



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 2023-1

Échantillon A : Urines de milieu de jet / infection urinaire

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

Le *Staphylococcus saprophyticus* a pu être facilement identifié par presque tous les participants. *S. saprophyticus* est un fréquent agent pathogène des infections urinaires non compliquées chez les jeunes femmes en dehors du milieu hospitalier.

S. saprophyticus est un staphylocoque à coagulase négative résistant à la novobiocine. L'EUCAST a défini des zones d'inhibition de l'ampicilline (2 µg) spécifiquement pour *S. saprophyticus* afin de détecter une pénicillinase. La zone d'inhibition de l'ampicilline était de 23 mm dans notre souche et était donc sensible. La pénicilline ne devait pas être testée pour *S. saprophyticus*, c'est pourquoi nous n'avons pas évalué les résultats de pénicilline saisis. Un *S. saprophyticus* sensible à l'ampicilline (zone d'inhibition ≥ 18 mm) est mecA-négatif et sensible à l'ampicilline, à l'amoxicilline et à la pipéracilline (avec ou sans inhibiteur de bêta-lactamase).

Concernant la détection de la sensibilité à la pénicilline en cas de staphylocoques, le Comité Suisse de l'Antibiogramme (SAC, Swiss Antibiogram Committee) a estimé jusqu'en 2023 que la bêta-lactamase (correspondant à la pénicillinase), qui entraîne une résistance à la pénicilline, à l'ampicilline/amoxicilline et à la pipéracilline, peut également être détectée de manière fiable en cas de staphylocoques à coagulase négative à l'aide du test d'inhibition plaquettaire à la pénicilline. Les isolats avec une zone d'inhibition au-dessus du seuil (26 mm) et une bordure effilée de la zone d'inhibition peuvent être signalés comme sensibles. Selon l'EUCAST, cela ne s'appliquait et ne s'applique que pour *Staphylococcus aureus*. Dans le cas de *Staphylococcus lugdunensis*, seul le seuil de 26 mm est indiqué, sans mentionner la bordure effilée ; grâce à notre expérience de plusieurs décennies, la bordure de la zone d'inhibition peut être aisément évaluée en ce qui concerne *S. lugdunensis*. En revanche, nous avons précédemment attiré l'attention sur le fait que, pour *S. saprophyticus*, la bordure effilée est souvent difficile à évaluer. Heureusement, l'EUCAST a continué à tester l'ampicilline pour *S. saprophyticus* puisque les aminopénicillines sont souvent utilisées lors d'infections urinaires simples.

Lors de la dernière réunion du SAC (31 mars 2023), il a été décidé de dorénavant suivre la directive de l'EUCAST, d'autant plus que de nombreux laboratoires ont des difficultés à évaluer la bordure de la zone d'inhibition de la pénicilline. La pénicilline et l'ampicilline ne seront donc plus intégrées dans l'évaluation des staphylocoques, à l'exception des *S. aureus*, *S. lugdunensis* et *S. saprophyticus* susmentionnés (ampicilline uniquement).

S. saprophyticus présente naturellement une CMI de l'oxacilline augmentée, mais des seuils supérieurs à 2 mg/L (même valeur que pour *S. aureus* et *S. lugdunensis*) indiquent une résistance à la méthicilline. Toutefois, celle-ci n'est généralement pas dérivée de l'oxacilline mais de la céfoxitine. Il convient de noter que le test sur disque pour *S. saprophyticus* utilise les mêmes seuils de céfoxitine que pour *S. aureus* et la plupart des autres staphylocoques à coagulase négative (≥ 22 mm sensibles, ≤ 21 mm résistants). Dans le cas de *S. saprophyticus*, une CMI de céfoxitine > 8 mg/L est considérée comme une résistance à la méthicilline (Cave : pour *S. aureus* et *S. lugdunensis*, les valeurs de CMI > 4 mg/L sont déjà considérées comme résistantes). Notre souche était sensible à la céfoxitine et donc sensible aux céphalosporines. Si les céphalosporines sont dérivées du résultat de la céfoxitine, il est essentiel de s'assurer que le céfotaxime et la ceftriaxone ne sont indiqués comme sensibles qu'à forte posologie ; veuillez consulter les informations de l'EUCAST pertinentes lorsque vous fournissez ces indications.

La forte posologie s'applique à la ciprofloxacine et à la lévofloxacine en cas de sensibilité ; nous n'avons pas évalué l'ofloxacine car, selon l'EUCAST, elle n'est recommandée que par voie topique. *S. saprophyticus* devrait être (intrinsèquement) résistant à la fosfomycine, tandis que la nitrofurantoïne est spécifiquement recommandée lors d'infections urinaires. L'acide fusidique ne doit pas être signalé dans l'urine pour *S. saprophyticus*. Notre souche était résistante à l'érythromycine et sensible à la clindamycine mais ne présentait phénotypiquement aucune résistance aux MLS inductible ; la clindamycine est utilisée pour traiter les infections de la peau et des tissus mous, et non les infections urinaires. L'indication du mécanisme de résistance « MLS » n'a donc pas été évaluée. Les aminoglycosides étaient sensibles, mis entre parenthèses par l'EUCAST ; voir la discussion concernant l'échantillon B.

L'indication des glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) n'est pas judicieuse en cas d'infection urinaire. Cela nous donne toutefois l'occasion de discuter d'une autre divergence SAC-EUCAST. Le test sur disque n'est pas suffisant pour déterminer la sensibilité des staphylocoques à la vancomycine. Les indications étaient à chaque fois basées sur la CMI. Nous avons cependant, avec le SAC, recommandé d'utiliser le disque de teicoplanine comme méthode de dépistage afin de ne pas avoir à systématiquement effectuer une CMI. Étant donné que le CLSI ne fournit non plus de zones d'inhibition pour la teicoplanine en cas de staphylocoque, nous avons également décidé lors de la même réunion du SAC que le SAC se rallierait aussi à l'EUCAST en ce qui concerne le test des glycopeptides en cas de staphylocoque. Avec SAC, nous recommandons uniquement le MIC pour la détection de la résistance aux glycopeptides chez les staphylocoques.

Identification	Nombre
<i>Staphylococcus saprophyticus</i>	54
<i>Staphylococcus hominis</i>	1

Échantillon B : Sécrétions trachéales / pneumonie associée au respirateur

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

Les sécrétions trachéales lors de pneumonie associée au respirateur ont permis d'isoler *Serratia marcescens*. *S. marcescens* est un germe aquatique et environnemental typique qui provoque des infections nosocomiales. L'identification au niveau du genre a été effectuée sans problème au moyen du Maldi-TOF, d'Api 20E et de la série biochimique interne. *S. marcescens* peut être différencié de *S. liquefaciens* à l'aide du xylose OF. *S. marcescens* décompose par oxydation le xylose OF, tandis que *S. liquefaciens* utilise le xylose OF par fermentation. Cela se traduit par une coloration jaune après 24 heures d'incubation dans le tube de xylose OF avec et sans enrobage d'huile de paraffine. *S. marcescens*, *Serratia nematodiphilia* et *Serratia ureilytica* ont des spectres très similaires et ne peuvent pas être différenciés à l'aide du Maldi-TOF. Nous avons attribué le nombre total de points pour toutes les indications *Serratia* fournies.

S. marcescens possède naturellement une β -lactamase de type AmpC. L'indication du mécanisme de résistance AmpC était obligatoire pour obtenir le nombre total de points. Selon les règles d'expertise de l'EUCAST, il devrait toutefois y avoir un avertissement concernant le développement d'une résistance ou la sélection de mutants résistants aux céphalosporines de 3e génération. D'autre part, selon l'EUCAST, il n'est pas prévu que la ceftriaxone, la ceftazidime et le céfotaxime testées avec sensibilité soient classées comme résistantes. Cette approche conduit à l'administration immédiate de carbapénèmes, ce qui favorise la résistance générale aux carbapénèmes, qui repose sur les carbapénémases ainsi que sur les modifications de la paroi cellulaire. Concernant pipéracilline/tazobactam, la valeur de mesure se situait autour du point critique, nous avons donc accepté tous les résultats.

S. marcescens présente une résistance intrinsèque à l'ampicilline/amoxicilline, à l'amoxicilline/acide clavulanique, aux céphalosporines de 1^{re} et 2^e génération, à la colistine et à la nitrofurantoïne. Veuillez noter que selon la nouvelle terminologie de l'EUCAST, on parle d'une résistance attendue au lieu de la résistance intrinsèque. Si vous cliquez sur « Expert Rules and Expected Phenotypes » dans les tableaux de l'EUCAST directement sous les noms des bactéries respectifs, vous accéderez directement au document avec les règles d'expertise ; un clic sur « Expected Phenotypes » vous donne accès au document avec les définitions. Vous pouvez également y accéder depuis la page principale de l'EUCAST en cliquant sur « Expert Rules and Expected Phenotypes » dans la barre latérale. De manière générale, on ne parle plus de résistance intrinsèque, mais de phénotype de résistance attendu lorsque plus de 90 % d'une espèce présente une CMI pour un antibiotique donné qui est supérieure au seuil de CMI indépendant de l'espèce (pharmacocinétique/pharmacodynamique) pour « sensible ».

Les seuils cliniques pour les aminoglycosides ont été révisés par l'EUCAST 2019 et ne sont valables que pour les infections urinaires en cas d'*Enterobacterales*. En ce qui concerne les autres infections, les valeurs limites sont entre parenthèses, ce qui signifie généralement que ces antibiotiques ne doivent être utilisés qu'en association lors d'infections systémiques. Concernant *S. saprophyticus* de l'échantillon A, les aminoglycosides sont également entre parenthèses. Les seuils entre parenthèses correspondent essentiellement à des ECOFF ou à un compromis d'ECOFF au sein de plusieurs espèces d'un même genre. Les précédentes règles d'expertise pour les aminoglycosides ont été supprimées des lignes directrices pour diverses raisons. Nous n'avons pas évalué les aminoglycosides pour *S. marcescens* en raison du caractère incertain des règles d'expertise.

Identification	Nombre
<i>Serratia marcescens</i>	50
<i>Serratia nematodiphila</i>	1
Complexe <i>Serratia marcescens</i>	1
Groupe <i>Serratia marcescens</i>	2
<i>Burkholderia pseudomallei</i>	1

Échantillon C : Hémoculture / bactériémie, 1 flacon sur 4
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Pseudomonas stutzeri, un bâtonnet à Gram négatif non fermentant, était facilement identifiable pour la plupart des participants. L'identification sans MALDI-TOF n'est toutefois pas aisée. La carte Vitek GN a permis une très bonne identification, ce qui n'a pas été le cas avec l'API NE ; *Ralstonia pickettii* a été mentionné comme première possibilité.

P. stutzeri et *R. pickettii* sont des bactéries largement répandues dans l'environnement, colonisent divers systèmes écologiques et ont été décrites comme des agents pathogènes opportunistes chez l'être humain. Les deux peuvent provoquer des pseudobactériémies dues à des perfusions contaminées ainsi que des infections nosocomiales. La plupart des travaux concernant à cet égard *R. pickettii* étaient encore publiés sous l'ancien nom *Pseudomonas pickettii*. De plus, les deux peuvent former des colonies sèches repliées. Nous avons également attribué un point pour la mention de *R. pickettii*.

Il convient néanmoins de souligner ici des différences avec les tests conventionnels. Les deux bactéries sont à Gram négatif, oxydase positives, non fermentantes, sans pyoverdine ; la formation de H₂S et la production d'indole sont négatives. Ces tests sont répertoriés, par exemple dans la 11^e édition du Manual of Clinical Microbiology - American Society of Microbiology comme critères décisifs pour la différenciation des non-fermenteurs à Gram négatif.

Les autres réactions clés ou tests clés ci-après figurent dans ce manuel (chapitre 33 « Approaches to the identification of aerobic Gram-negative bacteria » de G. Wauters et M. Vaneechoutte), et sont différents pour *P. stutzeri* et *R. pickettii* :

Réaction	<i>P. stutzeri</i>	<i>R. pickettii</i>
Pyrrolidonyl aminopeptidase (PYR)	négatif	positif
Colistine	sensible	résistant
Uréase	négatif	positif/ partiellement retardée
Croissance dans 4 % de NaCl	absente	présente

Identification	Nombre
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	47
Groupe <i>Pseudomonas stutzeri</i>	4
Complexe <i>Pseudomonas stutzeri</i>	1
<i>Ralstonia pickettii</i>	2
Aucune indication	1

Échantillon D : Ponction de la bourse / Bursitis olecrani

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Cette ponction de la bourse a permis d'isoler *Trueperella pyogenes*. Comme son nom l'indique, *T. pyogenes* peut provoquer une inflammation purulente. L'agent pathogène responsable du pus est connu depuis longtemps chez les vaches, les chèvres, les boucs et les porcs.

L'aperçu historique de la nomenclature montre le développement de *T. pyogenes* : dans les années 1980, *Corynebacterium pyogenes* a été renommé *Actinomyces pyogenes* (Collins MD and D. Jones (1982) Reclassification of *Corynebacterium pyogenes* (Glage) in the genus *Actinomyces*, as *Actinomyces pyogenes* comb. nov. J Gen Microbiol 128: 901-903) et *Corynebacterium haemolyticum* in *Arcanobacterium haemolyticum* (Collins MD, D Jones, GM Schofield (1982) Reclassification of '*Corynebacterium haemolyticum*' (MacLean, Liebow & Rosenberg) in the genus *Arcanobacterium* gen. nov. as *Arcanobacterium haemolyticum* nom. rev., comb. nov. J Gen Microbiol 128: 1279-1281).

Actinomyces pyogenes a pu être différencié d'*A. haemolyticum* par agglutination avec des antisérums dirigés contre les streptocoques du groupe G. Comme pour les streptocoques du groupe G, la β -glucuronidase est positive pour *A. pyogenes*. Des informations simples peuvent se perdre lors de la modification du nom. À l'Institut de Microbiologie Médicale de l'Université de Zurich, en collaboration avec MD Collins de Reading, Royaume-Uni, des isolats d'abcès ont été décrits comme étant biochimiquement très similaires à *A. pyogenes*, ne présentant aucune réaction croisée avec des antisérums contre les streptocoques du groupe G, mais un CAMP faible. Ces bactéries ont été considérées comme des *Actinomyces pyogenes* et Zürich et Reading leur ont donné des noms d'espèces (adjectifs) (J. Wüst, S. Stubbs, N. Weiss, G. Funke, MD Collins (1995) 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 20: 76-81).

Dans les années 1990, en se fondant sur les séquences d'ARNr 16S, MD Collins a renommé, *A. pyogenes* avec d'autres *Actinomyces* spp. *Arcanobacterium* spp. (Ramos CP, G Foster, MD Collins (1997) Phylogenetic analysis of the genus *Actinomyces* based on 16S rRNA gene sequences: description of *Arcanobacterium phocae* sp. nov., *Arcanobacterium bernardiae* comb. nov., and *Arcanobacterium pyogenes* comb. nov. Int J Syst Bacteriol 47:46-53). Toutefois, les bactéries *A. pyogenes* et *A. bernardiae* ont ensuite été respectivement renommées *Trueperella pyogenes* et *Trueperella bernardiae* (Yassin AF, H Hupfer, C Siering, P Schumann (2011) Comparative chemotaxonomic and phylogenetic studies on the genus *Arcanobacterium* Collins et al. 1982 emend. Lehen et al. 2006: proposal for *Trueperella* gen. nov. and emended description of the genus *Arcanobacterium*. Int J Syst Evol Microbiol 61: 1265-1274).

L'identification a été facile au moyen du MALDI-TOF. L'API Coryne a permis une très bonne identification de *T. pyogenes* avec une ID de 99,9 % et une valeur T de 0.58. La fermentation positive du xylose a permis la différenciation de *T. bernardiae* et *A. haemolyticum*. Des colonies hémolytiques étaient visibles sur la gélose au sang de mouton ; le CAMP était négatif. À titre de différenciation, *A. haemolyticum* présente un CAMP inverse, c'est-à-dire une atténuation de l'hémolyse par *S. aureus*, et *T. bernardiae* peut davantage acidifier le maltose que le glucose.

Identification	Nombre
<i>Trueperella pyogenes</i>	54
Aucune indication	1

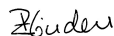
Échantillon E : Matériel de port (cathéter) / infection associée au port
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Les staphylocoques à coagulase négative constituent le principal composant de la flore cutanée humaine. Une étude de 2020 révèle que *Staphylococcus saccharolyticus* colonise également la peau plus fréquemment que l'on ne le suppose <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32718033/>. Les premières publications sous le nom de *Peptococcus saccharolyticus* ont également pu montrer cela en 1978 (Evans CA et al. (1978) J Clin Microbiol 7: 261-4). Cette fréquente colonisation cutanée peut entraîner des infections associées à des corps étrangers. Presque tous les participants ont réussi l'identification.

Concernant *S. saccharolyticus*, il s'agit de cocci à Gram positif et à catalase positive, disposés en amas et en tétrades, qui se développent sous forme anaérobie. Dans des conditions optimales, les sous-cultures peuvent également présenter une légère croissance aérobie. La résistance au métronidazole chez les cocci à Gram positif à croissance anaérobie est conventionnellement un indicateur de cette identification.

Identification	Nombre
<i>Staphylococcus saccharolyticus</i>	53
<i>Staphylococcus</i> species	1
Aucune indication	1

Meilleures salutations

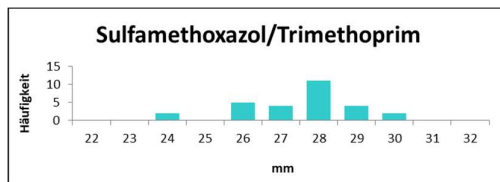
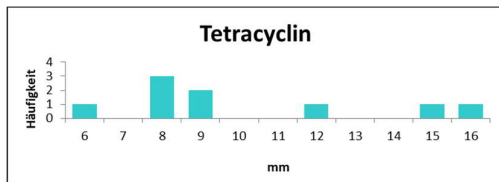
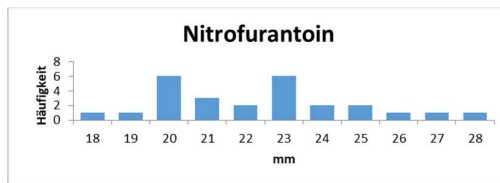
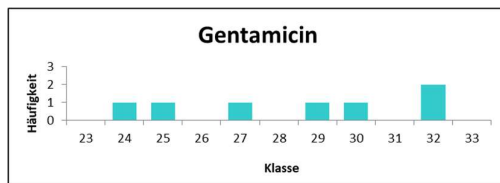
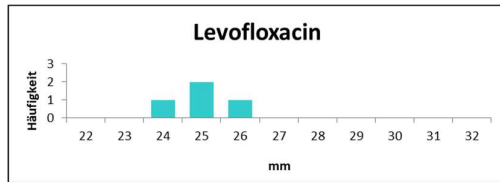
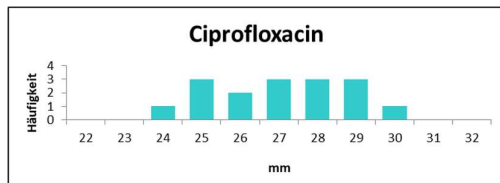
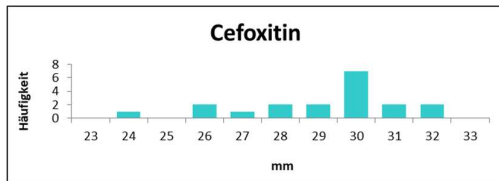
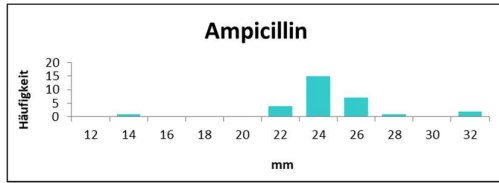


Prof. Dr R. Zbinden



F.S. Hufschmid-Lim

Test de résistance, échantillon A



Test de résistance, échantillon B

