

# Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

**Bactériologie**

**11BAC2**

**octobre 2011**

**Identification bactérienne**

**Identification et antibiogramme : *Enterococcus faecium***

**Juin 2012**

Guillaume ARLET (Hôpital Tenon, Paris)  
Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims)  
Muriel FROMAGE (Ansm)

---

Expédition : 05 octobre 2011

Clôture : 02 novembre 2011

Edition des compte-rendus individuels : 20 décembre 2011

Paramètres contrôlés :

**Identification bactérienne** : *Moraxella (Branhamella) catarrhalis*, *Haemophilus influenzae*

**Identification bactérienne et antibiogramme** : *E. faecium*, *E. faecium vanB*

Nombre de laboratoires concernés\* : 2259

Nombre de laboratoires participants\*\* : 2160

\* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

\*\* 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 bactériennes lyophilisées à identifier : *Moraxella catarrhalis* et *Haemophilus influenzae*, précisément identifiées par respectivement 88,1% et 89,7% des laboratoires participants. A ce jour, c'est le meilleur score obtenu pour ces deux espèces bactériennes.

Chacun des 2259 laboratoires inscrits a également reçu un entérocoque pour identification et antibiogramme. L'identification précise de l'espèce est un élément indispensable pour la surveillance épidémiologique des souches d'entérocoques dont la multirésistance aux antibiotiques représente le principal problème en pratique clinique. Deux souches différentes de l'espèce *Enterococcus faecium* ont été proposées. Elles ont été correctement identifiées par respectivement 74 et 81% des participants ; ce qui représente un progrès considérable par rapport à l'envoi précédent en 2007, pour lequel on notait 64% d'identifications exactes. On observe, en particulier, une baisse du nombre de diagnostics incomplets tels que « *Enterococcus sp.* » ou « streptocoque du groupe D ».

Il était également demandé aux laboratoires de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 15 antibiotiques. Une attention particulière était portée sur le niveau de résistance aux aminoglycosides (gentamicine et kanamycine) ainsi que sur les glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) : les CMI de ces derniers pouvaient être précisées par les participants lorsqu'ils le jugeaient nécessaire. En effet, les laboratoires doivent être à même de détecter les ERG (entérocoques résistants aux glycopeptides) à partir des prélèvements cliniques ou des prélèvements de dépistage sachant qu'une éventuelle résistance à la vancomycine est plus ou moins facilement mise en évidence selon son niveau d'expression par la souche testée.

La résistance de bas niveau à la vancomycine (CMI = 8-16 mg/l) de la souche de *E. faecium vanB* proposée n'a pas été mise en évidence par environ 32% des participants qui l'ont catégorisée à tort « sensible ». Seul l'automate Vitek bioMérieux a permis sa détection. En revanche, les autres techniques, en particulier la diffusion en gélose ont été mises en défaut quel que soit le fournisseur de disques.

# Identification bactérienne

## Définition des échantillons

Bactérie	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Moraxella catarrhalis</i>	199, 473, 511, 614, 713, 721, 879, 938.	La bactérie à identifier a été isolée d'une hémoculture chez un patient de 62 ans atteint de broncho-pneumopathie chronique obstructive et présentant une bronchite trainante et récidivante depuis plusieurs mois. Il est hospitalisé depuis 5 jours en réanimation pour détresse respiratoire. Il présente une leucopénie.
<i>Haemophilus influenzae</i>	142, 206, 222, 354, 387, 556, 645, 763.	

## Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les pourcentages de diagnostics corrects obtenus selon le système d'identification utilisé sont présentés dans les tableaux I et II.

Les résultats obtenus lors des cinq envois précédents d'une souche de *Moraxella catarrhalis* et des six envois précédents d'un *Haemophilus influenzae* sont rapportés respectivement dans les tableaux III et IV.

tableau I - identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	Total		
<i>M. catarrhalis</i>	856 (88,1%)	6 (0,6%)	30 (3,1%)	892 (91,8%)	80 (8,2%) <sup>(a)</sup>	972
<i>H. influenzae</i>	880 (89,7%)	19 (1,9%)	28 (2,9%)	927 (94,5%)	54 (5,5%) <sup>(b)</sup>	981

(a) : dont 28 *Micrococcus* ou *Kocuria*, 16 staphylocoques, 11 *Neisseria*, 8 *Haemophilus* et 8 enterocoques ou streptocoques.

(b) : dont 14 entérocoques ou streptocoques, 13 *Moraxella*, 8 *Pasteurella*.

tableau II - pourcentage d'identification correcte (genre et espèce exactes) selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 5)	<i>M. catarrhalis</i>	<i>H. influenzae</i>
<b>Galleries :</b>		
API NH bioMérieux	430/443 (97,1%)	441/460 (95,9%)
API non précisée	34/44 (77,3%)	37/44 (84,1%)
Neisseria 4H Biorad	23/23 (100 %)	-
Rapid id NH Remel	17/18 (94,4%)	16/16 (100%)
<b>Automates :</b>		
Vitek 2 Compact bioMérieux	180/204 (88,2%)	184/195 (94,4%)
Vitek 2 bioMérieux	122/143 (85,3%)	137/146 (93,8%)
Microscan Siemens	5/6 (83,3%)	9/11(81,8%)
Phoenix Becton Dickinson	4/6 (66,7%)	-
<b>Autres :</b>		
Méthode conventionnelle *	18/42 (42,9%)	37/73 (50,7%)
Spectrométrie de masse	9/9 (100%)	7/9 (77,8%)

\* : identification traditionnelle dichotomique avec choix personnel des caractères étudiés (pas de galerie, ni d'automate).

**tableau III** - bilan des six opérations de contrôle « *Moraxella catarrhalis* ».

Année	Présentation *	Effectif	Espèce exacte (%)	Genre exact (%)
2011	M	972	88,1	91,8
2008	M	1632	83,2	88,6
1998	P	923	72,4	75,4
1994	P	961	53,5	59,4
1993	P	954	53,6	61,0
1987	P	609	28,7	30,1

\* : échantillon monomicrobien (M) ou plurimicrobien (P)

**tableau IV** - bilan des sept opérations de contrôle « *Haemophilus influenzae* ».

Année	Présentation *	Effectif	Espèce exacte (%)	Genre exact (%)
2011	M	981	89,7	94,5
2005	M	865	77,2	86,5
1998 (lot 1)	P	906	55,0	67,0
1998 (lot 3)	P	986	67,0	80,0
1994	P	953	59,0	73,0
1993	P	954	59,0	77,0
1992	M	604	54,5	79,8
1988	M	747	56,4	74,7

\* : échantillon monomicrobien (M) ou plurimicrobien (P)

## Commentaires

### 1 - *Moraxella catarrhalis*

Pour une description complète de cette espèce, on pourra se reporter aux Annales du CNQ correspondant à l'opération de contrôle en bactériologie 08BAC1.

*Moraxella catarrhalis* est un germe strictement humain commensal des voies aériennes supérieures. Il peut être à l'origine d'infections de la sphère ORL (otite moyenne, sinusite, laryngite, rhinopharyngite) ou d'infections des voies respiratoires (bronchites, pneumonies). On peut également le retrouver, plus rarement, dans les conjonctivites et de façon exceptionnelle, les méningites ou les septicémies (à partir d'un foyer pulmonaire). Enfin, *M. catarrhalis* est reconnu comme un agent possible d'infections nosocomiales.

Le pouvoir pathogène de cette espèce étant relativement faible, le statut immunitaire joue un rôle important dans la résistance à l'infection. Les facteurs favorisant une infection à *M. catarrhalis* sont les maladies pulmonaires (BPCO, silicose, emphysème), le tabagisme, une infection virale (VRS++), l'insuffisance cardiaque.

L'identification de *M. catarrhalis* n'a pas posé de problème puisque près de 92% des laboratoires ont fait un diagnostic correct du genre *Moraxella* et que la majorité d'entre eux a rendu *M. catarrhalis*. On note, par rapport à l'envoi précédent de cette même souche en 2008, une amélioration du pourcentage d'identifications correctes de 5%. En résumé, les caractères culturels, morphologiques et biochimiques à retenir sont les suivants :

- croissance sur gélose au sang ou gélose chocolat mais aussi sur milieux ordinaires,
- colonies rondes, blanc grisâtre, opaques, non hémolytiques, de 1 à 3 mm de diamètre,
- diplocoques à Gram négatif,
- catalase et oxydase positives,
- les sucres ne sont pas acidifiés,
- hydrolyse la tributyrine,
- produit une DNase.

## 2 - *Haemophilus influenzae*

Les bactéries du genre *Haemophilus* sont de petits bacilles à Gram négatif, immobiles, aéro-anaérobies facultatifs, parasites obligatoires des muqueuses et exigeant pour leur croissance les facteurs X (hémine) et/ ou V (NAD). *Haemophilus influenzae*, espèce type du genre *Haemophilus*, est X + V dépendant.

L'homme est l'hôte naturel de *H. influenzae* qui colonise l'oro- et le naso-pharynx et plus rarement le tractus génital. Cette espèce est à l'origine d'infections localisées : sphère ORL (otites, sinusites, laryngites, pharyngites), conjonctivites, bronchites chroniques, pneumopathies de surinfection, mucoviscidose et d'infections invasives : épiglottites, cellulites (cou, joue), pneumonies primitives, arthrites septiques, méningites, septicémies. Les pathologies invasives touchent surtout les enfants de moins de 5 ans et sont dues essentiellement à des souches capsulées.

On peut également retrouver *H. influenzae* dans les infections génito-urinaires et néonatales.

L'identification de *H. influenzae* n'a pas posé de problème. En effet, 94,5% des laboratoires ont fait un diagnostic correct du genre *Haemophilus* et la majorité d'entre eux a rendu *H. influenzae*. On note, par rapport à l'envoi précédent de cette même souche en 2005, une amélioration du pourcentage d'identifications correctes de 8,6%. En résumé, les caractères culturels, morphologiques et biochimiques à retenir sont les suivants :

- croissance sur gélose chocolat supplémentée (isovitalex, polyvitex, etc...), en aérobiose ou sous 5% de CO<sub>2</sub>,
- colonies grises, muqueuses, luisantes, de 0,5 à 2 mm de diamètre pour les souches capsulées ou d'aspect rugueux pour les souches non capsulées,
- exigence en facteur X et V (disques imprégnés de X, V, X+V sur gélose TS ou MH),
- petits bacilles à Gram négatif,
- catalase et oxydase positives,
- nitrate réductase positive,
- phosphatase alcaline positive.

Les souches peuvent être classées en 8 biotypes (de I à VIII) en fonction de trois caractères biochimiques : indole, uréase, ODC.

La souche de cette opération de contrôle était de biotype III (indole -, uréase +, ODC -).

Les souches qui possèdent une capsule polysaccharidique peuvent être sérotypées. On distingue 6 types antigéniques ou sérotypes (de a à f). La souche de cette opération de contrôle n'était pas capsulée.

## Bibliographie

François Denis, Marie-Cécile Ploy, Christian Martin, Edouard Bingen, Roland Quentin. Bactériologie Médicale, techniques usuelles chez Elsevier - Masson (2007)

## Identification et antibiogramme : *Enterococcus faecium*

### Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche d'*E. faecium* lyophilisée ont été proposés. Il était demandé aux laboratoires participants d'identifier la souche isolée et de tester sa sensibilité vis-à-vis de 15 antibiotiques définis. En complément de l'antibiogramme standard, les laboratoires devaient répondre à un questionnaire concernant les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) et le niveau de résistance aux aminoglycosides (gentamicine et kanamycine).

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats des experts - Pr G. ARLET, Paris, Pr C. de CHAMPS, Reims - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau V. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par la méthode de référence (dilution en gélose).

Les renseignements cliniques qui accompagnaient les échantillons sont les suivants :

« Bactérie isolée d'une infection urinaire chez une femme de 65 ans. Cette patiente fait depuis plusieurs années des infections urinaires à répétition, le plus souvent à *Escherichia coli* et parfois à *Staphylococcus aureus*. Ces épisodes ont été traités par plusieurs antibiotiques : amoxicilline/ac.clavulanique, fosfomycine, triméthoprim/sulfaméthoxazole. L'examen cyto bactériologique actuel a été motivé pour des symptômes de dysurie. A la coloration de Gram, vous observez des cocci à Gram positif. »

**tableau V** - antibiogramme des deux souches d'*E.faecium* : résultats des experts

N° des échantillons	<i>E. faecium</i> (Lot 1)		<i>E. faecium</i> (Lot 2)	
	175, 307, 418, 441, 520, 535, 862, 926		101, 285, 392, 429, 650, 737, 810, 951	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Ampicilline	S	S	R	R
Amoxicilline	S	S	R	R
Tétracycline	R	R	S	S
Erythromycine	R	R	R	R
Lincomycine	R	R	R	R
Clindamycine	R	R	R	R
Pristinamycine	I	I <sup>(a)</sup>	S	S
Quinupristine - dalfopristine	I	I	S	S
Vancomycine	S	S	I / R	I / R <sup>(a)</sup>
Teicoplanine	S	S	S	S <sup>(a) (b)</sup>
Cotrimoxazole	S	S <sup>(b)</sup>	R	R
Linézolide	S	S	S	S
Chloramphénicol	I	I	S	S
Nitrofurantoïne	R	R	S	S <sup>(c)</sup>
Rifampicine	S	S	S	S <sup>(d)</sup>
		(a) : souche de sensibilité diminuée (b) : résistance naturelle aux sulfamides mais sensible au triméthoprime	(a) : CMI vancomycine = 8 - 16 mg/l et CMI teicoplanine = 0,5- 1 mg/l (phénotype VanB) (b) : ne pas utiliser seule (c) : CMI = 64 mg/l (égale à la concentration critique) (d) : souche de sensibilité diminuée. Les souches résistantes à la rifampicine ont des CMI > 256 mg/l et une résistance « contact » en diffusion sur milieu gélosé ; ce qui n'est pas le cas ici.	

## Résultats des participants

### 1 - Identification

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les pourcentages de diagnostics corrects obtenus selon le système d'identification utilisé sont présentés dans les tableaux VI et VII. Les résultats obtenus lors des deux envois précédents d'une souche d'*E.faecium* pour identification sont rapportés dans le tableau VIII.

**tableau VI** - identification des deux souches d'*E.faecium* : résultats des participants

Réponse attendue	Genre exact			« streptocoque du groupe D »	Autres	Total identifications
	espèce exacte	espèce fautive	espèce non précisée			
<i>E. faecium</i> (lot 1)	804 (81,0%)	20 <sup>a</sup> (2,0%)	67 (6,7%)	82 (8,3%)	20 (2,0%)	993
<i>E. faecium</i> (lot 2)	748 (74,1%)	75 <sup>b</sup> (7,5%)	74 (7,3%)	88 (8,7%)	25 (2,4%)	1010

<sup>a</sup> : 16 *E. faecalis* et 4 *E. gallinarum*

<sup>b</sup> : dont 34 *E. gallinarum*, 27 *E. casseliflavus* et 11 *E. faecalis*

**tableau VII** - pourcentage d'identification correcte (genre et espèce exactes) selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 5)	<i>E. faecium</i> (Lot 1)	<i>E. faecium</i> (Lot 2)
<b>Galeries :</b>		
API 32 strep bioMérieux	120/129 (93,0%)	88/125 (70,4%)
API 20 strep bioMérieux	99/103 (96,1%)	82/99 (82,8%)
API strepto (32 ou 20 strep)	61/69 (88,4%)	44/54 (81,5%)
API non précisée	27/39 (69,2%)	28/46 (60,9%)
<b>Automates :</b>		
Vitek 2Compact bioMérieux	224/226 (99,1%)	219/225 (97,3%)
Vitek 2 bioMérieux	181/183 (98,9%)	195/196 (99,5%)
Microscan Dade	19/20 (95%)	17/19 (89,5%)
Phoenix Becton Dickinson	22/23 (95,7%)	24/25 (96%)
<b>Autres :</b>		
Méthode conventionnelle *	30/143 (21%)	33/164 (20,1%)
Spectrométrie de masse	8/8 (100%)	5/6 (83,3%)

\* : identification traditionnelle dichotomique avec choix personnel des caractères étudiés (pas de galerie, ni d'automate).

**tableau VIII** - bilan des trois opérations de contrôle « *E. faecium* »

Année	Effectif	Espèce exacte (%)	Espèce fausse (%)	Espèce non précisée * (%)	Total (%)
2011 (lot 1)	993	81	2	15	98
2011 (lot 2)	1010	74	8	16	98
2007	1117	64	7	23	94
1999	1797	35	10	45	90

\* : *Enterococcus sp.* ou streptocoque du groupe D

## 2 - Antibiogramme

Les réactifs utilisés par les participants pour réaliser l'antibiogramme des entérocoques sont détaillés dans le tableau IX, tandis que les résultats obtenus pour chaque antibiotique, tous réactifs confondus, sont regroupés pour chacune des deux souches dans les tableaux X et XI (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

De plus, afin d'évaluer la pertinence des mécanismes de résistance détectés et leur implication thérapeutique, différentes questions concernant d'une part les glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) : « La détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine est-elle recommandée pour cette souche ? » et d'autre part les aminosides (gentamicine et kanamycine) : « Résistance acquise de haut niveau ? », « Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ? » ont été posées. Les réponses obtenues pour chaque souche sont rapportées dans les tableaux XII et XIII.

Dans un troisième temps, les laboratoires qui effectuent en routine la détermination des CMI des glycopeptides lorsqu'ils le jugent nécessaire, pouvaient reporter leurs résultats sur le bordereau de réponse. Pour chacun des deux antibiotiques, le réactif utilisé et l'interprétation de la CMI trouvée en termes de catégorisation clinique (S, I ou R) de la souche devaient être précisés.

Environ 29% des laboratoires ont déterminé les CMI de la vancomycine et/ou de la teicoplanine sur la souche de *E. faecium* phénotype VanB, la seule des deux souches proposées à nécessiter ce type d'analyse. Les résultats globaux, tous réactifs confondus sont présentés dans le tableau XIV. En ce qui concerne les CMI de la vancomycine, leurs distributions en fonction du réactif utilisé sont représentées figure 1 tandis que leurs interprétations par les participants sont rapportées dans le tableau XV. Les résultats lus en fonctions du réactif utilisé (automate, galerie, disque) sont détaillés dans le tableau XVI.

tableau IX - réactifs utilisés pour l'antibiogramme des entérocoques

Réactifs	Fournisseur	Effectif (%)
<b>Automates (44,4%)</b>		
Phoenix	Becton Dickinson	45 (2,3)
Vitek 2 Compact	BioMérieux	551 (27,9)
Vitek 2	BioMérieux	240 (12,2)
Microscan	Siemens	40 (2,0)
<b>Galeries (37,1%)</b>		
ATB STREP EU	BioMérieux	602 (30,5)
ATB STREP	BioMérieux	114 (5,8)
ATB UR EU	BioMérieux	7 (0,4)
ATB UR	BioMérieux	4 (0,2)
Rapid ATB UR EU	BioMérieux	4 (0,2)
<b>Disques (18,5%)</b>		
Disques	BioMérieux	9 (0,4)
Disques	Biorad	250 (12,7)
NeoSensitabs	Eurobio	4 (0,2)
Disques	i2a	49 (2,5)
Disques	Oxoid	20 (1,0)
Multidisk	Sobioda	4 (0,2)
	non précisé	30 (1,5)
	Total	1973

tableau X - antibiogramme *E. faecium* (Lot 1) : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ampicilline	897	<b>81,8</b>	7,5	10,7	885	<b>77,9</b>	3,7	18,4
Amoxicilline	326	<b>80,7</b>	7,0	12,3	364	<b>77,8</b>	6,3	15,9
Tétracycline	824	0,6	0,0	<b>99,4</b>	794	0,6	0,0	<b>99,4</b>
Erythromycine	855	0,6	0,0	<b>99,4</b>	818	0,5	0,0	<b>99,5</b>
Lincomycine	247	1,2	0,0	<b>98,8</b>	262	1,1	0,8	<b>98,1</b>
Clindamycine	497	0,4	1,6	<b>98,0</b>	483	0,4	1,0	<b>98,6</b>
Pristinamycine	269	32,3	<b>42,4</b>	25,3	277	29,2	<b>37,9</b>	32,9
Quinupristine - dalfopristine	769	41,6	<b>53,1</b>	5,3	750	40,9	<b>47,1</b>	12,0
Vancomycine	968	<b>99,5</b>	0,3	0,2	941	<b>99,0</b>	0,2	0,7
Teicoplanine	944	<b>99,4</b>	0,0	0,6	919	<b>98,6</b>	0,2	1,2
Cotrimoxazole	885	<b>75,4</b>	1,9	22,7	876	<b>30,8</b>	2,9	66,3
Linézolide	837	<b>97,9</b>	0,8	1,3	812	<b>96,2</b>	0,9	2,9
Chloramphénicol	507	11,6	<b>77,9</b>	10,5	486	11,5	<b>73,7</b>	14,8
Nitrofurantoïne	916	6,2	1,2	<b>92,6</b>	897	6,4	0,9	<b>92,7</b>
Rifampicine	429	<b>94,2</b>	0,4	5,4	410	<b>89,5</b>	0,5	10,0

**tableau XI** - antibiogramme *E. faecium* VanB (Lot 2) : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ampicilline	930	1,7	0,3	<b>98,6</b>	916	1,2	0,1	<b>98,7</b>
Amoxicilline	350	1,7	0,6	<b>97,7</b>	408	1,5	0,5	<b>98,0</b>
Tétracycline	852	<b>96,6</b>	0,1	3,3	806	<b>94,7</b>	0,6	4,7
Erythromycine	873	6,5	0,2	<b>93,3</b>	836	6,5	0,1	<b>93,4</b>
Lincomycine	265	10,2	0,0	<b>89,8</b>	277	9,0	0,0	<b>91,0</b>
Clindamycine	524	8,0	0,2	<b>91,8</b>	536	7,8	0,2	<b>92,0</b>
Pristinamycine	278	<b>91,7</b>	1,1	7,2	277	<b>87,4</b>	2,5	10,1
Quinupristine - dalfopristine	806	<b>97,3</b>	0,7	2,0	790	<b>95,3</b>	0,9	3,8
Vancomycine	964	35,9	<b>8,1</b>	<b>56,0</b>	924	31,7	<b>4,9</b>	<b>63,4</b>
Teicoplanine	955	<b>97,2</b>	0,1	2,7	906	<b>92,8</b>	1,5	5,6
Cotrimoxazole	921	3,9	0,4	<b>96,7</b>	906	3,1	0,3	<b>96,6</b>
Linézolide	872	<b>96,7</b>	1,5	1,8	851	<b>96,2</b>	1,1	2,7
Chloramphénicol	534	<b>95,7</b>	1,1	3,2	535	<b>95,2</b>	0,9	3,9
Nitrofurantoïne	934	<b>57,5</b>	1,8	40,7	913	<b>55,7</b>	1,8	42,5
Rifampicine	439	<b>27,5</b>	8,0	64,5	397	<b>27,7</b>	8,6	63,7

**tableau XII** - Questionnaire *E. faecium* (Lot 1)

	Réponse attendue	Réponses des 979 participants (%)			
		-	Oui	Non	
<b>Glycopeptides :</b>					
La détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine est-elle recommandée pour cette souche ?	Non	4,6	25,8	<b>69,6</b>	
<b>Aminoglycosides :</b>					
Gentamicine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Non	6,5	7,0	<b>86,5</b>
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Oui	6,7	<b>88,3</b>	5,0
Kanamycine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Oui	9,2	<b>87,4</b>	3,3
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Non *	10,1	3,7	<b>86,2</b>

\* : l'acquisition d'une résistance de haut niveau abolit l'effet bactéricide synergique entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide.

**tableau XIII** - Questionnaire *E. faecium* VanB (Lot 2)

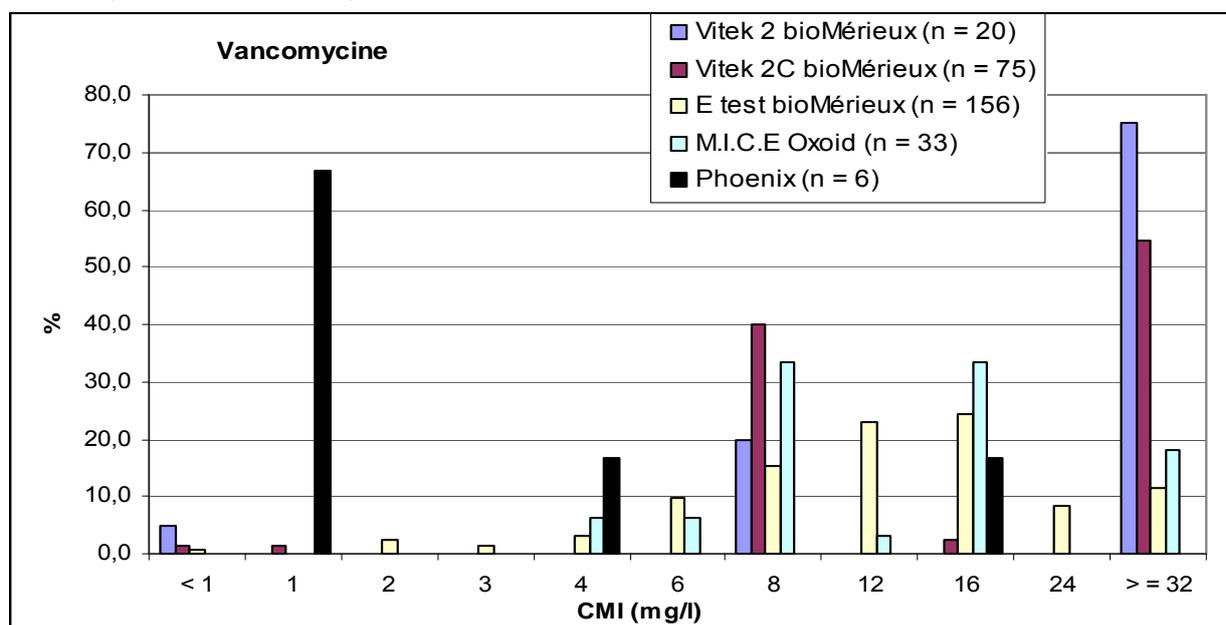
	Réponse attendue	Réponses des 1008 participants (%)			
		-	Oui	Non	
<b>Glycopeptides :</b>					
La détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine est-elle recommandée pour cette souche ?	Oui	4,7	<b>73,6</b>	21,7	
<b>Aminoglycosides :</b>					
Gentamicine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Oui	6,5	<b>91,7</b>	1,8
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Non *	8,0	4,5	<b>87,5</b>
Kanamycine	Résistance acquise de haut niveau (HNR) ?	Oui	9,2	<b>88,7</b>	2,1
	Synergie bactéricide possible avec les glycopeptides ?	Non *	10,3	2,9	<b>86,8</b>

\* : l'acquisition d'une résistance de haut niveau abolit l'effet bactéricide synergique entre un aminoglycoside et une pénicilline ou un glycopeptide.

**tableau XIV** - *E. faecium* (Lot 2) : répartition des CMI de la vancomycine (VAN), de la teicoplanine (TEC) et interprétation.

	Réponse des experts		Réponses des participants (%) tous réactifs confondus							
	CMI	Interprétation	CMI (mg/l)				Interprétation			
			effectif	≤ 4	> 4 et ≤ 8	> 8	effectif	S	I	R
VAN	<b>8 - 16</b>	<b>I / R</b>	290	7,6	<b>29,7</b>	<b>62,7</b>	290	7,3	<b>14,8</b>	<b>77,9</b>
TEC	<b>0,5 - 1</b>	<b>S</b>	274	<b>100</b>	-	-	273	<b>98,2</b>	0,3	1,5

**figure 1** - *E. faecium* (Lot 2) / vancomycine : distribution des CMI en fonction du réactif utilisé (effectif > 5 utilisateurs)



**tableau XV** - *E. faecium* (Lot 2) / vancomycine : catégorisation clinique en fonction de la CMI

CMI (mg/l)	Interprétation (catégorisation clinique)			
	I	R	S	total
≤ 4	1 (4,5%)	2 (9,0%)	<b>19 (86,4%)</b>	22 (100%)
6	<b>12 (20%)</b>	5 (78,5%)	-	17 (100%)
8	<b>28 (40,6%)</b>	40 (58,0%)	1 (1,4%)	69 (100%)
> 8	2 (1,1%)	<b>180 (98,9%)</b>	-	182 (100%)
total	43 (14,8%)	227 (77,9%)	20 (7,3%)	290 (100%)

**tableau XVI - *E. faecium* (Lot 2) / vancomycine : résultats en fonction du réactif utilisé (effectif > 5 utilisateurs)**

Réactifs		résultats lus				résultats transmis			
		effectif	S	I	R	effectif	S	I	R
<b>Automates :</b>									
Phoenix	BD	20	16	0	4	20	16	0	4
Vitek 2 Compact	BioMérieux	268	13	40	215	262	14	8	240
Vitek 2	BioMérieux	121	3	13	105	117	3	7	107
Microscan	Siemens	18	3	3	12	18	3	3	12
<b>Galleries :</b>									
ATB STREP EU	BioMérieux	303	185	7	111	286	165	4	117
ATB STREP	BioMérieux	59	30	3	26	56	26	2	28
<b>Disques :</b>									
Disques	Biorad	110	65	4	41	103	43	12	48
Disques	i2a	22	15	1	6	21	8	2	11
Disques	Oxoid	10	3	4	3	10	3	4	3

## Commentaires

### 1 - Identification

On pourra se reporter aux Annales du CNQ correspondant à l'opération de contrôle en bactériologie 07BAC1 dont les commentaires sont en grande partie repris ci-dessous.

Historiquement, les streptocoques isolés des fèces ou streptocoques du groupe D étaient séparés en deux groupes : les « entérocoques » capables de croître dans des conditions hostiles et les « streptocoques du groupe D non-entérocoques » incapables de se multiplier dans des conditions hostiles. En 1984, les streptocoques du « groupe des entérocoques » sont transférés dans le genre *Enterococcus*. L'analyse des séquences des ARNr 16S a confirmé l'individualisation du genre *Enterococcus* et a montré que les entérocoques sont phylogénétiquement apparentés aux genres *Carnobacterium*, *Tetragenococcus* et *Vagococcus*.

Les deux principales espèces rencontrées en pathologie humaine sont *Enterococcus faecalis* (85 à 90%) et *Enterococcus faecium* (5 à 10%). Ces deux espèces occupent une place importante du fait de leur résistance naturelle et acquise aux antibiotiques, du caractère le plus souvent nosocomial des infections et de la propension qu'ont certains clones multirésistants à disséminer souvent à bas bruit.

Les sites d'isolements les plus fréquents sont les urines (infections urinaires basses et pyélonéphrites), les pus d'origine digestive (péritonite, pelvi-péritonite, cholécystite), les hémocultures (endocardites, septicémies chez les patients neutropéniques, néoplasies coliques). Les entérocoques représentent 5 à 10% des endocardites bactériennes.

Les autres espèces susceptibles d'être isolées chez l'homme sont *Enterococcus casseliflavus*, *Enterococcus gallinarum*, *Enterococcus durans* et *Enterococcus hirae*.

Les entérocoques se présentent comme des cocci à Gram positif, légèrement ovoïdes, groupés par deux ou en courte chaînette de quatre à six éléments.

Leur culture est aisée en 24h sur milieux usuels en atmosphère aérobie ou enrichie en CO<sub>2</sub>. Sur gélose TS au sang de mouton, les colonies sont opaques, blanchâtres, α- ou non hémolytiques, de 0,5 à 1 mm de diamètre. Ils sont, comme les streptocoques, catalase négative et ils fermentent les sucres sans production de gaz.

Ils se distinguent des streptocoques par plusieurs caractères sélectifs :

- croissance à 10 et 45°C,
- croissance en bouillon hypersalé (6,5% NaCl),
- croissance en présence de bile (40%) et hydrolyse de l'esculine (noircissement du milieu bile-esculine),
- production de pyrrolidonyl-arylamidase (PYRase).

La plupart des entérocoques (80%) expriment l'antigène du groupe D de Lancefield et sont donc agglutinables.

Quand un entérocoque apparaît impliqué dans un processus infectieux, deux raisons principales justifient son identification jusqu'à l'espèce :

- la première est l'existence de résistances naturelles particulières à certaines espèces (*E. casseliflavus* et *E. gallinarum* présentent une résistance naturelle à bas niveau à la vancomycine) ; dans ces cas, c'est l'identification précise de l'espèce qui alerte sur l'existence de résistances naturelles.
- la deuxième est la surveillance épidémiologique des entérocoques multirésistants aux antibiotiques, essentiellement *E. faecium* qui suppose une identification correcte et précise des souches.

Le tableau XVII reprend les caractères phénotypiques utilisés pour l'identification des principales espèces d'entérocoques.

**tableau XVII** - caractères phénotypiques différentiels des principales espèces

	<i>E. faecalis</i>	<i>E. faecium</i>	<i>E. casseliflavus</i>	<i>E. gallinarum</i>	<i>E. durans</i>	<i>E. hirae</i>
Résistance au tellurite de potassium	+	-	-	-	-	-
Fermentation :						
arabinose	-	+	+	+	-	-
mannitol	+	+	+	+	-	-
saccharose	+	+	+	+	-	+
sorbitol	+	-	v	-	-	-
raffinose	-	-	v	+	-	v
Pigmentation jaune <sup>1</sup>	-	-	+	-	-	-
Mobilité <sup>2</sup>	-	-	+	+	-	-
Antigène du groupe D	+	v	+	+	v	v

<sup>1</sup> cette coloration se voit sur un écouvillon après avoir gratté plusieurs colonies sur milieu type trypticase soja.

<sup>2</sup> la mobilité se recherche à l'état frais au microscope optique à partir d'une culture en bouillon glucosé tamponné de 3 heures ou en milieu mannitol mobilité (il semble utile de disposer d'une souche témoin pour l'interprétation des résultats).

La croissance sur milieu au tellurite de potassium et la fermentation du mannitol, du sorbitol et du saccharose permet d'identifier *E. faecalis* qui représente la grande majorité des entérocoques.

Pour la recherche de *E. gallinarum* et *E. casseliflavus*, il est utile d'associer la recherche de mobilité et d'une pigmentation jaune. Ces deux espèces sont mobiles et les souches de *E. casseliflavus* sont pigmentées en jaune citron. Cependant, la mobilité n'est pas constamment mise en évidence chez ces espèces. Dans ce cas, la fermentation du MGP (méthyl- $\alpha$ -D-glucopyranoside) positive pour ces espèces et négative pour *E. faecium* est un bon test différentiel. Les espèces immobiles *E. mundtii* et *E. sulfureus*, rarement isolées chez l'homme sont également pigmentées.

Les deux souches envoyées lors de cette opération de contrôle ont été précisément identifiées par respectivement 81% et 74% des laboratoires participants, ce qui représente un progrès considérable par rapport à l'envoi précédent en 2007 pour lequel on notait 64% d'identifications exactes. On observe notamment une diminution (moins 7%) du nombre d'identification incomplète de type « *Enterococcus sp.* » ou « Streptocoque du groupe D » (tableau VIII).

Si l'on compare les résultats obtenus avec chacune des deux souches de cette opération de contrôle, il semble que les confusions avec une autre espèce soient plus fréquentes pour la souche *E. faecium* lot 2 : 7,5% d'erreur au niveau de l'espèce (principalement avec *E. gallinarum* ou *E. casseliflavus*, confusion également observée en routine dans les laboratoires et lors des envois précédents du CNQ).

L'identification à l'espèce peut être réalisée par méthode conventionnelle ou par des galeries d'identification (API, BBL Crystal) ou par des automates (Vitek, Phoenix, MicroScan). Les performances de ces derniers sont bonnes avec en moyenne 97% d'identifications correctes pour la souche du lot 1 et 96% pour la souche du lot 2. En ce qui concerne les galeries API, on ne note pas de différence significative entre les galeries 32 strep et 20 strep pour la souche du lot 1, avec respectivement 93% et 96% d'identifications exactes. En revanche, les galeries API sont globalement moins performantes pour l'identification de la souche du lot 2 avec respectivement 70,4 et 82,8% d'identifications exactes (tableau VII).

## 2 - Antibiogramme

Les entérocoques, en particulier *E. faecalis* et *E. faecium* présentent naturellement une sensibilité médiocre aux pénicillines (CMI de la pénicilline G et de l'amoxicilline proches de 1 à 4 mg/l) ainsi qu'à l'imipénème et à l'ertapénème et une résistance aux céphalosporines (en particulier aux céphalosporines de troisième

génération). Des souches de *E. faecium* peuvent présenter un haut niveau de résistance à toutes les bêta-lactamines par diminution de la PLP5. Les entérocoques sont également naturellement résistants aux sulfamides et à la fosfomycine (à bas niveau). Enfin, les entérocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides. Malgré cette résistance de bas niveau, la synergie bactéricide avec les pénicillines est conservée et cette association constitue la base du traitement des infections à entérocoques. Certaines souches présentent une résistance acquise de haut niveau aux aminosides. Dans ce cas, la synergie avec les pénicillines est abolie. La détection d'une résistance acquise de haut niveau nécessite l'emploi de certaines molécules comme la streptomycine, la gentamicine et la kanamycine à fortes doses.

Selon le CA-SFM, les antibiotiques à tester en première ligne sur les entérocoques sont l'ampicilline, la gentamicine, les nitrofuranes et, en milieu hospitalier, la vancomycine et la teicoplanine. La liste complémentaire comprend entre autres le chloramphénicol, la tétracycline, l'érythromycine, la lincomycine (résistance naturelle de *E. faecalis*), la pristnamycine, le cotrimoxazole. Deux molécules récentes sont également intéressantes à tester : le linézolide et la tigécycline.

Alors que les entérocoques sont des bactéries considérées comme peu pathogènes, leur multirésistance aux antibiotiques représente le principal problème en pratique clinique. En particulier lors des infections dues à *E. faecium* souvent résistant à toutes les  $\beta$ -lactamines, pour lesquels la famille des glycopeptides (vancomycine, teicoplanine) représente une option thérapeutique de choix. Les premières souches résistantes aux glycopeptides (ERG) ont été décrites à la fin des années 80 en Angleterre et en France. Jusqu'à ces dernières années, la proportion de résistance à la vancomycine chez les entérocoques est restée stable et estimée à moins de 2% (épidémies hospitalières). Toutefois, la vigilance et l'expertise des biologistes dans la détection de cette résistance acquise sont indispensables pour enrayer la progression de ce phénomène. C'est pourquoi, une des deux souches adressées aux laboratoires dans le cadre de cette opération de contrôle était porteuse du gène de résistance *vanB* et exprimait une résistance à la vancomycine de niveau modéré et de détection difficile.

## **2-1 Enterococcus faecium / Lot 1**

La souche était sensible in vitro aux aminopénicillines, aux glycopeptides, au cotrimoxazole, au linézolide et à la rifampicine. En revanche, elle était résistante aux macrolides, lincosamides, streptogramines, tétracyclines ainsi qu'à la nitrofurantoïne. De plus, elle présentait une résistance de haut niveau à la kanamycine.

### **2-1-1 Aminopénicillines**

Pour les  $\beta$ -lactamines, le CA-SFM recommande de tester l'ampicilline avec un disque chargé à 10  $\mu$ g. Les souches sont considérées comme sensibles lorsque le diamètre d'inhibition est  $\geq$  à 19 mm correspondant à des CMI  $\leq$  4 mg/l.

La souche était sensible avec un diamètre d'inhibition égal à 26 mm et une CMI égale à 2 mg/l (Etest) ou 4 mg/l (dilution en gélose). Cependant, on note parmi les laboratoires participants, un pourcentage non négligeable de résultats lus « intermédiaire » (7%) ou « résistant » (11%). La réponse « intermédiaire » est considérée comme une erreur mineure puisque à une dilution près, le résultat peut être lu « sensible » ou « intermédiaire ». En revanche, rendre cette souche « résistante » aux aminopénicillines est considéré comme une erreur majeure. L'analyse des réponses en fonction du réactif utilisé montre que la majorité des fausses réponses « R » provient des utilisateurs du Vitek 2C.

### **2-1-2 Aminoglycosides**

Les entérocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau aux aminosides liée à un transport inefficace de ces antibiotiques dans la bactérie. La souche était sensible à la gentamicine haute concentration et résistante à la kanamycine haute concentration.

A la question « cette souche présente-t-elle un haut niveau de résistance à la gentamicine ? », 86,5% des participants ont répondu « non » et 88,3% ont indiqué qu'une synergie bactéricide avec les glycopeptides était possible.

En ce qui concerne la kanamycine, 87,4% des participants ont relevé le haut niveau de résistance de la souche et 86,2% ont précisé que cette résistance abolissait l'effet bactéricide synergique avec les glycopeptides (tableau XII).

Pour mémoire, les molécules agissant sur le peptidoglycane de ces bactéries comme les  $\beta$ -lactamines ou les glycopeptides permettent une meilleure pénétration des aminoglycosides expliquant ainsi le phénomène de synergie. Cependant, un haut niveau de résistance peut être observé du fait de l'acquisition de gènes codant pour des enzymes inactivant les aminoglycosides. Dans ce cas il y a une perte de la synergie.

### 2-1-3 Macrolides, lincosamides, pristinamycine

Le taux de bonnes réponses est très satisfaisant puisque plus de 98% des laboratoires ont mis en évidence la résistance de la souche à l'érythromycine ainsi qu'à la lincomycine ou à la clindamycine.

En revanche, les résultats lus pour la pristinamycine sont discordants (32% « S », 43% « I » et 25% « R »). Cet antibiotique n'est pas testé sur le Vitek ni sur la galerie ATB STREP EU. En diffusion sur gélose, les experts ont observé des diamètres d'inhibition autour du diamètre critique D (entre 21 et 22 mm) ce qui signifie que la souche présente une sensibilité diminuée par rapport à une souche sauvage pour laquelle le diamètre d'inhibition est habituellement de 30 mm. Par conséquent, ils ont choisi de rendre la souche « intermédiaire ».

On peut rappeler que contrairement à *E. faecalis*, *E. faecium* ne présente pas de résistance naturelle à la pristinamycine et il n'y a pas lieu de modifier la réponse.

### 2-1-4 Glycopeptides

Respectivement 99,5 % et 99,4 % des laboratoires ont eu des résultats concordants avec les réponses attendues « sensible » pour la vancomycine et la teicoplanine.

La souche étant sensible aux glycopeptides, la détermination des CMI n'était théoriquement pas recommandée comme l'ont indiqué 69,6 % des laboratoires (tableau XII). Néanmoins, 123 laboratoires ont effectué cette analyse. Pour information, la CMI de la vancomycine est  $\leq 0,5$  mg/l avec les automates Vitek et Phoenix et égale à 0,38 - 0,5 mg/l avec le E-Test, tandis que la CMI de la teicoplanine est  $\leq 0,5$  mg/l avec le Vitek et le Phoenix et égale à 0,125 mg/l avec le E-Test.

### 2-1-5 Autres antibiotiques

Les autres antibiotiques comme la nitrofurantoïne, la rifampicine, le linézolide ou la tétracycline n'ont pas posé de difficultés particulières, le pourcentage de bonnes réponses étant compris entre 92,6 et 99,4 % selon la molécule considérée.

Toutefois, on note pour le chloramphénicol une dispersion des réponses (78% « I », 10% « R », 12% « S ») due au fait que la CMI (16 mg/l) correspond à la concentration critique haute. Par conséquent, la réponse attendue est « intermédiaire ». Mais les concentrations critiques basse et haute étant respectivement égales à 8 et 16 mg/l, on peut, à une dilution près, obtenir un résultat « S » ou « R ».

Comme en 2007, la seule vraie difficulté rencontrée par un grand nombre de laboratoires a été l'interprétation de la résistance au cotrimoxazole : la souche sensible a été rendue « R » par les deux tiers des participants.

Il existe chez les entérocoques une résistance naturelle aux sulfamides. Ils sont auxotrophes en dihydrofolate, mais sont sensibles in vitro au triméthoprim et à son association aux sulfamides. Cependant, in vivo, les entérocoques seraient capables d'échapper à l'action du triméthoprim-sulfaméthoxazole inhibiteur de la synthèse des folates, en assimilant les folates présents dans l'environnement (selles, urines ...).

Les conséquences cliniques sont controversées et il n'y a pas de consensus sur la réponse qui doit être faite au clinicien. Il n'y a pas de recommandation du CA-SFM. Néanmoins, il est prudent de déconseiller l'usage de cet antibiotique au moins dans les infections sévères (mauvaise activité in vivo).

## 2-2 *Enterococcus faecium* van B / Lot 2

La souche était résistante aux aminopénicillines, à l'érythromycine, aux lincosamides ainsi qu'au cotrimoxazole. Elle présentait également une résistance de haut niveau à la gentamicine et à la kanamycine.

En ce qui concerne les glycopeptides, cette souche porteuse de l'opéron *vanB* était résistante à la vancomycine et sensible à la teicoplanine.

En revanche, la souche était sensible in vitro à la tétracycline, la pristinamycine, la quinupristine-dalfopriline, le linézolide et le chloramphénicol.

### 2-2-1 Aminopénicillines

En ce qui concerne l'ampicilline ou l'amoxicilline, on notait une résistance « contact » en diffusion sur gélose ainsi qu'une CMI de l'amoxicilline (Etest) égale à 128 mg/l. Par conséquent, la réponse attendue « R » a été rendue par plus de 98% des laboratoires. Cette souche était également résistante « contact » à la pipéracilline et à l'imipénème.

### 2-2-2 Aminoglycosides

La souche était résistante à la gentamicine et à la kanamycine haute concentration.

Les résultats sont très satisfaisants puisque respectivement 91,7% et 88,7% des participants ont détecté cette résistance acquise de haut niveau. Dans ce cas, la synergie entre les glycopeptides et les aminosides est abolie. Cette conséquence a été précisée par respectivement 87,5% et 86,8% des participants qui ont

répondu « non » à la question « une synergie bactéricide est-elle possible avec les glycopeptides ? » (tableau XIII).

### 2-2-3 Macrolides, lincosamides, streptogramines

La souche de phénotype MLS<sub>B</sub> était résistante « contact » à l'érythromycine, à la lincomycine et à la clindamycine. Toutefois, on note un pourcentage non négligeable (de 6,5 à 10,2% selon la molécule considérée) de fausses réponses « S » dont l'origine n'a pu être déterminée.

Quant à la pristinamycine et à la quinupristine-dalfopristine, leur activité n'étant pas altérée en cas de phénotype MLS<sub>B</sub>, il n'y a pas de raison de modifier la réponse lue « S » (diamètre d'inhibition égal à 31 mm) en « I » ou « R ».

### 2-2-4 Glycopeptides

Il s'agissait d'une souche contenant le gène *vanB*, résistante à bas niveau à la vancomycine et sensible à la teicoplanine. Or, 32% des 924 laboratoires ayant testé la vancomycine ont transmis un résultat erroné « S ».

Les experts ont testé la sensibilité de la souche aux glycopeptides sur six échantillons par différentes techniques : diffusion en gélose (disques), automate Vitek, gélose sélective additionnée de vancomycine. Puis, ils ont déterminé les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine. Les résultats obtenus sont les suivants :

- les diamètres de la zone d'inhibition autour des disques de vancomycine et de teicoplanine varient respectivement de 17 à 19 mm et de 20 à 21 mm (aucun diamètre < 17 mm). De plus, on n'observe pas de colonies dans les zones d'inhibition, ni d'écart d'au moins 3 mm entre les diamètres des deux glycopeptides,
- sur le Vitek, La souche est catégorisée « R » à la vancomycine (CMI calculée  $\geq$  32 mg/l cinq fois et CMI calculée = 8 mg/l une fois) et « S » à la teicoplanine (CMI calculée  $\leq$  0,5 mg/l),
- la souche cultive sur la gélose qui contient de la vancomycine (8 mg/l).

Les CMI réalisées par la technique du Etest sont égales à 8-16 mg/l pour la vancomycine et 0,5-1 mg/l pour la teicoplanine.

Le Comité de l'Antibiogramme recommande de déterminer les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine dans les différents cas suivants :

- le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de l'un des deux glycopeptides est < 17 mm,
- le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de vancomycine est inférieur d'au moins 3 mm à celui autour du disque de teicoplanine,
- quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides,
- la souche est catégorisée I ou R à au moins l'un des deux glycopeptides par un automate,
- la souche cultive sur un milieu additionné de vancomycine.

La souche testée ne répondait qu'aux deux dernières conditions et à la question « La détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine est-elle recommandée pour cette souche ? », seuls 73,6% des laboratoires participants ont répondu « oui » (tableau XIII).

Selon la technique utilisée pour réaliser l'antibiogramme, les laboratoires pouvaient ne pas détecter la résistance faiblement exprimée de cette souche à la vancomycine et la rendre « sensible » aux glycopeptides sans chercher à aller plus loin (tableau XVI). C'est notamment le cas des utilisateurs :

- de la technique de diffusion sur gélose quel que soit le fournisseur de disques. Deux fournisseurs (Biorad et i2a) ont par ailleurs confirmé avec différents lots de disques que les diamètres d'inhibition autour de la vancomycine étaient de 19 ou 20 mm.
- de la galerie ATB Strep EU (61% de faux résultats « S ») qui teste une seule concentration (4 mg/l). BioMérieux rapporte la présence de quelques petites colonies dans la cupule (absence de trouble homogène) qui ne sont pas vues en lecture optique.
- de l'automate Phoenix (80% de faux résultats « S »).

En conclusion, seul l'automate Vitek utilisé par 40% des participants a permis de détecter dans plus de 95% des cas la résistance à la vancomycine.

Près de 29% des participants ont rendu un résultat de CMI et parmi eux, respectivement 92,4% pour la vancomycine et 100% pour la teicoplanine sont en accord avec le résultat attendu par les experts (tableau XIV). L'analyse des résultats obtenus pour la vancomycine en fonction du réactif utilisé (figure 1) montre que le pourcentage de CMI sous-estimées ( $\leq$  4 mg/l) pouvant conduire à une catégorisation clinique erronée « S » varie selon le réactif : Vitek 2 et 2C (3%), MICE (6%), Etest (8%) et Phoenix (83%).

Enfin, il n'y a pas lieu, du fait de la résistance à la vancomycine, d'interpréter le résultat lu « S » pour la teicoplanine en « I » ou « R » ; tout au plus peut-on signaler que dans ce cas la teicoplanine ne doit pas être utilisée seule. L'association teicoplanine-aminoside peut être utilisée en cas d'infection par un entérocoque de type VanB (à condition de choisir un aminoside avec un bas niveau de résistance).

### 2-2-5 Autres antibiotiques

Les autres antibiotiques comme la tétracycline, le cotrimoxazole, le linézolide ou le chloramphénicol n'ont pas posé de difficultés particulières, le pourcentage de bonnes réponses étant compris entre 95,7 et 96,7 % selon la molécule considérée.

En revanche, on note pour la nitrofurantoïne une répartition quasi identique des réponses entre « S » (58%) et « R » (41%) qui s'explique par le fait que la CMI de cet antibiotique (64 mg/l) correspond à la concentration critique unique. Par conséquent, la réponse attendue est « sensible », mais à une dilution près, on peut obtenir un résultat « S » ou « R ».

Enfin, près des deux tiers des participants ont rendu par excès la souche résistante à la rifampicine. En effet, les souches d'entérocoques résistantes à la rifampicine ont des CMI > 256 mg/l et une résistance « contact » en diffusion sur milieu gélosé ; ce qui n'est pas le cas avec cette souche qui est de sensibilité diminuée à la rifampicine avec un diamètre d'inhibition égal à 21 mm.

## Bibliographie

1. Streptococcaceae : Streptococcus, Abiotropha, Granulicatella, Enterococcus et autres genres apparentés. Bouvet A., Schlegel L., Loubinoux J. dans Freney J., Renaud F., Leclercq R., et Riegel L : Précis de Bactériologie Clinique, ed. ESKA 2007, pages 845-897.
2. CASFM, recommandations 2012.
3.  $\beta$ -lactamines et entérocoques. J.L. Mainardi dans P. Courvalin et R. Leclercq : Antibiogramme, ed. ESKA 2012, pages 157-164.
4. Macrolides, Lincosamides, Streptogramines. R. Leclercq dans P. Courvalin et R. Leclercq : Antibiogramme, ed. ESKA 2012, pages 349-371.
5. Glycopeptides et entérocoques. P. Courvalin dans P. Courvalin et R. Leclercq : Antibiogramme, ed. ESKA 2012, pages 327-337.
6. Les entérocoques résistants aux glycopeptides. V. Cattoir, R. Leclercq. 2010, Med Sci, 26, 11 : 936-942.