



Commentaire sur l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2022-2

Échantillon A : Urines de milieu de jet / infection urinaire

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

Notre *Klebsiella pneumoniae* issue d'urines de milieu de jet lors d'une infection urinaire possède une carbapénémase de type NDM et une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M. La bactérie *K. pneumoniae* a pu être identifiée par tous les participants.

Du fait de la présence de la carbapénémase, il n'a pas été possible d'identifier la BLSE à l'aide du test de synergie. Le NG Test CTX-M Multi (NG Biotech, Guipry, France) et le test PCR pour la BLSE étaient toutefois positifs et ont révélé une BLSE de type CTX-M. Pour obtenir le nombre total de points pour les mécanismes de résistance, seule la présence de la carbapénémase devait être indiquée, mais pas les autres mécanismes de résistance. Nous vous prions d'indiquer les mécanismes respectifs car ces informations sont évaluées comme de vrais antibiotiques selon la bactérie.

Notre souche a montré une résistance à la plupart des antibiotiques. Étant donné que plus de 3 classes d'antibiotiques sont concernées par la résistance, il s'agit d'une MDR (multi-drug resistance). Ce phénomène rend nécessaire la prise de mesures d'hygiène hospitalière.

En raison de l'AAC(6)' (aminoglycoside 6'-N-acétyltransférase), l'amikacine et la tobramycine peuvent être résistantes, mais la gentamicine peut toujours être sensible.

Concernant la fosfomycine, nous avons accepté toutes les indications ; selon l'EUCAST, le traitement par fosfomycine par voie orale ne serait en principe prévu que pour *Escherichia coli* lors d'infections urinaires non compliquées. L'indication de la fosfomycine pour les autres *Enterobacterales* nécessite la détermination d'une CMI. L'indication de la nitrofurantoïne n'a pas été évaluée car, comme cela a souvent été signalé, selon l'EUCAST, la nitrofurantoïne n'est prévue que lors d'infections urinaires non compliquées à *E. coli*.

Identification	Nombre
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	56
Complexe <i>Klebsiella pneumoniae</i>	1
<i>Klebsiella pneumoniae/variicola</i>	1

Échantillon B : Ponction articulaire / infection de l'articulation du genou

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

Dans la ponction articulaire réalisée lors d'une infection de l'articulation du genou, l'agent pathogène recherché était *Streptococcus constellatus* du groupe *Streptococcus anginosus (milleri)*. Presque tous les participants ont réussi à poser le diagnostic. *S. anginosus*, *S. constellatus* et *Streptococcus intermedius* font partie du groupe *S. anginosus*. La morphologie de la colonie peut être bêta-hémolytique ainsi qu'avec verdissement. Notre souche a révélé une hémolyse alpha (verdissement) sur gélose au sang de mouton et l'odeur typique du groupe *S. anginosus*. Le groupe *S. anginosus* est catalase négative et positif pour la réaction de Voges Proskauer (VP). Le diagnostic a pu être aisément posé au moyen du MALDI-TOF.

La souche est très sensible. Selon l'EUCAST, il convient d'utiliser les valeurs seuils pour les streptocoques avec verdissement. Plus de 95 % des streptocoques avec verdissement et des streptocoques du groupe *S. anginosus* sont sensibles à la pénicilline.

Étant donné qu'il n'y a pas de valeurs seuils établies par l'EUCAST pour la ciprofloxacine, la lévofloxacine, la doxycycline, la nitrofurantoïne, la norfloxacine, l'oxacilline, le Bactrim et la tétracycline, ces antibiotiques n'ont pas été évalués. Il n'existe pas non plus de valeurs seuils pour la moxifloxacine et la rifampicine, mais l'EUCAST mentionne les ECOFF correspondantes. L'ECOFF de 0,5 mg/l pour la moxifloxacine et de 0,125 mg/l pour la rifampicine peut servir pour la

détection d'un mécanisme de résistance ; cependant, en cas de dépistage négatif, ces antibiotiques ne doivent pas être signalés comme sensibles mais comme de type sauvage. Nous avons accepté l'indication « sensible » pour ces deux antibiotiques.

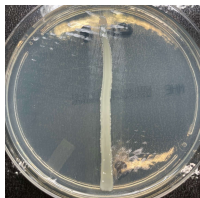
Nous vous prions de bien vouloir consulter les tableaux EUCAST pour les antibiotiques devant être indiqués. Sinon, il se peut qu'il n'y ait pas assez d'antibiotiques disponibles pouvant être évalués.

Identification	Nombre
Groupe <i>Streptococcus anginosus (milleri)</i>	10
Complexe <i>Streptococcus anginosus</i>	1
<i>Streptococcus constellatus</i>	46
<i>Streptococcus</i> species	1

Échantillon C : Hémoculture / endocardite

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Concernant *Granulicatella adiacens* (anciennement connu sous le nom de *Abiotrophia adiacens* ou *Streptococcus adiacens*), il s'agit de cocci à Gram positif facultativement anaérobies, catalase- et oxydase-négatifs. Ils sont positifs pour les tests PYR (pyrrolidonyl arylamidase) et LAP (leucine aminopeptidase), ne présentent aucune croissance dans du NaCl à 6,5 % et sont négatifs pour l'esculine. Avec *Abiotrophia defectiva*, *G. adiacens* appartient au groupe des variants nutritionnels streptococciques, qui nécessitent des nutriments spéciaux dans le milieu pour se développer, p. ex. la L-cystéine et le pyridoxal. Les plaques de sang de mouton utilisées actuellement contiennent souvent ces nutriments en quantités suffisantes, de sorte que *G. adiacens* peut se développer sans nourrice.



La croissance de la nourrice avec *Staphylococcus aureus* est typique. Sur gélose Müller-Hinton, il était très nettement visible dans notre souche, la nourrice sur gélose au sang de mouton était par contre négative.

G. adiacens est présent dans la flore buccale normale chez l'être humain, mais peut également provoquer une endocardite. Étant donné qu'il est fréquent que *G. adiacens* présente une tolérance à la pénicilline (une CMI concernant la pénicilline supérieure à 0,1 mg/l), une thérapie combinée est souvent nécessaire.

Identification	Nombre
<i>Granulicatella adiacens</i>	51
<i>Aerococcus urinae</i>	1
<i>Granulicatella</i> species	1
<i>Gemella morbillorum</i>	2
<i>Streptococcus</i> species	1
Cocci à Gram positif	1
Aucune indication	1

Échantillon D : Os / ostéomyélite

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Actinomyces turicensis, plus récemment également appelée *Schaalia turicensis*, est une bactérie pouvant être présente dans la flore buccale, intestinale, vaginale ou cutanée de l'être humain. Notre souche était un isolat qui a été isolé avec une autre bactérie anaérobie (*Peptostreptococcus*) à partir d'un morceau d'os métatarsien lors d'ostéomyélite.

Concernant *A. turicensis*, il s'agit de bâtonnets à Gram positif et catalase-négatifs. L'identification au moyen du MALDI-TOF ainsi qu'avec le système ApiCoryne (0010701) n'a posé aucune difficulté ; comme vous le savez, avec ApiCoryne, les réactions enzymatiques sont vérifiées dans

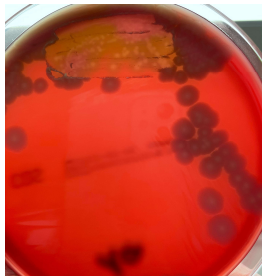
la partie gauche ; la bêta-galactosidase était la seule réaction positive. De plus, de nombreux sucres sont fermentés. Sur gélose au sang de mouton, *A. turicensis* présente une légère hémolyse bêta. Comme son nom l'indique, cet *Actinomyces* – bâtonnet à Gram positif anciennement connu sous le nom de corynéforme CDC du groupe E - a été décrit la première fois à Zurich. Wüst J, Stubbs S, Weiss N, Funke G, Collins MD. Assignment of *Actinomyces pyogenes*-like (CDC coryneform group E) bacteria to the genus *Actinomyces* as *Actinomyces radingae* sp. nov. and *Actinomyces turicensis* sp. nov. *Lett Appl Microbiol* 1995; **20**:76-81

Identification	Nombre
<i>Actinomyces turicensis</i>	36
<i>Schaalia turicensis</i>	13
<i>Actinomyces meyeri</i>	1
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	1
<i>Actinomyces</i> species	3
<i>Bacteroides</i> species	1
Bâtonnets coccoïdes à Gram positif	1
Bâtonnets à Gram positif	2

Échantillon E : Souche / Comment exclure l'anthrax ?

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

La bactérie *Bacillus cereus* contenue dans notre échantillon a montré des réactions atypiques qui n'ont pas permis l'exclusion de *Bacillus anthracis* sans d'autres investigations particulières. La motilité était négative, pas d'hémolyse bêta sur la plaque de sang de mouton, sensibilité à la pénicilline et lécithinase négative ; ces quatre réactions correspondraient à *B. anthracis*. En pratique, il est impératif de prendre également en compte le tableau clinique.



Hémolyse : Contrairement à *B. anthracis*, *B. cereus* présente généralement une hémolyse bêta nettement visible. Concernant notre souche, l'hémolyse n'était que faiblement visible après une incubation prolongée en enlevant les colonies ; une croissance avec une légère hémolyse a pu être observée sur la plaque CNA après une incubation prolongée.

Lécithinase: Notre souche était malheureusement lécithinase négative.

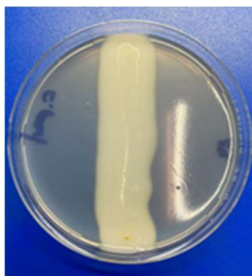


Photo de gauche :

Centre de la plaque de lécithine : *B. cereus* avec une lécithinase positive normale, visible grâce à une turbidité le long de la ligne d'inoculation.

Photo de droite :

La souche expédiée avec une lécithinase négative (pas de turbidité le long de la ligne d'inoculation).



Motilité : Normalement, *B. cereus* est mobile, notre souche était immobile.

Résistance à la pénicilline : *B. cereus* est une bactérie généralement résistante à la pénicilline, *B. anthracis* est sensible à la pénicilline.

De nombreux laboratoires ont indiqué qu'ils transmettraient la souche, ce qui est le mieux en l'absence d'autres possibilités de diagnostic. En tant que laboratoire régional, nous avons eu l'opportunité de tester le phage gamma ; il n'y avait aucun trou de phage, c'est-à-dire pas de *B. anthracis*. La PCR interne n'a pas permis de détecter les deux plasmides de virulence pOX-1 (toxine) et pOX-2 (gélule) ni le gène chromosomique de la protéine de la couche S, ce qui ne va pas dans le sens de *B. anthracis*.

Identification	Nombre
Groupe <i>Bacillus cereus</i>	17
Complexe <i>Bacillus cereus</i>	3
<i>Bacillus cereus</i>	9
<i>Bacillus</i> species/non <i>anthracis</i>	2
<i>Bacillus</i> species	7
<i>Bacillus anthracis</i>	3
Expédition externe	16
Aucune indication	1

ADDENDUM AU DERNIER ESSAI INTERLABORATOIRE:

Échantillon A : *Staphylococcus aureus* (SARM)

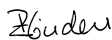
La détection du SARM dans l'échantillon A de l'essai interlaboratoire 2022-1 a été difficile et a donné lieu à un nombre trop élevé de demandes après la discussion. Nous avons fait une déduction minimale pour l'indication manquante SARM dans les mécanismes, de sorte que toutes les autres erreurs consécutives (pénicilline sensible et toutes les autres bêta-lactamines sensibles) n'ont pas donné lieu à une déduction. La plupart des demandes portaient sur la méthodologie d'une meilleure identification.

Nous avons précédemment réalisé un test d'agglutination (PBP2') pour tous les *Staphylococcus aureus* résistants aux antibiotiques autres que la pénicilline/ampicilline (tels que les MLS ou une autre classe d'antibiotiques résistants). En procédant ainsi, on découvrirait également le SARM en détectant la PBP2' ou le gène *mecA*. Par sécurité, nous avons intégré à notre routine une autre lamelle qui a été utilisée dans les directives françaises comme antibiotique supplémentaire pour la recherche de SARM, à savoir le moxalactame, qui en combinaison avec la céfoxitine permet une détection plus sûre des SARM.

Échantillon B : *Citrobacter amalonaticus* (BLSE)

Il convient également de mentionner que, dans le cas de *Citrobacter amalonaticus*, le test du céfotaxime avec et sans acide clavulanique peut conduire à des résultats BLSE faussement positifs. C'est pourquoi, concernant *C. amalonaticus*, il convient d'évaluer la présence de BLSE avec la ceftazidime mais pas avec le céfotaxime. Une participante a attiré notre attention sur l'importance de mentionner cette information de l'EUCAST. Vous trouverez cela dans la section « détection des mécanismes de résistance » de l'EUCAST (page 16 de ESB, E. Special considerations in interpretation).

Meilleures salutations



Prof. Dr R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Test de résistance, échantillon A

Test de résistance, échantillon B

