamicine, nous avons accepté toutes les indications. Cependant, l'indication pour la gentamicine d'un haut niveau de mécanisme de résistance a entraîné une déduction.

Notre souche était résistante à la pénicilline et à l'ampicilline. Étant donné que les streptocoques viridans n'ont pas de bêta-lactamases, l'amoxicilline/acide clavulanique présente également une résistance. Même la ceftriaxone était résistante. Le méropénème et l'imipénème ont été signalés comme « sensibles » avec une CMI de 1,5 mg/l. La pénicilline peut être utilisée pour dépister la résistance aux bêta-lactamines. Si la pénicilline est « sensible » (lamelles de pénicilline 1 UI ≥ 18 mm ou CMI pour la pénicilline $\leq 0,25$ mg/l), l'ampicilline, l'amoxicilline/acide clavulanique, la pipéracilline/tazobactam, la céfuroxime iv, la ceftriaxone, la céfotaxime, le céfépime et les carbapénèmes sont signalés comme sensibles (voir les tableaux des valeurs seuils cliniques de l'EUCAST, version 11.0, pages 56/57). Dans le cas d'un résultat de dépistage indiquant une résistance pour la pénicilline, l'antibiotique concerné doit être testé individuellement et une dérivation de la pénicilline n'est pas autorisée.

Il n'y a pas non plus de valeurs seuils pour le linézolide, la tigécycline et le Bactrim. Nous n'avons pas évalué ces antibiotiques.

Nous avons évalué la réponse par OUI à « aucun mécanisme spécifique » avec 0,5 point. Nous n'avons toutefois procédé à aucune déduction si cela n'a pas été indiqué. L'indication de tous les autres mécanismes (à l'exception de la réponse par OUI pour le haut niveau de résistance à la gentamicine) n'a pas été évaluée. Veillez noter que les mécanismes de résistance doivent également être indiqués, conformément à une exigence antérieure de la Société suisse de microbiologie, à laquelle nous souhaitons répondre.

Identification	Nombre
<i>Streptococcus mitis/oralis</i>	14
<i>Streptococcus mitis</i>	4
<i>Streptococcus oralis</i>	18
Groupe <i>Streptococcus mitis</i>	9
Groupe <i>Streptococcus mitis/oralis</i>	5
<i>Streptococcus infantis</i>	1
<i>Streptococcus intermedius</i>	2
<i>Streptococcus salivarius</i>	1
<i>Streptococcus species</i>	1
<i>Streptococcus viridans</i>	2
Streptocoques viridans	1

Échantillon C : Écouvillonage de plaie superficiel / morsure de chat
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Concernant notre souche, il s'agissait de *Pasteurella multocida*, un bâtonnet à Gram négatif qui est souvent isolé à partir de blessures par morsure et griffure de chiens et de chats porteurs de ce germe dans l'oropharynx. *P. multocida* peut provoquer des infections des plaies, une septicémie, une méningite et, rarement, une pneumonie. Il est généralement nécessaire de mettre en place une antibiothérapie dans les meilleurs délais, car l'infection peut progresser rapidement après une blessure par morsure, ce qui peut également être dû à la présence d'autres bactéries (anaérobies et *Capnocytophaga canimorsus* lors de morsures de chien).

P. multocida est positif pour l'oxydase (retardée), la catalase, l'indole, l'ornithine décarboxylase (ODC), ne se développe pas ou mal sur la gélose MacConkey et peut être dissociée par certains tests biochimiques de *Pasteurella canis* (mannitol négatif), *Pasteurella dagmatis* (uréase positif, ODC négatif), *Pasteurella stomatis* (uréase négatif, ODC négatif). Le Vitek 2 et le MALDI-TOF ont tous les deux permis d'établir le diagnostic correct, *P. multocida* est également inclus dans la base de données d'Api20NE.

Augmentin est la thérapie de choix lors de morsures de chien et de chat, car des anaérobies formant des bêta-lactamases peuvent également être présents dans des plaies de ce type. *P. multocida* est sensible à Augmentin. Depuis, l'EUCAST a également publié des valeurs seuils pour les zones d'inhibition pour les tests de résistance de *P. multocida*.

Identification	Nombre
<i>Pasteurella multocida</i>	57
<i>Pasteurella species</i>	1

Échantillon D : Frottis vaginal / grossesse
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Concernant notre souche, il s'agissait de *Streptococcus pseudoporcinus*, un streptocoque bêta-hémolytique du groupe B qui est parfois isolé à partir du tractus génital féminin. Cependant, la pathogénicité n'a pas été prouvée. L'étude de Maureen Grundy et al. traite de la question de l'incidence de *S. pseudoporcinus* lors de la grossesse et de l'accouchement (Differentiating *Streptococcus pseudoporcinus* from GBS: could this have implications in pregnancy? Am J Obstet Gynecol. 2019. 220: 490.e1-7)

Des cas individuels d'infections de plaies et de septicémie ont été décrits (voir à ce sujet Schwemmer et al. Evaluation of methods for identification and determination of the taxonomic status of strains belonging to the *Streptococcus porcinus*-*Streptococcus pseudoporcinus* complex isolated from animal, human, and dairy sources. J Clin Microbiol. 2012. 50: 3591-7).

Le diagnostic est difficile à poser car *S. pseudoporcinus* comme *S. agalactiae* s'agglutinent également avec le groupe sérologique B de Lancefield. En outre, il est VP-, hippurate- et CAMP positif et donc difficile à différencier de *S. agalactiae* par les méthodes conventionnelles. Il n'y a eu aucune difficulté à identifier *S. pseudoporcinus* avec le Vitek et le MALDI-TOF.

Streptococcus porcinus est souvent présent lors d'infections chez les porcs, mais rarement chez les humains. Même s'il peut être CAMP-, VP- et PYR positif, il ne s'agglutine pas avec le groupe B.

S. pseudoporcinus et *S. agalactiae* diffèrent manifestement par l'ampleur de l'hémolyse, qui est nettement plus importante pour le premier. Lien vers l'image : <http://path.upmc.edu/cases/case648/dx.html>.

L'indication de *S. pseudoporcinus* et *S. pseudoporcinus/porcinus* a été évaluée avec le nombre total de points. Toutes les autres indications ont obtenu un point.

Identification	Nombre
<i>Streptococcus pseudoporcinus</i>	46
<i>Streptococcus porcinus</i>	8
<i>Streptococcus pseudoporcinus/porcinus</i>	2
<i>Streptococcus</i> Groupe B	1
Aucune bactérie pathogène potentielle	1

Échantillon E : Selles / diarrhée**Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)**

Concernant *Aeromonas hydrophila*, il s'agit d'un bâtonnet à Gram négatif fermentaire oxydase positif, qui est observé comme étant l'agent pathogène de septicémies, en particulier lors de leucémies, de maladies des voies biliaires et de gastro-entérite. Le séquençage du gène de l'ARN 16S n'a toutefois pas permis de faire la distinction avec *Aeromonas aquatica* et *Aeromonas media*.

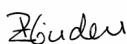
Les *Aeromonas* peuvent être isolés dans le monde entier à partir d'écosystèmes humides tels que les eaux souterraines, les réservoirs, les lacs et les rivières propres ou pollués, ainsi que dans la boue. *Aeromonas* sp. colonise également la gueule des serpents et a donc été retrouvé dans les blessures par morsure de serpent. Des cas d'infections ont aussi été signalés chez des grenouilles, des porcs, des bovins, des oiseaux et des animaux marins.

Les *Aeromonas* sont des bâtonnets à Gram négatif mobiles, oxydase positifs, fermentant le glucose, et résistants au O/129. Le MALDI-TOF et le séquençage du gène de l'ARN 16S ont permis d'obtenir une bonne identification au niveau du genre.

Identification	Nombre
<i>Aeromonas species</i>	8
<i>Aeromonas hydrophila</i>	35
Complexe <i>Aeromonas hydrophila</i>	5
Groupe <i>Aeromonas hydrophila</i>	2
<i>Aeromonas hydrophila/caviae</i>	8

En ce qui concerne les nouveaux tableaux de l'EUCAST Tableaux des valeurs critiques cliniques version 11.0, vous devez impérativement prendre en compte les nouvelles valeurs seuils pour certains antibiotiques (ceftriaxone, méropénem et autres) utilisés contre différents groupes de bactéries lors de méningite. Concernant les valeurs seuils des bêta-lactamines dans le cas de différents staphylocoques, nous discuterons d'un exemple la prochaine fois.

Meilleures salutations

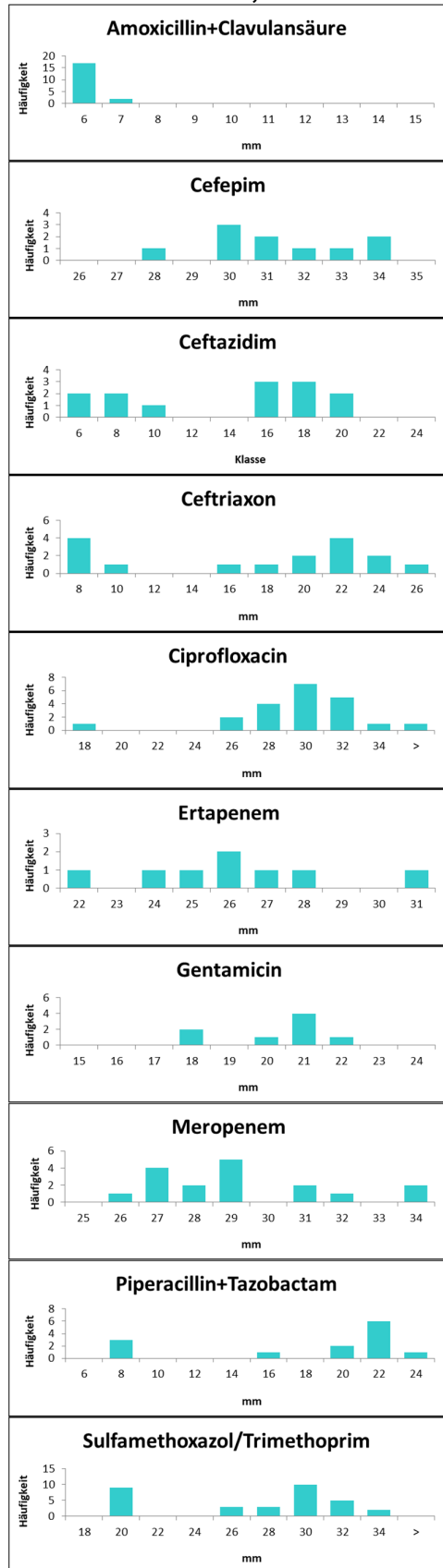


Prof. Dr. R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Test de résistance, échantillon A



Test de résistance, échantillon B

