

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Bactériologie**13BAC1****Juin 2013**

Antibiogramme *Haemophilus influenzae*
Antibiogramme *Neisseria gonorrhoeae*

**Enquête sur le recensement des cas de gonococcies et d'infections urogénitales à
Chlamydiae en France en 2012, en collaboration avec l'InVS - Version finale -**

Août 2015

Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims)

Muriel FROMAGE (Ansm)

Gérard LINA (CH Lyon sud, Lyon)

Collaboration : Béatrice Berçot (CNR des gonocoques, laboratoire associé, GH St Louis-Lariboisière-Fernand Widal), Olivier Gaillot (CNR *Haemophilus influenzae*, CHRU Lille)

Expédition : 15 mai 2013

Clôture : 10 juin 2013

Edition des compte-rendus individuels : 31 juillet 2013

Paramètre contrôlé : Antibiogramme : *Haemophilus influenzae* et *Neisseria gonorrhoeae*

Enquête sur le recensement des cas de gonococcies et d'infections urogénitales à Chlamydiae en France en 2012, en collaboration avec l'InVS.

Nombre de laboratoires concernés* : 1438

Nombre de laboratoires participants** : 1365

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm réaliser les analyses de bactériologie générale (identification bactérienne et/ou antibiogramme)

** Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Cette opération de contrôle comportait deux souches lyophilisées d'*Haemophilus influenzae*, toutes deux β -lactamase négatives, de sensibilité diminuée aux β -lactamines, résistantes au cotrimoxazole et pour l'une d'entre elles, de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones.

Les β -lactamines sont de loin les antibiotiques les plus prescrits pour traiter les infections à *Haemophilus influenzae*. La résistance acquise à l'ampicilline et à d'autres β -lactamines est due soit à la production de β -lactamase (mécanisme le plus fréquent, bien connu des biologistes : 17% des souches reçues au CNR *Haemophilus influenzae* en 2013), soit à la présence de protéines liant la pénicilline (PLP) de moindre affinité aux β -lactamines. L'objectif de cette opération était d'évaluer la capacité de détection par les LBM des souches BLNAR (β -lactamase négative ampicillin résistant). Une des souches proposées, pour laquelle les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline/acide clavulanique étaient égales à 4 mg/l a bien été détectée « de sensibilité diminuée aux β -lactamines » par 89% des participants. L'autre souche qui présentait un niveau de résistance encore plus modéré (CMI égales à 2-4 mg/l) n'a été détectée que par 54% des participants. Il faut noter que l'adoption en 2014 des recommandations EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) par le CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie) a modifié les critères de sensibilité de l'amoxicilline et de l'amoxicilline/acide clavulanique. En effet, les concentrations critiques sont passées de 1 mg/l en 2013 à 2 mg/l en 2014. Par conséquent, les souches dont la CMI est égale à 2 mg/l sont désormais catégorisées « sensibles » à ces antibiotiques, alors qu'elles étaient jusque là considérées comme « résistantes ».

L'une des deux souches présentait également une sensibilité diminuée aux fluoroquinolones. Comme chez les *Neisseria* et d'autres bactéries à Gram négatif, la résistance de bas niveau aux fluoroquinolones peut être facilement détectée par une quinolone de 1^{ère} génération (acide nalidixique), ce qui a été réalisé avec succès par 86% des participants.

Cette opération de contrôle comportait également deux souches lyophilisées de *Neisseria gonorrhoeae*. L'une produisait une β -lactamase, mise en évidence par 91 % des participants. L'autre, β -lactamase négative, mais de sensibilité diminuée aux β -lactamines (CMI pénicilline G = 0,38-0,5 mg/l) a bien été étiquetée comme telle par 77% des participants. Selon le CA-SFM, lorsque la souche est de sensibilité diminuée, toutes les β -lactamines sont touchées et il faut déterminer la CMI de la céphalosporine de 3^{ème} génération que l'on veut utiliser pour traiter. Cette recommandation n'est pas suivie par tous les laboratoires puisque l'on observe un pourcentage très important de résultats incorrects « sensible » pour la ceftriaxone (36%) et le céfixime (46%). En revanche, seuls 4% et 2% des laboratoires qui ont mesuré la CMI de la ceftriaxone (1 mg/l) et du céfixime (2 mg/l) ont catégorisé la souche « sensible ».

Par ailleurs, les deux souches étaient résistantes aux fluoroquinolones. L'une, avec des CMI à la ciprofloxacine et à l'ofloxacine > 32 mg/l n'a pas posé de problème (5% de réponses faussement « sensible »). L'autre, de bas niveau de résistance, a conduit respectivement à 20% et à 17% de réponses faussement « sensible » pour la ciprofloxacine (CMI = 0,38-0,5 mg/l) et l'ofloxacine (CMI = 0,75-1 mg/l). Cependant, la quasi-totalité des laboratoires qui ont déterminé les CMI ont correctement catégorisé la souche « R ».

Enfin, cette opération de contrôle a été l'occasion de réaliser, à la demande de l'InVS, une enquête rétrospective sur le nombre de gonococcies et d'infections urogénitales à Chlamydiae diagnostiquées dans les LBM au cours de l'année 2012 ainsi que sur les techniques utilisées pour ces diagnostics.

Le but de cette enquête exhaustive était d'une part, d'estimer les taux d'incidence de ces deux IST en France et d'autre part, de mesurer la représentativité des deux réseaux de surveillance, Renago et Renachla constitués de LBM volontaires répartis sur toute la France et coordonnés par l'InVS.

Antibiogramme *Haemophilus influenzae*

Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche d' *Haemophilus influenzae* lyophilisée ont été proposés. Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 14 antibiotiques définis. En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser si la souche testée était productrice d'une β -lactamase, si elle était de sensibilité diminuée aux β -lactamines et si elle présentait une résistance acquise aux quinolones. Par ailleurs, il leur était demandé d'indiquer s'ils avaient déterminé précisément la CMI de certains antibiotiques par une méthode de type E-test.

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats du CNR *Haemophilus influenzae* (Pr O. GAILLOT, Lille) et des experts (Pr C. de CHAMPS, Reims et Pr G. LINA, Lyon) - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau I. Les recommandations techniques du CA-SFM 2013 ont été suivies : milieu HTM ensemencé par une suspension inoculum McFarland 0,5 préparée à partir de colonies de moins de 24h puis diluée au 1/10 et incubé à l'air (sans CO₂). La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test ou par microdilution en milieu liquide (méthode de référence). Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau II.

Les deux souches étaient β -lactamase négative, de sensibilité diminuée aux β -lactamines, résistantes au cotrimoxazole et pour la souche du lot 1 uniquement, de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones.

Les renseignements cliniques qui accompagnaient les échantillons sont les suivants :

« Mr X, ayant une BPCO post tabagique, présente à la suite d'un épisode grippal une surinfection bronchique nécessitant son hospitalisation. Une aspiration bronchique est réalisée qui montre un aspect purulent. Sur milieux gélosés, on isole en quantité importante ($> 10^7$ UFC/ml) *Haemophilus influenzae*. »

tableau I - antibiogramme des deux souches d'*H.influenzae* : résultats des experts

| N° des échantillons | <i>H. influenzae</i> (Lot 1) | | <i>H. influenzae</i> (Lot 2) | | |
|---------------------------------|----------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--|
| | 142, 227, 376, 492, 633, 714, 880, 901 | | 158, 325, 434, 509, 686, 700, 751, 943 | | |
| Antibiotiques | Résultat lu | Résultat transmis | Résultat lu | Résultat transmis | |
| Aminopénicilline | R | R | R | R | |
| Amoxicilline + ac. clavulanique | R | R | R | R | |
| Céfotaxime | S | - * | R | R * | |
| Ceftriaxone | S | S | S | - * | |
| Céfixime | S | S ** | R | R ** | |
| Ertapénème | S | S | S | S | |
| Doripénème | S | S | S | S | |
| Erythromycine | I | I | I | I | |
| Tétracycline | S | S | S | S | |
| Ciprofloxacine | R | R | S | S | |
| Lévofloxacine | S | S | S | S | |
| Ofloxacine | R | R | S | S | |
| Rifampicine | S | S | S | S | |
| Cotrimoxazole | R | R | R | R | |
| | | * Céfotaxime utilisable en l'absence de critères d'interprétation. Il n'existe pas actuellement d'échec clinique dû à un mécanisme de résistance dans ce contexte clinique (infection bronchopulmonaire). Céfotaxime : sensibilité diminuée de la souche testée par rapport aux souches sauvages. | | * Céfotaxime et Ceftriaxone utilisables en l'absence de critères d'interprétation. Il n'existe pas actuellement d'échec clinique dû à un mécanisme de résistance dans ce contexte clinique (infection bronchopulmonaire). Ceftriaxone : sensibilité diminuée de la souche testée par rapport aux souches sauvages. | |
| | | ** Céfixime : ne figure pas dans les recommandations du CA-SFM => critères EUCAST appliqués : CMI $\leq 0,125$ => S et CMI $> 0,125$ => R | | | |

tableau II - antibiogramme des deux souches d'*H.influenzae* / CMI : résultats des experts

| | <i>H. influenzae</i> (Lot 1) | <i>H. influenzae</i> (Lot 2) |
|---------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| Antibiotiques | CMI (mg/l) | CMI (mg/l) |
| Aminopénicilline | 2 - 4 | 4 |
| Amoxicilline + ac. clavulanique | 2 - 4 | 4 |
| Céfotaxime | 0,125 | 0,25 |
| Ceftriaxone | 0,06 | 0,125 |
| Céfixime | 0,125 | 0,25 |
| Ertapénème | 0,06 | 0,25 |
| Doripénème | 0,125 | 0,5 |
| Erythromycine | 4 | 4 |
| Tétracycline | - | - |
| Ciprofloxacine | 1 | 0,008 |
| Lévofloxacine | 0,5 | 0,016 |
| Ofloxacine | 1 | 0,008 |
| Rifampicine | 0,25 | 0,25 |
| Cotrimoxazole | - | - |

Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme d'*Haemophilus influenzae* sont détaillés dans le tableau III.

Les résultats obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés respectivement dans les tableaux IV et V selon la souche considérée, tandis que les réponses au questionnaire sur les β -lactamines et les quinolones sont regroupées dans les tableaux VI et VII (la réponse attendue apparaît en gras).

tableau III - antibiogramme *H. influenzae* : techniques utilisées

| Techniques / Réactifs | effectif |
|-----------------------------------|--------------------|
| Galleries | 593 (55,3%) |
| ATB G - bioMérieux | 1 |
| ATB HAEMO bioMérieux | 58 |
| ATB HAEMO EU bioMérieux | 534 |
| Automates | 17 (1,6%) |
| Vitek 2 ou 2C bioMérieux | 12 |
| Microscan Siemens | 5 |
| Disques | 428 (39,9%) |
| Biorad | 324 |
| I2a | 58 |
| Oxoid | 27 |
| BioMérieux | 11 |
| Autres divers | 8 |
| Réactif non précisé | 24 (2,2%) |
| CMI type E-test uniquement | 10 (0,9%) |
| Total | 1072 |

| Question : | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|--|--|
| Avez- vous déterminé précisément la CMI de certains antibiotiques par une méthode de type E-test ? | | |

| <i>H. influenzae</i> Lot 1 | Pas réponse | 18 (3,3%) |
|-------------------------------|-------------|-------------|
| | OUI | 216 (40,4%) |
| | NON | 301 (56,3%) |
| | total | 535 |

| <i>H. influenzae</i> Lot 2 | Pas réponse | 12 (2,2%) |
|-------------------------------|-------------|-------------|
| | OUI | 185 (34,5%) |
| | NON | 340 (63,3%) |
| | total | 537 |

tableau IV - antibiogramme *H. influenzae* lot 1 : résultats des participants

| Antibiotiques | lus | | | | transmis | | | |
|------------------------|-----|-------------|-------------|-------------|----------|-------------|-------------|-------------|
| | n | S (%) | I (%) | R (%) | n | S (%) | I (%) | R (%) |
| Aminopénicilline | 498 | 79,1 | 7,2 | 13,7 | 492 | 52,0 | 12,0 | 36,0 |
| Amoxicilline + ac clav | 511 | 85,7 | 2,0 | 12,3 | 504 | 60,5 | 9,7 | 29,8 |
| Céfotaxime | 452 | 66,8 | 2,0 | 31,2 | 454 | 73,1 | 1,3 | 25,6 |
| Ceftriaxone | 189 | 92,6 | 1,6 | 5,8 | 221 | 92,3 | 0,5 | 7,2 |
| Céfixime | 96 | 76,0 | 8,3 | 15,7 | 114 | 75,4 | 7,1 | 17,5 |
| Ertapénème | 159 | 88,1 | 3,1 | 8,8 | 174 | 81,6 | 4,6 | 13,8 |
| Doripénème | 47 | 89,4 | 0,0 | 10,6 | 60 | 76,7 | 1,7 | 21,7 |
| Erythromycine | 420 | 6,7 | 83,6 | 9,8 | 412 | 6,1 | 80,1 | 13,8 |
| Tétracycline | 505 | 97,2 | 1,4 | 1,4 | 497 | 97,4 | 1,2 | 1,4 |
| Ciprofloxacine | 247 | 21,5 | 13,8 | 64,8 | 283 | 18,4 | 11,0 | 70,7 |
| Lévofloxacine | 120 | 55,0 | 10,0 | 35,0 | 151 | 35,8 | 13,2 | 51,0 |
| Ofloxacine | 147 | 23,1 | 16,3 | 60,6 | 183 | 18,0 | 13,1 | 68,9 |
| Rifampicine | 491 | 94,1 | 0,4 | 5,5 | 482 | 94,2 | 0,4 | 5,4 |
| Cotrimoxazole | 433 | 1,2 | 0,2 | 98,6 | 424 | 1,2 | 0,5 | 98,3 |

tableau V - antibiogramme *H. influenzae* lot 2 : résultats des participants

| Antibiotiques | lus | | | | transmis | | | |
|------------------------|-----|--------------|-------------|-------------|----------|-------------|-------------|-------------|
| | n | S (%) | I (%) | R (%) | n | S (%) | I (%) | R (%) |
| Aminopénicilline | 505 | 33,3 | 8,7 | 58,0 | 501 | 11,2 | 12,2 | 76,6 |
| Amoxicilline + ac clav | 527 | 30,9 | 2,5 | 66,6 | 520 | 14,6 | 11,4 | 74,0 |
| Céfotaxime | 448 | 28,3 | 2,5 | 69,2 | 451 | 38,8 | 3,1 | 58,1 |
| Ceftriaxone | 181 | 79,6 | 1,6 | 18,8 | 215 | 82,3 | 1,4 | 16,3 |
| Céfixime | 97 | 65,0 | 10,3 | 24,7 | 113 | 62,8 | 10,6 | 26,6 |
| Ertapénème | 124 | 83,9 | 4,0 | 12,1 | 138 | 63,8 | 13,7 | 22,5 |
| Doripénème | 39 | 82,1 | 5,1 | 12,8 | 59 | 54,2 | 16,9 | 28,8 |
| Erythromycine | 421 | 10,5 | 80,5 | 9,0 | 424 | 8,7 | 76,2 | 15,1 |
| Tétracycline | 514 | 98,4 | 0,8 | 0,8 | 506 | 98,4 | 0,6 | 1,0 |
| Ciprofloxacine | 248 | 98,4 | 0,4 | 1,2 | 302 | 98,3 | 0,3 | 1,3 |
| Lévofloxacine | 167 | 100,0 | 0,0 | 0,0 | 231 | 99,6 | 0,0 | 0,4 |
| Ofloxacine | 186 | 99,0 | 0,5 | 0,5 | 245 | 99,2 | 0,0 | 0,8 |
| Rifampicine | 491 | 95,5 | 0,6 | 3,9 | 487 | 95,5 | 0,2 | 4,3 |
| Cotrimoxazole | 452 | 2,9 | 0,2 | 96,9 | 445 | 3,6 | 0,2 | 96,2 |

tableau VI - Réponses au questionnaire pour *H. influenzae* lot 1

| | Réponse attendue | Réponses des 535 participants | | |
|---------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------|------------|
| | | - | Oui | Non |
| La souche testée : | | | | |
| - est productrice d'une β -lactamase ? | NON | 13 | 54 | 468 |
| - est de sensibilité diminuée aux β -lactamines ? | OUI | 40 | 266 | 229 |
| - présente une résistance acquise aux quinolones ? | OUI | 59 | 408 | 68 |

tableau VII - Réponses au questionnaire pour *H. influenzae* lot 2

| | Réponse attendue | Réponses des 537 participants | | |
|---------------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------|------------|
| | | - | Oui | Non |
| La souche testée : | | | | |
| - est productrice d'une β -lactamase ? | NON | 20 | 81 | 436 |
| - est de sensibilité diminuée aux β -lactamines ? | OUI | 25 | 455 | 57 |
| - présente une résistance acquise aux quinolones ? | NON | 64 | 8 | 465 |

Commentaires

Bêta-lactamines :

La production de β -lactamase est recherchée par un test chromogénique (disque céfinase) dès l'isolement. Les deux souches proposées étaient β -lactamase négatives. Néanmoins, à la question « la souche testée est-elle productrice de β -lactamase ? », on note respectivement 10% et 15% de réponses fausses « oui » (tableaux VI et VII).

L'objectif de ce contrôle était de permettre aux participants d'évaluer leur capacité à détecter la résistance de *H. influenzae* aux bêta-lactamines, non pas par production d'une β -lactamase, mais par mutation de la cible de ces antibiotiques, la PLP3. Ce mécanisme de résistance n'entraînant qu'une faible augmentation des CMI, il n'est décelable en pratique qu'en suivant le schéma préconisé par le CASFM, et/ou en mesurant les CMI des quelques molécules d'intérêt thérapeutique par microdilution en milieu liquide ou par la méthode du E-test.

En 2013, selon le CASFM, la détection d'une sensibilité diminuée aux β -lactamines pouvait être effectuée par diffusion en milieu gélosé à l'aide d'un disque d'ampicilline 2 μ g (diamètre < 20 mm) ou, à défaut, d'un disque de céfalotine 30 μ g (diamètre < 17 mm) à confirmer impérativement par la mesure de la CMI de l'amoxicilline (> 1 mg/ml).

La souche du lot 2 avec des CMI de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline/ac.clavulanique égales à 4 mg/l a bien été détectée « de sensibilité diminuée aux β -lactamines » par 89% des participants (tableau VII). En revanche, seuls les trois quarts ont rendu la souche « R » pour ces deux antibiotiques (tableau V). A noter que la réponse « intermédiaire » rendue dans plus de 10% des cas, n'existe pas pour les β -lactamines (concentration critique unique).

En ce qui concerne la souche du lot 1, la sensibilité diminuée a été détectée par un peu plus de la moitié (54%) des participants (tableau VI). Cette souche présentait un niveau de résistance plus modéré que la souche du lot 2. En effet, les CMI de l'amoxicilline et de l'association amoxicilline/ac.clavulanique obtenues par microdilution en milieu liquide HTM (1) étaient égales à 2 ou 4 mg/l et 1,5 ou 3 mg/l par la technique du E-test sur milieu HTM préparé extemporanément.

La résistance de faible niveau aux aminopénicillines est croisée avec toutes les bêta-lactamines. Par conséquent, bien que l'activité des céphalosporines de 3^e génération soit en général peu altérée par les mutations de la PLP3, il était nécessaire de mesurer les CMI de molécules d'intérêt dans le contexte clinique (ex : céfotaxime, ceftriaxone et céfixime).

Ainsi, la souche du lot 2 présentait une sensibilité nettement diminuée à ces antibiotiques, en particulier au céfixime et au céfotaxime (CMI = 0,25 mg/l, catégorisation clinique « résistant »). Dans le contexte clinique évoqué (surinfection bronchique), cette « résistance » n'aurait sans doute pas compromis l'efficacité clinique d'un traitement probabiliste par le céfotaxime. Il en eut été autrement dans le cas d'une otite moyenne aiguë de l'enfant, situation dans laquelle la diminution de sensibilité aux bêta-lactamines conduit en général à l'inefficacité du traitement ou à la récurrence, et doit par conséquent impérativement être détectée par le biologiste. De plus, il est intéressant de noter que pour les souches « résistantes », les CMI de la ceftriaxone sont habituellement plus basses de une à deux dilutions par rapport à celles du céfotaxime et du céfixime qui, elles, sont identiques.

En ce qui concerne la souche du lot 1, même si la catégorisation clinique reste « sensible » pour le céfotaxime et le céfixime (CMI = 0,125 mg/l), la sensibilité de la souche est diminuée par rapport aux souches sauvages.

Il en est de même pour les carbapénèmes testés (ertapénème et doripénème) dont les CMI permettent de catégoriser « sensible » les deux souches bien que leur sensibilité soit diminuée par rapport aux souches sauvages. Par ailleurs, on note des pourcentages élevés de fausses réponses « R » à l'ertapénème et au doripénème pour les deux souches. Ces résultats sont peut-être dus à une interprétation par excès de la part des participants de la remarque présente dans le CASFM 2013 : « La résistance de faible niveau aux

aminopénicillines est croisée avec toutes les bêta-lactamines, plus marquée avec les céphalosporines de 1ère génération, le céfuroxime et les carbapénèmes. »

Il est très important de noter qu'à partir de 2014, les conditions de réalisation et les critères d'interprétation de la sensibilité aux bêta-lactamines de *H. influenzae* ont été significativement modifiés par l'adoption par le CASFM des recommandations de l'EUCAST :

- milieu MH-F, inoculum 0,5 McFarland non dilué, incubation sous 5% CO₂
- nouveau schéma de dépistage de la résistance aux bêta-lactamines (disque pénicilline G à 1UI)

| Pénicilline G disque 1 UI diamètre de la zone d'inhibition | Bêta-lactamase | Tests complémentaires et/ou interprétation |
|---------------------------------------------------------------|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ≥ 12 mm | Ne pas tester | Rendre « sensible » à toutes les bêta-lactamines pour lesquelles des concentrations et des diamètres critiques sont indiqués. |
| < 12 mm | Bêta-lactamase négative | Mesurer la CMI des bêta-lactamines, destinées à l'usage clinique. |
| | Bêta-lactamase positive | Pour l'ampicilline, l'amoxicilline et la pipéracilline, rendre « résistant ». Pour les autres bêta-lactamines, il est possible d'utiliser les diamètres critiques des molécules destinées à l'usage clinique. |

Certaines de ces modifications représentent un progrès considérable, comme l'utilisation du milieu gélosé de Mueller-Hinton à 5 % de sang de cheval défibriné enrichi de 20 mg/l de β-NAD. D'autres semblent plus discutables, comme la recommandation d'un inoculum très élevé (McFarland 0,5), produisant des phénomènes de repousse et de double zone de croissance qui rendent difficile la mesure des CMI, y compris des souches sauvages.

Enfin, les concentrations critiques pour l'amoxicilline et l'association co-amoxiclav ont été révisées à la hausse : les souches ne sont dorénavant résistantes qu'à partir de 4 mg/l et non plus de 2 mg/l.

Fluoroquinolones :

Depuis 2013, la résistance aux fluoroquinolones n'est plus exceptionnelle chez *Haemophilus*. Hormis de très rares souches pour lesquelles les CMI de la ciprofloxacine et de la lévofloxacine sont ≥ 32 mg/l, la résistance ne s'exprime que par une augmentation modérée des CMI (0,5 mg/l), indétectable avec les disques de fluoroquinolones. Il est donc recommandé d'utiliser systématiquement un disque d'acide nalidixique 30 µg pour confirmer la sensibilité aux fluoroquinolones de la majorité des isolats (diamètre d'inhibition ≥ 21 mm). Dans le cas contraire (diamètre < 21 mm), il est nécessaire de mesurer la CMI de l'ofloxacine, la lévofloxacine ou la ciprofloxacine pour affirmer une éventuelle résistance.

A noter qu'en 2014, les conditions de réalisation de l'antibiogramme ayant été modifiées, le diamètre critique de l'acide nalidixique est passé de 21 mm (CASFM 2013) à 23 mm (CASFM 2014).

L'acide nalidixique n'est utilisé que comme un indicateur pour le dépistage de la résistance. Il ne doit pas figurer sur l'antibiogramme fourni au prescripteur (pas d'indication de cet antibiotique dans le traitement des infections à *H. influenzae*).

La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones de la souche du lot 1 (diamètre d'inhibition < 21 mm selon le CASFM 2013) a bien été détectée par 85,7% des participants (tableau VI). Les CMI de la ciprofloxacine et de l'ofloxacine étant égales à 1 mg/l pour une concentration critique égale à 0,5 mg/l, la souche doit être rendue « R » pour ces deux fluoroquinolones, tandis qu'elle peut être rendue « S » à la lévofloxacine (CMI = 0,5 mg/l pour une concentration critique égale à 1 mg/l).

Les résultats des participants pour ces trois molécules sont contrastés avec pour la cipro- et l'ofloxacine, 18% de réponses faussement « sensible », tandis que la sensibilité à la lévofloxacine n'est transmise que par 36% des participants.

Enfin, on observe un pourcentage non négligeable (environ 13%) de réponses « intermédiaire ». Or, de la même façon que pour les bêta-lactamines, cette catégorie n'existe pas pour les fluoroquinolones.

En ce qui concerne la souche du lot 2, un diamètre d'inhibition > 21 mm autour du disque d'acide nalidixique confirme sa sensibilité aux fluoroquinolones. L'ensemble des participants (98,3%) indique que cette souche ne présente pas de résistance acquise aux fluoroquinolones (tableau VII) et les pourcentages de réponses « sensible » vont de 98,4% à 100% selon la molécule considérée (tableau V).

Autres antibiotiques :

A l'exception de l'érythromycine, les antibiotiques autres que les β-lactamines ou les fluoroquinolones n'ont pas posé de problème :

- les deux souches étaient résistantes au cotrimoxazole. On note respectivement 98,6% et 96,9% de bonnes réponses.

- la sensibilité à la tétracycline a été mise en évidence par respectivement 97,4% et 98,4% des participants.

- les deux souches étaient sensibles à la rifampicine avec des CMI égales à 0,25 mg/l (proches de la concentration critique 0,5 mg/l, CASFM 2013). Attention, selon le CASFM 2014, la sensibilité à la rifampicine doit dorénavant être testée avec un disque chargé à 5 µg (au lieu de 30 µg en 2013) ; la concentration et le diamètre critiques sont désormais fixés à 1 mg/l et 18 mm.

On note 4 à 5% de faux « R » dus à des utilisateurs de disques Biorad. Cette erreur aurait peu d'impact dans ce contexte clinique de surinfection broncho-pulmonaire car la rifampicine n'est utilisée que dans les méningites et la prophylaxie de l'entourage d'un patient atteint d'une infection invasive due à une souche capsulée.

- la résistance naturelle des deux souches à l'érythromycine (CMI = 4 mg/l) a bien été relevée avec des pourcentages de bonnes réponses « intermédiaire » respectivement de 84% et 80,5%. Les 9% de résultats lus « R » proviennent en majorité d'utilisateurs de la galerie ATB Haemo EU qui comporte deux lignes de lecture pour cet antibiotique : la première, réservée à *Moraxella catarrhalis* teste les concentrations spécifiques de cette espèce (0,25 et 0,5 mg/l) tandis que la deuxième, réservée à *H. influenzae* teste les concentrations spécifiques de cette espèce (0,5 et 16 mg/l). Une erreur de lecture (ligne *M. catarrhalis* à la place de la ligne *H. influenzae*) est une hypothèse plausible pour expliquer les réponses « R ».

Bibliographie

1. Garcia-Cobos S., J. Campos, F. Roman, C. Carrera, M. Pérez-Vazquez, B. Aracil and J. Oteo. 2008. Low beta-lactamase-negative ampicillin resistant *Haemophilus influenzae* strains are best detected by testing amoxicillin susceptibility by the broth microdilution method. Antimicrob. Agents Chemother. 52 : 2407-2414.
2. Lien page web du CNR : <http://biologiepathologie.chru-lille.fr/organisation-fbp/96841.html>

Antibiogramme *Neisseria gonorrhoeae*

Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche de *Neisseria gonorrhoeae* lyophilisée ont été proposés. Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 8 antibiotiques définis et, pour chacun d'eux, d'indiquer par « Oui » ou par « Non », si une CMI était systématiquement effectuée au laboratoire.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser si la souche testée était productrice d'une β -lactamase ou si elle était de sensibilité diminuée aux β -lactamines.

Par ailleurs, dans le cas où cet examen était réalisé en routine dans leur laboratoire, il était demandé aux participants de déterminer les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de trois bêta-lactamines (pénicilline G, ceftriaxone, céfixime) et d'une fluoroquinolone au choix (ciprofloxacine ou ofloxacine), puis d'interpréter les CMI obtenues en termes de catégorisation clinique (S, I ou R).

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats du CNR *Neisseria gonorrhoeae* (Dr B. BERCOT, Paris) et des experts (Pr C. de CHAMPS, Reims et Pr G. LINA, Lyon) - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau VIII. Les recommandations techniques du CA-SFM ont été suivies : gélose chocolat PolyVitex ensemencée par une suspension McFarland 0,5 et incubation sous 5% CO₂. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test. Les résultats obtenus sont regroupés dans le tableau IX.

La souche du lot 1 était β -lactamase positive, résistante aux fluoroquinolones et à la tétracycline. La souche du lot 2 était β -lactamase négative mais de sensibilité diminuée aux β -lactamines, résistante aux fluoroquinolones et à la tétracycline (résistance chromosomique de bas niveau).

Les renseignements cliniques qui accompagnaient les échantillons étaient les suivants :

« Mr Y, âgé de 26 ans, présente quelques jours après un rapport sexuel non protégé, une urétrite aiguë purulente. Son médecin traitant lui prescrit un prélèvement urétral avec recherche de *Neisseria gonorrhoeae*, *Chlamydia trachomatis* et mycoplasmes uro-génitaux à pratiquer rapidement dans un LBM, avant de débiter le traitement probabiliste comportant une injection IM de 500 mg de ceftriaxone et de 1 g d'azithromycine per os. Le médecin demande au laboratoire d'effectuer un antibiogramme en cas d'isolement de gonocoque. Les cultures au laboratoire sont positives à *Neisseria*. »

tableau VIII - antibiogramme des deux souches de *N. gonorrhoeae* : résultats des experts

| <i>N. gonorrhoeae</i> (Lot 1) | | | |
|--------------------------------------|-------------|----------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| N° des échantillons | | 160, 212, 391, 661, 528, 573, 747, 996 | |
| Antibiotiques | Résultat lu | Résultat transmis | Commentaires |
| Pénicilline G | R | R * | * : la production de β -lactamase doit être détectée par une technique chromogénique dès l'isolement ** : résistance exceptionnelle. A l'heure actuelle, aucune souche « R » décrite en France. *** : la détection d'une sensibilité diminuée ou d'une résistance aux fluoroquinolones est effectuée à l'aide d'un disque d'acide nalidixique 30 μ g. Si diamètre < 25 mm, mesurer obligatoirement les CMI de l'ofloxacine ou de la ciprofloxacine pour rendre un résultat (absence de diamètres critiques). |
| Céfixime | S | S | |
| Ceftriaxone | S | S | |
| Spectinomycine | S | S ** | |
| Ciprofloxacine | R | R *** | |
| Ofloxacine | R | R *** | |
| Tétracycline | R | R | |
| Azithromycine | S | S | |

| <i>N. gonorrhoeae</i> (Lot 2) | | | |
|--------------------------------------|-------------|----------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| N° des échantillons | | 129, 250, 276, 488, 510, 845, 927, 935 | |
| Antibiotiques | Résultat lu | Résultat transmis | Commentaires |
| Pénicilline G | I | I | * : Pour les C3G, seule la détermination de la CMI permet de détecter une sensibilité diminuée. La diminution de la sensibilité est mieux détectée avec le céfixime. ** : résistance exceptionnelle. A l'heure actuelle, aucune souche « R » décrite en France. *** : la détection d'une sensibilité diminuée ou d'une résistance aux fluoroquinolones est effectuée à l'aide d'un disque d'acide nalidixique 30 μ g. Si diamètre < 25 mm, mesurer obligatoirement les CMI de l'ofloxacine ou de la ciprofloxacine pour rendre un résultat (absence de diamètres critiques). |
| Céfixime | R | R * | |
| Ceftriaxone | R | R * | |
| Spectinomycine | S | S ** | |
| Ciprofloxacine | R | R *** | |
| Ofloxacine | R | R *** | |
| Tétracycline | - | - | |
| Azithromycine | S | S | |

tableau IX - antibiogramme des deux souches de *N. gonorrhoeae* / CMI : résultats des experts

| Antibiotiques | <i>N. gonorrhoeae</i> (Lot 1) | | <i>N. gonorrhoeae</i> (Lot 2) | |
|----------------------|--------------------------------------|-----------------------|--------------------------------------|-------------------------|
| | CMI (mg/l) | interprétation | CMI (mg/l) | interprétation |
| Pénicilline G | 4 - 6 | R (CMI > 1) | 0,38 - 0,5 | I (0,06 < CMI \leq 1) |
| Céfixime | < 0,016 | S (CMI \leq 0,12) | 2 | R (CMI > 0,12) |
| Ceftriaxone | < 0,016 | S (CMI \leq 0,12) | 1 | R (CMI > 0,12) |
| Spectinomycine | 8 | S (CMI \leq 64) | 8 | S (CMI \leq 64) |
| Ciprofloxacine | 0,38 - 0,5 | R (CMI > 0,06) | > 32 | R (CMI > 0,06) |
| Ofloxacine | 0,75 - 1 | R (CMI > 0,25) | > 32 | R (CMI > 0,25) |
| Tétracycline | 24 | R (CMI > 1) | 1,5 - 2 | R (CMI > 1) |
| Azithromycine | 0,064 | S (CMI \leq 0,25) | 0,125 | S (CMI \leq 0,25) |

Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme du gonocoque et pour la détermination précise des CMI sont détaillés respectivement dans les tableaux X et XI.

Les résultats obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés respectivement dans les tableaux XII et XIII selon la souche considérée, tandis que les réponses au questionnaire sur les β -lactamines (β -lactamase ou sensibilité diminuée aux β -lactamines ?) sont regroupées dans le tableau XIV. La réponse attendue apparaît en gras.

Par ailleurs, pour chacun des 8 antibiotiques listés, les réponses des participants à la question « CMI effectuée systématiquement au laboratoire ? Oui/Non » sont rapportées dans le tableau XV.

Enfin, la distribution des CMI trouvées pour les trois β -lactamines et la fluoroquinolone au choix ([PEN], [CRO], [CFM], [CIP]/[OFX]) ainsi que les interprétations (S, I ou R) en fonction de la CMI trouvée sont rapportées dans les tableaux XVI et XVII, respectivement pour le gonocoque du lot 1 et celui du lot 2.

tableau X - antibiogramme de *N. gonorrhoeae* : réactifs utilisés

| Réactifs | effectifs |
|-------------------------------|-----------|
| Disques BIORAD | 391 |
| Disques i2a | 59 |
| Bandelettes E-test BIOMERIEUX | 58 |
| Disques OXOID | 31 |
| Disques BIOMERIEUX | 27 |
| ATB Haemo EU BIOMERIEUX | 16 |
| Neosensitabs EURO BIO | 15 |
| Bandelettes M.I.C.E OXOID | 8 |
| Multidisk SOBIODA | 3 |
| Bandelettes I2a | 2 |
| Vitek 2 BIOMERIEUX | 1 |
| Disques MAST DIAG. | 1 |
| Sensititre BIOCENTRIC | 1 |
| Non précisé | 46 * |
| Total | 659 |

* : dont 36 laboratoires ayant réalisé uniquement une recherche de β -lactamase

tableau XI - CMI des β -lactamines et des fluoroquinolones : effectif et bandelettes utilisées

| antibiotiques | Bandelettes | | | | |
|----------------|--------------------|---------------|-----|-------------|-------|
| | E- test Biomérieux | M.I.C.E Oxoid | i2a | non précisé | total |
| Pénicilline G | 293 | 71 | 14 | 35 | 413 |
| Ceftriaxone | 271 | 55 | 11 | 27 | 364 |
| Céfixime | 91 | 2 | 6 | 3 | 102 |
| Ciprofloxacine | 224 | 39 | 12 | 8 | 283 |
| Ofloxacine | 28 | 0 | 1 | 0 | 29 |

tableau XII - antibiogramme *N. gonorrhoeae* lot 1 : résultats des participants

| Antibiotiques | lus | | | | transmis | | | |
|----------------|-----|-------------|-------|-------------|----------|-------------|-------|-------------|
| | n | S (%) | I (%) | R (%) | n | S (%) | I (%) | R (%) |
| Pénicilline G | 273 | 5,5 | 8,4 | 86,1 | 300 | 3,0 | 2,3 | 94,7 |
| Céfixime | 126 | 94,4 | 0,8 | 4,8 | 128 | 93,0 | 2,3 | 4,7 |
| Ceftriaxone | 247 | 98,0 | 0,0 | 2,0 | 271 | 95,6 | 1,1 | 3,3 |
| Spectinomycine | 140 | 95,0 | 0,7 | 4,3 | 141 | 95,0 | 0,7 | 4,3 |
| Ciprofloxacine | 233 | 27,0 | 8,6 | 64,4 | 250 | 20,4 | 5,6 | 74,0 |

| | | | | | | | | |
|---------------|-----|-------------|------|-------------|-----|-------------|------|-------------|
| Ofloxacin | 111 | 26,1 | 17,1 | 56,8 | 122 | 17,2 | 11,5 | 71,3 |
| Tétracycline | 281 | 7,8 | 1,1 | 91,1 | 283 | 7,4 | 0,7 | 91,9 |
| Azithromycine | 73 | 98,6 | 0,0 | 1,4 | 75 | 98,7 | 0,0 | 1,3 |

tableau XIII - antibiogramme *N. gonorrhoeae* lot 2 : résultats des participants

| Antibiotiques | lus | | | | transmis | | | |
|----------------|-----|-------------|-------------|-------------|----------|-------------|-------------|-------------|
| | n | S (%) | I (%) | R (%) | n | S (%) | I (%) | R (%) |
| Pénicilline G | 259 | 30,9 | 61,0 | 8,1 | 258 | 18,6 | 55,8 | 25,6 |
| Céfixime | 114 | 57,0 | 5,3 | 37,7 | 119 | 46,2 | 7,6 | 46,2 |
| Ceftriaxone | 226 | 42,9 | 4,4 | 52,7 | 231 | 36,4 | 9,1 | 54,5 |
| Spectinomycine | 150 | 96,7 | 0,0 | 3,3 | 146 | 97,3 | 0,0 | 2,7 |
| Ciprofloxacine | 248 | 4,8 | 0,8 | 94,5 | 252 | 5,1 | 1,2 | 93,7 |
| Ofloxacin | 155 | 5,2 | 0,6 | 94,2 | 167 | 5,4 | 1,2 | 93,4 |
| Tétracycline | 266 | 91,4 | 0,7 | 7,9 | 259 | 90,7 | 0,8 | 8,5 |
| Azithromycine | 70 | 85,7 | 5,7 | 8,6 | 68 | 85,3 | 5,9 | 8,8 |

tableau XIV - Questionnaire Complémentaire

| <i>N. gonorrhoeae</i> lot 1 | Réponse attendue | Réponses des 338 participants | | |
|-----------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------|------------|
| | | - | Oui | Non |
| La souche testée est : | | | | |
| - productrice d'une β -lactamase ? | OUI | 12 | 298 | 28 |
| - de sensibilité diminuée aux β -lactamines ? | NON | 70 | 139 | 129 |

| <i>N. gonorrhoeae</i> lot 2 | Réponse attendue | Réponses des 321 participants | | |
|-----------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|------------|------------|
| | | - | Oui | Non |
| La souche testée est : | | | | |
| - productrice d'une β -lactamase ? | NON | 4 | 43 | 274 |
| - de sensibilité diminuée aux β -lactamines ? | OUI | 38 | 217 | 66 |

tableau XV - Réponses à la question « CMI effectuée systématiquement au laboratoire ? »

| Antibiotiques | CMI effectuée systématiquement au laboratoire ? | | |
|----------------|-------------------------------------------------|-----|----------------|
| | Oui | Non | Pas de réponse |
| Pénicilline G | 386 | 182 | 92 |
| Céfixime | 91 | 326 | 243 |
| Ceftriaxone | 331 | 215 | 114 |
| Spectinomycine | 22 | 390 | 248 |
| Ciprofloxacine | 245 | 290 | 125 |
| Ofloxacin | 42 | 360 | 258 |
| Tétracycline | 21 | 465 | 174 |
| Azythromycine | 50 | 301 | 309 |

tableau XVI - *N. gonorrhoeae* lot 1 : distribution des CMI et catégorisation clinique en fonction de la CMI

| PENICILLINE G | | Interprétation CMI | | | |
|---------------|----------|--------------------|---|-----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| ≤ 0,06 | 1 | | | 1 | |
| 0,12 | 1 | | | 1 | |
| 0,5 | 3 | | 2 | 1 | |
| 0,75 | 8 | | 6 | 2 | |
| 1 | 7 | | 1 | 5 | 1 |
| 2 | 48 | 1 | | 47 | |
| 4 | 73 | | | 73 | |
| 8 | 30 | | | 30 | |
| 16 | 13 | | | 13 | |
| ≥32 | 24 | | | 24 | |
| total | 208 | 1 | 9 | 197 | 1 |

| CEFTRIAZONE | | Interprétation CMI | | |
|--------------|----------|--------------------|---|-----|
| CMI (mg/l) | effectif | I | R | S |
| < 0,016 | 80 | | | 80 |
| 0,016 | 59 | | 1 | 58 |
| 0,032 - 0,12 | 44 | | | 44 |
| > 0,12 | 7 | 1 | 3 | 3 |
| total | 190 | 1 | 4 | 185 |

| CEFIXIME | | Interprétation CMI | | |
|--------------|----------|--------------------|---|----|
| CMI (mg/l) | effectif | I | R | S |
| < 0,016 | 19 | | | 19 |
| 0,016 | 24 | | | 24 |
| 0,032 - 0,12 | 8 | | | 8 |
| > 0,12 | 4 | | 4 | |
| total | 55 | 0 | 4 | 51 |

| CIPROFLOXACINE | | Interprétation CMI | | | |
|----------------|----------|--------------------|---|-----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| ≤ 0,03 | 3 | | | | 3 |
| 0,06 | 2 | | | 2 | |
| 0,12 | 5 | | | 5 | |
| 0,25 | 27 | | | 27 | |
| 0,38 | 27 | | | 26 | 1 |
| 0,5 | 46 | | | 45 | 1 |
| 0,75 | 36 | 1 | 1 | 33 | 1 |
| ≥ 1 | 10 | | | 10 | |
| total | 156 | 1 | 1 | 148 | 6 |

| OFLOXACINE | | Interprétation CMI | | |
|------------|----------|--------------------|----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | I | R | S |
| ≤ 0,12 | 1 | | | 1 |
| 0,5 | 3 | | 3 | |
| 0,75 | 5 | | 5 | |
| ≥ 1 | 8 | | 8 | |
| total | 17 | 0 | 16 | 1 |

tableau XVII - *N. gonorrhoeae* lot 2 : distribution des CMI et catégorisation clinique en fonction de la CMI

| PENICILLINE G | | Interprétation CMI | | | |
|---------------|----------|--------------------|-----|----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| ≤ 0,06 | 3 | | | 1 | 2 |
| 0,12 | 8 | | 6 | 2 | |
| 0,19 | 10 | | 8 | 2 | |
| 0,25 | 45 | | 42 | 2 | 1 |
| 0,38 | 43 | | 35 | 5 | 3 |
| 0,5 | 70 | 2 | 63 | 4 | 1 |
| 0,75 | 13 | | 12 | 1 | |
| 1 | 10 | | 9 | 1 | |
| >1 | 3 | | | 3 | |
| total | 205 | 2 | 175 | 21 | 7 |

| CEFTRIAZONE | | Interprétation CMI | | | |
|-------------|----------|--------------------|----|-----|----|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| ≤ 0,12 | 6 | | | | 6 |
| 0,25 | 7 | | 2 | 3 | 2 |
| 0,5 | 19 | 1 | 3 | 13 | 2 |
| 0,75 | 29 | 1 | 7 | 20 | 1 |
| 1 | 60 | | 7 | 52 | 1 |
| 1,5 | 27 | 2 | | 25 | |
| 2 | 18 | 1 | | 17 | |
| > 2 | 8 | | 1 | 6 | 1 |
| total | 174 | 5 | 20 | 136 | 13 |

| CEFIXIME | | Interprétation CMI | | | |
|------------|----------|--------------------|---|----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| ≤ 0,12 | 1 | | | | 1 |
| 0,25 | 1 | | | 1 | |
| 0,5 | 1 | | | 1 | |
| 0,75 | 2 | | 2 | | |
| 1 | 2 | | | 2 | |
| 1,5 | 7 | 1 | | 6 | |
| 2 | 24 | | | 23 | 1 |
| > 2 | 8 | | | 8 | |
| total | 46 | 1 | 2 | 41 | 2 |

| CIPROFLOXACINE | | Interprétation CMI | | | |
|----------------|----------|--------------------|---|-----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | pas réponse | I | R | S |
| 0,12 | 1 | | | 1 | |
| 2 | 3 | | | 3 | |
| 4 | 6 | | | 6 | |
| 8 | 20 | 1 | | 18 | 1 |
| 12 | 12 | | | 12 | |
| 16 | 16 | | | 16 | |
| 32 | 28 | | | 28 | |
| > 32 | 41 | | | 41 | |
| total | 127 | 1 | 0 | 125 | 1 |

| OFLOXACINE | | Interprétation CMI | | |
|------------|----------|--------------------|----|---|
| CMI (mg/l) | effectif | I | R | S |
| 8 | 2 | | 2 | |
| 12 | 2 | | 2 | |
| 16 | 3 | | 3 | |
| 32 | 2 | | 2 | |
| > 32 | 3 | | 3 | |
| total | 12 | 0 | 12 | 0 |

Commentaires

Depuis le début des années 2000, on observe à travers deux réseaux sentinelles, l'un constitué de cliniciens (RéSIST) et l'autre constitué de laboratoires (Rénago) une augmentation des cas de gonococcies. Parallèlement, des taux croissants de résistance aux antibiotiques sont rapportés, en particulier à la ciprofloxacine, traitement oral « minute » de première intention des urétrites et cervicites non compliquées qui a été remplacée dans cette indication par les céphalosporines de 3^{ème} génération en dose unique : ceftriaxone injectable ou céfixime oral. L'apparition de résistances et d'échecs thérapeutiques avec le céfixime rend la surveillance de la sensibilité du gonocoque indispensable.

Bêta-lactamines :

En France, 10% des gonocoques produisent une β -lactamase. Par conséquent, la production éventuelle de β -lactamase doit être détectée par une technique chromogénique (céfinase) dès l'isolement.

A la question « Est-ce que la souche testée est productrice d'une β -lactamase ? », on note pour le gonocoque du lot 1 (β -lactamase positive) 91,4% de réponses « oui » et pour le gonocoque du lot 2 (β -lactamase négative) 86,4% de réponses « non » (tableau XIV). Ces résultats montrent par rapport à l'opération précédente de 2002, une progression du pourcentage de réponses correctes de 5% et 7% respectivement pour une souche β L+ et une souche β L-.

En ce qui concerne la sensibilité de la souche β L+ à la pénicilline G, là encore, les réponses rendues par les participants sont meilleures avec 3% de fausses réponses « S » au lieu de 6% en 2002.

Les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne sont pas touchées par la production d'une β -lactamase. Néanmoins, 4,7% et 3,3% des participants ont rendu à tort la souche céfixime « R » et ceftriaxone « R » (tableau XII).

La détection d'une éventuelle sensibilité diminuée aux pénicillines est effectuée en routine par la détermination de la CMI de la pénicilline G sur gélose chocolat PolyVitex®.

Les deux mécanismes de résistance aux β -lactamines : « production d'une β -lactamase d'origine plasmidique » et « sensibilité diminuée d'origine chromosomique » ne sont pas liés. Cette dernière est due à des mutations des gènes qui codent pour les protéines liant les pénicillines (PLP), ce qui a pour conséquence une moindre affinité des PLP. Les souches de sensibilité diminuée aux β -lactamines sont le plus souvent non productrices de β -lactamase (4).

A la question « Est-ce que la souche testée est de sensibilité diminuée aux β -lactamines ? » (tableau XIV), 20% des laboratoires ayant testé la souche β L+ n'ont pas répondu et parmi les « répondeurs », moins de la moitié (48%) a donné la réponse attendue « non », car les laboratoires confondent les deux mécanismes de résistance : pour eux, la « production de β -lactamase » entraîne une « sensibilité diminuée ».

En revanche, la souche β L-, de sensibilité diminuée (CMI pénicilline G = 0,38-0,5 mg/l) a bien été détectée comme telle par 76,7% des participants ; ce qui représente un net progrès (+ 26,9%) par rapport à 2002.

Lorsque la souche est de sensibilité diminuée, toutes les β -lactamines sont touchées. Par conséquent, en l'absence de diamètres critiques, il faut déterminer la CMI de la C3G que l'on veut utiliser pour traiter. Cette recommandation n'est pas suivie puisque l'on observe un pourcentage très important de résultats incorrects « Sensible » : 36,4% et 46,2% respectivement pour la ceftriaxone et le céfixime (tableau XIII).

Lorsque la CMI de la ceftriaxone a été précisément déterminée (174 laboratoires, CMI médiane = 1 mg/l), on note qu'à l'exception de 6 laboratoires ayant trouvé une CMI \leq 0,12 mg/l qui ont conclu « S », tous ont trouvé une CMI $>$ 0,12 mg/l et parmi eux 83% ont correctement interprété « R ».

De même, lorsque la CMI du céfixime a été réalisée (46 laboratoires, CMI médiane = 2 mg/l), seul un laboratoire a trouvé une CMI \leq 0,12 mg/l et 93% ont rendu « R » (tableau XVII).

Pour rappel, les recommandations du CA-SFM 2013 (non modifiées dans les versions plus récentes du CA-SFM 2014 et 2015) pour la catégorisation des β -lactamines en fonction des CMI (mg/l) sont les suivantes :

| | Sensible | Résistant |
|---------------|-------------|-----------|
| Pénicilline G | $\leq 0,06$ | > 1 |
| Amoxicilline | $\leq 0,25$ | > 2 |
| Ceftriaxone | $\leq 0,12$ | - |
| Céfixime | $\leq 0,12$ | - |

En 2010, deux souches de gonocoque résistantes à la ceftriaxone ont été mises en évidence au CNR dont la première souche française décrite (2^{ème} mondiale) F89 appartenant au clone ST1407 (1). Le clone ST1407 diffuse actuellement en Europe et présente une sensibilité diminuée aux C3G (2)(3). La détermination de la CMI de la ceftriaxone permet de dépister les souches de sensibilité diminuée ou résistantes à cet antibiotique. Cette résistance n'est pas visible sur un antibiogramme en diffusion.

Fluoroquinolones :

La résistance du gonocoque aux fluoroquinolones est de l'ordre de 40 % et ces antibiotiques ne doivent pas être prescrits sans vérification de la sensibilité de la souche.

La détection d'une sensibilité diminuée ou d'une résistance aux fluoroquinolones est effectuée à l'aide d'un disque d'acide nalidixique (30 μ g). Si le diamètre est inférieur à 25 mm, la CMI de la fluoroquinolone choisie (ofloxacin ou ciprofloxacine) doit être mesurée (absence de diamètres critiques).

Pour rappel, les recommandations du CA-SFM 2013 (non modifiées dans les versions plus récentes du CA-SFM 2014 et 2015) pour la catégorisation des fluoroquinolones en fonction des CMI (mg/l) sont les suivantes :

| | Sensible | Résistant |
|-------------------|-------------|-----------|
| Acide nalidixique | - | - |
| Ofloxacin | $\leq 0,12$ | $> 0,25$ |
| Ciprofloxacine | $\leq 0,03$ | $> 0,06$ |

A noter que les concentrations critiques sont inférieures à celles qui sont utilisées pour beaucoup d'autres bactéries, dont les entérobactéries.

Les deux souches présentaient un diamètre d'inhibition à l'acide nalidixique très inférieur à 25 mm (13 et 9 mm).

Pour la souche β L+ du lot 1, la CMI médiane de la ciprofloxacine mesurée par 156 laboratoires était égale à 0,5 mg/l et celle de l'ofloxacin mesurée par 17 laboratoires était égale à 0,75 mg/l (tableau XVI). Par conséquent, la souche devait être catégorisée « R » pour ces deux fluoroquinolones. On note que 100% des laboratoires qui ont trouvé une CMI de l'ofloxacin $> 0,25$ mg/l et 97% des laboratoires qui ont trouvé une CMI de la ciprofloxacine $> 0,06$ mg/l ont catégorisé la souche « R ».

Néanmoins, on observe pour l'ensemble des laboratoires participants 20,4% et 17,2% de réponses fausses « S » pour ces deux antibiotiques (tableau XII). Ces résultats sont à rapprocher de ceux obtenus en 2002 pour une souche de profil similaire (β L+, CMI ciprofloxacine : 0,75-1 mg/l, CMI ofloxacin : 2-3 mg/l) pour laquelle on notait 29% de réponses fausses « S ».

Les résultats observés pour la souche β L- du lot 2 sont meilleurs mais restent insuffisants, puisqu'un peu plus de 5% des participants ont rendu la souche « S » alors que les CMI des deux fluoroquinolones sont très élevées (> 32 mg/l) (tableau XIII).

Autres antibiotiques :

En ce qui concerne la spectinomycine, à l'heure actuelle, aucune résistance n'a été décrite en France. Cependant, 3,8% des participants ont rendu « R ». Ils étaient 5% en 2002. Pour cet antibiotique, la méthode de diffusion sur gélose étant très sensible à l'inoculum, un résultat « R » doit être vérifié par une CMI. Ici, les CMI des deux souches étaient égales à 8 mg/l.

En ce qui concerne la tétracycline, la proportion de souches résistantes est d'environ 55% (1/3 résistance plasmidique de haut niveau et 2/3 résistance chromosomique de bas niveau). La souche β L+ du lot 1 (diamètre d'inhibition < 19 mm et CMI = 24 mg/l) a bien été rendue « R » à la tétracycline par 91,9% des participants. En revanche la souche β L- du lot 2 présentait une résistance de bas niveau (CMI = 1,5-2 mg/l) difficilement détectable par la méthode des disques (diamètre d'inhibition = 25 mm). Au vu de cette

discordance entre les diamètres d'inhibition et les CMI pour cette souche, il n'est pas possible de tenir compte des résultats de contrôle de qualité pour cet antibiotique.

Bibliographie

1. Unemo M, Golparian D, Nicholas R, Ohnishi M, Gallay A, Sednaoui P. High-level cefixime- and ceftriaxone-resistant *Neisseria gonorrhoeae* in France: novel *penA* mosaic allele in a successful international clone causes treatment failure. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(3):1273-1280.
2. Cole MJ, Unemo M, Hoffmann S, Chisholm SA, Ison CA, van de Laar MJ. The European gonococcal antimicrobial surveillance programme, 2009. *Euro Surveill.* 2011 ; 16(42):pii=19995
3. Ison CA, Town K, Obi C, Chisholm S, Hughes G, Livermore DM, *et al.* Decreased susceptibility to cephalosporins among gonococci : data from the Gonococcal Resistance to Antimicrobials Surveillance Programme (GRASP) in England and Wales, 2007-2011. *Lancet Infect Dis.* 2013;13(9):762-768.
4. Rapport annuel d'activité du CNR des gonocoques, 2012.
<http://www.institutfourmier.org/attachments/article/57/Rapport%20CNR%202012.pdf>
5. La Ruche G, Goubard A, Berçot B, Cambau E, Semaille C, Sednaoui P. evolution des résistances du gonocoque aux antibiotiques en France de 2001 à 2012. *BEH* n°5, fevr 2014, 93-103.
6. AFSSAPS. Traitement antibiotique probabiliste des urétrites et cervicites non compliqués. Actualisation octobre 2008. Disponible sur http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/2008-uretrites-afssaps.pdf

Enquête sur le recensement des cas de gonococcies et d'infections urogénitales à Chlamydiae en France en 2012

Dans le prolongement de l'antibiogramme des deux souches de gonocoques proposées, cette opération de contrôle a été l'occasion de réaliser, à la demande de l'InVS, une enquête rétrospective sur le nombre de gonococcies et d'infections urogénitales à Chlamydiae diagnostiquées dans les LBM au cours de l'année 2012 ainsi que sur les techniques utilisées pour ces diagnostics.

Le but de cette enquête exhaustive était double : d'une part, estimer les taux d'incidence de ces deux IST en France et d'autre part, mesurer la représentativité des deux réseaux de surveillance, Renago et Renachla constitués de LBM volontaires répartis sur toute la France et coordonnés par l'InVS.

Dans cet objectif, les laboratoires concernés par cette opération de contrôle en bactériologie générale (identification et/ou antibiogramme) ont été invités à répondre au questionnaire suivant concernant leur activité pendant la période du 01.01.2012 au 31.12.2012 :

- 1 - Réalisation de la culture gonocoque ? (Oui/Non)
 - ▶ si Oui, nombre de gonocoques isolés ?
 - ▶ en cas de groupement, nombre de sites qui réalisaient des cultures de gonocoques en 2012 ?
- 2 - Réalisation de la PCR gonocoque ? (Oui/Non)
 - ▶ si Oui, nombre de gonocoques diagnostiqués par PCR ?
 - ▶ en cas de groupement, nombre de sites qui réalisaient des PCR gonocoques en 2012 ?
- 3 - Réalisation de la PCR Chlamydia ? (Oui/Non)
 - ▶ si Oui, nombre d'infections urogénitales à Chlamydiae diagnostiqués par PCR ?
 - ▶ en cas de groupement, nombre de sites qui réalisaient des PCR Chlamydia en 2012 ?

Résultats de l'enquête

1 - Caractéristiques des laboratoires participants

Seules les réponses des laboratoires localisés en France métropolitaine et dans les DOM (Martinique, Guadeloupe, Guyane française, île de la Réunion et Mayotte) ont été prises en compte.

2 - Estimation du nombre de gonococcies diagnostiquées par les LBM, en France, en 2012.

Sur les 1342 LBM, 1147 (85,5%) ont déclaré réaliser la culture des gonocoques dans leur laboratoire ou dans au moins un site en cas de LBM multi sites, tandis que 63 ont déclaré ne pas effectuer ce type de culture et 132 n'ont pas répondu à la question.

Sur les 1147 LBM qui effectuent la culture, 1061 (92,5%) ont précisé le nombre de souches qu'ils avaient isolées en 2012, soit 8820 souches au total (8235 en Métropole et 585 dans les DOM).

En revanche, en ce qui concerne la PCR gonocoque, la majorité (1092 soit 81,3%) des LBM ne réalisent pas cette technique de diagnostic. Parmi les 111 LBM qui l'effectuent, 94 (84,7%) ont indiqué le nombre de diagnostics en 2012, soit un total de 4013 cas (3733 en Métropole et 280 dans les DOM).

Dans notre enquête, il n'est pas possible de connaître le nombre de diagnostics fait à la fois par culture et par PCR pour un même patient. Toutefois, on note que sur les 1213 LBM qui ont fourni des informations sur le diagnostic des gonococcies dans leur laboratoire : 1042 (85,9%) ne font que la culture, 6 (0,5%) ne font que la PCR, 105 (8,7%) font les deux et 60 (4,9%) ne font ni l'un ni l'autre et par conséquent ne diagnostiquent aucun cas.

En conclusion, en 2012, un total de 12833 cas de gonococcies sont rapportés par les 1069 LBM qui ont précisé le nombre de diagnostics faits par culture ou par PCR.

De plus, après un découpage de la métropole en cinq interrégions (découpage basé sur les deux premiers chiffres du numéro de téléphone : 01/région parisienne, 02/région Nord-Ouest, 03/région Nord-Est, 04/région Sud-Est, 05/région Sud-Ouest), le nombre de cas a également été calculé pour chacune de ces cinq interrégions. Deux laboratoires privés, l'un situé en région parisienne (01) et l'autre situé dans la région lyonnaise (04), connus pour traiter des échantillons de toute la France ont été exclus des calculs concernant les interrégions. Les résultats en fonction de l'interrégion considérée sont détaillés dans le tableau XVIII.

3 - Estimation du nombre d'infections urogénitales à Chlamydia diagnostiquées par les LBM, en France, en 2012.

En ce qui concerne le diagnostic direct des infections urogénitales à Chlamydia, les recherches par culture, par méthode immunologique ou par hybridation ont été supprimées le 04/11/2011 de la nomenclature des actes de biologie médicale au profit de la recherche d'ADN ou d'ARN par amplification génique *in vitro* (PCR).

Sur les 1342 LBM, 290 (21,6%) ont déclaré réaliser la PCR Chlamydia dans leur laboratoire ou dans au moins un site en cas de LBM multi sites, tandis que 912 ont déclaré ne pas disposer de cette technique et 140 n'ont pas répondu à la question.

Parmi les 290 LBM qui effectuent la PCR Chlamydia, 255 (87,9%) ont précisé le nombre de cas diagnostiqués en 2012 : 58155 cas au total (54051 en Métropole et 4104 dans les DOM). Le nombre de cas en fonction de l'interrégion considérée est rapporté dans le tableau XVIII.

4 - Estimation de la représentativité des réseaux de surveillance Renago et Renachla en 2012.

La représentativité nationale des deux réseaux Renago et Renachla a été estimée en divisant le nombre d'infections rapportés par chacun à l'InVS en 2012 par le nombre total d'infections diagnostiquées par l'ensemble des laboratoires de France métropolitaine.

La représentativité des deux réseaux a également été estimée pour chacune des cinq interrégions et en fonction du type de laboratoires (hospitaliers ou privés). Les résultats sont rassemblés dans les tableaux XIX et XX respectivement pour le réseau Renago et le réseau Renachla.

En ce qui concerne Renago, la représentativité globale du réseau est estimée à 23,5% avec des variations selon les interrégions (de 19,4% pour la région parisienne à 31,6% pour le Nord-Ouest).

La couverture globale du réseau Renachla (18,2%) est inférieure à celle de Renago. Là encore, on note des disparités selon les interrégions (de 21,5% en région parisienne à 48,7% pour le Sud-Ouest où se trouve le CNR Chlamydia).

tableau XVIII - Nombre de cas de gonococcies et d'infections urogénitales à Chlamydia diagnostiqués en 2012 en fonction de l'inter-région.

| | Gonococcies | | Infections urogénitales à Chlamydia | |
|---------------------|------------------|--------------------------|-------------------------------------|---------------------------|
| | Nb cas rapportés | Nb cas estimés (IC 95%) | Nb cas rapportés | Nb cas estimés (IC 95%) |
| Région parisienne * | 4836 | 5472 (4785 - 6159) | 12985 | 17312 (12658 - 21965) |
| Nord-Ouest | 1970 | 2237 (2013 - 2463) | 6395 | 7687 (5846 - 9528) |
| Nord-Est | 1705 | 2013 (1648 - 2378) | 6217 | 7770 (5058 - 10482) |
| Sud-Est * | 1991 | 2479 (2097 - 2861) | 10497 | 12049 (491 - 23608) |
| Sud-Ouest | 1287 | 1503 (1270 - 1736) | 3915 | 4753 (2913 - 6594) |
| Total Métropole | 11968 | 13951 (13007 - 14895) | 54051 | 71657 (41522 - 101792) |
| Antilles et Guyane | 353 | 495 (393 - 596) | 2529 | 3367 (1099 - 5635) |
| Réunion et Mayotte | 512 | 621 (445 - 798) | 1575 | 1895 (247 - 3542) |
| Total DOM | 865 | 1116 (935 - 1297) | 4104 | 5261 (2996 - 7527) |
| Total France | 12833 | 15067 (14105 - 16028) | 58155 | 76918 (46711 - 107126) |

* : deux laboratoires privés qui opèrent au niveau national sont exclus (un en région parisienne et un en région Sud Est). Leurs données sont incluses uniquement dans le « total Métropole » et le « total France ».

tableau XIX - Représentativité du réseau Renago en 2012 en fonction de l'inter-région.

| | Réseau Renago (données InVS) | | Ensemble des LBM (données enquête ANSM-InVS) | | Représentativité (A/B) |
|-------------------|---------------------------------|------------|-------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|
| | Nb LBM | Nb cas (A) | Nb LBM | Nb cas estimés (B) | |
| Région parisienne | 22 | 1060 | 254 * | 5472 | 19,4% |
| Nord-Ouest | 38 | 708 | 205 | 2237 | 31,6% |
| Nord-Est | 34 | 498 | 232 | 2013 | 24,7% |
| Sud-Est | 33 | 541 | 266 * | 2479 | 21,8% |
| Sud-Ouest | 23 | 469 | 149 | 1503 | 31,2% |
| Total Métropole | 150 | 3276 | 1108 | 13951 | 23,5% |
| LBM publics | 37 | 911 | 319 | 4058 | 22,4% |
| LBM privés | 113 | 2365 | 789 | 9893 | 23,9% |

* : deux laboratoires privés qui opèrent au niveau national sont exclus (un en région parisienne et un en région Sud Est). Leurs données sont incluses uniquement dans le « total Métropole ».

tableau XX - Représentativité du réseau Renachla en 2012 en fonction de l'interrégion.

| | Réseau Renachla (données InVS) | | Ensemble des LBM (données enquête ANSM-InVS) | | Représentativité (A/B) |
|-------------------|-----------------------------------|------------|-------------------------------------------------|--------------------|---------------------------|
| | Nb LBM | Nb cas (A) | Nb LBM | Nb cas estimés (B) | |
| Région parisienne | 11 | 3719 | 96 * | 17312 | 21,5% |
| Nord-Ouest | 12 | 1961 | 48 | 7687 | 25,5% |
| Nord-Est | 11 | 2065 | 46 | 7770 | 26,6% |
| Sud-Est | 7 | 3016 | 36 * | 12049 | 25,0% |
| Sud-Ouest | 11 | 2313 | 42 | 4753 | 48,7% |
| Total Métropole | 52 | 13074 | 270 | 71657 | 18,2% |
| LBM publics | 26 | 5389 | 92 | 20848 | 25,8% |
| LBM privés | 25 | 7685 | 178 | 50809 | 15,1% |

* : deux laboratoires privés qui opèrent au niveau national sont exclus (un en région parisienne et un en région Sud Est). Leurs données sont incluses uniquement dans le « total Métropole ».

Conclusion

Seule une partie des résultats issus de l'exploitation par l'InVS des données fournies par l'enquête conjointe InVS/ANSM est rapportée ici.

En effet, l'ensemble des résultats fait l'objet d'un article publié le 13 août 2015 dans Eurosurveillance (1). Les informations contenues dans cet article sont beaucoup plus détaillées, notamment en ce qui concerne les taux d'incidence nationaux calculés pour l'ensemble de la population et pour une classe d'âge spécifique en fonction du type d'infection (gonococcies ou infections urogénitales à Chlamydia) ainsi que la comparaison des taux d'incidence en France par rapport à d'autres pays occidentaux comme les USA, le Canada, la Belgique, la Suède ou l'Angleterre.

Nous remercions l'ensemble des laboratoires participants pour leur coopération à ce travail épidémiologique dont l'intérêt n'est pas à démontrer.

Bibliographie

1. La Ruche G, Le Strat Y, Fromage M, Berçot B, Goubard A, de Barbeyrac B, Sednaoui P, Cambau E, Lot F. Incidence of gonococcal and chlamydial infections and coverage of two laboratory surveillance networks, France, 2012. Euro Surveill. 2015;20(32):pii=21205. Available online: <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21205>