Verein für **medizinische Qualitätskontrolle**
Association **pour le contrôle de Qualité medical**
Associazione **per il controllo di qualità medico**

Commentaire sur l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2021-3

Échantillon A : Urines de milieu de jet / infection urinaire
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce) + test de résistance

La bactérie *Enterococcus faecalis* contenue dans notre échantillon d'urines de milieu de jet dans le cas d'une infection des voies urinaires a pu être identifiée sans aucun problème par presque tous les participants.

Concernant notre souche, il s'agissait d'une *E. faecalis* sensible à la vancomycine. Aucune résistance de haut niveau à la gentamicine n'a pu être détectée. Lors de l'évaluation des mécanismes de résistance, la déclaration « pas d'ERV » a été évaluée. La résistance de haut niveau à la gentamicine fait partie de l'évaluation de la résistance aux entérocoques et doit aussi être indiquée. Cette fois-ci, nous avons renoncé à une évaluation. Veuillez également l'indiquer la prochaine fois.

La norfloxacine était sensible avec un diamètre de zone d'inhibition de 14 mm et a pu être utilisée comme dépistage pour la ciprofloxacine et la lévofloxacine. Ces deux antibiotiques constituent une option thérapeutique pour *Enterococcus* spp., mais uniquement lors d'infections urinaires non compliquées.

Il n'y a pas de valeurs limites pour la fosfomycine et la doxycycline selon l'EUCAST. Nous n'avons pas évalué ces informations.

Il n'y a pas non plus de valeurs limites pour la pénicilline selon l'EUCAST. Il existe toutefois des valeurs limites selon le CLSI. Au cours des derniers mois, il y a eu quelques problèmes de livraison pour les aminopénicillines, de sorte que nous avons souvent dû déterminer et signaler la sensibilité à la pénicilline comme alternative. Il est en tous les cas recommandé de tester l'ampicilline. Les valeurs concernant l'amoxicilline et la pipéracilline (avec et sans inhibiteur de bêta-lactamase) peuvent être dérivées de l'ampicilline. Notre *E. faecalis* était sensible à l'ampicilline. Une résistance à l'ampicilline est inhabituelle chez *E. faecalis*, alors que *E. faecium* présente généralement une résistance à l'ampicilline.

Petite remarque historique : Dans les années 1990, il était assez courant de tester la bêta-lactamase chez les entérocoques dans les cas critiques (Murray BE. 1992. β-Lactamase producing enterococci. AAC 36: 2355-9.) Pendant plusieurs années, nous avons recherché la β-lactamase chez les entérocoques mais ne l'avons jamais trouvée, nous avons donc arrêté cette recherche à partir de 2000.

Identification	Nombre
Enterococcus faecalis	56
Aerococcus sanguinicola	1

Échantillon B : Hémoculture / septicémie
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce) + test de résistance

L'identification de *Raoultella* (*Klebsiella*) *planticola* représentait un certain défi. Selon la liste d'acceptation du Maldi-TOF Bruker, *Raoultella planticola* et *Raoultella ornithinolytica* ne peuvent pas être différenciées au niveau de l'espèce. Pour cette raison, nous avons accepté toutes les indications concernant le genre *Raoultella* et le genre *Klebsiella*.

Le séquençage de notre souche a donné lieu à 0/744 mésappariements 100 % *Raoultella planticola*, 4/744 mésappariements 99,5 % *Raoultella ornithinolytica* et 6/744 mésappariements 99,2 % *Enterobacter aerogenes*. En raison de différences mineures de séquence, il est difficile de faire la distinction entre *R. planticola* et *R. ornithinolytica*.

À l'exception de l'ampicilline, le genre *Raoultella* était sensible aux antibiotiques testés ou sensible lors d'une posologie plus élevée.

L'indication « sensible » pour la céfuroxime parentérale n'a donné lieu qu'à la moitié du nombre de points, car les diamètres de la zone d'inhibition pour la céfuroxime parentérale sont < 19 mm (résistant) et ≥ 50 mm (sensible). Il n'existe pas de zones d'inhibition « sensibles ». Par contre, pour le céfuroxime axétil oral, les diamètres de la zone d'inhibition sont < 19 mm (résistant) et ≥ 19 mm (sensible). Notre souche a été signalée comme sensible au céfuroxime axétil avec 22 mm. Toutefois, selon l'EUCAST, le céfuroxime axétil est uniquement destiné aux infections urinaires.

La fosfomycine n'a pas été évaluée ; concernant *Escherichia coli*, une thérapie orale n'est judicieuse qu'en cas d'infections urinaires non compliquées. L'indication de la fosfomycine pour d'autres entérobactéries nécessite de déterminer une CMI.

L'indication de la nitrofurantoïne a entraîné une déduction : il n'y a des diamètres de zone d'inhibition que pour *E. coli* lors d'infections urinaires non compliquées.

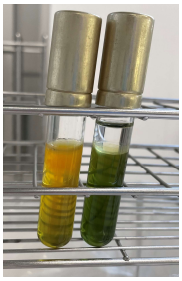
Identification		**Nombre**
Raoultella (Klebsiella) planticola		35
Raoultella ornithinolytica		9
Raoultella ornithinolytica/platicola		2
Genre *Raoultella*		3
Klebsiella pneumoniae		6
Klebsiella oxytoca		1
Citrobacter freundii/braakii		1

Échantillon C : Sécrétions bronchiques / transplantation pulmonaire lors de mucoviscidose
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Achromobacter xylosoxidans (anciennement *Alcaligenes xylosoxidans* ssp. *xylosoxidans*) peut provoquer des infections locales et systémiques et est connu pour être un germe colonisateur lors de mucoviscidose. C'est un fréquent agent pathogène d'infections systémiques nosocomiales.

Il s'agit de bâtonnets à Gram négatif non fermentant, qui peuvent être facilement identifiés à l'aide de l'Api 20NE et du Maldi-TOF. *A. xylosoxidans* consomme du xylose ainsi que du maltose et montre une dégradation oxydative du xylose. L'OF-xylose est la méthode conventionnelle pour faire la distinction entre *A. xylosoxidans* et *Achromobacter denitrificans* (anciennement *A. xylosoxidans* subsp. *denitrificans*). La décomposition des nitrates est positive pour les deux.

OF-xylose sans (à gauche) et avec (à droite) huile de paraffine :



La coloration jaune dans l'éprouvette sans huile de paraffine indique la dégradation oxydative du xylose. Si l'éprouvette contenant de l'huile de paraffine présentait une coloration jaune, cela indiquerait une dégradation du xylose par fermentation.

Les genres *A. denitrificans* et *Bordetella* species sont asaccharolytiques. Les tests pour la lysine et l'ornithine décarboxylase, le clivage du sucre, la réduction des nitrates et la formation de pigments peuvent être utiles pour différencier les espèces de *Burkholderia cepacia*.

Concernant *A. xylosoxidans*, il existe depuis 2021 des valeurs limites définies par l'EUCAST pour la pipéracilline-tazobactam, le méropénème et le triméthoprime-sulfaméthoxazole. Toutefois, il n'a pas encore été précisé si *A. denitrificans* doit également être évalué avec ces valeurs limites ou avec des valeurs limites indépendantes de l'espèce.

Identification	Nombre
Achromobacter xylosoxidans	47
Achromobacter denitrificans	2
Achromobacter denitrificans/xylosoxidans	3
Genre *Achromobacter*	2
Bordetella trematum	1
Burkholderia cepacia	2

Échantillon D : Écouvillonnage de plaie profond / plaie chronique au talon
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

La différenciation avec *Staphylococcus aureus* n'a pas posé de difficultés. *S. aureus* est très répandu et peut coloniser de manière asymptomatique, mais il peut aussi provoquer des infections des plaies, une pneumonie, voire une septicémie et une endocardite.

La particularité de notre souche était la formation de colonies polymorphes, d'une part typiquement grandes et d'autre part minuscules – variants à petites colonies variants (SCV, small colony variants) - colonies présentant une perte d'activité hémolytique et un léger verdissement.

Toutefois, la plupart des SCV isolés cliniquement sont instables, c'est-à-dire qu'après une ou plusieurs sous-cultures, les petites colonies sont de nouveau grandes. Les « vrais » SCV restent petits, même après plusieurs sous-cultures ; un défaut génétique dans le système de transport d'électrons empêche les SCV de se développer correctement.

Des réactions biochimiques inhabituelles peuvent survenir dans ces minuscules colonies, ce qui peut rendre l'identification beaucoup plus difficile ou même avoir pour conséquence que le germe soit signalé comme une flore normale. La thérapie de tels SCV (vrais ou instables) devient plus difficile. Il existe des approches pour traiter de tels SCV par des antibiotiques en association avec des médicaments modifiant le pH, car le faible pH des phagolysosomes favorise manifestement la formation de SCV.

Notre souche a montré une résistance inductible vis-à-vis des macrolides/lincosamides/streptogramines. Les macrolides sont donc inefficaces. Au mieux, la clindamycine peut être efficace comme traitement à court terme pour les infections bénignes de la peau et des tissus mous. Le test de résistance n'était pas requis pour cet échantillon.

Identification	Nombre
Staphylococcus aureus	57

Échantillon E : Urines de milieu de jet / infection urinaire
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Les *Fastidiosipila sanguinis* sont des cocci anaérobies à Gram positif. Notre souche a pu être isolée à partir d'un échantillon d'urine. À ce jour, *F. sanguinis* a été signalé dans des échantillons sanguins, des infections des tissus mous profonds, des os, des infections articulaires et des plaies aiguës ou chroniques. On ne sait pas avec certitude si *F. sanguinis* peut être un agent pathogène des infections urinaires. Aucun cas n'a encore été décrit dans la littérature.

https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32974574/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15774674/, https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24789188/

Fastidiosipila sanguinis est catalase négative. Après 48 heures, une croissance fine a également pu être observée en aérobie sur gélose au sang de mouton. Le diagnostic devient difficile si les urines ne sont incubées que pendant 1 jour. Dans ce cas, *F. sanguinis* peut facilement passer inaperçue. La lipase, la lécithinase et l'uréase sont négatives. *F. sanguinis* est également négative pour le nitrate et l'indole, mais positive pour l'hippurate. Peu d'acide butyrique et d'acide acétique se forme lors de la fermentation du glucose. Dans le système d'identification des bactéries anaérobies API Rapid ID 32A, les réactions des enzymes suivantes sont positives : α-galactosidase, β-galactosidase, α-glucosidase, N-acétyl-β-glucosaminidase.

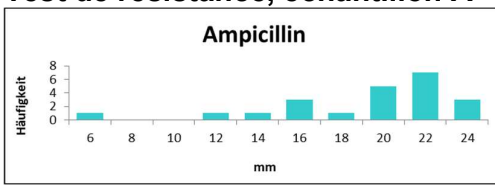
Le séquençage a donné lieu à 0/742 mésappariements 100 % *Fastidiosipila sanguinis*, 81/683 mésappariements 88,1 % *Saccharofermentans acetigenes* et 83/681 mésappariements 87,8 % *Flavonifractor plautii*. Le Maldi-TOF a affiché le score de 2.1 pour *F. sanguinis*.

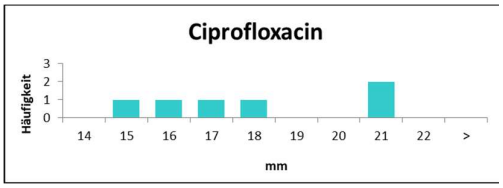
Identification	**Nombre**
Fastidiosipila sanguinis	25
Gardnerella vaginalis	1
Lactobacillus fructivorans	1
Neisseria cinerea	1
Oligella urethralis	1
Aerococcus urinae	1
Genre *Streptococcus*	2
Aucune indication	7
Cocci à Gram positif	13
Cocci à Gram négatif	4
Pas de germes pathogènes	1

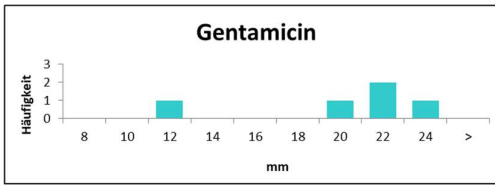
Meilleures salutations

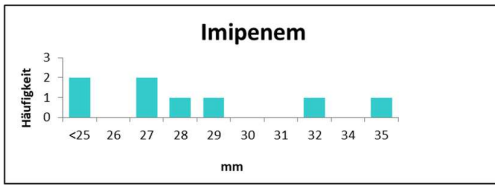
Prof. Dr R. Zbinden *F.S. Hufschmid-Lim*

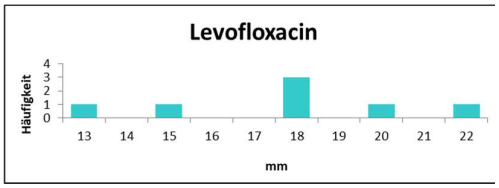
Test de résistance, échantillon A

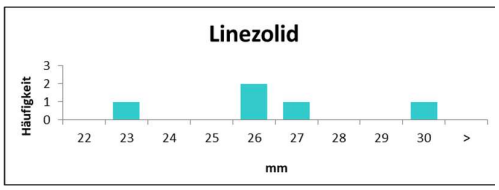


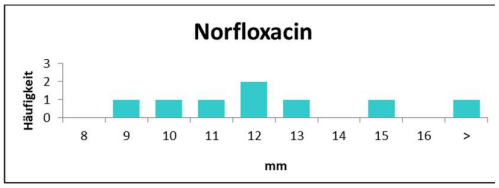


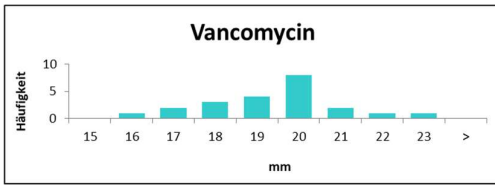
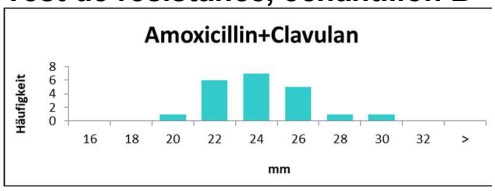
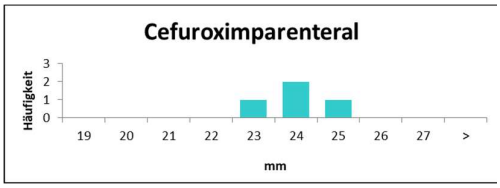
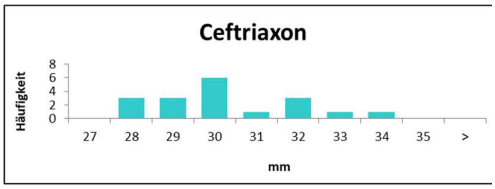
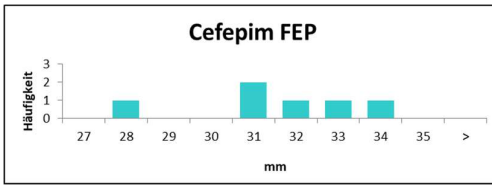
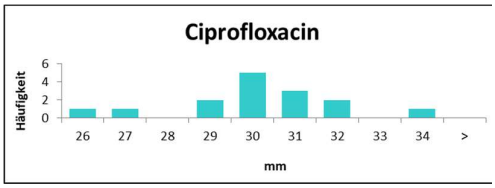
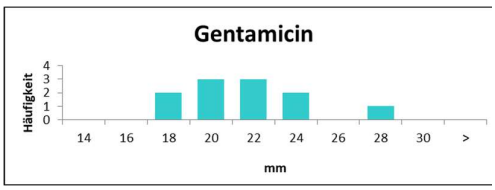
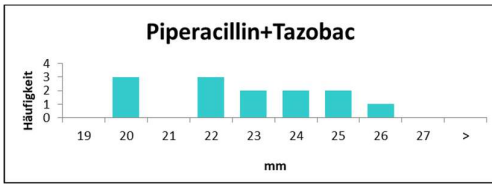
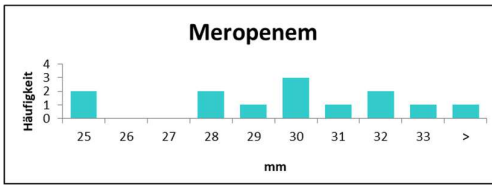












Test de résistance, échantillon B