



Commentaire sur l'essai interlaboratoire B9 Microbiologie 2023-4

Échantillon A : expectorations / pneumonie

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

Tou-te-s les participant-e-s ont réussi à détecter des pneumocoques dans les expectorations ; la solubilité biliaire était positive et l'optochine était sensible. Des colonies vertes et visqueuses sont apparues sur la gélose au sang de mouton après 18 à 24 heures d'incubation.

La souche était sensible à la pénicilline et à d'autres antibiotiques β -lactamines.

Conformément aux directives de l'EUCAST, le dépistage de la résistance aux β -lactamines s'effectue soit par un test sur disque d'oxacilline (1 μ g) soit par détermination de la CMI de la pénicilline (dépistage négatif : diamètre de la zone d'inhibition de l'oxacilline \geq 20 mm ou CMI de la pénicilline \leq 0,06 mg/L). De la sorte, d'éventuelles protéines altérées liant la pénicilline, qui induisent une sensibilité réduite à la pénicilline, sont détectées de manière fiable. Il n'est cependant pas nécessaire de signaler l'oxacilline au client car il ne s'agit que d'un test de résistance indirecte. Dans le tableau des seuils critiques de l'EUCAST (EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.1, validité à partir du 2023-06-29) figure, page 57, un diagramme qui montre l'interprétation du dépistage de la résistance aux β -lactamines lors de *Streptococcus pneumoniae*.

La sensibilité aux fluoroquinolones peut résulter de la norfloxacine, qui ne peut être utilisée que comme substance de dépistage et n'est pas administrée comme traitement des infections à pneumocoques. Selon l'EUCAST, la ciprofloxacine doit être définie comme résistante lors de pneumocoques. Concernant la lévofloxacine, seule la sensibilité à forte dose « I » (increased exposure) peut être indiquée. En cas de résistance à la norfloxacine, la sensibilité vis-à-vis de la lévofloxacine ou à la moxifloxacine doit être testée séparément. Tou-te-s les participant-e-s qui ont rapporté un résultat sensible (« S ») pour la lévofloxacine n'ont reçu que la moitié des points.

La gentamicine n'a pas été évaluée. L'EUCAST n'a pas établi de seuils critiques pour les aminosides (y compris la gentamicine à forte dose) et les pneumocoques, lesquels doivent être définis comme résistants ou ne pas être signalés.

Identification	Nombre
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	55

Échantillon B : hémoculture / septicémie

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

Cet échantillon d'une hémoculture lors de septicémie a permis d'isoler *Salmonella enterica* subsp. *enterica* Serovar Chester (ou, en abrégé : *Salmonella* Chester). Il s'agit d'une salmonelle entérique du sérotype B.

Seule une identification au niveau du genre a pu être obtenue en utilisant le MALDI-TOF MS, l'API 20E, notre biochimie et le VITEK 2.

Les antisérums suivants ont montré une agglutination lors de l'agglutination de salmonelles : anti-poly A-E, anti-poly H et anti-O:4 (groupe B). La bactérie *Salmonella enterica* subsp. *enterica* sérotype Chester a été isolée à partir de diverses espèces animales et de divers aliments dans le monde entier, mais n'est pas fréquemment identifiée dans le cadre de la surveillance des épidémies humaines (moins de 0,1 % de tous les cas de salmonellose signalés chaque année en Europe, selon l'ECDC). Nous avons accepté tous les résultats indiquant *Salmonella* sp. mais tenons à souligner qu'il convient au moins d'indiquer si les salmonelles typhiques sont exclues. L'indication de *Salmonella* Typhimurium et de *Salmonella* Enteritidis n'a respectivement donné lieu qu'à un point car il s'agissait d'une détermination erronée du sérotype.

L'isolat était sensible vis-à-vis de tous les antibiotiques testés.

Les aminosides n'ont pas été évalués. Étant donné que les salmonelles surviennent également de manière intracellulaire au cours de leur cycle d'infection et que les aminosides ne peuvent pas pénétrer dans les cellules, les aminosides sont considérés comme inefficaces. Selon les règles d'expertise de l'EUCAST v 3.2 pour *Salmonella* spp., les aminosides doivent être rapportés comme résistants, même si les tests in vitro sont sensibles.

Concernant les isolats extra-intestinaux de *Salmonella* tels que celui-ci, des valeurs limites particulières s'appliquent aux fluoroquinolones, notamment à la ciprofloxacine. Il existe en effet des données qui indiquent un échec clinique du traitement par quinolone lorsque l'isolat a acquis une ou plusieurs mutations cibles dans le gène *gyrA*. Le dépistage d'une résistance de bas niveau à la ciprofloxacine lors d'isolats extra-intestinaux de *Salmonella* est effectué à l'aide d'un test sur disque à la péfloxacinine (5 µg). Alternativement, une détermination de la CMI de la ciprofloxacine peut être effectuée (valeur limite ≤ 0,06 mg/L). Notre isolat n'a pas montré de résistance de bas niveau aux quinolones (type sauvage).

Identification	Nombre
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> Chester	1
<i>Salmonella</i> Chester	1
<i>Salmonella enterica</i>	10
<i>Salmonella enterica</i> groupe B	3
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i>	9
<i>Salmonella enterica</i> ssp. <i>enterica</i> groupe B	1
<i>Salmonella</i> Enteritidis	1
Groupe <i>Salmonella</i>	2
<i>Salmonella</i> groupe B	8
<i>Salmonella</i> species	18
<i>Salmonella</i> Typhimurium	1

Échantillon C : tissus des valves cardiaques / endocardite

Exigence : bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Il s'agissait d'*Erysipelothrix rhusiopathiae*, l'agent pathogène de l'érysipéloïde, une infection zoonotique. Ce bâtonnet à Gram positif se trouve principalement chez les espèces animales telles que le porc, le mouton, le poisson et la volaille. *E. rhusiopathiae* se présente dans la coloration de Gram sous forme de bâtonnets à Gram positif droits, souvent filamenteux, formant parfois de courtes chaînes, sans spores. Les colonies mesurent < 0,5 mm de diamètre, sont gris-blanc, présentent une α-hémolyse et sont catalase négatives. En raison de la morphologie dans la coloration de Gram ainsi que de la morphologie des colonies, l'agent pathogène peut facilement être confondu avec des lactobacilles.

E. rhusiopathiae est connu comme l'agent pathogène de l'érysipèle porcin, une maladie infectieuse des porcs qui peut parfois provoquer une septicémie aiguë et se révèle souvent mortelle. Chez les personnes professionnellement exposées (vétérinaires, bouchers, agriculteurs, pêcheurs, poissonniers, cuisiniers), le tableau clinique d'une cellulite localisée, appelée érysipéloïde, peut se manifester en cas de lésions cutanées : décoloration bleue-rougeâtre douloureuse avec gonflement et formation de cloques, mais pas de production de pus. Contrairement à l'érysipèle classique (agent pathogène : *Streptococcus pyogenes*), l'érysipéloïde est circonscrit et les symptômes généraux tels que la fièvre ou l'atteinte des voies lymphatiques sont plus rares. Les lésions guérissent spontanément après 1 à 3 semaines.

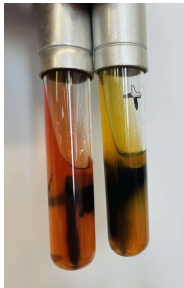


Érysipéloïde chez une technicienne de laboratoire vétérinaire de 58 ans qui, lors de la dissection d'une oie, a percé son gant et la peau qui se trouvait en dessous avec un fragment de côte d'oie (source : NRGK, Vetsuisse, UZH).

La détection de l'agent pathogène dans des hémocultures doit immédiatement faire suspecter une endocardite. Les facteurs de risque d'infection systémique sont l'immunodéficience, le diabète sucré et les maladies rénales chroniques. L'endocardite à *E. rhusiopathiae* a un taux de mortalité élevé, il est donc crucial de mettre immédiatement en place un traitement médical ou chirurgical.

Le germe est facilement identifiable par le MALDI-TOF MS, l'API Coryne et le VITEK 2. La plupart des participant·e·s ont réussi à poser le bon diagnostic. La formation de H₂S sur la TSI est caractéristique d'*E. rhusiopathiae*. Aucun gaz ne se forme à partir des glucides.

Formation de H₂S dans l'éprouvette TSI



À gauche :

Formation caractéristique de H₂S dans l'éprouvette TSI sans ajout de sérum de lapin.

À droite :

Formation caractéristique de H₂S dans l'éprouvette TSI sans ajout de sérum de lapin – le sérum de lapin facilite l'évaluation des souches bactériennes fermentaires et non fermentaires car il contribue à soutenir la croissance.

La bactérie *E. rhusiopathiae* est intrinsèquement résistante à la vancomycine mais est sensible vis-à-vis de la pénicilline.

Identification	Nombre
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	53
<i>Actinomyces odontolyticus</i>	2

Échantillon D : écouvillonnage profond de plaie / infection de plaie post-traumatique

Exigence : bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Les *Bacillus mycoides* sont des bâtonnets à Gram positif du groupe *Bacillus cereus*. La bactérie *B. mycoides* et ses spores sont omniprésentes dans l'environnement.

Les agents pathogènes du groupe *B. cereus* se trouvent donc fréquemment dans les plaies. La bactérie *B. cereus* en particulier, plus virulente, provoque souvent des infections des tissus mous et des os à la suite de traumatismes pénétrants ou de lésions des muqueuses (blessures par balle, fractures ouvertes, morsures d'animaux, brûlures). Un autre tableau clinique typique est l'endophtalmie à *B. cereus* - cet agent pathogène peut rapidement détruire un œil infecté, notamment en cas de traumatisme pénétrant par un corps étranger.

Bien que *B. mycoides*, contrairement à *B. cereus*, ne présente pas de facteurs de virulence, il convient d'évaluer la pertinence de sa détection dans notre échantillon d'un point de vue clinique.

Sur gélose au sang de mouton, *B. mycoides* se développe sous forme de colonies gris mat avec une forte β -hémolyse. La catalase, l'oxydase et la lécithinase étaient positives. *Bacillus mycoides* et *Bacillus anthracis* se différencient de *Bacillus cereus* et de *Bacillus thuringiensis* par le manque de motilité dans la goutte pendante. La croissance de colonies rhizoïdes (appelées têtes de Méduse) sur des milieux nutritifs peut cependant survenir chez les quatre espèces susmentionnées. La présence d'une hémolyse et d'une résistance à la pénicilline constituent d'autres caractéristiques diagnostiques qui permettent avec une forte probabilité d'exclure *B. anthracis*.



« Tête de Méduse » dans un contexte bactérien et historique

Identification	Nombre
<i>Bacillus mycoides</i>	17
Groupe <i>Bacillus cereus</i>	25
Complexe <i>Bacillus cereus</i>	3
<i>Bacillus cereus</i>	3
Groupe <i>Bacillus cereus/thuringiensis</i>	1
<i>Bacillus mycoides/thuringiensis</i>	1
<i>Bacillus</i> species	2
<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	1
<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	1
<i>Sphingomonas</i> species	1

Échantillon E : urines de milieu de jet / infection urinaire, question concernant les ERV

Exigence : bactéries potentiellement pathogènes (genre + espèce)

Enterococcus faecium fait partie de la flore intestinale physiologique de l'être humain et des animaux. De plus, *E. faecium* peut souvent être isolé à partir des urines lors d'infections urinaires. Dans notre cas, nous avons également posé la question des ERV. Tou-te-s les participant-e-s ont pu aisément identifier *E. faecium*.

Notre souche était de nouveau constituée d'entérocoques résistants à la vancomycine (ERV). Cette fois-ci, le gène *vanA* a pu être détecté par la PCR. 92 % des participant-e-s ont posé le bon diagnostic en indiquant les ERV. La difficulté résidait dans la reconnaissance de la zone d'inhibition effilée du disque de vancomycine. Concernant notre souche, il s'agit d'un *E. faecium* ERV présentant une résistance de bas niveau à la vancomycine, pour lequel la majeure partie de la population présentait une valeur CMI de vancomycine de 3 ou 4 mg/L (sensible). Cela est inhabituel pour un *vanA* car ils présentent généralement des CMI de vancomycine plus élevées (> 64 mg/L) par rapport au *vanB*. La teicoplanine s'est révélée résistante dans cet isolat, ce qui est typique de *vanA*.

Comme déjà mentionné lors du dernier essai interlaboratoire (2023-3), en cas de zone d'inhibition effilée de la vancomycine, il convient soit d'exclure un ERV par biologie moléculaire, soit de rapporter la vancomycine comme « résistante ». Vous trouverez une aide à l'interprétation à ce sujet dans les directives de l'EUCAST (EUCAST Clinical Breakpoint Tables v. 13.0, validité à partir du 2023-01-01).

Les entérocoques dits à résistance variable à la vancomycine (VVE) sont un exemple d'un autre défi diagnostique qui se profile à l'horizon. Au Danemark, par exemple, ont été signalés au cours des dernières années des foyers impliquant le clone VVE *E. faecium* *vanA* ST1421-CT1134 (Hammerum et al, Euro Surveill. 2019 août 22; 24(34)). Il s'agit de souches d'entérocoques qui portent une « copie silencieuse » du gène de résistance à la vancomycine, mais qui sont phénotypiquement complètement sensibles vis-à-vis de la vancomycine. Ces souches sont capables de passer à un phénotype résistant (VVE → ERV) pendant un traitement antibiotique, ce qui nuit considérablement au succès thérapeutique. Ce qui rend le diagnostic particulièrement délicat est le fait que le VVE ne peut être détecté qu'à l'aide de méthodes moléculaires et ne peut pas être cultivé sur des milieux sélectifs contenant de la vancomycine.

Identification	Nombre
<i>Enterococcus faecium</i>	55

Meilleures salutations

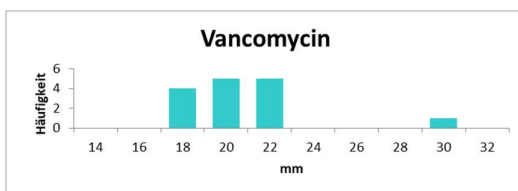
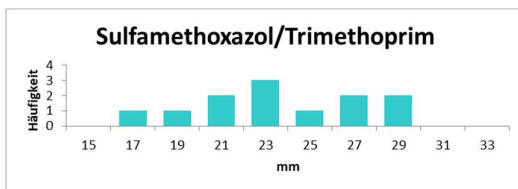
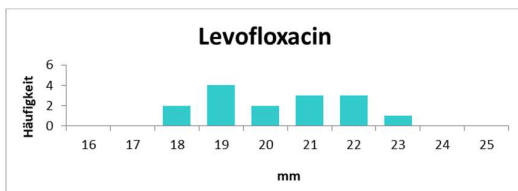
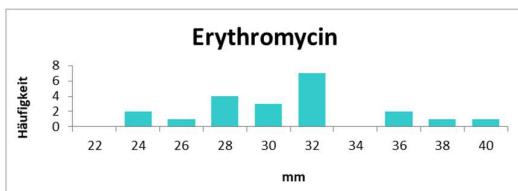
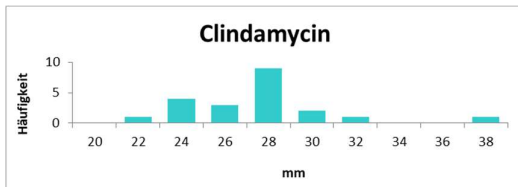
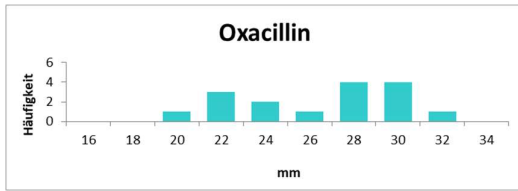


Dr. med. vet., PhD V. Hinić



F.S. Hufschmid-Lim

Test de résistance, échantillon A



Test de résistance, échantillon B

