



Commentaire sur l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2023-3

Échantillon A : Urines de milieu de jet / infection urinaire

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

La *Klebsiella oxytoca* contenue dans cet échantillon a été aisément identifiée par tou-te-s les participant-e-s.

Notre souche était une productrice de bêta-lactamase K1. Il y a une surproduction de la bêta-lactamase chromosomique codée du type OXY (classe A d'Ambler), spécifique de *K. oxytoca*. Ce phénotype est le résultat d'une mutation dans la région promotrice du gène blaOXY et est observé dans environ 10 % de tous les isolats hospitaliers de *K. oxytoca*. En plus de l'amoxicilline-acide clavulanique, de la pipéracilline-tazobactam, du cefpodoxime et du céfotaxime, les générateurs de K1 sont résistants à la ceftriaxone et à l'aztréonam ; la résistance au céfépime peut varier. Les générateurs de K1 sont généralement sensibles à la ceftazidime.

La bêta-lactamase K1 ne doit cependant PAS être confondue ou assimilée à une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Pour cette raison, la mention « BLSE positif » a donné lieu à une déduction. Afin d'obtenir la totalité des points, la mention « non BLSE » devait être visible. Une clarification phénotypique des BLSE peut entraîner des difficultés en présence d'une bêta-lactamase K1, car les tests de synergie avec le céfotaxime et le céfépime peuvent souvent être faussement positifs, mais pas avec la ceftazidime (Potz, Livermore et al. False-positive extended-spectrum β -lactamase tests for *K. oxytoca* strains hyperproducing K1 β -lactamase; J Antimicrob Chemother. 2004;53(3)).

Les antibiotiques suivants n'ont pas été évalués :

- Nitrofurantoïne : étant donné que la nitrofurantoïne n'est définie selon l'EUCAST que pour les infections urinaires (IU) non compliquées à *E. coli*, nous ne l'avons pas évaluée, comme dans les essais interlaboratoires précédents. Le CLSI, quant à lui, fixe des valeurs limites pour toutes les *Enterobacterales* ; il convient de noter que pour la diffusion sur disque, la charge de disque de nitrofurantoïne (50 μ g) selon le CLSI est différente que celle définie par l'EUCAST (100 μ g).
- Colistine : concernant la colistine, seule la détermination par la méthode de microdilution en bouillon est autorisée. Nous n'avons pas évalué l'indication de la colistine.
- Doxycycline : aucune évaluation n'a également été effectuée pour la doxycycline car l'EUCAST n'indique aucune valeur limite.
- Fosfomycine : les seuils critiques pour la fosfomycine orale sont définis par l'EUCAST (et par le CLSI) uniquement pour les IU non compliquées à *E. coli*. Les seuils critiques pour la fosfomycine administrée par voie intraveineuse (iv) s'appliquent toutefois à toutes les *Enterobacterales*. Dans les nouveaux tableaux des seuils critiques de l'EUCAST version 13.1 (juin 2023), la fosfomycine orale est définie pour les seuils critiques PC-PD (non liés à l'espèce), mais uniquement pour les IU non compliquées et pour les CMI.

Identification	Nombre
<i>Klebsiella oxytoca</i>	54
<i>Klebsiella oxytoca</i> complexe	1

Échantillon B : Ponction d'abcès hépatique / cholangite**Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce) + test de résistance**

Enterococcus faecium fait partie de la flore intestinale physiologique des humains et des animaux. Dans notre cas, l'isolat d'*E. faecium* provenait d'une aspiration d'abcès hépatique lors d'une cholangite.

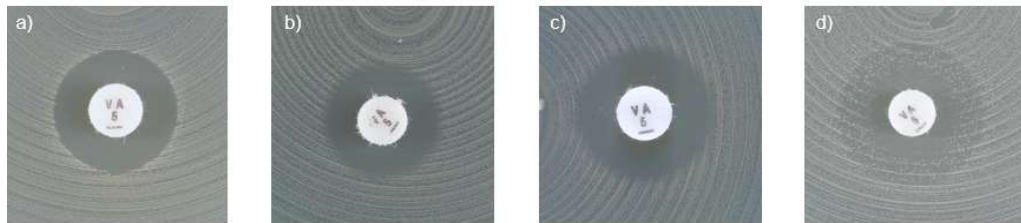
Enterococcus spp. est l'une des bactéries à Gram positif les plus fréquemment isolées de la bile de patient·e·s atteint·e·s de cholangite aiguë. Il s'agit d'une infection bactérienne potentiellement mortelle qui peut rapidement évoluer vers une septicémie et pour laquelle un traitement antimicrobien rapide est indispensable.

Concernant notre souche, il s'agissait d'un entérocoque résistant à la vancomycine (ERV). Le gène *vanB* a pu être détecté par la PCR. *vanA* et *vanB* sont tous deux plasmidiques et peuvent être transmis à d'autres souches. Ils sont donc d'une importance majeure en termes d'hygiène hospitalière.

Si la zone d'inhibition vancomycine est effilée en ce qui concerne la vancomycine, soit l'ERV doit être exclu par biologie moléculaire, soit la vancomycine doit être rapportée comme « résistante ».

Vous trouverez dans les lignes directrices de l'EUCAST l'outil d'interprétation suivant pour ce sujet :

(EUCAST Tableaux des seuils critiques cliniques v. 13.1, valides depuis le 2023-06-29)



a) Bordure nette de la zone d'inhibition et diamètre de ≥ 12 mm. → rapporter comme « sensible ».

b-d) Bordure effilée de la zone d'inhibition ou colonies dans la zone d'inhibition : confirmer par PCR ou rapporter comme « résistante » même si le diamètre est ≥ 12 mm.

Pour l'évaluation, l'ERV devait obligatoirement être mentionné afin d'obtenir le maximum de points.

Les antibiotiques suivants n'ont pas été évalués :

- Clindamycine : bien que les isolats d'*E. faecium* semblent sensibles à la clindamycine in vitro, le bénéfice thérapeutique du médicament n'est pas connu pour cette espèce. Par conséquent, le résultat doit être rapporté comme résistant ou ne pas être rapporté du tout.

- L'indication de résistance aux MLSB n'est pas applicable et n'a pas été évaluée.

- Nous n'avons pas évalué l'oxacilline, elle n'est pas applicable aux espèces *Enterococcus*

La gentamicine est utilisée pour dépister la résistance de haut niveau (HLR) pour les entérocoques. Pour les entérocoques, une résistance élevée doit également être mentionnée dans le rapport de laboratoire. Même si la gentamicine a été rapportée comme sensible lors de notre essai interlaboratoire (sans la mention HL), nous avons néanmoins considéré cela comme correct.

Seul l'ECOFF est défini pour l'association sulfaméthoxazole/triméthoprimine concernant les entérocoques. Il n'existe pas de seuils corrects car l'activité vis-à-vis des entérocoques n'est pas claire et les résultats cliniques ne sont pas prédictibles. L'ECOFF ne peut être utilisé que pour distinguer le type sauvage du type non sauvage. Nous avons accepté « résistant » comme indication.

Identification	Nombre
<i>Enterococcus faecium</i>	54
<i>Enterococcus</i> espèce	1

Échantillon C : Expectorations / mucoviscidose

Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Le complexe *Burkholderia cepacia*, ou BCC en abrégé, se compose de plus d'une douzaine d'espèces différentes, dont *Burkholderia cenocepacia*, qui a été isolée à partir de cet échantillon.

Il s'agit de bâtonnets à Gram négatif non fermentants qui sont considérés comme facultatifs pathogènes. Ils sont particulièrement redoutés en tant qu'agents pathogènes d'infections pulmonaires chez les patient·e·s atteint·e·s de mucoviscidose, bien que l'évolution clinique puisse varier du statut de porteur asymptomatique à la forme la plus grave, appelée syndrome Cepacia. Il s'agit d'une maladie respiratoire évolutive grave associée à une détérioration drastique de la fonction pulmonaire et à une bactériémie et qui peut avoir une issue fatale. Le syndrome Cepacia a été décrit pour la première fois lors d'une épidémie chez des patient·e·s atteint·e·s de mucoviscidose à Toronto en 1980-1981 et est généralement causé par les espèces *B. cenocepacia* et *B. multivorans*. Les patient·e·s infecté·e·s par *B. cenocepacia* ont en outre un pronostic significativement moins bon (mortalité plus élevée) après une transplantation pulmonaire.

Toutes les espèces du genre *Burkholderia* sont ubiquistes. Elles sont présentes dans l'eau, dans le sol et sur les plantes. *B. cenocepacia* est résistant à certains désinfectants et antiseptiques et peut survivre pendant de longues périodes sur des surfaces, y compris sur la peau humaine et les muqueuses.

Les espèces du BCC sont résistantes à de nombreux antibiotiques courants. Elles sont généralement sensibles à la ceftazidime et au cotrimoxazole. La sensibilité aux carbapénèmes est variable. Il existe une résistance intrinsèque pour la colistine et les aminosides. L'EUCAST n'a pas défini de seuils pour les tests de résistance. Concernant le BCC, il est fait référence à un document d'accompagnement. [BCC susceptibility testing_130719.pdf \(eucast.org\)](https://www.eucast.org/antimicrobials/susceptibility_testing/BCC_susceptibility_testing_130719.pdf).

MALDI-TOF MS ne permet pas d'obtenir une bonne différenciation entre les espèces respectives au sein du complexe. Le séquençage du gène RecA reste essentiel pour une identification fiable des espèces.

B. cenocepacia n'est pas compris dans la base de données Api20NE.

Identification	Nombre
<i>Burkholderia cenocepacia</i>	22
<i>Burkholderia cepacia</i> complexe	23
<i>Burkholderia cepacia</i> groupe	5
<i>Burkholderia cepacia</i>	4
<i>Burkholderia</i> species	1

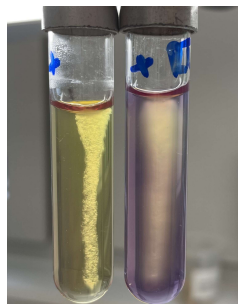
Échantillon D : Liquide céphalo-rachidien / méningite purulente chez un nouveau-né
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Ce liquide céphalo-rachidien a permis d'isoler *Listeria monocytogenes* dans le cas d'une méningite purulente chez un nouveau-né. Cela n'a posé aucune difficulté à presque tous les participants. Les espèces du genre *Listeria* sont répandues dans l'environnement. La bactérie *L. monocytogenes* a été isolée à partir de nombreux mammifères, oiseaux, poissons, crustacés et insectes, mais son habitat principal est le sol et les matières végétales en décomposition.

Du fait de sa large répartition, *L. monocytogenes* a de nombreuses possibilités d'entrer dans la chaîne alimentaire et donc de provoquer une infection chez l'homme. Cela est facilité par la prolifération particulièrement fructueuse de *Listeria* à 4 °C (psychrophile).

Les sources d'infection comprennent les aliments d'origine animale (p. ex. la viande et les charcuteries, le poisson, le lait cru et les produits laitiers, en particulier le fromage) ainsi que les aliments d'origine végétale (p. ex. les salades prédécoupées). Les personnes dont le système immunitaire est affaibli ainsi que les femmes enceintes, les nouveau-nés et les personnes âgées sont particulièrement touchées. Chez les femmes infectées par les *Listeria* pendant la grossesse, une contamination de l'enfant est possible.

Test de motilité en ODC (ornithine décarboxylase) – éprouvettes



À gauche :

Motilité négative (pas de turbidité et ligne d'inoculation bien visible) après 24 heures d'incubation à 37 °C sans CO₂.

À droite :

Motilité positive (turbidité visible dans l'éprouvette) après 24 heures d'incubation à température ambiante.

Notre isolat était constitué de bâtonnets à Gram positif, qui présentaient des colonies laiteuses avec une légère hémolyse sur gélose au sang de mouton. Il était catalase positif, mobile à 22 °C et présentait un CAMP positif caractéristique de *L. monocytogenes*. Le MALDI-TOF MS, l'Api Coryne et le CTA-Bio ont permis d'identifier notre souche comme étant *L. monocytogenes*. Selon le typage, il s'agit d'une *L. monocytogenes* 1/2a. *L. innocua* est CAMP-négatif, ne subit pas de bêta-hémolyse et peut donc être différenciée de *L. monocytogenes* si cette distinction est difficile pour certaines souches avec le MALDI-TOF MS.

Toutes les céphalosporines présentent des lacunes dans leur efficacité contre les *Listeria*. C'est pourquoi, en cas de méningite chez des patients immunodéprimés ou présentant des facteurs de risque correspondants, un antibiotique efficace contre les *Listeria* (p. ex. l'ampicilline) doit en principe être administré en plus de la ceftriaxone lors du traitement initial.

La détection de *Listeria monocytogenes* doit être déclarée et les isolats doivent être transmis au centre de référence désigné par l'OFSP.

Identification	Nombre
<i>Listeria monocytogenes</i>	52
<i>Listeria monocytogenes/innocua</i>	1
<i>Listeria</i> espèces	2

Échantillon E : Hémoculture / patient immunodéprimé atteint de bactériémie
Exigence : Bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Roseomonas mucosa est un bâtonnet à Gram négatif oxydase positif répandu dans l'environnement et assez rarement isolé à partir d'échantillons cliniques. Bien que le germe présente une faible virulence, il peut provoquer de graves infections systémiques, en particulier chez les patients souffrant de maladies sous-jacentes ou d'immunosuppression.

Roseomonas doit son nom au pigment rose présent sur la gélose au sang de mouton. Le nom de l'espèce est dérivé du latin *mucosa* (muqueuse, visqueuse) et fait référence aux colonies visqueuses, presque liquides. Cette croissance typique n'est visible qu'après une incubation assez longue (à partir du 2^e-3^e jour).

Les tests de résistance ont montré que *R. mucosa* est principalement sensible aux aminosides, aux quinolones et aux carbapénèmes.

Le MALDI-TOF MS a permis une bonne identification, *R. mucosa* n'est pas compris dans la base de données d'Api20NE.

Identification	Nombre
<i>Roseomonas mucosa</i>	39
<i>Roseomonas gilardii</i>	7
<i>Roseomonas gilardii subsp. rosea</i>	1
<i>Roseomonas gilardi/mucosa</i>	2
<i>Roseomonas species</i>	2
<i>Ralstonia pickettii</i>	1
<i>Rhizobium radiobacter</i>	1
<i>Acinetobacter ursingii</i>	1
Diplocoques à Gram négatif	1

Meilleures salutations



Dr méd. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Test de résistance, échantillon A

Test de résistance, échantillon B

